https://eventos.utfpr.edu.br//sicite/sicite2020

Utilização de ultrassom de baixa frequência na hidrólise enzimática de carboidratos do farelo de arroz desengordurado

Use of low frequency ultrasound in enzymatic hydrolysis of defatted rice bran carbohydrates

Assia Ghattas Fares
assia_ghattas@outlook.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Ilton José Baraldi
baraldi@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Eliane Colla
ecolla@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

RESUMO

O arroz (*Oriza sativa L.*) é o segundo cereal mais consumido no mundo. Após a extração da fração lipídica, tem-se como subproduto deste cereal o farelo de arroz desengordurado (FAD). Uma forma de melhor aproveitar este subproduto é efetuar a hidrólise do amido (50% do FAD), produzindo açúcar redutor (AR) que é matéria-prima para fermentações alcoólicas. A hidrólise enzimática convencional é realizada em duas etapas, a primeira com enzima alfa-amilase, seguido pela etapa com a enzima amiloglucosidase, sendo ambas etapas realizadas em pH e temperaturas específicas. O ultrassom (US) de baixa frequência produz cavitações que possibilitam o aumento da velocidade das reações químicas, sendo empregado para acelerar a reação de hidrólise. Assim, objetivou-se realizar uma hidrólise enzimática do FAD em uma única etapa, utilizando pH e temperatura comum para as duas enzimas, e utilizou-se ultrassom no meio reacional. Aplicou-se 70% de potência de US na frequência em um reator enzimático com 200 g de FAD.L^{-1}, adicionando-se as enzimas conjuntamente, e manteve-se agitação mecânica em 50 RPM, pH 6,0 e 60 ^{0}C. Após 4,0 horas de reação obteve-se uma produção de AR que foi quantificado pelo método DNS. O resultado corresponde a um avanço em relação aos dados disponíveis na literatura.

PALAVRAS-CHAVE: Hidrólise enzimática assistida. Ondas ultrassônicas. Arroz. Amilase.

ABSTRACT

Rice (*Oriza sativa L.*) is the second most consumed cereal in the world. After extracting the lipid fraction, defatted rice bran (FAD) is a by-product of this cereal. A better way to take advantage of this by-product is to hydrolyze the starch (50% of DRB), producing reducing sugar (RS), which is the raw material for alcoholic fermentations. Conventional enzymatic hydrolysis is carried out in two steps, the first with □-amylase enzyme, followed by the step with the enzyme amyloglucosidase (AMG), both steps being carried out at specific pH and temperatures. Low-frequency ultrasound (US) produces cavitation in the medium that increases the rate of a chemical reactions, being used to accelerate the hydrolysis reaction. Therefore, the objective was to carry out an enzymatic hydrolysis of DRB in a single step, using pH and temperature common to both enzymes, and ultrasound was applied in the reaction environment at 70% of US power in frequency in an enzymatic reactor with 200 g of FAD.L^{-1}, adding the enzymes together, and mechanical agitation was maintained at 50

Recebido: 19 ago. 2020.
Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

RPM, pH 6.0 and 60 ^{0}C. After 4.0 hours of reaction, a production of AR was obtained, which was quantified by the DNS method. The result corresponds to an advance in relation to the data available in the literature.

KEYWORDS: Enzymatic hydrolysis. Ultrasonic waves. Rice. Amylase.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oriza sativa L.)* é o segundo cereal mais cultivado no mundo e um dos alimentos mais importantes para a nutrição humana, é constituído principalmente por amido, apresentando quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas (Sosbai, 2016; Zhou et al., 2002). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, em 2018/19 a safra nacional foi de 10,4 milhões de toneladas de arroz, sendo estimado para a safra 2019/20 uma produção de 11,1 milhões de toneladas (CONAB, 2020).

O arroz é consumido principalmente em sua forma branca polida e tem como subproduto o farelo de arroz, que corresponde a cerca de 10% da massa do grão de arroz integral. A indústria de arroz extrai a fração lipídica do farelo e tem como resultado o farelo de arroz desengordurado (FAD), que é utilizado na fabricação de rações para alimentação animal ou para a produção de fertilizante orgânico. A composição do FAD consiste em aproximadamente 13,34% de proteínas, 40,08% de carboidratos (principalmente amido), 21,82% de lipídeos, 16,99% de fibras alimentares e 7,76% de teor de cinzas (Canan et al. 2011; Lacerda et al., 2010).

O amido presente no FAD não é passível de fermentação, sendo necessário realizar a hidrólise prévia de suas cadeias para a obtenção de açúcares fermentescíveis, ou seja, a hidrólise do amido resulta na liberação de açúcar redutor, essencial em fermentações. Os açúcares redutores liberados a partir do amido podem ser utilizados para produção de etanol ou ácido acético (vinagre) (Bringhenti; Cabello, 2005).

Scipioni (2011) otimizou a hidrólise do amido, utilizando amido de batata, onde o amido foi hidrolisado pela ação da enzima α-amilase (EC 3.2.1.1) a 90 °C, pH de 5,5 a 6,0 por 120 minutos, seguido por ação da enzima amiloglucosidase (EC 3.2.1.3) a 60 ^{0}C pH 4,0 por 240 minutos. Embora a hidrólise enzimática tenha sido eficiente, este processo requer duas etapas de hidrólise enzimática, ajustes de pH e temperatura em cada etapa.

A utilização do ultrassom (US) em tecnologia de alimentos é uma alternativa sustentável que oferece grandes vantagens em termos de produtividade, rendimento e seletividade, com redução do tempo de processamento, melhoria da qualidade e garantia da segurança de alguns produtos alimentícios. A utilização de ultrassom em reações de hidrólise pode ser uma ferramenta simples e importante no controle de agregação e/ou dispersão de partículas. Em reações enzimáticas o US é uma boa ferramenta a ser utilizada, podendo perturbar ligações fracas; a cavitação gerada no meio reacional provoca agitação e pode facilitar o encontro da enzima com o substrato, além de induzir a mudanças conformacionais na estrutura das proteínas (Babicz, 2009; Chemat; Zill-E-Huma; Khan, 2011).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar a hidrólise enzimática do farelo de arroz em uma única etapa, utilizando simultaneamente as enzimas □-amilase e amiloglicosidase (AMG), aplicando ultrassom de baixa frequência no meio,

visando reduzir o tempo de hidrólise e aumentar a liberação de açúcares redutores.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se farelo de arroz desengordurado (FAD) gentilmente cedido pela Indústria Riograndense de Óleos Vegetais (Pelotas-RS), que foi processado em moinho de facas até obter partículas inferiores a 1,2 mm.

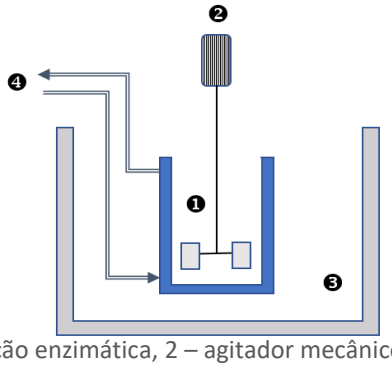
As enzimas utilizadas foram a α-amilase termoestável (Termamyl 2X, Novozymes) e amiloglucosidade (AMG 300L), fornecidas pela empresa LNF – Latino Americana (Bento Gonçalves-RS).

Para quantificar os açúcares redutores preparou-se o reagente DNS, dissolvendo em 600 mL de água destilada: 10 g de hidróxido de sódio, 192 g de sal de Rochelle (tartarato duplo de sódio potássio), 10 g de ácido 3,5 dinitrossalicílico (adicionado lentamente e agitando), e completado o volume da solução para 1,0 L (Ghose, 1987).

A curva de calibração (concentração açúcares redutores em função da absorbância) foi construída com soluções padrão de glicose na faixa de 0,5 a 10,0 $g.L^{-1}$. Em tubos de ensaio adicionou-se 3,0 mL do reagente e 1,0 mL das soluções padrão de glicose, agitou-se e levou-se a ebulição por 10 minutos, resfriou-se em banho de gelo e completou-se o volume da mistura para 25 mL, efetuou-se agitação e mediu-se a absorbância à 540 nm.

Após ensaios prévios determinou-se a seguinte execução do experimento: Acoplou-se um reator de vidro encamisado a um banho termostatizado à 60 ^{0}C, e este foi imerso em banho de ultrassom (Elmasonic, modelo P 120 H, Alemanha), onde utilizou-se 70% da potência do equipamento e frequência de 37 kHz (Figura 1). Adicionou-se 30 g de FAD em 150 mL água destilada com pH 6,0 (ajustado com solução de ácido cítrico 0,1 M), e o meio reacional foi submetido a agitação mecânica à 50 RPM. Assim que a temperatura se estabilizou em 60 ^{0}C, adicionou-se simultaneamente 600 ⍰L de ⍰-amilase e 1200 ⍰L de AMG, realizando a hidrólise por 1,0 hora. Decorrido o tempo reacional, mergulhou-se o reator em banho de gelo para rápido resfriamento do meio reacional, e centrifugou-se seu conteúdo à 3500 RPM por 15 minutos à 4 ^{0}C. No sobrenadante quantificou-se os açúcares redutores produzidos em função do tempo de reação (0, 2, 3, 4 horas) utilizando o método DNS, utilizando como controle, amostra de FAD não hidrolisada.

Figura 1 – Reator de hidrólise enzimática em banho ultrassônico

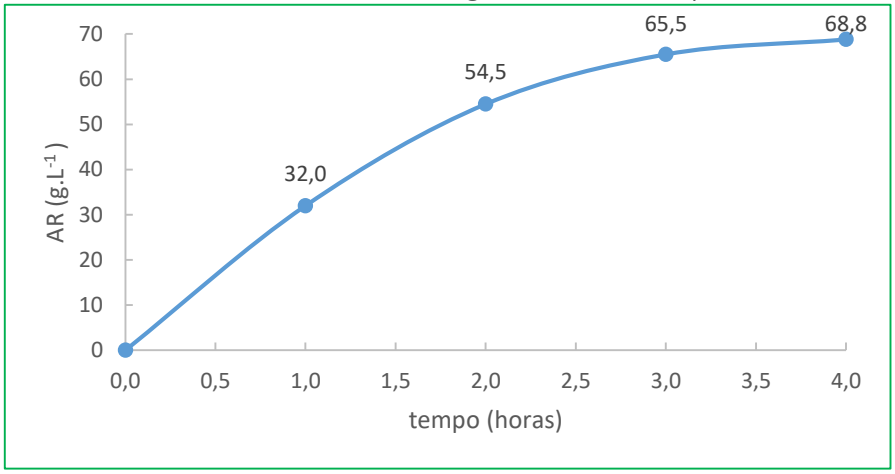


1 – meio da reação enzimática, 2 – agitador mecânico, 3 – banho ultrassônico, 4 – entrada e saída de água de aquecimento. Fonte: Autoria própria (2020).

RESULTADO E DISCUSSÕES

Os resultados da hidrólise enzimática assistida por ultrassom em função do tempo de hidrólise podem ser observados na figura 2.

Figura 2 – Produção de açúcares redutores (AR) em função do tempo de hidrólise enzimática do farelo de arroz desengordurado, assistida por ultrassom.



Fonte: Autoria própria (2020).

Observa-se que a reação enzimática praticamente se estabiliza após 4,0 horas (Figura 2) com uma produção de AR de 68,8 $g.L^{-1}$, considerando que utilizou-se 30 g de FAD em 150 mL de água (200 g de $FAD.L^{-1}$), portanto, fazendo a razão entre a concentração de AR e concentração de FAD, temos 0,34 g de AR . $(g\ de\ FAD)^{-1}$. Deve-se ressaltar que o processo todo foi realizado em pH 6,0 e temperatura de 60 ^0C em uma única etapa.

Os pesquisadores Devi et al. (2012) que trabalharam anteriormente com hidrólise de amido de farelo de arroz, efetuaram hidrólise enzimática do FAD em duas etapas, necessitando de 4,5 horas para a hidrólise, além dos tempos não reportados para ajuste de pH e temperatura, e neste processo obteve-se 0,26 g de $AR.(g\ de\ FAD)^{-1}$.

Zabotti (2014) efetuou hidrólise enzimática de FAD em duas etapas, também ajustando pH e temperatura em cada etapa, utilizando 5 horas para fazer toda a hidrólise, sem contabilizar o tempo de ajuste do pH e temperatura, e como resultado também obteve 0,26 g de $AR.(g\ de\ FAD)^{-1}$.

CONCLUSÕES

O processo de hidrólise enzimática de amido que é comumente reportado na literatura como em duas etapas, onde se faz necessário ajustar pH e temperatura em cada etapa, pode ser substituído por um processo em uma única etapa reduzindo tempo de reação, e com aumento no rendimento da reação de hidrólise.

AGRADECIMENTOS

À Indústria Riograndense de Óleos Vegetais (IRGOVEL) pelo fornecimento do farelo de arroz desengordurado, e para a LNF – Latino América pela doação das enzimas utilizadas no trabalho. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Universidade Tecnológica Federal do Paraná/Brasil.

REFERÊNCIAS

BRINGHENTI, L.; CABELLO, C., Qualidade do álcool produzido a partir de resíduos amiláceos da agroindustrialização da mandioca. **Revista Energia na Agricultura**, UNESP, Botucatu-SP, vol 20, n.4, p. 36-52, 2005.

CANAN, C. et al. Studies on the extraction and purification of phytic acid from rice bran. **Journal of Food Composition and Analysis**, 24(7), 2011. p.1057–1063.

CHEMAT F., ZILL-E_HUMA, KHAN M. K., Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemestry**. 2011. p.813–835. Disponível em: https://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023. Acesso em: 30/08/2020.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos safra 2019/2020**. Brasília, 2020. p. 31. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos. Acesso em: 30/08/2020.

DEVI, E.; VIJAYENDRA, S. V. N.; SHAMALA, T. R. Exploration of rice bran, an agro-industry residue, for the production of intra- and extra-cellular polymers by Sinorhizobium meliloti MTCC 100. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 80–84, 2012. Disponível em: https://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2011.08.014.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure and applied Chemistry**, v. 59, n. 2, 1987. p. 257–268.

SOSBAI (Sociedade Sul Brasileira de Arroz Irrigado). **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, 2016. p. 198-200. Disponível em https://irga.rs.gov.br/arroz-irrigado-recomendacoes-tecnicas-da-pesquisa-para-o-sul-do-brasil. Acesso em: 30/08/2020.

LACERDA, D.B.C.L. et al. Qualidade De Farelos De Arroz Cru, Extrusado E Parboilizado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 40(4), 2010. p. 521–530.

ZABOTTI, C. **Parâmetros de hidrólise enzimática de farelo de arroz para produção de etanol de segunda geração**. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Alimentos, 64 p. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira-PR, 2014.

ZHOU, Z. et al. Composition and functional properties of rice**. International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.849-868, 2002. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/cr/v38n4/a49v38n4.pdf. Acesso em: 30/08/2020