

Disponibilização Enzimática de Constituintes de Materiais Lignocelulósicos

Annie Campello Telles¹, Náthali Saião Nora¹, Letícia Marcos Gonçalves¹, Larine Kupski¹, Eliana Badiale-Furlong¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande – Escola de Química e Alimentos
Caixa Postal 474 – CEP 96203900 Rio Grande – RS - E-mail: (annie.ctelles@gmail.com)

RESUMO

O trigo durante seu beneficiamento gera o farelo, um material lignocelulósico, que constitui aproximadamente 28% do grão. Este material representa uma valiosa fonte de hemicelulose (23,7%), lignina (3,6%) e celulose (11%), o que lhe confere a característica de possuir baixa digestibilidade e difícil aproveitamento para fins diversos. Uma alternativa para disponibilizar os componentes dessa matriz é a degradação microbiana da celulose ou utilização de um complexo enzimático contendo celulasas produzidas por bactérias ou fungos. Neste trabalho, foi avaliado o tempo de ação de complexo enzimático celulolítico, produzido durante a fermentação em estado sólido por *Rhizopus oryzae*, a fim de aumentar a digestibilidade proteica de farelo de trigo. O complexo extraído do farelo e casca de arroz foi aplicado no farelo de trigo sob condições ótimas (1 hora a 50 °C e 100 rpm) promoveu um aumento de 35,4 % na digestibilidade protéica.

Palavras-chave: Farelo de trigo, celulasas, hidrólise.

INTRODUÇÃO

Os materiais lignocelulósicos, como o farelo de trigo, caracterizam-se pela variabilidade do conteúdo de proteínas e baixa digestibilidade, quando comparado com outras fontes proteicas, o que dificulta sua utilização como alimento no seu estado original. O emprego de tratamentos prévios permite aumentar a sua digestibilidade e disponibilizar os nutrientes presentes nestas matrizes. A maior dificuldade para o aproveitamento dos resíduos lignocelulósicos está representada pela barreira física formada pela lignina, o que também impede o aproveitamento da celulose nativa¹ e de outros compostos ligados a ela para diversos fins industriais.

A degradação microbiana da celulose ou utilização de um complexo enzimático contendo carboidrases, em especial as celulasas produzidas por um espectro de bactérias e fungos, é um caminho aplicável para recuperar estes materiais carbonados² para uso tecnológico.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o tempo de ação de um complexo enzimático celulolítico, produzido durante a fermentação em estado sólido por *Rhizopus oryzae*, a fim de aumentar a digestibilidade proteica de farelo de trigo, visando aplicá-lo em formulações alimentícias.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima

O material lignocelulósico utilizado, farelo de trigo, foi adquirido no comércio local na cidade de Rio Grande/RS. Ele foi preparado com a finalidade de padronizá-lo para a caracterização físico-química. Para isso, foi moído e peneirado obtendo uma granulometria de 0,5 mm.

Composição proximal

A composição proximal do farelo de trigo foi determinada segundo metodologia descrita pela AOAC³. Os carboidratos foram determinados por diferença, diminuindo-se de 100% o somatório dos percentuais de proteínas, lipídeos, cinzas, umidade e fibras.

Fermentação

Farelo e casca de arroz, provenientes das indústrias beneficiadoras da região Sul do Brasil. *Rhizopus oryzae* CCT 7560, proveniente da Coleção de Culturas da Fundação André Tosello, foi mantido em meio Ágar Batata a 4°C e repicado a cada 2 meses. A multiplicação celular foi realizada durante 7 dias a 30°C até a esporulação, para posterior utilização como inóculo no processo fermentativo.

Extração e aplicação do complexo celulolítico

O complexo celulolítico foi extraído da biomassa (casca e farelo de arroz) fermentada com *R. oryzae* CCT 7560⁶. Como solvente extrator, foi utilizada uma solução de NaCl 0,5% (na proporção 1:5 p/v). A mistura foi incubada em estufa a 25 °C durante 30 minutos, centrifugada a 4 °C por 15 minutos a 3.220 x g e filtrada em papel filtro, obtendo-se o extrato enzimático bruto (atividade específica de 0,06 U.mg_{proteína}⁻¹). Ele foi aplicado ao farelo de trigo a 50 °C em mesa agitadora orbital a 100 rpm durante 1, 2 e 3 horas na proporção 1:3 (enzima:celulose). Após, o material hidrolisado foi centrifugado a 3220 x g, por 15 minutos a 4 °C, e o farelo de trigo hidrolisado foi seco em estufa a 105 °C por aproximadamente 90 minutos.

Digestibilidade proteica

A digestibilidade protéica foi determinada no farelo de trigo utilizando as enzimas pepsina e pancreatina, simulando as condições características do trato gastrointestinal⁴.

Em erlenmeyer, 1,0000 g de amostra foi hidrolisado com pepsina (69 U/mg_{proteína}) na proporção 1:10 (enzima:proteína) durante 3 horas a 37 °C e 150 rpm. Após este período, o pH do meio foi neutralizado com NaOH 0,1 N, e foi adicionada solução de pancreatina (60,6 U/mg_{proteína}) na proporção 1:10 (enzima:proteína). A mistura homogeneizada em mesa agitadora orbital a 37 °C para hidrólise durante 24 horas, sendo esta interrompida com aquecimento a 100 °C durante 20 minutos. As amostras digeridas foram centrifugadas a 3.220 x g durante 15 minutos e filtradas com papel filtro. No sobrenadante foi determinado o teor de aminoácidos liberados, pelo método de Lowry⁵, empregando uma curva padrão de tirosina (25 – 125 µg.mL⁻¹). Uma unidade (U) foi definida como a quantidade de proteína necessária para liberar 1µg de tirosina por minuto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição proximal

O farelo de trigo apresentou, em base seca, 21,3% ($\pm 1,0$) de proteínas; 3,5% ($\pm 0,1$) de lipídios; 3,6% ($\pm 0,1$) de cinzas; 6,0% ($\pm 0,1$) de fibras; e 65,6% ($\pm 0,1$) de carboidratos.

A composição do farelo de trigo está similar à descrita na literatura^{7,8,9} e as variações observadas são determinadas pelas variáveis bióticas e abióticas (clima, manejo do cultivo, parâmetros de processo e armazenamento) que afetaram o material até ele ser empregado neste estudo.

Digestibilidade protéica

O tratamento enzimático visa hidrolisar a celulose e, conseqüentemente, aumentar a digestibilidade protéica do farelo de trigo acompanhada pelos diferentes tempos de hidrólise enzimática a fim de verificar a sua digestibilidade (Tabela 2).

Tabela 1 Digestibilidade protéica do farelo de trigo e taxa de aumento da digestibilidade em diferentes tempos de hidrólise enzimática.

Tempo de hidrólise (h)	Digestibilidade protéica	TAD _p (%.h ⁻¹)
NH	47,4 \pm 0,8 ^d	
1	82,7 \pm 1,0 ^c	35,4 \pm 1,0 ^a
2	91,3 \pm 0,8 ^b	22,0 \pm 0,4 ^b
3	94,1 \pm 1,3 ^a	16,1 \pm 1,0 ^c

Resultados expressos como média \pm desvio padrão. Letras diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$). NH= Não hidrolisado. TAD_p - taxa aumento digestibilidade proteica.

A digestibilidade protéica do farelo de trigo aumentou significativamente com o aumento do tempo de hidrólise. Tal resultado demonstrou a capacidade da enzima de hidrolisar a celulose presente nos materiais lignocelulósicos e, conseqüentemente, disponibilizar as proteínas dos mesmos.

No entanto, para escolha do tempo mais adequado da aplicação do complexo enzimático para aumento da disponibilidade protéica é necessário determinar a taxa de aumento da digestibilidade (Tabela 2).

As taxas de digestibilidade diminuiram significativamente com o aumento do tempo de hidrólise, indicando que os produtos resultantes do tratamento enzimático podem apresentar caráter inibitório para a ação do complexo celulolítico decorrente da ação da lignina dissociada. Em termos de aplicação das celulasas para aumento da digestibilidade protéica do farelo de trigo a máxima atividade ocorre após 1 hora de hidrólise.

CONCLUSÃO

A avaliação da ação do complexo enzimático celulolítico, produzido durante a fermentação em estado sólido por *Rhizopus oryzae*, quando aplicado em suas condições ótimas de atuação atinge a maior eficiência após 1 hora de atuação e após 3 horas obtêm-se um produto com 94% de digestibilidade protéica.

REFERÊNCIAS

- (1) REYES, J.; PERALTA-ZAMORA, P.; DURÁN, N. Hidrólise enzimática da casca de arroz utilizando-se celulases. Efeito de tratamentos químicos e fotoquímicos. **Química Nova**, v. 21, n. 2, p. 140-143, 1998.
- (2) SAID, S.; PIETRO, R. C. L. R. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Editora Legis Summa, LTDA, 2004.
- (3) **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 1-9, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **AOAC**: Official Methods of Analysis of International. 17 th, 2000. 1 CD-ROM.
- (4) SGARBIERI, V.C. **Proteínas em Alimentos Proteicos: Propriedades, degradações, modificações**, São Paulo: Livraria varela, 1996.
- (5) LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, M. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, pp. 265-275, 1951.
- (6) KUPSKI, L. **Produção de celulases a partir de resíduo da indústria arroseira empregando *Rhizopus oryzae* e *Trichoderma reesei***. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande, 2012.
- (7) ZAMBOM, M. A.; SANTOS, G. T.; MODESTO, E. C.; ALCADE, C. R.; GONCALVES, G. D.; SILVA, D. C.; SILVA, K. T.; FAUSTINO, J. O. Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. **Acta Scientiarum**, n.4, p. 937-943, 2001.
- (8) RIBEIRO, R. D. X.; OLIVEIRA, R. L.; BAGALDO, A. R.; FARIA, E. F. S.; GARCEZ NETO, A. F.; SILVA, T. M. BORJA, M. S.; CARDOSO NETO, B. M. Capim-tanzânia ensilado com níveis de farelo de trigo. **Revista Brasileira de saúde e produção animal**, v. 9, n. 4, p. 631-640, 2008.
- (9) HEMERY, Y.; CHAURAND, M.; HOLOPAINEN, U.; LAMPI, A. M.; LEHTINEN P.; PIIRONEN, V.; SADOUDI, A.; ROUAU, X. Potential of dry fractionation of wheat bran for the development of food ingredients, part I: Influence of ultra-fine grinding. **Journal of Cereal Science**, v. 53, p. 1-8, 2011.