



Frações residuais do processo de extração de proteínas do farelo de arroz desengordurado como fonte de carboidratos em bioprocessos

Residual fractions from defatted rice bran protein extraction as a source of carbohydrates in bioprocesses

Valquiria Silva Vieira¹, Cristiane Canan², Eliane Colla³

RESUMO

O farelo de arroz desengordurado é uma biomassa promissora para aplicação em processos fermentativos e biorrefinarias integradas, devido à sua rica composição em proteínas e carboidratos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de açúcares fermentescíveis a partir das frações residuais de um processo de extração de proteínas do farelo de arroz desengordurado, para aplicações em bioprocessos. A biomassa foi submetida a extração das proteínas em meio alcalino assistida por ultrassom. As frações residuais - precipitado (P1) e sobrenadante (S2) - foram combinadas e autoclavadas para a liquefação do amido. A hidrólise enzimática foi realizada aplicando-se um Planejamento Fatorial Completo (PFC) 2² (sete ensaios) estudando-se as variáveis: concentração das enzimas alfa-amilase e amiloglucosidase (LpHera® e Saczyme Go 2X, respectivamente), na faixa de 120 a 180 mL/m³, e a concentração de substrato (razão P1/S2) na faixa de 30 a 70 g/L. As enzimas foram adicionadas simultaneamente, incubando-se por 12 horas à 70°C em pH 5,0 (definidos em etapa preliminar de estudo da atividade enzimática). Observou-se um máximo de 18 g/L de AR, no ensaio conduzido com 70 g/L de substrato e 180 mL/m³ das enzimas, atingindo 50% de eficiência de conversão em AR, considerando-se a composição em carboidratos das frações residuais.

PALAVRAS-CHAVE: bioprocessos; farelo de arroz desengordurado; hidrólise enzimática.

ABSTRACT

Defatted rice bran is a promising biomass for application in fermentative processes and integrated biorefineries, due to its rich composition in proteins and carbohydrates. The aim of this work was to evaluate the production of fermentable sugars from the residual fractions of a protein extraction process from defatted rice bran, for applications in bioprocesses. The biomass was subjected to ultrasound-assisted protein extraction in an alkaline medium. The residual fractions - precipitate (P1) and supernatant (S2) - were combined and autoclaved to liquefy the starch. Enzymatic hydrolysis was carried out using a Complete Factorial Design (CFD) 2² (seven trials) studying the variables: concentration of the alpha-amylase and amyloglucosidase enzymes (LpHera® and Saczyme Go 2X, respectively), in the range of 120 to 180 mL/m³, and substrate concentration (P1/S2 ratio) in the range of 30 to 70 g/L. The enzymes were added simultaneously, incubating for 12 hours at 70°C at pH 5.0 (defined in the preliminary stage of the enzymatic activity study). A maximum of 18 g/L of RS was observed in the test conducted with 70 g/L of substrate and 180 mL/m³ of enzymes, reaching 50% efficiency of conversion into RS, considering the carbohydrate composition of the residual fractions.

KEYWORDS: bioprocesses; defatted rice bran; enzymatic hydrolysis.

INTRODUÇÃO

¹ Bolsista da Fundação Araucária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil. E-mail: valquiriavieira@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0782357079746382>.

² Docente do Curso de Engenharia de Alimentos e do PPGTA (Programa de pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Medianeira, Paraná, Brasil. E-mail: canan@utfpr.edu.br. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8339407820444710>.

³ Docente do Curso de Engenharia de Alimentos e do PPGTA (Programa de pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Medianeira, Paraná, Brasil. E-mail: ecolla@utfpr.edu.br. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6825932780256380>.



O arroz é um dos grãos mais consumido mundialmente, e para uma maior aceitação sensorial, o arroz integral passa pelo beneficiamento, gerando subprodutos como as cascas, o farelo e arroz quebrado (DHANKHAR, 2014). Alguns desses subprodutos são descartados incorretamente podendo causar algum dano ambiental ou são utilizados como biocombustível para caldeiras (cascas) (BODIE et al., 2019), ou para a produção de óleo e isolados proteicos do farelo de arroz (SHARIF et al., 2014).

O farelo de arroz compreende de 8% a 12% do grão de arroz (SPAGGIARI et al., 2021) sendo relevantes as pesquisas destinadas para utilização desse resíduo, de modo que, após a extração dos lipídios, o farelo desengordurado pode ser ainda aproveitado para utilização em bioprocessos.

Bernardi et al. (2020) avaliaram a extração de proteínas e carboidratos do farelo de arroz desengordurado, visando a obtenção do concentrado proteico, no qual resultou em subprodutos que podem ser usados em novas rotas tecnológicas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar se as frações residuais do processo de extração de proteínas do farelo de arroz desengordurado podem ser usadas como fonte de carboidratos em bioprocessos.

MATERIAIS E MÉTODOS

As frações residuais utilizadas neste presente trabalho foram extraídas de acordo com método proposto por Bernardi et al. (2020) e Do Carmo (2020), que avaliaram a extração de proteínas do FAD, visando a obtenção de um concentrado proteico. O FAD foi submetido a extração das proteínas por sonda ultrassônica em meio alcalino nas condições: razão FAD/água 50 g/L; pH 10,0; tempo de ultrassom de 5 min; amplitude de potência de 40%; profundidade de imersão da sonda de 20 mm. A separação das fases foi realizada por centrifugação a 3000 RPM a 25 °C por 15 min.

Após a centrifugação o precipitado 1 (P1), foi coletado, seco em estufa, moído e armazenado. O sobrenadante 1 (S1) foi submetido a precipitação das proteínas, para a separação da fase líquida contendo os carboidratos. O pH do S1 foi ajustado para 4,5, e deixado em repouso *over night* a 10 °C seguido de centrifugação a 3000 RPM a 25 °C por 15 min. O sobrenadante 2 (S2) foi armazenado para a etapa de hidrólise.

O FAD, o S2 e o P1 foram caracterizados quanto ao teor de umidade, cinzas, proteínas, lipídios e carboidratos. As proteínas do FAD e do P1 foram determinadas de acordo com o método de Kjeldahl, utilizando o fator de 5,95 para conversão do teor de nitrogênio em proteínas totais e o S2 pelo método de Lowry. Os percentuais de umidade (Método 925.45b), cinzas (Método 923.03) e lipídios (Método 920.39) foram determinados de acordo com os procedimentos e normas da AOAC (2005); o teor de carboidratos totais foi obtido por diferença.

A atividade enzimática da α -amilase foi testada nas temperaturas de 50 °C, 70 °C e 90 °C e da amiloglicosidase por sua vez, foi testada nas temperaturas de 50 °C, 65 °C e 70 °C, de acordo com as recomendações dos fornecedores. O pH foi mantido fixo em 5,0. As enzimas foram diluídas na proporção 1:1000 (v/v); em seguida 1 mL da enzima diluída foi incubado por 30 min nas temperaturas desejadas (tubo de ensaio em banho maria) com 4 mL de uma solução de amido 1,0% (amido solúvel P.A em tampão fosfato 0,2 M pH 5,0). Após a incubação, foi retirado 1 mL de amostra e adicionado 1 mL de NaOH 1M para paralisar a reação e completado para o volume de 10 mL. A concentração de AR foi mensurada de acordo com Miller (1959), utilizando-se de curva padrão de glicose anidra.



A produção de AR *versus* o tempo foi ajustada a uma equação linear. A AE foi expressa em Unidade Internacional por mL (U.mL⁻¹) que corresponde à quantidade de enzima capaz de liberar 1 μmol de glicose por minuto em condições ótimas de medida (pH, temperatura), especificadas para cada caso.

A hidrólise enzimática das frações residuais foi estudada aplicando-se um Planejamento Fatorial Completo (PFC) 2² (sete ensaios) onde as variáveis estudadas foram a concentração das enzimas alfa-amilase e amiloglucosidase (LpHera® e Saczyme Go 2X, respectivamente), na faixa de 120 a 180 mL/m³, e a concentração de substrato (razão P1/S2) na faixa de 30 a 70 g/L, conforme descrito na Tabela 1. As enzimas foram adicionadas simultaneamente, incubando-se por 12 horas em pH 5,0 e temperatura definidos em etapa preliminar de estudo da atividade enzimática. A cada 2 horas foram retiradas alíquotas para o acompanhamento da concentração de AR (Somogyi-Nelson).

Tabela 1 – Matriz do PFC para otimização da fase de hidrólise enzimática

Ensaio	x ₁ ^a	x ₂ ^b
1	-1 (120)	-1 (30)
2	+1 (180)	-1 (30)
3	-1 (120)	+1 (70)
4	+1 (180)	+1 (70)
5	0 (150)	0 (50)
6	0 (150)	0 (50)
7	0 (150)	0 (50)

^aconcentração das enzimas (mL/m³); ^bconcentração de substrato (g/L).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da composição centesimal do farelo de arroz desengordurado, do precipitado P1 e do sobrenadante S2 estão apresentados na Tabela 2. Tanto o FAD quanto as frações residuais apresentaram um teor de proteínas similares. O FAD e o P1 apresentaram teor de carboidratos semelhantes (48,65 e 49,44%, respectivamente), já o S2 apresentou um valor mais baixo de 0,11% de carboidratos.

Tabela 2 – Composição centesimal do Farelo de arroz desengordurado (FAD), do Precipitado (P1) e do Sobrenadante (S2)

Componente	FAD	P1	S2
Umidade	11,09 ± 0,086	10,17 ± 0,027	99,36 ± 0,011
Cinzas	11,62 ± 0,089	12,00 ± 0,079	0,10 ± 0,018
Lipídeos	1,83 ± 0,328	2,05 ± 2,065	0,27 ± 0,074
Proteínas	26,80 ± 2,757	26,35 ± 0,717	0,16 ± 0,002
Carboidratos	48,65 ± 2,582	49,44 ± 2,428	0,11 ± 0,059

Os componentes estão expressos em g.100 g⁻¹, de cada matéria-prima. Médias ± erros-padrão. Fonte: Autoria própria.

Resultados semelhantes foram encontrados por Chugh et al. (2023) que obtiveram um teor de carboidratos de 49% no FAD. Antunes et al. (2023) relatou teores de 8,21% umidade, 12,14% cinzas, 17,28% proteínas, 1,37% lipídios e 61,00% de carboidratos.



Fatores como o local e período de plantio, método de beneficiamento do grão, metodologia de análises, entre outros, podem influenciar a concentração de nutrientes da biomassa (DHANKHAR, 2014). Não há relatos na literatura da caracterização das frações residuais do processo de obtenção de proteínas do FAD. Entretanto, os valores se encontram de acordo, levando em consideração a composição da biomassa desengordurada.

Os resultados da atividade enzimática da α -amilase e da AMG sobre a hidrólise do amido estão apresentados na Tabela 3. Observa-se que a α -amilase atingiu sua maior atividade à 90°C que diferiu estatisticamente das atividades encontradas em 50 °C e 70 °C. Para a AMG os resultados não apresentaram diferença significativa nas temperaturas de 50, 65 e 70 °C.

Tabela 3 – Atividade enzimática (AE) das enzimas amilase e AMG no amido

Enzimas	Temperatura (°C)	AE
Amilase	50	1,53 ^c
	70	1,81 ^b
	90	2,03 ^a
AMG	50	6,70 ^a
	65	6,86 ^a
	70	6,41 ^a

AE = Atividade Enzimática (U.mL⁻¹ enzima); Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam médias estatisticamente semelhantes ao nível de 95% de confiança (p>0,05). Fonte: Autoria própria.

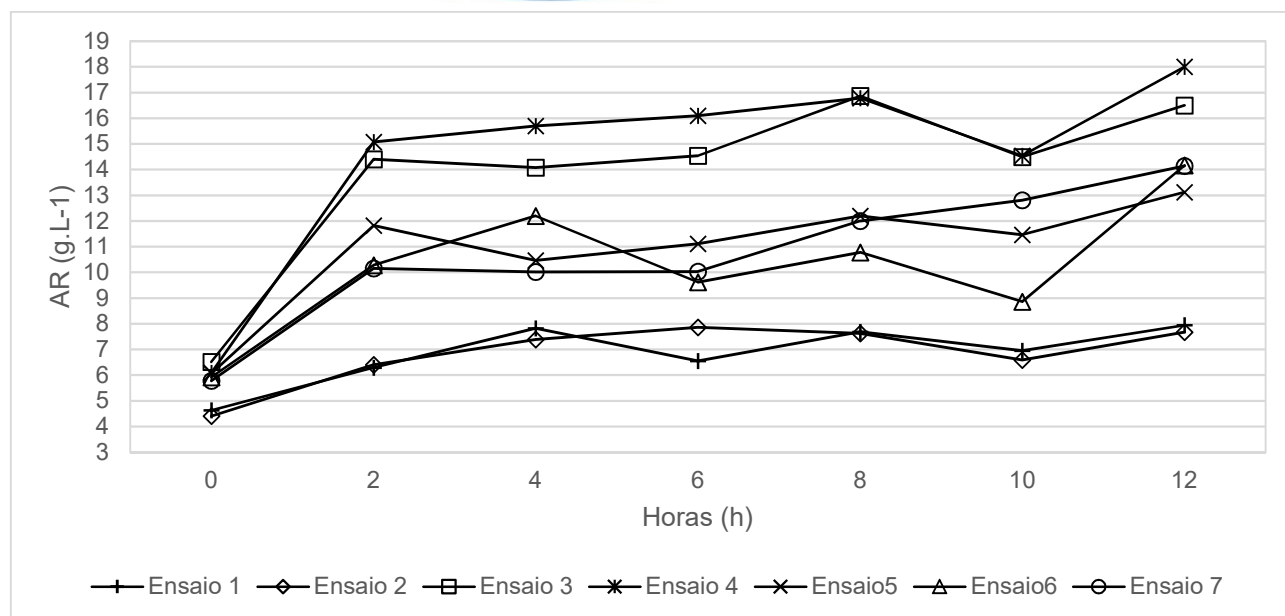
No amido, o principal componente é a amilopectina (73-86%), onde a maioria das unidades de glicose estão ligadas por ligações α (1-6), o que confere ramificações à estrutura (SCIPIONI, 2011); isto explica a maior atividade da AMG em relação a amilase na hidrólise enzimática da solução de amido 1%.

Deste modo, optou-se em utilizar a temperatura de 70°C para a aplicação simultânea de ambas as enzimas na reação, visando não apenas minimizar as perdas por evaporação, mas também reduzir os custos energéticos associados a essa fase do processo.

Na Figura 1 estão apresentados os resultados da hidrólise enzimática das frações residuais combinadas. Observa-se que os ensaios 1 e 2 foram os que obtiveram a menor concentração de AR (7,94 e 7,68 g.L⁻¹, respectivamente), já os ensaios 3 e 4 foram os que apresentaram uma maior liberação de AR (16,50 e 18,00 g.L⁻¹, respectivamente), o que corresponde a cerca de 50% de eficiência de conversão em AR, considerando-se a composição em carboidratos das frações residuais.

As concentrações mais baixas de AR nos ensaios 1 e 2 podem ser atribuídas à menor quantidade de substrato utilizada (30 g/L), uma vez que as concentrações de enzimas empregadas nesses ensaios (120 e 180 mL/m³, respectivamente) foram as mesmas utilizadas nos ensaios 3 e 4, conduzidos com 70 g/L de substrato.

Figura 1 - AR liberados em função do tempo de sacarificação dos ensaios 1 a 7 do planejamento fatorial completo



Fonte: Autoria própria.

Assim, as frações residuais do processo de extração de proteínas podem ser utilizadas como fonte de AR para processos fermentativos em um sistema integrado de valorização do farelo de arroz desengordurado.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação Araucária (bolsa de iniciação científica) e com o apoio da Universidade Tecnológica Federal do Paraná/Brasil.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse no presente trabalho desenvolvido.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, L. L. *et al.* Prebiotic potential of carbohydrates from defatted rice bran – Effect of physical extraction methods. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134539, 2023.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18. ed. Arlington: AOAC, 2005.

BERNARDI, S. *et al.* Feasibility of ultrasound-assisted optimized process of high purity rice bran protein extraction. **Ciência Rural**, v. 50, n. 12, p. 1–13, 2020.

BODIE, A. R. *et al.* Current trends of rice milling byproducts for agricultural applications and alternative food production systems. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 3, p. 1–13, 2019.

CHUGH, P. *et al.* A low-cost process for efficient hydrolysis of deoiled rice bran and



ethanol production using an inhouse produced multi-enzyme preparation from *Aspergillus niger* P-19. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 25, n. 1, p. 359–375, 2023.

DHANKHAR, P. Rice milling. **IOSR Journal of Engineering**, v. 4, n. 5, p. 34–42, 2014.

DO CARMO, E. U. F. **Extração da fração proteica do farelo de arroz por tratamento ultrassônico e enzimático e caracterização das propriedades funcionais**. 2020. 1–74 f. - Universidade Tecnológica Federal do Paraná Programa, 2020.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.

SCIPIONI, G. C. **Otimização do processo de sacarificação do amido de batata (*Solanum Tuberosum* L.) utilizando enzimas amilolíticas**. 2011. 95 f. - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Tecnologia, 2011.

SHARIF, M. K. *et al.* Rice bran: a novel functional ingredient. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 6, p. 807–816, 2014.

SPAGGIARI, M. *et al.* Rice bran by-product: from valorization strategies to nutritional perspectives. **Foods**, v. 10, n. 1, p. 85, 2021.