

HIDROLISE ENZIMÁTICA DE AMIDO DE MANDIOCA PARA SUA UTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE LICOR FERMENTADO SABORIZADO COM FRUTAS REGIONAIS

Rita de Cássia de Souza¹; Ernesto Acosta Martinez²; Jéssica Franco Freitas Macena³, Joiciana Cardoso Arruda de Souza⁴; Giovani Brandão Mafra de Carvalho⁵; Cristina Maria Rodrigues da Silva⁶

1. Bolsista FAPESB, Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: rita_shalon@hotmail.com

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

3. Participante do projeto, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: jel_freitas@hotmail.com

4. Participante do projeto, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: joicycas@hotmail.com

5. Participante do projeto, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gbmafra@yahoo.com.br

6. Participante do projeto, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: cri.cristina@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: amido; enzimas; amiloglicosidase.

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-química se 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 em 2010, conforme levantamento de abril do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) foram de 27,3 milhões de toneladas. 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).

A produção de bebidas alcoólicas com base em matérias-primas ricas em amidos data de muitos séculos. A escolha da matéria-prima leva em conta a exploração das potencialidades de recursos disponíveis em cada lugar, e os hábitos alimentares de cada região (Abam, 2006). As leveduras não são capazes de fermentar amido, pois não possuem amilases. Em consequência, antes da fermentação, é indispensável uma etapa de sacarificação para obter glicose e maltose (além de maltodextrinas); esses sim, açúcares fermentáveis por leveduras alcoólicas (Koblitz, 2008). 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. Esta hidrólise é desenvolvida pelas enzimas α -amilases e glicoamilases, que podem ser de origem animal, vegetal ou microbiana (Koblitz, 2008; Santana, 2007). O trabalho teve como objetivo estudar o processo de hidrólise de fécula de mandioca por amiloglicosidase para obter um hidrolisado rico em açúcares redutores que servira como

matéria prima para a produção de um licor fermentado saborizado com frutas da região nordestina.

MATERIAIS E MÉTODOS

A fécula de mandioca foi obtida em uma feira local na cidade de Feira de Santana. O produto foi armazenado em geladeira até o seu uso.

As soluções de fécula de mandioca, em soluções tampão nos diferentes pH, foram inicialmente gelatinizadas na temperatura de 80°C durante 30 min. Os ensaios hidrólise utilizando 50 µL de amiloglicosidase (*Aspergillusniger*, Sigma) foram realizados segundo um planejamento estatístico fatorial 2³ com três repetições do ponto central para verificar a influência dos fatores temperatura (55, 35 e 45°C), concentração de fécula de mandioca (20g/L, 45 g/L e 70g/L) e do pH (5,0; 6,0 e 7,0) na produção de açúcares fermentáveis. A Tabela 1 apresenta a matriz experimental (Rodrigues, Iemma, 2009). Os ensaios foram realizados em shaker na rotação de 200 rpm durante 60 minutos.

Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial 2³ com três repetições no ponto central dos ensaios de hidrólise de fécula de mandioca por amiloglicosidase.

Ensaio	pH	Cs (g/L)	T (°C)
1	7,0	70	55
2	7,0	70	35
3	7,0	20	55
4	7,0	20	35
5	5,0	70	55
6	5,0	70	35
7	5,0	20	55
8	5,0	20	35
9	6,0	45	45
10	6,0	45	45
11	6,0	45	45

Legenda: Cs: concentração de fécula de mandioca; T: temperatura do processo.

O delineamento fatorial visando verificar a influência do pH, da concentração de substrato e da temperatura sobre a resposta produtividade de açúcares redutores. A análise estatística dos dados foi efetuada empregando-se o programa Statística 7.0.

Durante a hidrólise foram retiradas amostras a cada 10 minutos pelo período de 1 hora, as quais foram estocadas em frascos Eppendorf no freezer e colocadas em banho com gelo.

Os açúcares redutores foram determinados pelo método de Nelson (Nelson, 1944) e as leituras de absorbância a 540 nm em espectrofotômetro Genesy. A concentração de sólidos dissolvidos (°Brix) em refratômetro e o pH em pHmetro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o processo de hidrólise não constatou-se variação significativa nos valores de pH durante o tempo experimental. A concentração de sólidos dissolvidos se manteve constante com valores de 2,5 3,0 e 5,0 °Brix nas soluções com 20, 45 e 70 g/L respectivamente.

Do perfil de concentração de açúcares redutores obtido nos ensaios de hidrólise enzimática constatou-se que, maiores concentrações de açúcares redutores (13-14 g/L) foram obtidos com o uso de menores temperaturas (35 °C) e maior concentração inicial de fécula de

mandioca (70 g/L) independentemente do pH utilizado. Por outro lado, com o uso de maior temperatura e menor concentração de substrato foram obtidos os menores valores de concentração de açúcares redutores iguais a 1 g/L e 4 g/L em pH 7,0 e 5,0 respectivamente. Isto pode indicar um efeito inibitório do pH na atividade da amiloglicosidase.

A Tabela 2 apresenta os valores de produtividade em açúcares redutores nos ensaios realizados em função da concentração inicial de substrato, pH e da temperatura. Verifica-se maiores valores (14,0 a 18,4 g/L.h) foram obtidos nas condições de pH 5,0 e maior concentração inicial de substrato. Por outro lado, menor valor de produtividade (2,4 g/L.h) foi obtido nas condições de pH 7,0, maior temperatura (55 °C) e menor concentração inicial de fécula de mandioca (20 g/L).

Tabela 2. Produtividade em açúcares redutores em função da concentração inicial de substrato, pH e da temperatura.

Ensaio	Produtividade em açúcares redutores (g/L.h)
1	9,90
2	16,70
3	2,40
4	7,48
5	14,04
6	18,44
7	6,57
8	8,08
9	5,17
10	6,14
11	6,49

A análise de variância para a produtividade em açúcares redutores aponta que os efeitos de todas as variáveis independentes são significativos ao nível de 95% de confiança com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,8220. Entretanto, constatou-se que os efeitos das interações não foram significativos. Por outro lado, o efeito da curvatura é significativo ao nível de 95% de confiança com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9953. Logo, o modelo de primeira ordem não é mais adequado para a resposta produtividade. Para este caso que a curvatura é importante os valores independentes dos parâmetros dos termos quadráticos devem ser determinados, necessitando-se, portanto de mais pontos experimentais. A solução será aumentar o planejamento com 6 corridas axiais resultando em um planejamento chamado de composto central.

A Figura 1 apresenta a o efeito das interações entre as variáveis pH, a concentração de fécula de mandioca (B) e a temperatura (C) sobre os valores de produtividade volumétrica em açúcar redutor. O uso de menores valores de pH (5,0) e de temperatura (35°C) assim como de maiores concentrações iniciais de fécula de mandioca (70 g/L) facilitam a obtenção de maiores valores de produtividade volumétrica em açúcares redutores (17.04 g/L.h).

No futuro será necessário realizar os ensaios referentes aos pontos do planejamento composto central, ou seja, executar mais 6 experimentos para obter a superfície de resposta para a produtividade volumétrica em açúcares redutores a partir da hidrólise de fécula de mandioca por amiloglicosidase. Assim poderemos verificar a existência de termos quadráticos no modelo de regressão.

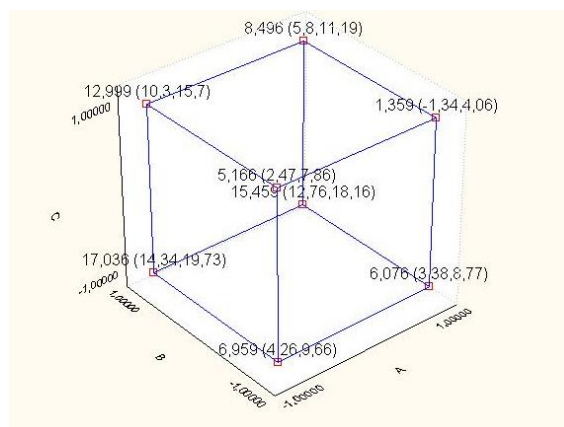


Figura 1. Representação do efeito da interação entre o pH (A), a concentração de fécula de mandioca (B) e a temperatura (C) sobre a produtividade volumétrica em açúcar redutor.

CONCLUSÕES

A fécula de mandioca pode ser utilizada para a obtenção de açúcares redutores através da sua hidrólise usando amiloglicosidase. O uso de pH (5,0) e temperatura mais baixa (35°C) assim como maior concentração inicial de fécula de mandioca (70 g/L) facilitam a obtenção de maior produtividade volumétrica em açúcares redutores sendo a atividade enzimática maior na hidrólise. Será necessário realizar ensaios adicionais para obter um modelo mais adequado que represente a produtividade em função de parâmetros lineares e quadráticos.

REFERÊNCIAS

- ABAM. Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca. *Mandioca para beber*. 2006. Paraná, ANO IV - Nº14- Abril – Junho
- FRANCO, C. M. L. *et al* 2001. *Propriedades do Amido*. In: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, Propriedades Gerais do Amido. Campinas: Fundação Cargill, v.1
- KOBLITZ, M. G. B. 2008. *Bioquímica de Alimentos: Teoria e aplicações praticam*. Rio de Janeiro. RJ: GEN
- NELSON, N. A. 1944. Photametric adapitation of the somogy method for determination of glucose. *J Biolhen*. 159, 357.
- RODRIGUES, M. I.; IEMA, A. F. 2009. *Planejamento de Experimentos e otimização de processos*. 2ª ed. Campinas, S.P. Casa do Espírito Amigo.
- 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 (*Lepidiummeyeniwalp*), 115 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 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.
- VILPOUX, O. 1998. Amidos adaptados ao uso nas indústrias de alimentos. *Fax/Jornal CERAT/UNESP*, Botucatu, n.70, p.1-2.