PRODUÇÃO DE AMIDO MICRO-POROSO A PARTIR DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E TRATAMENTO DE ULTRASSOM

Letícia da Luz Wosgrau (PIBIC/UEPG), Ivo Mottin Demiate (Orientador), e-mail: demiate@yahoo.com
Universidade Estadual de Ponta Grossa/ DEA – Departamento de Engenharia de Alimentos.

Ciência e Tecnologia de Alimentos 5.07.00.00-6

Palavras-chave: amido, micro-poros, tratamentos, glucoamilase, ultrassom.

Resumo

A utilização de tratamentos, como hidrólise enzimática e ultrassom, favorecem a formação de micro-poros no amido, fazendo com que aumente sua capacidade adsorvente, o que torna essa matéria prima desejável para utilização como veículo adsorvente de vários compostos tendo grande importância na indústria de alimentos. Assim, neste projeto, aplicou-se a hidrólise enzimática e o tratamento de ultrassom para a produção de micro-poros, sendo que, primeiramente, os tratamentos foram realizados isoladamente, e, posteriormente, combinados. Para a caracterização dos amidos obtidos foram realizadas as análises: quantidade de carboidratos solúveis no sobrenadante utilizando o método fenol-sulfúrico; rendimento; microscopia eletrônica de varredura, para verificar a morfologia dos grânulos; propriedades de pasta com uso do Rápido Visco-Analisador RVA 4 e difração de raios x, para verificar a cristalinidade relativa e o padrão cristalino dos grânulos. O feijão foi a fonte botânica mais resistente aos tratamentos, o que pode ser observado por imagens de microscopia eletrônica de varredura e também pelos resultados obtidos nas análises de rendimento e quantidade de carboidratos no sobrenadante.

Introdução

O amido é um carboidrato de reserva do reino vegetal, armazenado e sintetizado pelas plantas, na forma de pequenos grânulos semicristalinos, insolúveis em água, à temperatura ambiente (SANTOS, 2011). Em suas condições naturais, esse polissacarídeo apresenta capacidade adsorvente limitada. Assim, tratamentos como, hidrólise enzimática e ultrassom favorecem a formação de micro-poros nos grânulos microscópicos desse polissacarídeo, favorecendo a adsorção de substâncias e assim ampliando seu campo de aplicação na indústria de alimentos.

O tratamento com ultrassom amplifica e transmite vibrações de alta energia para a amostra. Estas vibrações promovem a formação de cavidades cheias de gás ou de vapor que diminuem a pressão do sistema e quando entram em colapso, aumentam a pressão novamente. Esse fenômeno é chamado de cavitação (PINTO, 2014). A modificação enzimática de amidos se trata de uma hidrólise por ação específica de enzimas que ocorre preferencialmente na região amorfa (PINTO, 2014).

Esses tratamentos têm sido usados para a produção de nanocristais de amido. Para sua obtenção, o amido necessita de uma hidrólise ácida, que promove a remoção das regiões amorfas e a ruptura das regiões semicristalinas presentes no grânulo. Esse processo, porém, demora de cinco a sete dias e utiliza ácido forte com uma concentração elevada para que seja eficiente (PINTO, 2014; KIM; PARK; LIM, 2015).

A modificação do amido antes da produção de um nanocristal se tornou uma alternativa para que esse procedimento pudesse ocorrer em períodos mais curtos (MAJZOOBI et al., 2015).

Os objetivos específicos do trabalho foram realizar a hidrólise enzimática do amido utilizando a enzima glucoamilase, o tratamento do grânulo com ultrassom e o uso dos dois processos combinados, para promover a formação de micro-poros nos grânulos. A caracterização do processo e dos amidos obtidos foi feita pela quantidade de carboidratos solúveis no sobrenadante da hidrólise, cálculo do rendimento, microscopia eletrônica de varredura, propriedades de pasta e difração de raios X.

Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Centro de Tecnologia Agroalimentar – CTA do campus Uvaranas da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Para os pré-tratamentos uma suspensão contendo 12 g de amido e 20 mL de solução tampão (Na2HPO4 – ácido cítrico pH 4,0) foi preparada. No processo, envolvendo a ação de enzimas amilolíticas, empregou-se a glucoamilase, cuja atividade enzimática era ≥260 U/mL, (0,05% v/v). A suspensão foi mantida sob agitação durante cinco horas a 40ºC. Ao finalizar-se a reação, NaOH foi adicionado para cessar a hidrólise. No tratamento utilizando o ultrassom, a mesma solução de amido e tampão foi submetida a um processo ultrassônico a 500W (40%), durante 50 minutos, em uma temperatura de 40ºC. Na combinação dos dois processos, o amido foi tratado com a glucoamilase e o ultrassom, concomitantemente, nas mesmas condições descritas acima (WU et al., 2011).

Considerando as análises para caracterização do amido micro-poroso obtido, foram realizadas análises de quantificação dos carboidratos solúveis resultantes da hidrólise no sobrenadante, após hidrólise enzimática, pelo método de fenol - ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). O rendimento foi determinado considerando as massas iniciais e finais de amido. O perfil viscoamilográfico das amostras foi obtido a partir da utilização de um “Rápido Visco-analisador RVA 4” (RVA-4 (Newport Scientific Pvt. Ltd., Narabeen, Austrália) (DEMIATE, et al., 2005). A morfologia dos grânulos de amido foi examinada a partir de um microscópio eletrônico de varredura (Tescan, VEGA 3, Kohoutovice, República Checa). A análise de difração de raios X foi empregada de acordo com Beninca et al. (2008), em um equipamento Rigaku Ultima IV (Rigaku, Tóquio, Japão).

A análise estatística incluiu a ANOVA ($p<0,05$) e o teste de Fisher ($p<0,05$) aplicados aos resultados obtidos a partir de triplicatas, com uso do *software* Statistica versão 13.2 (Tibco, Palo Alto, EUA).

Resultados e Discussão

Os rendimentos, calculados a partir das porcentagens de solubilização dos grânulos com os tratamentos, apresentaram os menores valores para os tratamentos enzimáticos, sendo eles 82,0%, 75,5% e 74%, para feijão, milho e mandioca, respectivamente. Levando-se em conta as fontes de amido, a que resultou no menor rendimento foi o obtido da mandioca. O contrário ocorreu para o feijão, com um maior rendimento.

A quantificação de carboidratos solúveis no sobrenadante, feita através do método Fenol – Sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), determinou o quanto de carboidratos (amido) foi hidrolisado após cada tratamento. Para todas as fontes botânicas

envolvidas, o tratamento de ultrassom foi o que apresentou os menores valores de carboidratos no sobrenadante, seguido do tratamento enzimático e do tratamento concomitante entre ultrassom e hidrólise enzimática. Com isso, pode-se concluir, que com o tratamento duplo houve uma maior hidrólise do amido em relação aos outros dois tratamentos realizados separadamente.

As mudanças de viscosidade em relação ao tempo e temperatura foram analisadas com o Rápido Visco-Analisador (RVA). Ao serem comparados os picos de viscosidade dos amidos modificados com os nativos, pode-se observar que para os amidos de feijão e de milho, os nativos obtiveram um valor mais elevado, enquanto para a mandioca, ocorreu o contrário: as amostras modificadas tiveram picos de viscosidade maiores que o do nativo. As viscosidades *setback* do amido de feijão e de milho diminuíram com os tratamentos; para o amido de mandioca, esse comportamento foi oposto, aumentando tanto a o pico de viscosidade quanto a viscosidade *setback* depois de realizados os tratamentos. Entre a mesma fonte, praticamente não houve diferenças significativas, com exceção da mandioca, em relação ao pico de viscosidade e quebra (*breakdown*).

A análise de microscopia eletrônica de varredura permite que as estruturas dos grânulos possam ser analisadas com mais detalhes, revelando suas formas, tamanhos, presença ou não de poros, incluindo seus tamanhos e disposições. Ao analisar as imagens, foi possível perceber que a formação dos micro-poros foi mais evidente no amido de milho, o que pode ser explicado pelo padrão cristalino (tipo A) desse amido que o torna mais susceptível ao ataque enzimático (HIZUKURI, 1985). A fonte botânica que foi menos suceptível aos tratamentos foi o feijão, que apresentou apenas alguns microporos em sua estrutura e de tamanhos reduzidos. Esse fator pode estar relacionado ao padrão cristalino tipo C do amido de feijão que é menos suceptível à hidrólise (HIZUKURI,1985).

A difratometria de raios X é utilizada para estudar as diferenças entre os comportamentos cristalinos dos amidos, podendo ser classificados entre tipos A, B ou C (ZOBEL et al., 1988). Ao calcular o índice e cristalinidade para cada tipo de amido e construir seus respectivos gráficos (Ângulo de difração X Intensidade), ilustrados na Figura 1, percebeu-se que os amidos de feijão mantiveram o padrão cristalino tipo C mesmo após os tratamentos. Nos amidos de milho e de mandioca o padrão cristalino tipo A foi preservado.

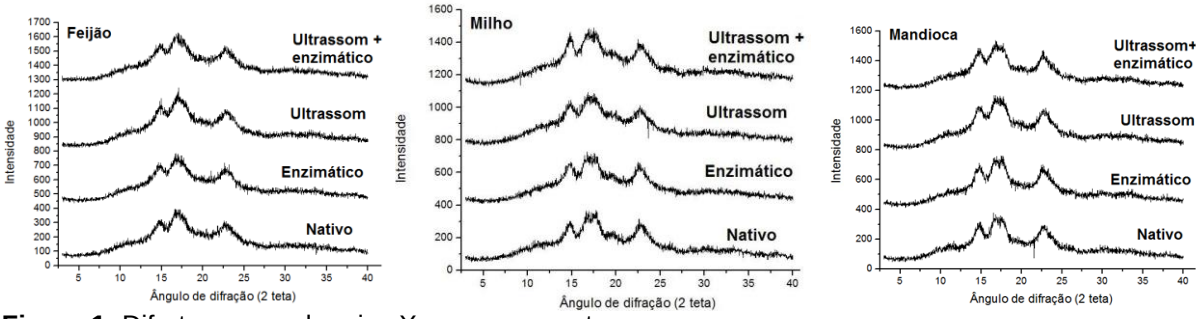


Figura 1- Difratogramas de raios X para as amostras.

Conclusões

O amido de mandioca submetido aos tratamentos para formação de micro-poros nos grânulos apresentou maior susceptibilidade à hidrólise, se considerado o rendimento. O inverso pode ser concluído para o amido de feijão.

Em relação à formação de micro-poros, considerando-se os resultados da microscopia eletrônica de varredura, a fonte de amido em que o resultado foi mais bem observado foi o milho, seguido do de mandioca e de feijão.

Os tratamentos podem alterar a cristalinidade relativa dos grânulos, tendo em vista que a enzima irá degradar mais rapidamente as frações amorfas.

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate por compartilhar do seu conhecimento diariamente comigo. À minha co-orientadora Taiana Gomes Daniel por me auxiliar durante esse projeto. À Universidade Estadual de Ponta Grossa pela estrutura, apoio e materiais fornecidos e pelo suporte financeiro.

Referências

BENINCA, C.; DEMIATE, I. M.; LACERDA, L. G.; CARVALHO FILHO, M. A. D. S.; IONASHIRO, M.; SCHNITZLER, E. Thermal behavior of corn starch granules modified by acid treatment at 30 and 50 C. **Eclética Química**, v. 33, n. 3, p. 13-18, 2008.

DEMIATE, I. M; WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P.; MESTRES, C. Viscographic characteristics of chemically modified cassava starches assessed by RVA. **Publicatio UEPG – Ciências Agrárias**, **n**, v. 11, n. 1, p. 7-17, 2005.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

HIZUKURI, S. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. **Carbohydrate Research**, v. 141, p. 295-306, 1985.

KIM, H. Y.; PARK, S. S.; LIM, S. T. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, n.1, p. 607-620, 2015.

LEÃES, E. X. **Efeito do ultra- som na atividade de enzimas amilolíticas e sobre a eficiência de hidrólise de amido de mandioca**, 2012, 81f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, área de concentração em desenvolvimento de projetos agroindustriais e ambientais) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

MAJZOOBI, M.; HEDAYATI, S.; FARAHNAKY, A. Functional properties of microporous wheat starch produced by alpha-amylase and sonication. **Food Bioscience**, v. 11, p. 79–84, 2015.

PINTO, V. Z. **Pré-tratamentos na produção de nanocristais de amido de pinhão e feijão**, 2014, 125f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

SANTOS, A. E. F**. Estudo de filmes biodegradáveis de amido de milho modificados por plasma de SF6, e acetileno**, 2011, 108f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

WU, Y.; DU,X.; GE,H.; LV,Z. Preparation of microporous starch by glucoamylase and ultrasound. **Starch/ Stärke**, v.36, p.217-225, 2011.

ZOBEL, H. F, YOUNG, S. N, ROCCA, L. A. Starch Gelatinization: an X-ray Diffraction Study. **Cereal Chemistry**, v.65, p. 443-446, 1998.