

HIDRÓLISE DE AMIDO DE MANDIOCA POR AMILOGLICOSIDASE

Joiciana Cardoso Arruda Souza¹; Ernesto Acosta Martinez²; Jéssica Franco Freitas Macena³, Rita de Cássia de Souza⁴; Giovani Mafra de Carvalho⁵; José Ailton Conceição Bispo⁶

1. Bolsista PEVIC, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: joicycas@hotmail.com

2. Orientador, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:ernesto.amartinez@yahoo.com.br

3,4. Participantes do projeto, Graduandos em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: jel_freitas@hotmail.com; rita_shalon@hotmail.com

5,6. Participantes do projeto, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gbmafra@yahoo.com.br; ailton_bispo@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: amido, enzima, açúcares redutores.

INTRODUÇÃO

O amido é um carboidrato encontrado em abundância na natureza só competindo em quantidade com a celulose. É composto por dois tipos de molécula, a amilose e amilopectina, que são arranjadas num grânulo de tamanho particular relativamente insolúvel em água. Devido a suas propriedades físico-químicas e funcionais exclusivas, este carboidrato tem grande importância nos mais diversos setores industriais. Pode ser utilizado na sua forma natural ou pode, através de processamentos, dar origem a produtos como amidos modificados, xaropes de glicose, maltose ou frutose e maltodextrinas (Franco *et al.*, 2001; Sanabria, 2010).

A mandioca é uma raiz tuberosa da família *Euphorbiaceae*, rica em amido e muito consumida na dieta brasileira. É uma cultura que pode ser encontrada em toda extensão do território nacional, tanto em terras de alta fertilidade, como é o caso do sul do país, como no semi-árido, em algumas regiões do Nordeste. O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de mandioca, a produção anual, conforme o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, foi de 27,3 milhões de toneladas em 2010 (Ibge, 2010). O mercado de amido vem crescendo e se aperfeiçoando nos últimos anos, levando à busca de produtos com características específicas que atendam as diferentes exigências (Vilpoux, 1998).

O processo de transformação do amido da mandioca em açúcares fermentescíveis envolve inicialmente a etapa de aquecimento da suspensão de amido para a sua gelatinização, a fim de facilitar a ação das amilases (Santana, 2007). O processo de hidrólise pode ser feito de forma ácida ou enzimática, sendo a última a que apresenta maiores vantagens. A hidrólise pode ser desenvolvida pelas enzimas α -amilases e glicoamilases as que podem ser de origem animal, vegetal ou microbiana (Santana, 2007; Koblitz, 2008). Durante o processo as enzimas podem sofrer uma perda progressiva da sua atividade catalítica devido a fatores como inibição pelo acúmulo do produto final da hidrólise no meio racional e inativação ou desnaturação devido ao efeito prolongado da temperatura e agitação (Ramos, Saddler, 1994). Este processo pode ser influenciado por variáveis do processo tais como concentração de enzima, concentração de substrato, pH, temperatura, agitação, tempo de reação as quais podem interferir na eficiência do processo de hidrólise, inibindo ou acelerando a velocidade de reação (Kaya *et al.*, 2000). O plano inicial do projeto previa o uso das duas enzimas, porém a α -amilase apresentou perda de atividade devido ao tempo de validade não tendo tempo hábil para efetuar a sua aquisição. Este trabalho objetiva estudar o processo de hidrólise de fécula de mandioca por amiloglicosidase para a obtenção de licores contendo açúcares redutores.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Processo de gelatinização: A gelatinização das soluções de fécula de mandioca foi realizada na temperatura de 80°C durante 30 min. As soluções foram preparadas usando tampão pH 6,0.
2. Hidrólise da fécula de mandioca em açúcares fermentáveis: No processo de hidrólise de fécula de mandioca (20 e 60 g/L) foi analisado o efeito da concentração inicial (5, 25 e 50 µL) de amiloglicosidase (*Aspergillusniger*, Sigma) na produção de açúcares fermentescíveis. Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyer de 500 mL agitados em agitador rotatório Tecnal TE-420 Incubadora a 200 rpm, na temperatura de 55 °C durante 60 min. Durante a hidrólise foram retiradas amostras que foram estocadas em Eppendorfe colocadas em banho de gelo. Os ensaios foram realizados em triplicata.
3. Análises físico-química: Os açúcares redutores foram determinados pelo método de Nelson (1944). O °Brix por refratômetro, pH em pHmetro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi obtida a curva padrão de açúcares redutores para glicose (Absorbância=0,0024*CAR-0,0086; $R^2 = 0,9871$) utilizando o método de Nelson. Nesta equação CAR é a concentração de açúcares redutores expressada em g/L.

Na Figura 1 observam-se os perfis de concentração de açúcares redutores durante a hidrólise de fécula de mandioca nas concentrações iniciais de 20 e 60 g/L usando diferentes concentrações iniciais de amiloglicosidase (5, 25 e 50 µL). Verifica-se que, o processo de hidrólise com concentrações enzimáticas iguais a 5 e 25µL conduz a hidrolisados contendo açúcares redutores em concentrações que variaram entre 2,7 e 5,1 g/L independentemente da concentração inicial de substrato. Entretanto, nas condições de maior concentração enzimática inicial (50 µL) o aumento da concentração inicial de substrato de 20 para 60 g/L produziu um aumento de 2,2 vezes na concentração de açúcares redutores (8 g/L para 18 /L). Segundo Evangelista (1987), a amiloglicosidase catalisa a hidrólise de amido através dos terminais não redutores do amido. Esta enzima exerce sua ação sobre as cadeias longas do amido, hidrolisando suas uniões α -1,6 e α -1,3 e, mais tardiamente a α -1,4 características que tornam esta enzima industrialmente importante. Como detalhe especial a glicoamilase possui pequena fração de α -amilase que exerce com ela efeito sinérgico. Ismail *et al.* (2008) estudaram o processo de hidrólise termo-enzimática da fécula de mandioca por α -amilase (na liquefação a 70 °C) e amiloglicosidase (na sacarificação a 80 °C). Estes autores reportaram a maior produção de glicose (204,5 g/L) a partir de soluções contendo 30% de fécula de mandioca e pela adição de 0,25% de amilase e 0,15% de amiloglicosidase.

Os maiores valores da produtividade em açúcares redutores (18,2 e 8,2 g/Lh), foram obtidos utilizando a maior concentração enzimática nas concentrações de fécula de mandioca iguais a 60 e 20 g/L, respectivamente. Por outro lado, com o uso da menor concentração enzimática foi verificada a inibição da atividade enzimática sendo que o aumento da concentração inicial de fécula de mandioca de 20 para 60 g/L produziram um decréscimo da produtividade volumétrica de 4,1 para 2,7 g / Lh (Figura 2). Sanromán *et al.* (1996) e Morales *et al.* (2008) incluíram a inibição de amiloglicosidase por altas concentrações iniciais de amido e de fécula de mandioca, respectivamente.

Os ensaios foram realizados a 55 oC temperatura na que a enzima poderia aumentar a sua atividade sem uma redução excessiva na estabilidade (Darkono *et al.*, 1989).

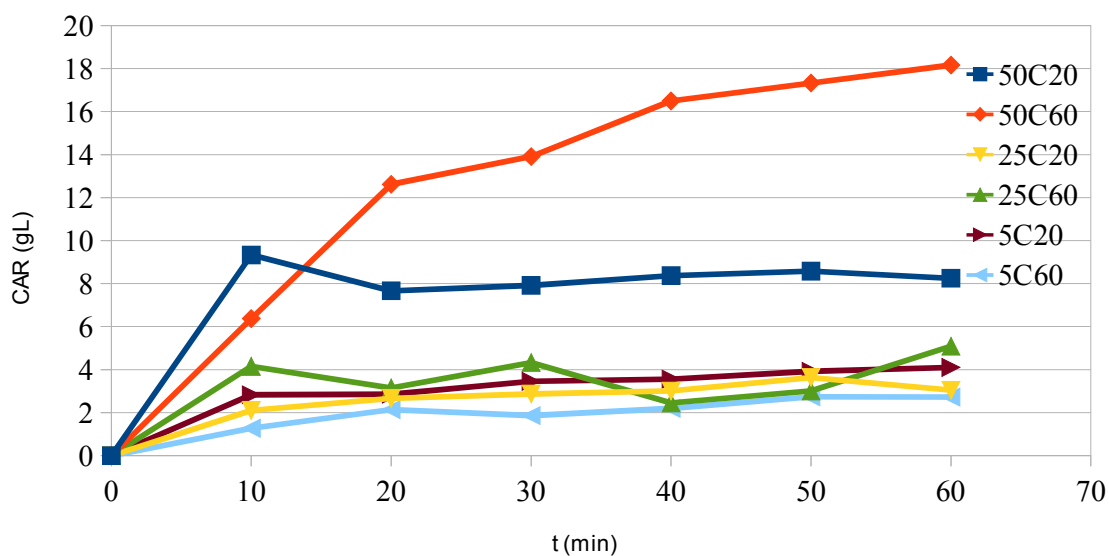


Figura 1. Perfil de concentração de açúcares redutores durante o processo de hidrólise da fécula de mandioca (20 e 60 g/L) por amilglicosidase (5, 25 e 50 μ L) nas condições de pH 6,0 e 55 $^{\circ}$ C.

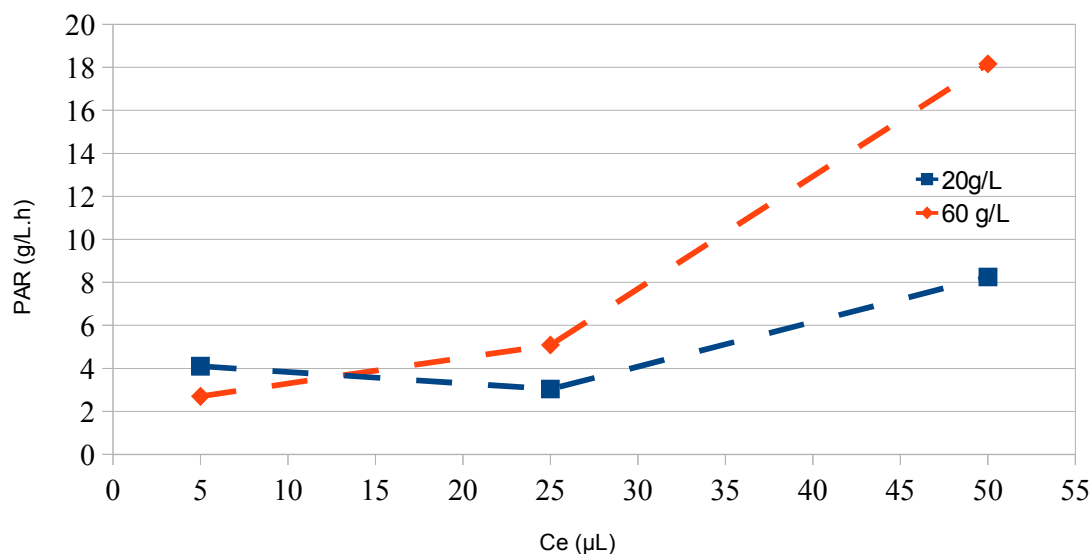


Figura 2. Produtividade volumétrica em açúcares redutores obtida na hidrólise de fécula de mandioca (20 e 60 g/L) em diferentes concentrações iniciais de amilglicosidase (5, 25 e 50 μ L) nas condições de pH 6,0 e 55 $^{\circ}$ C.

CONCLUSÕES

Maiores valores da produtividade volumétrica em açúcares redutores podem ser obtidos nas condições de maior concentração de enzima inicial e maior concentração de fécula de mandioca. Por outro lado, concentrações elevadas de substrato produziram um efeito inibitório da atividade enzimática nas condições de menor concentração inicial de amilglicosidase.

REFERÊNCIAS

DARKONO, D.; CHERYAN, M.; ARTZ, W. E. 1989. Saccharification of cassava starch in an ultrafiltration reactor. *Enzyme Microbial and Technology*, v.11, p.154-159.

- EVANGELISTA, J. 1987. *Tecnologia de Alimentos*. Livraria Atheneu.
- FRANCO, C. M. L. et al. 2001. *Propriedades gerais do amido*. Coord.: Marney Pascoli Cereda – Campinas: Fundação Cargill, v.1, p.:i1 – Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas.
- ISMAIL, K. K. S.; AHMAD, A. A.; INBA, T.; KASIM, K. F.; DAUD, Z. M. 2008. *Thermo-enzymatic hydrolysis of cassava starch by α -amilase and amyloglucosidase*. In: Proceedings of MUCET. 2008. Malaysian Technical Universities on engineering and Technology, March 15-16, Malaysia.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. 2010. *Levantamento sistemático da produção agrícola - LSPA*. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 28 de Abril de 2012
- KAYA, F.; HEITMANN, J. A.; JOYE, T. W. 2000. Influence of lignin and degradation products on enzymatic hydrolysis of xylan. *Journal of Biotechnology*, v.66, p.241-247.
- KOBLITZ, M. G. B. 2008. *Bioquímica de Alimentos: Teoria e aplicações praticam*. Rio de Janeiro. RJ: GEN
- MORALES, S.; ALVAREZ, H.; SANCHEZ, C. 2008. Dynamic models for the production of glucose syrups from cassava starch. *Food and Bioproducts Processing*, v.86, p.25-30.
- NELSON, N. A. 1944. Photometric adaptation of the Somogy method for determination of glucose. *Journal Biology Chemistry*, v.153, p.357.
- RAMOS, L. P., SADDLER, J. N. 1994. Enzyme recycling during ed-batch hydrolysis of cellulose derived from steam-exploded *Eucalyptus viminalis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.45/46, p.193-207.
- SANABRIA, G. G. R. 2010. Propriedades físico-químicas do amido isolado, estudo de parâmetros enzimáticos durante o armazenamento e caracterização de enzimas amilolíticas em raízes de maca (*Lepidium meyenii walp*), 115 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SANROMAN, A.; MURADO, M.; LENA, J. 1996. The influence of the substrate structure on kinetics of the hydrolysis of starch by glucoamylase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.60, N.2, p.329-336.
- SANTANA, N. B. 2007. *Eficiência da hidrólise de amido de mandioca por diferentes fontes de enzimas e rendimento da fermentação alcoólica para produção de etanol*. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Out.
- VILPOUX, O. 1998. *Amidos adaptados ao uso nas indústrias de alimentos*. Fax/Jornal CERAT/UNESP, Botucatu, n.70, p.1-2.