



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO
GRANDE**

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos

**FRACIONAMENTO ENZIMÁTICO DO FARELO INTEGRAL DE
ARROZ PARBOILIZADO**

Engº de Alimentos RAFAEL DA SILVA MESSIAS

Prof. Dr. WALTER AUGUSTO-RUIZ
ORIENTADOR

Rio Grande, RS
Agosto, 2005

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos

**FRACIONAMENTO ENZIMÁTICO DO FARELO INTEGRAL DE
ARROZ PARBOILIZADO**

Engº de Alimentos RAFAEL DA SILVA MESSIAS

Dissertação apresentada
para a obtenção do título
de Mestre em Engenharia
e Ciência de Alimentos.

Prof. Dr. WALTER AUGUSTO RUIZ
ORIENTADOR

Rio Grande, RS
Agosto, 2005

*"Não é necessário sair de casa.
Permaneça em sua mesa e ouça.
Não apenas ouça, mas espere.
Não apenas espere mas fique sozinho em silêncio.
Então o mundo se apresentará desmascarado.
Em êxtase, se dobrará sobre os seus pés".*

Franz Kafka

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos, além de um ato de gentileza e gratidão, são uma forma de acertar as contas antes de seguir em frente, em direção ao próximo desafio. Desta forma gostaria de agradecer em primeiro ao ESPÍRITO por ter me possibilitado estar aqui, neste mundo maravilhoso, neste tempo maravilhoso.

À minha MORENA por compartilhar nossos destinos e por sua linda pessoa com a qual aprendo tanto.

Ao NAGUAL por me dar às ferramentas com as quais busco encarar esse mundo insondável.

A minha FAMÍLIA por me proporcionar o respaldo econômico e principalmente sentimental sem os quais teria sido MUITO mais difícil o percurso.

Aos professores do curso e do departamento de química, nos quais sempre encontrei atenção e boa vontade em meus momentos de dúvida e necessidade, em especial a professora ELIANA, a quem sempre recorria em primeiro lugar nesses momentos encontrando sempre a mesma amizade e dedicação.

Ao professor WALTER pela orientação e experiência transmitida.

A CAMAL, em especial ao eng. CELINO pelo apoio técnico, financeiro e principalmente pela amizade.

Aos técnicos, principalmente ao ROGÉRIO pela amizade e ajuda nos “galhos” do caminho, e a MARIA por sua boa vontade em sempre ajudar.

Aos meus colegas de estudo e amigos em especial ao MÁRCIO pelo convívio tão agradável e com quem tanto aprendi e me diverti e as minhas amigas PATY e VILLAS com quem tive conversas das quais nunca esquecerei.

As minhas ‘ajudantes’ ITIARA e VANESSA, sem as quais não me teria sido possível chegar ao fim desta jornada. Em especial a Vanessa pela responsabilidade e dedicação, além do ‘bom humor’.

Enfim, a todos com quem tive algum tipo de contato, que ,por mais simples e rápido, sempre contribuem e alteram de alguma forma nossa existência.

Pelotas, 17 de agosto de 2005.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS	x
 CAPÍTULO I.....	 xii
RESUMO GERAL	xiii
GENERAL ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 OBJETIVO GERAL.....	2
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
 CAPÍTULO II	 3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 ARROZ.....	4
2.1.1 Dados Estatísticos da Produção Mundial de Arroz	6
2.1.2 Produção Brasileira	7
2.2 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO GRÃO DE ARROZ	8
2.3 ARROZ PARBOILIZADO.....	10
2.3.1 Processo de Beneficiamento do Arroz Parboilizado.....	11
2.4 FARELO DE ARROZ.....	12
2.4.1 Legislação Brasileira para o Farelo de Arroz	14
2.5 COMPOSIÇÃO DO FARELO DE ARROZ	15
2.5.1 Proteínas	15
2.5.2 Carboidratos e Fibras	16
2.5.3 Lipídios.....	19
2.5.4 Minerais.....	20
2.5.5 Vitaminas.....	21

2.5.6 Orizanóis	23
2.5.7 Fatores Antinutricionais	24
2.6 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO FARELO DE ARROZ.....	25
2.7 ENZIMAS NO FARELO DE ARROZ.....	27
2.8 AMILASES	28
2.8.1 α -amilase.....	30
2.8.1.1 Modo de ação da α -amilase.....	30
2.8.1.2 Características da α -amilase.....	31
2.8.2 Exo-amilases.....	32
2.8.2.2 Características das exo-amilases	33
2.8.3 Enzimas desramificantes e transferases.....	34
2.9 PROTEASES	35
2.9.1 Exopeptidases	35
2.9.2 Endopeptidases.....	36
2.9.3 Proteases: função e aplicação.....	36
2.9.4 Proteases de microrganismos.....	36
2.10 LIPASES	37
2.11 CELULASES	39
2.12 PROCESSOS DE FRACIONAMENTO ENZIMÁTICO EM CEREAIS	40
 CAPÍTULO III.....	 45
OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO.....	 46
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	50
2.1 MATÉRIA-PRIMA.....	50
2.2 PROCESSAMENTO.....	51

2.2.1 Classificação Granulométrica	51
2.2.2 Determinação de Capacidade de Retenção de Água - CRA.....	51
2.2.3 Caracterização Química do FAIP.....	52
2.2.4 Processo de Extração Aquosa do FAIP	52
2.2.5 Planejamento Experimental e Tratamento dos Resultados.....	53
2.2.6 Caracterização dos Extratos.....	53
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
3.1 DETERMINAÇÃO E SELEÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA DO FAIP	54
3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO FAIP.....	56
3.3 EFEITO DAS VARIÁVEIS NO TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DO FAIP	58
3.4 DETERMINAÇÕES QUÍMICAS DE ACOMPANHAMENTO DOS TRATAMENTOS SELECIONADOS	61
3.5 EFEITO DO TAMANHO DE PARTÍCULA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS.....	63
4 CONCLUSÃO	66
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO POR TRATAMENTOS ENZIMÁTICOS	69
1 INTRODUÇÃO.....	72
2 MATERIAL E MÉTODOS	73
2.1 FARELO INTEGRAL DE ARROZ PARBOILIZADO (FAIP).....	73
2.2 ENZIMAS	74
2.3 TRATAMENTO ENZIMÁTICO DO FARELO DE ARROZ E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS FRAÇÕES.....	74
2.3.1 Preparo do Substrato.....	75
2.3.2 Tratamento Enzimático.....	76
2.3.2.1 Hidrólise conjunta	76

2.3.3 Inativação Enzimática	77
2.3.4 Separação dos Extratos.....	77
2.3.5 Determinação dos Sólidos Solúveis.....	77
2.3.5 Caracterização dos Extratos	78
2.3.5.1 Caracterização química dos extratos obtidos por hidrólise conjunta	78
2.3.6 Planejamento Experimental e Tratamento de Resultados.....	79
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.1 EFEITO DO TRATAMENTO COM AMIOGLICOSIDASE (AMG 300L)	79
3.1.1 Caracterização Química dos Tratamentos com AMG	84
3.2 EFEITO DO TRATAMENTO COM PROTEASE (ALCALASE 2.4L)	85
3.2.1 Caracterização Química dos Tratamentos com Alcalase	88
3.3 EFEITO DOS TRATAMENTOS COM CELULASE (CELLUCLAST 1.5L).....	89
3.3.1 Caracterização Química dos Tratamentos com Celulase.....	93
3.4 EFEITO DOS TRATAMENTOS COM LIPASE PANCREÁTICA	94
3.4.1 Caracterização Química dos Tratamentos com Lipase	97
3.5 EFEITO DO TRATAMENTO COM MISTURA ENZIMÁTICA	98
3.5.1 Determinação Química dos Experimentos para Teste de Ação Conjunta das Enzimas	99
3.5.2 Determinação Química dos Experimentos para Teste de Ação Sequencial das Enzimas.....	100
4 CONCLUSÃO	103
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
 CAPÍTULO IV.....	 106
4 CONCLUSÃO GERAL	107
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II	3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
TABELA 1. Consumo de arroz parboilizado no Brasil, nos últimos quatro anos.	6
TABELA 2. Países com maior produção de arroz (2001).	6
TABELA 3. Participação Estadual na Produção de Arroz.	7
TABELA 4. Arroz irrigado no RS - área, produção e rendimento.	8
TABELA 5. Composição proximal de produtos de arroz a 14% de umidade.	9
TABELA 6. Padrão estabelecido pela Portaria CNNPA 12/78 para farinha de arroz. ...	15
TABELA 7. Composição mineral do farelo de arroz em mg/g	21
TABELA 8. Vitaminas encontradas no farelo de arroz.	22
TABELA 9. Composição do farelo de arroz estabilizado, fração solúvel em água e concentrado de fibras do farelo de arroz.	43
 CAPÍTULO III	 45
OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO	 46
TABELA 1. Composição percentual das frações do FAIP com diferentes malhas.	55
TABELA 2. Principais componentes do farelo de arroz integral parboilizado, expressos em porcentagem de base seca.	56
TABELA 3. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nas diferentes condições de processo.	58
TABELA 4. Efeitos principais do tratamento.	59
TABELA 5. Estudo da interação entre os fatores tempo, temperatura e pH (Teste de Tuckey HSD)	59
TABELA 6. Concentração percentual dos extratos.	61
TABELA 7. Composição percentual do extrato solúvel em função dos tamanhos de partícula.	64

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO POR TRATAMENTOS ENZIMÁTICOS	69
TABELA 1. Níveis e variáveis das enzimas estudadas.....	79
TABELA 2. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos no tratamento com AMG.....	80
TABELA 3. Análise de variância dos resultados para AMG.....	81
TABELA 4. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento com amiloglicosidase.....	84
TABELA 5. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nas diferentes condições de processo.....	85
TABELA 6. Análise de variância dos resultados para alcalase.....	86
TABELA 7. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento com alcalase.	88
TABELA 8. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nos diferentes tratamentos com celulase.	90
TABELA 9. Análise de variância dos resultados para celulase.....	91
TABELA 10. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento com celulase.....	94
TABELA 11. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nos tratamentos com lipase.....	95
TABELA 12 Análise de variância dos resultados para lipase pancreática.	96
TABELA 13. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento com lipase.	98
TABELA 14. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento com mistura de enzimas.....	99
TABELA 15. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento enzimático seqüencial.....	101
TABELA 16. Caracterização percentual dos extratos solúveis obtidos por tratamento enzimático.....	102

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II	3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
FIGURA 1. Esquematização do grão de arroz.....	9
FIGURA 2. Fluxograma geral do processo de parboilização do arroz.	12
FIGURA 3. Estrutura molecular do ácido ferúlico esterificado com 24-metilenocicloartanol, um dos cinco compostos do oryzanol encontrados no farelo de arroz.	23
FIGURA 4. Modelo molecular da α -amilase (E. C. 3.2.1.1) proveniente de <i>Aspergillus oryzae</i> (TAKA) contendo átomo de Ca^{+2}	32
FIGURA 5. Representação da ação da α -amilase, β -amilase e glicoamilase sobre uma estrutura esquemática de amilopectina, onde cada círculo representa uma unidade de glicose.....	34
 CAPÍTULO III	 45
OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO.....	46
FIGURA 1. Fluxograma operacional do processo de hidrólise física do FAIP.	51
FIGURA 2. Equação para cálculo da capacidade de retenção de água.	52
FIGURA 3. Porcentagem de cada fração do FAIP separada por peneiramento.	55
FIGURA 4. Gráfico da interação de terceira ordem entre temperatura-tempo-pH.	60
FIGURA 5. Gráficos de efeitos principais para proteína, carboidratos e lipídios respectivamente.....	62
FIGURA 6. Influência do tamanho de partícula nos teores de proteína (a), carboidratos (b) e lipídios (c).	65
 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO POR TRATAMENTOS ENZIMÁTICOS	 69
FIGURA 1. Fluxograma operacional de fracionamento enzimático do FAIP.....	75

FIGURA 2. Gráficos de interações de terceira ordem para pH-tempo-concentração (a) e pH-Temperatura- concentração (b).	82
FIGURA 3. Gráfico da interação de segunda ordem para as variáveis estudadas.	87
FIGURA 4. Gráficos de interações concentração-temperatura (a), concentração-pH (b) para as variáveis estudadas.....	92
FIGURA 5. Gráfico de interação pH-conc. enzimática para as variáveis estudadas....	96

CAPÍTULO I

RESUMO GERAL

O farelo de arroz é fonte natural de fibras dietéticas, proteínas, carboidratos, óleo, vitaminas e de compostos com potente atividade antioxidante, como os orizanóis e tocóis, o que o caracteriza como um alimento funcional. No entanto, seu alto teor de fibras insolúveis e a presença de compostos antinutricionais impedem sua utilização para fins de alimentação humana. Com base nesses dados, o presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um processo de hidrólise enzimática para obtenção de um extrato solúvel e uma fração insolúvel a partir do farelo integral parboilizado de arroz, possibilitando uma melhor utilização de seus componentes nutricionais e funcionais através de dois produtos com alto valor agregado. Foram utilizados planejamentos fatoriais completos para cada enzima onde se variou a concentração enzimática, o tempo, o pH e a temperatura em diferentes níveis e utilizando como variável resposta à concentração de sólidos solúveis determinados por refratometria. Os resultados obtidos indicaram uma solubilização, para amiloglicosidase a 1,5%, de 7,0% nas condições selecionadas de 60 °C, pH de 4,0 por 180 minutos com rendimento de 86,82% de solubilização dos carboidratos presentes na amostra solúvel e 19,40% dos lipídios. Para alcalase a 1% por 360 minutos e pH 8,0 obteve-se uma extração de 6,8% dos sólidos solúveis com 68,7% das proteínas e 15,6% dos lipídios do FAIP solubilizados. A celulase a 1% apresentou uma concentração de sólidos solúveis de 3,9% em um meio de pH 4,8, a 60 °C e por um tempo de 120 minutos com 20,72% dos lipídios e 16,86% das proteínas totais da amostra. Tendo a lipase pancreática, nos parâmetros de pH 8,0, concentração de 0,06% e 60 minutos de hidrólise, obtido um extrato solúvel com 4,95% dos sólidos da amostra com rendimento de 23,71% de solubilização dos lipídios. A ação sequencial das mesmas enzimas alcançou um rendimento protéico de 81,1% e de 36,8% dos lipídios. As análises do extrato seco obtido por ação sequencial de enzimas apresentaram um teor de 26,92% de proteínas e 33,42% de lipídios, com uma redução 47,4% do teor de cinzas e 84% do teor de fibras totais em relação ao FAIP 48 mesh.

Palavras-chave: Arroz, arroz parboilizado, farelo de arroz, hidrólise, enzimas, extração, propriedades funcionais.

GENERAL ABSTRACT

ENZYMATIC FRACTIONATION OF THE INTEGRAL PARBOILED RICE BRAN

The rice bran is a natural source of dietary fiber, proteins, carbohydrates, lipids, vitamins and compounds with powerful antioxidants activity, like oryzanol and tocopherols, what characterizes it's a functional food. However, the high levels of insoluble fibers and the presence of antinutritional compounds do not permit it's utilization for human feed. Based on these data, the present work aims at to the development of a enzymatic hydrolysis process, for the obtention of a soluble extract and an insoluble fiber fraction from the integral and parboiled bran of rice, making possible one better use of its nutritional and functional components through two products with high aggregated value. Complete factorial planning's for each enzyme had been used where if it varied the enzymatic concentration, the time, pH and the temperature in different levels and using the concentration of soluble solids by refratometry how variable response. The results indicated a solubilization, for AMG at 1,5%, of 7,0% in the conditions selected of 60°C, pH of 4,0 during 180 minutes with a yield of 86,82% of carbohydrates solubilization in the soluble extract and 19,40% of the lipids. For Alcalase at 1% with a time of 360 minutes and pH 8,0 was gotten an extration of 6,8% of soluble solids with 68,7% of the proteins and 15,6% of the lipids in the FAIP. Celullase at 1% presented a soluble solid concentration of 3,9% in a way of pH 4,8, 60°C for a time of 120 minutes with 20,72% of the lipids and 16,86% of the total proteins in the extract. Having lipase at 0,06% with one pH of 8,0 and 60 minutes of hydrolysis, gotten a soluble solid concentration of 4,95 with a yield of 23,71% of the lipids solubilization. The sequential action of the same enzymes reached a proteic income of 81,1% and 36,8% of the lipids. The analyses of the dry extract gotten by sequential enzyme action had presented a text of 26,92% of proteins and 33.42% of lipids, with a reduction 47.4% of the text of leached ashes and 84% of the total staple fibre text in relation to FAIP 48mesh.

Keywords: rice, parboiled rice, rice bran, hydrolysis, enzymes, extraction, functional properties.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O arroz é um dos alimentos mais antigos produzidos pelo homem, sua habilidade em adaptar-se às circunstâncias climáticas, agrícolas e culturais, faz deste cereal um dos mais importante no mundo (MALEKIAM *et al.*, 2000), sendo o produto predominante ao menos em 15 países na Ásia e no Pacífico, em dez países na América Latina e no Caribe e em oito países na África (FAO, 2003).

De acordo com dados do IRRI (International Rice Research Institute), o Brasil, é o principal produtor de arroz fora do continente asiático, ocupando a 9ª posição mundial na produção deste cereal, com o Rio Grande do Sul - onde são cultivados anualmente cerca de 900 mil ha, com produtividade média que oscila entre 5 e 5,5 t/ha. – sendo responsável por cerca de 50% da produção nacional do produto (EMBRAPA, 2003).

O farelo de arroz, subproduto do polimento do arroz descascado, com um rendimento de 8 a 10% (PANDOLFI, 1993). No Brasil é utilizado principalmente como suplemento para alimentação animal. Este subproduto apresenta um diâmetro de partícula muito fino o que dificulta seu processamento e principalmente dada à presença de lipases, o óleo é hidrolisado em poucas horas o que causa sua deterioração produzindo um sabor ácido e desagradável. O farelo proveniente de arroz parboilizado apresenta características que o diferenciam do farelo de arroz branco, por exemplo, não apresenta praticamente atividade lipolítica o que o torna um produto estável durante muitos meses quanto a natureza dos componentes (SILVA *et al.*, 2001).

O valor nutricional do farelo de arroz esta em função da quantidade e da qualidade de nutrientes que apresenta, como por exemplo, proteínas, ácidos graxos insaturados essenciais, altos teores de vitaminas do complexo B, minerais como ferro, potássio, cálcio, magnésio e manganês; compostos antioxidantes como os tocoferóis e derivados do ácido ferúlico, presentes na fração insaponificável e que são escassos em outros óleos vegetais; além de ter sido relatado que o farelo de arroz apresenta componentes com interessantes propriedades funcionais e atividade anticarcinogênica e hipoalergênica. (MALEKIAM *et al.*, 2000; LEMOS & SOARES, 2000).

Seu alto teor de fibras insolúveis, além da presença de outros fatores antinutricionais como fitatos, inibidores, poderia inviabilizar sua utilização em produtos

para alimentação humana. Fazendo-se necessário o desenvolvimento de um processo que permita a extração e utilização de seus componentes nutricionais.

Um dos métodos possíveis de ser utilizado é por a hidrólise enzimática ou tratamentos enzimáticos, os quais tem sido, nas últimas décadas, preferidos em relação a outros métodos como a hidrólise ácida devido a sua maior seletividade (MARC *et al.*, 2002). As enzimas hidrolíticas, como proteases, celulasas, amilases e lipases, são as mais freqüentemente usadas, Entre as várias razões que as tornam uma opção particularmente atrativa, pode-se citar a ampla disponibilidade, baixo custo, facilidade de uso porque não necessitam cofatores e ampla especificidade para substratos, além do fato de atuarem com alta eficiência em condições reacionais bastante suaves. (DALLA-VECCHIA, R. *et al.*, 2004).

1.1 OBJETIVO GERAL

Obtenção de um extrato solúvel e uma fração insolúvel por hidrólise física e enzimática a partir do farelo integral proveniente do processo de parboilização do arroz.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o farelo Integral de arroz parboilizado (FAIP);
- Selecionar um tamanho de partícula padrão para os experimentos;
- Caracterizar um processo de hidrólise física do FAIP;
- Selecionar enzimas para hidrólise dos carboidratos, proteínas e lipídios
- Estudar processos enzimáticos de extração dos macrocomponentes do FAIP;
- Otimizar o processo por meio de planejamento experimental;
- Separar os extratos obtidos;
- Caracterizar quimicamente os extratos obtidos.

CAPÍTULO II

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ARROZ

O arroz é único entre as principais colheitas do mundo por causa de seus muitos usos e de sua potencialidade em adaptar-se às circunstâncias climáticas, agrícolas, e culturais. Sua habilidade de crescer e produzir um alimento de elevado valor calórico por unidade de área em todos os tipos de terra faz do arroz o cereal de colheita mais importante do mundo. A importância do arroz como o produto principal nos países em desenvolvimento tende a crescer de acordo com o aumento da população humana, a qual se dá em uma taxa mais elevada do que nos países desenvolvidos (MALEKIAM *et al.*, 2000).

O arroz (*Oryza sativa* L.) pertence à classe Monocotiledoneae e à família Poaceae. O gênero *Oryza* é o mais rico e importante da tribo *Oryzeae* e engloba cerca de 23 espécies dispersas espontaneamente nas regiões tropicais da Ásia, África e Américas. A espécie *O. sativa* é considerada polifilética, resultante do cruzamento de formas espontâneas variadas (PORTO, 2001 citando PEDROSO, 1982 e HOSHIKAWA, 1993).

Bem antes de qualquer evidência histórica, o arroz foi, provavelmente, o principal alimento e a primeira planta cultivada na Ásia. As mais antigas referências ao arroz são encontradas na literatura chinesa, há cerca de 5.000 anos. O uso do arroz é muito antigo na Índia, sendo citado em todas as escrituras hindus. Variedades especiais usadas como oferendas em cerimônias religiosas, já eram conhecidas em épocas remotas.

O arroz apresenta diversidade quanto a sua verdadeira origem. A opinião que mais prevalece entre diversos historiadores e cientistas apontam o sudeste da Ásia como o local de origem do arroz. Na Índia, uma das regiões de maior diversidade e onde ocorrem numerosas variedades endêmicas, as províncias de Bengala e Assam, bem como na Mianmar, têm sido referidas como centros de origem dessa espécie (LEMOS & SOUZA-SOARES, 2000).

Da Índia, essa cultura provavelmente estendeu-se à China e à Pérsia, difundindo-se, mais tarde, para o sul e o leste, passando pelo Arquipélago Malaio, e alcançando a Indonésia, em torno de 1500 a.C. A cultura é muito antiga nas Filipinas

e, no Japão, foi introduzida pelos chineses cerca de 100 anos a.C. Até sua introdução pelos árabes, no Delta do Nilo, o arroz não era conhecido nos países Mediterrâneos. Os sarracenos levaram-no à Espanha e os espanhóis, por sua vez, à Itália. Os turcos introduziram o arroz no sudeste da Europa, onde alcançou os Bálcãs. Na Europa, o arroz começou a ser cultivado nos séculos VII e VIII, com a entrada dos árabes na Península Ibérica. Foram, provavelmente, os portugueses quem introduziram esse cereal na África Ocidental, e os espanhóis, os responsáveis pela sua disseminação nas Américas (EMBRAPA, 2005).

O arroz é o produto predominante ao menos em 15 países na Ásia e no Pacífico, em dez países na América latina e no Caribe e em oito países na África. Os países do sudeste da Ásia são pesadamente dependentes do arroz; em Bangladesh, no Camboja, na república democrática do Lao e no Vietnã, o arroz fornece mais de 50 por cento das calorias diárias e da proteína per capita e de 17-27% da gordura na dieta. O arroz é igualmente um produto importante para diversos países na África (KENNEDY, 2003).

Alguns autores apontam o Brasil como o primeiro país a cultivar esse cereal no continente americano. O arroz era o "milho d'água" (abati-uapé) que os tupis, muito antes de conhecerem os portugueses, já colhiam nos alagados próximos ao litoral. Consta que integrantes da expedição de Pedro Álvares Cabral, após uma peregrinação por cerca de 5 km em solo brasileiro, traziam consigo amostras de arroz, confirmando registros de Américo Vespúcio que trazem referência a esse cereal em grandes áreas alagadas do Amazonas. Em 1587, lavouras arrozeiras já ocupavam terras na Bahia e, por volta de 1745, no Maranhão. Em 1766, a Coroa Portuguesa autorizou a instalação da primeira descascadora de arroz no Brasil, na cidade do Rio de Janeiro. A prática da orizicultura no Brasil, de forma organizada e racional, aconteceu em meados do século XVIII e daquela época até a metade do século XIX, o país foi um grande exportador de arroz (EMBRAPA, 2005).

No Brasil, de acordo com dados da FAO (2001) o arroz é um dos principais produtos a compor a cesta básica sendo responsável por suprir 13,5% das necessidades calóricas diárias, 10,2% das necessidades protéicas e 0,8% dos lipídios da dieta.

O consumo per capitã de arroz parboilizado no Brasil, de acordo com a ABIAP - Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado – é equivalente a

8,4 kg/ano e 0,7 kg/mês, provenientes de 1,4 milhões de toneladas de arroz beneficiado.

A Tabela 1 mostra o consumo de arroz parboilizado no Brasil nos últimos quatro anos em relação à produção total de arroz beneficiado.

TABELA 1. Consumo de arroz parboilizado no Brasil, nos últimos quatro anos.

1998	1999	2000	2001
18,8%	19,1%	20%	20%

Fonte: ABIAP - Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado.

2.1.1 Dados Estatísticos da Produção Mundial de Arroz

A produção mundial de grãos de arroz na safra de 2001 foi de 591.1 milhões de toneladas, sendo de 395.3 milhões de toneladas em equivalente beneficiado (FAO, 2001).

A Tabela 2 apresenta os maiores produtores mundiais de arroz e sua taxa qualitativa de parboilização, com o Brasil ocupando a 10ª posição em produção de arroz na safra de 2001.

TABELA 2. Países com maior produção de arroz (2001).

PAÍS	POSIÇÃO	CONTINENTE	PRODUÇÃO (milhões de ton)	ARROZ PARBOILIZADO
CHINA	1º	Ásia	181,5	Nula
ÍNDIA	2º	Ásia	131,9	Alta
INDONÉSIA	3º	Ásia	49,4	Alta
BANGLADESH	4º	Ásia	34,2	Alta
VIETNÃ	5º	Ásia	31,9	Baixa
TAILÂNDIA	6º	Ásia	25,2	Baixa
MYANMAR	7º	Ásia	20,6	Alta
FILIPINAS	8º	Ásia	12,7	Média
JAPÃO	9º	Ásia	11,3	Nula
BRASIL	10º	América	10,2	Média
EUA	11º	América	9,4	Médio

Fonte: ABIAP (Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado).

2.1.2 Produção Brasileira

No Brasil os estados de maior produção estão localizados no Sul, onde predomina o cultivo de terras baixas (várzeas), com rendimento médio por hectare superando 5 toneladas, em contraposição às baixas produtividades de campo no centro do País, onde predomina o arroz de terras altas. Nos últimos anos, a média de produção brasileira é de 2,8 t/ha (AMATO *et al.*, 2002).

A Tabela 3 mostra a participação individual de produção de arroz nas ultimas duas safras para cada estado, classificando-os de acordo com sua participação na produção do país.

TABELA 3. Participação Estadual na Produção de Arroz.

U.F.	2001/02			2002/03		
	CLASS.	PRODUÇÃO (em mil t)	PARTIC. (%)	CLASS.	PRODUÇÃO (em mil t)	PARTIC. (%)
RS	1°	5.464,8	51,4	1°	5.064,2	47,7
MT	2°	1.215,7	11,4	2°	1.208,2	11,4
SC	3°	929,3	8,7	3°	986,0	9,3
MA	4°	624,0	5,9	4°	746,7	7,0
PA	5°	467,2	4,4	5°	512,1	4,8
TO	6°	371,2	3,5	6°	426,4	4,0
MS	7°	218,1	2,1	7°	222,8	2,1
GO	8°	216,0	2,0	8°	221,8	2,1
PI	14°	85,8	0,8	9°	204,3	1,9
MG	9°	210,5	2,0	10°	196,0	1,8
Demais		823,5	7,7		827,6	7,8
BRASIL		10.626,1	100,0		10.616,1	100,0

Fonte: CONAB (Conselho Nacional de Abastecimento). Acesso em 09/08/2004

Segundo a FEARROZ - Federação das Cooperativas de Arroz do Rio Grande do Sul, os 14 mil produtores de arroz no Rio Grande do Sul, geram a metade de toda a produção nacional. Existindo, atualmente, no mercado brasileiro cerca de 3.200 marcas disponíveis de arroz.

A Tabela 4 apresenta dados de área cultivada, colhida e a produção em toneladas de arroz das últimas cinco safras.

TABELA 4. Arroz irrigado no RS - área, produção e rendimento.

Safra	Área Plantada (ha)	Área Colhida (ha)	Produção (t)
1999/00	952.539	936.035	5.121.240
2000/01	942.596	940.847	5.292.635
2001/02	964.279	962.453	5.483.715
2002/03	955.101	955.101	4.708.695
2003/04	1.043.623	1.032.804	6.310.022

Fonte: IRGA (Instituto Riograndense do Arroz). Acesso em 17/08/05.

2.2 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO GRÃO DE ARROZ

O arroz é uma gramínea anual adaptada ao ambiente aquático. Esta adaptação é devida à presença de um tecido (aerênquima) no colmo da planta, que possibilita a passagem do oxigênio do ar para a camada da rizosfera (sistema radicular).

Botanicamente o grão de arroz é um fruto, denominado cariopse, em que o pericarpo (casca) está fundido com o tegumento da semente propriamente dita. A composição química do arroz é a seguinte: umidade 12% ; proteína 7,2%; lipídeos 0,6%; cinzas 0,5%; fibra 0,6%; carboidratos solúveis 79,7% e calorias 364 Mcal/100g (UNITED NATIONS, 1985).

A casca do arroz é composta por porções de fibras, lignina e cinzas, possuindo altas concentrações de sílica. A casca representa o maior volume entre os subprodutos derivados do grão de arroz no beneficiamento, atingindo, em média, 22%. Sua utilização mais comum é para a produção de energia, comumente empregada para queima nas fornalhas dos secadores e autoclaves do próprio engenho, ou para a geração de vapor. Seu grande inconveniente é a baixa densidade (76 kg/m^3), devendo ser transformada em briquetes. Além disto sua queima produz muita cinza; em compensação sua fumaça não é muito poluente, pois não contém enxofre (UNITED NATIONS, 1985).

O restante do grão constitui o arroz esbramado, constituído por pericarpo (1-2%), tegumento e camada de aleurona (4-6%), gérmen (2-3%) e endosperma (89-93%) constituindo um tecido de reserva (PORTO, 2001).

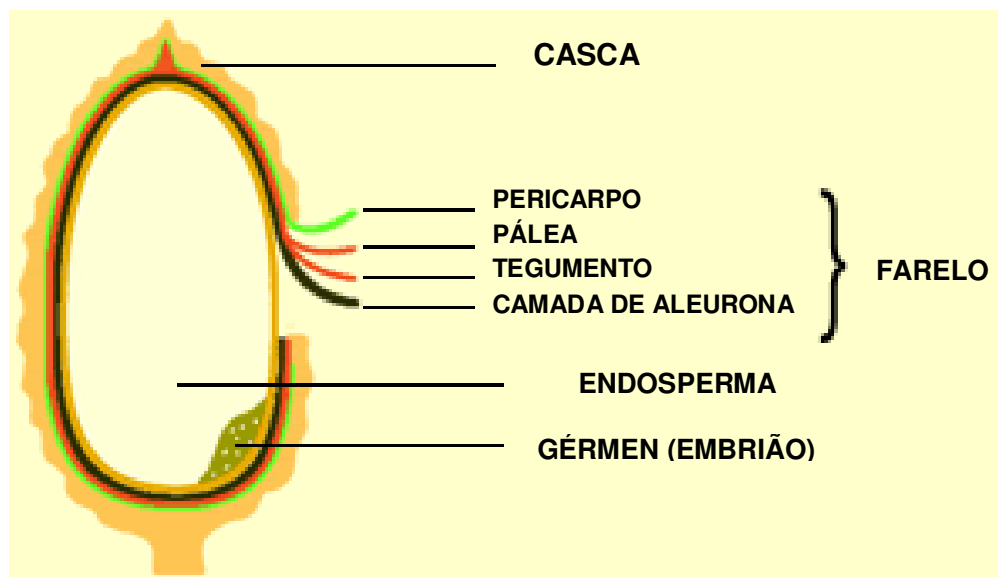


FIGURA 1. Esquematização do grão de arroz.

FONTE: UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul - www.ufrgs.br).

A composição proximal dos principais produtos do arroz, apresentadas na Tabela 5, destaca as altas concentrações de proteína, lipídios e fibras encontradas no farelo de arroz.

TABELA 5. Composição proximal de produtos de arroz a 14% de umidade.

Produto	Proteína (%)	Gordura (%)	Fibras (%)	Cinzas (%)	Carboidratos (%)
Arroz bruto	5,8 - 7,7	1,5 - 2,3	7,2 - 10,4	2,9 - 5,2	64 - 73
Arroz integral	7,1 - 8,3	1,6 - 2,8	0,6 - 1,0	1,0 - 1,5	73 - 87
Arroz polido	6,3 - 7,1	0,3 - 0,5	0,2 - 0,5	0,3 - 0,8	77 - 89
Farelo do arroz	11,3 - 14,9	15 - 19,7	7,0 - 11,4	6,6 - 9,9	34 - 62
Casca do arroz	2,0 - 2,8	0,3 - 0,8	34,5 - 45,9	13,2 - 21	22 - 34

Fonte: FAO, 2001.

2.3 ARROZ PARBOILIZADO

O processo de parboilização do arroz foi descoberto pelo químico e nutrólogo inglês Eric Huzenlaub, no início do século XX, através da constatação de grande ocorrência da doença beribéri, causada por insuficiência vitamínica, nas populações de tribos da Índia e da África, cuja alimentação básica era o arroz branco, não constatando porém, nenhum sintoma da doença entre as tribos que consumiam o arroz parboilizado – na época, um processo primitivo, no qual o arroz em casca era mergulhado em potes de barro com água à temperatura ambiente. Em seguida, era secado ao sol ou em chapas aquecidas e, posteriormente, descascado.

Na década de 1940, Huzenlaub associou-se ao americano Gordon L. Harwell e fundaram, nos Estados Unidos, a Converted Rice, Inc. primeira empresa de arroz a utilizar tecnologia na parboilização do arroz. No Brasil, a tecnologia de parboilização foi introduzida na década de 1950. O arroz parboilizado era conhecido como arroz Malekizado e, também, como: amarelão, amarelo e macerado.

A palavra parboilizado teve origem na adaptação do termo inglês parboiled, proveniente da aglutinação de partial + boiled, ou seja, "parcialmente fervido".

Atualmente, o Brasil, detém a tecnologia de parboilização mais avançada do mundo. (AMATO *et al.*, 2002).

O processo de parboilização tem se tornado um dos mais importantes processos de beneficiamento do arroz. Como justificativa técnica do grande significado no comércio internacional, este apresenta a propriedade de estabilidade durante o armazenamento e transporte, assegurada pelo processo (AMATO & SILVEIRA, 1991).

O beneficiamento convencional produz mudança no valor nutricional do arroz, pois componentes como as proteínas, lipídios, vitaminas e sais minerais são eliminados junto ao farelo durante o processo de brunimento, ou polimento. Com a finalidade de diminuir essas perdas e tornar o grão com maior valor nutricional, tem sido realizado estudos sobre tecnologias distintas como a parboilização do arroz, na qual o grão ainda com casca é submetido a um processo de maceração entre 60 e 70 °C (dependendo do tipo de plantio), e posterior tratamento térmico a 121 °C por um período de 8-10 minutos, com a finalidade de inativar as enzimas peroxidase e lipase (AMATO, 2002).

Na parboilização há uma solubilização de vitaminas e sais minerais contidos na casca, película e germe, ocasionando, desta forma, a migração destes compostos para o centro do grão ou cariopse, além da gelatinização do amido, que facilita a fixação dos compostos solubilizados (LEMOS & SOUZA-SOARES, 2000).

O arroz parboilizado apresenta características químicas, físicas, bioquímicas e, sobretudo sensoriais próprias, sendo a mais marcante uma coloração escura chegando ao pardo, que aliada ao seu sabor limita sua utilização pelos consumidores apesar de seu elevado valor nutricional quando comparado com o arroz branco tradicional (PORTO, 2001 citando GARIBALDI, 1974).

2.3.1 Processo de Beneficiamento do Arroz Parboilizado

A parboilização do arroz é realizada através de três operações básicas:

- Encharcamento: o arroz em casca é colocado em tanques com água quente por algumas horas. Neste processo, as vitaminas e sais minerais que se encontram na película e gérmen, penetram no grão à medida que este absorve água.
- Gelatinização: Processo Autoclave – o arroz é submetido a uma temperatura mais elevada sob pressão de vapor, ocorrendo uma alteração na estrutura do amido. Nesta etapa o grão fica mais compacto e as vitaminas e sais minerais são fixados em seu interior.
- Secagem: Nesta etapa o arroz é secado para posterior descascamento, polimento e seleção.

O fluxograma a seguir mostra as etapas do beneficiamento do arroz parboilizado e a obtenção do farelo.



FIGURA 2. Fluxograma geral do processo de parboilização do arroz.

Fonte: UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul - www.ufrgs.br).

2.4 FARELO DE ARROZ

Farelo de arroz é o termo comumente empregado para os resíduos da etapa de polimento do arroz branco ou parboilizado (SILVA *et al.*, 2001). Este pode ser definido como a cobertura do grão de arroz descascado, e é obtido durante o processo de polimento. É composto em grande parte pelo gérmen, que é considerado uma excelente fonte natural de nutrientes, e dependendo da severidade do polimento pode conter uma variável quantidade de sub-aleurona e endosperma. A quebra de grãos de arroz durante o polimento resulta em pequenos fragmentos do endosperma junto à

fração do farelo, estes são compostos primariamente de amido, compreendendo entre 10 e 20% do farelo, podendo, ainda, aparecer traços da casca do grão (pálea e lema) (SAUNDERS, R.M. 1990; MALEKIAM *et al.*, 2000). No caso do farelo de arroz parboilizado, este irá conter substancialmente menos amido (devido a menor quebra dos grãos após o processo de parboilização) do que o proveniente de arroz parboilizado, apresentando, no entanto, um concomitante aumento em outros nutrientes (SAUNDERS, R.M. 1990).

Durante séculos, na Índia, acreditou-se que o farelo de arroz possuía certos poderes curativos no tratamento de diversas doenças, quando uma criança ou adulto ficava doente, ministrava-se prontamente uma infusão preparada do farelo recém colhido ao enfermo (AMATO *et al.*, 2002).

A abundante literatura sobre o farelo de arroz integral mostra que existem sérias dificuldades para sua utilização, dada sua característica de acidificar-se em poucas horas, o que causa sua deterioração. Por outro lado sua granulometria é demasiada fina, o que dificulta seu processamento.

Durante o polimento se produz calor, o que ativa as enzimas que hidrolisam rapidamente o óleo, produzindo um aumento considerável da acidez e os ácidos graxos formados produzem um sabor ácido e desagradável. O óleo também é oxidado, o que agrega a ele odores e sabores rançosos, perdendo juntamente a estas condições valiosos componentes alimentícios como vitaminas e antioxidantes.

Devido a esses fatores, a extração do farelo de arroz torna-se complexa e a refinação de seu óleo igualmente um processo complicado, por sua elevada acidez, por seu alto conteúdo de insaponificáveis, por seu alto conteúdo de ceras (3%) e por sua elevada coloração, muitas vezes difíceis de controlar (PANDOLFI, 1993).

O farelo de arroz tem um ótimo potencial como fonte suplementar de diversos nutrientes, no entanto seu uso na alimentação humana tem sido limitado devido à dificuldade de estabilização causada pela rancificação oxidativa e hidrolítica do farelo imediatamente depois de produzido, devido ao mútuo contato entre a lipase e o alto teor de óleo (MALEKIAM *et al.*, 2000).

Atualmente os processos de estabilização do farelo resultam da inativação das enzimas por aquecimento a 125-135°C por 1-3 segundos a uma umidade de 11-15%, sendo que este processo não tem demonstrado efeitos adversos na qualidade

nutricional do farelo em experimentos realizados com dietas de frangos e porcos (SAUNDERS, R.M.,1990).

Torna-se importante comentar que o farelo de arroz proveniente do polimento do arroz parboilizado, já se encontra estabilizado pelo próprio processo e se mantém estável durante muitos meses. (PANDOLFI, 1993)

No entanto, TAO & JIAXUN em 2001 patentearam (U. S. pat., nº 6.245.377) um processo ácido de estabilização do farelo de arroz parboilizado utilizando ácido ascórbico, ascorbil palmitato e ácido fosfórico, visando aumentar o período de estabilização do farelo e o desenvolvimento de novos produtos alimentícios.

Durante muito tempo os estudos com alimentos foram focados em aspectos nutricionais, sensoriais e em propriedades funcionais como cor, sabor, textura, emulsificação e gelatinização. Nos últimos anos, tem-se observado um considerável interesse nos efeitos fisiológicos dos alimentos e seu impacto na saúde – da prevenção do câncer e redução do colesterol à prevenção de varias doenças gastrintestinais e vasculares. As pesquisas têm sido focadas principalmente nos efeitos biológicos dos compostos como os polifenóis e outros fitoquímicos.

De acordo com PSZCZOLA (2001), um produto funcional extraído do farelo de arroz foi desenvolvido por pesquisadores Japoneses que denominaram de 'Riceo', o pó solúvel em água composto principalmente da proteína, do polissacarídeo, e da fibra dietética do farelo, retendo também uma proporção elevada dos minerais incluindo o cálcio e o magnésio. De acordo com o fabricante, o produto contém diversos componentes que podem oferecer vantagens da saúde. Para o exemplo, é uma fonte rica do mio-inositol (reconhecido como uma parte do grupo complexo da vitamina B) e do seu fosfato – derivado do inositol hexafosfato do (IP6 ou ácido fítico).

2.4.1 Legislação Brasileira para o Farelo de Arroz

Apesar de amplamente utilizado como uma alternativa alimentar, ainda não existem padrões para a comercialização e consumo do farelo de arroz para uso humano. Por esta razão, quando necessário, utilizam-se os valores estabelecidos pela Portaria CNNPA 12/78, item 12/18, referente a farinhas, que definem os parâmetros percentuais para a farinha de arroz de acordo com a Tabela 6.

TABELA 6. Padrão estabelecido pela Portaria CNNPA 12/78 para farinha de arroz.

Umidade - máx	13%
Acidez - máx	3,0%
Protídeos - mín	6,0%
Resíduo Mineral	2,0%

Fonte: ANVISA, 2004.

2.5 COMPOSIÇÃO DO FARELO DE ARROZ

O farelo de arroz, após devidamente estabilizado, pode servir como fonte suplementar de proteínas, ácidos graxos insaturados essenciais e compostos antioxidantes como os tocoferóis e derivados do ácido ferúlico. Apresenta também teores altos de vitaminas do complexo B e minerais como ferro, potássio, cálcio, magnésio e manganês. Para isto, o processo de obtenção do farelo deve remover ou inativar de forma completa e irreversível todos os componentes causadores de deterioração e ao mesmo tempo os nutrientes de interesse devem ser preservados (MALEKIAM *et al.*, 2000).

A composição química média do farelo de arroz é muito diversificada, sendo influenciada por fatores como variedade, tamanho, forma e resistência à quebra do grão, tipo de moinho, presença ou ausência de gérmen, uniformidade de moagem, além do processo de beneficiamento que tenha sofrido o grão ou farelo (tratamento térmico, estabilização, extração do óleo e outros) (LEMOS & SOUZA-SOARES, 2000).

2.5.1 Proteínas

Segundo TANG *et al.* (2002) e WANG *et al.* (1999), o farelo de arroz contém em média, 37% de albuminas, 36% de globulinas, 22% de glutelinas e 5% de prolaminas, além de 1,7% de ácido fítico.

Diversos autores citam um conteúdo de 12 a 20% de proteínas no farelo de arroz, enfatizando seu valor nutricional e propriedades nutracêuticas, entre elas a atividade anticarcinogênica e suas propriedades hipoalergênicas que as tornam úteis em formulações de alimentos infantis. (TANG *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 1999; HAMADA *et al.*, 1998; MALEKIAM *et al.*, 2000. A variação no conteúdo protéico,

segundo TAVARES (1996) deve-se a fatores genéticos, ambientais, além do manejo de cultivar, citando ainda que cultivares com alto teor protéico apresentam maior resistência do grão aos efeitos mecânicos do processamento.

As proteínas do farelo de arroz se caracterizam principalmente pelo alto teor de lisina, na fração albumina e metionina na fração globulina. O teor do aminoácido essencial lisina é maior no farelo do que no endosperma, ou qualquer outra proteína proveniente de farelo de cereais, porém com uma menor digestibilidade, em torno de 73% quando comparado aos farelos de outros cereais, podendo chegar a mais de 90% em extratos concentrados. O valor da PER do farelo de arroz se encontra entre 1,6 e 1,9, comparado ao valor de 2,5 para a caseína. (SAUNDERS, R.M., 1990; MALEKIAM *et al.*, 2000; WANG *et al.*, 1999; HAMADA, 1997).

O alto teor de fibras, no entanto, acarreta na formação de complexos com as extremidades protéicas, dificultando a extração das proteínas. A extração torna-se ainda mais difícil devido ao processo de estabilização por aquecimento do farelo para inativar a lipase e a lipoxigenase, o qual realça a complexação das proteínas com carboidratos e outros componentes (TANG *et al.*, 2002).

Proteínas são ingredientes chave em muitos alimentos onde estas contribuem para o valor nutricional, flavor e outras importantes propriedades funcionais do sistema alimentar. No entanto, as proteínas do farelo de arroz não podem ser facilmente solubilizadas por solventes salinos, álcoois ou ácidos devido à agregação extensiva de suas extremidades redutoras (WANG *et al.*, 1999). Assim, apesar do potencial farmacêutico e nutricional do farelo de arroz ser reconhecido, ainda não existem concentrados e isolados protéicos disponíveis comercialmente. Os motivos para isso podem ser a natureza complexa das proteínas do farelo de arroz, a baixa solubilidade destas incluindo sua forte agregação e o alto conteúdo de fitatos e fibras, os quais se ligam as proteínas dificultando sua separação.

2.5.2 Carboidratos e Fibras

O farelo de arroz contém entre 9,6 e 12,8% de celulose e entre 8,7 e 11,4% de hemiceluloses, podendo apresentar ainda quantidades consideráveis de amido que variam entre 2 e 20%. A quantidade de amilose e amilopectina depende da variedade do arroz, em geral, o conteúdo de amilose pode ser de 10 a 20% nas variedades de grãos curtos e médios, e de 20 a 30% nas variedades de grãos longos

(SAUNDERS, R.M. 1990). O conteúdo de açúcares livres varia entre 3 a 8% incluindo glicose, frutose, sucrose, arabinose, xilose, manose e rafinose (MALEKIAM *et al.*, 2000).

O farelo de arroz retém cerca de 70% da fibra total do grão descascado. Estas se apresentam distribuídas em pequenas quantidades de fibras solúveis, cerca de 2,0 a 2,5% e grande quantidade de fibras insolúveis, entre 31 e 33%, para o farelo de arroz parboilizado (SAUNDERS, R.M., 1990).

Desde a metade da década de 70, o papel das fibras dietéticas na saúde e nutrição tem estimulado uma grande variedade de pesquisas, evidenciando que o aumento na ingestão de fibras dietéticas pode ter efeitos benéficos contra doenças crônicas, como a obesidade, doenças cardiovasculares, diverticulose, diabetes e câncer de cólon. (ABDUL-HAMID & LUAN, 2000; AOE *et al.*, 1993)

Fibras dietéticas são atualmente definidas como a soma dos polissacarídeos celulósicos mais o polímero fenólico lignina que não são hidrolisados pelas secreções endógenas do trato digestivo humano. O conceito original de fibras dietéticas era focado nos componentes derivados das paredes celulares de plantas que incluíam celulose, hemicelulose, gomas e pectinas. Esta opinião foi expandida após muita controvérsia para incluir os amidos não digeríveis, lignina e outros polissacarídeos não amiláceos na definição de fibra (CLAYE *et al.*, 1996).

As fibras dietéticas podem ser subdivididas em solúveis e insolúveis. As fibras solúveis em água nos cereais são compostas pelos polissacarídeos não amiláceos como os β -glicanos e arabinoxilanos, enquanto as fibras insolúveis contêm lignina assim como polissacarídeos não amiláceos. A lignina não é um polissacarídeo, mas é um polímero fenólico lipofílico que pode absorver os ácidos biliares (MANTHEY *et al.*, 1999).

As fibras tanto solúveis quanto insolúveis possuem características físicas e químicas distintas, sendo que as fibras solúveis podem formar soluções viscosas, com as características de retardam o esvaziamento gástrico, aumentar o tempo de trânsito intestinal, tornar mais lenta a absorção de glicose, retardar a hidrólise do amido e Reduzir os níveis elevados de colesterol.

As fibras insolúveis usualmente apresentam alta capacidade de retenção de água, tendendo a aumentar a quantidade de resíduos alimentares no intestino, levando a um aumento do volume e peso fecal, estímulo à movimentação e

fortalecimento da musculatura intestinal e um aumento do trânsito intestinal (MANTHEY *et al.*, 1999).

Existem muitas evidências dos efeitos benéficos do consumo de fibras dietéticas na saúde humana (CHAIR, 1999). Seus efeitos fisiológicos dependem da quantidade relativa de seus componentes individuais, todavia têm-se encontrado grandes diferenças entre as fibras solúveis e as insolúveis. Conseqüentemente, torna-se essencial o fracionamento e separação das fibras insolúveis do farelo de arroz e outros cereais (CLAYE *et al.*, 1996).

QURESHI *et al.* (2002) identificaram um particular interesse na fração de fibras solúvel em água. Os autores sugerem que a fração polissacarídica solúvel em água do farelo de arroz é um ingrediente ativo e exerce papel importante na redução do colesterol e do conteúdo de fosfolipídios no sangue.

Estudos têm mostrado que os polissacarídeos não amiláceos do farelo de arroz são carboidratos conjugados (proteoglicanos) e tem relação nas reações imunológicas (YAMAGISHI *et al.*, 2003).

Estudos para avaliação dos efeitos imunomoduladores dos proteoglicanos do farelo de arroz e dos polissacarídeos do endosperma sugerem que esses compostos são um novo exemplo de moduladores naturais do sistema imunológico em alimentos (YAMAGISHI *et al.*, 2003).

KAHLON & CHOW (2000) realizaram estudo onde testaram a resposta lipídica de dietas ricas em carboidratos insolúveis, principalmente à celulose, entre elas dietas contendo o farelo de arroz isolado e em combinações, constatando um possível mecanismo de redução do colesterol pelo farelo de arroz, com ou sem outras adições, pelo decréscimo da digestibilidade lipídica e o aumento na excreção de esteróis neutros.

As fibras alteram a transformação dos ácidos biliares primários para ácidos biliares secundários. Os ácidos biliares secundários são considerados promotores da proliferação celular, que suportam mutações e aumentam a freqüência de replicação das células anormais. Além disso, as fibras dietéticas modificam a composição da microflora intestinal (ANDLAUER & FÜRST, 1999).

Tendo em vista o potencial terapêutico das fibras dietéticas, cada vez mais produtos incorporados com fibras têm sido desenvolvidos. A adição de fibras dietéticas a uma variedade cada vez maior de produtos tem contribuído para o desenvolvimento

de alimentos com maior valor agregado ou alimentos funcionais, que atualmente estão em alta demanda. Além dos benefícios fisiológicos provenientes dos alimentos com alto teor de fibras, estudos têm demonstrado que os componentes das fibras podem proporcionar propriedades de textura, geleificantes, espessantes, emulsificantes e estabilizantes a certos alimentos. Pelo entendimento das propriedades funcionais das fibras dietéticas, pode-se aumentar seu uso em aplicações alimentares e ajudar no desenvolvimento de produtos alimentícios com alta aceitação pelo consumidor (ABDUL-HAMID & LUAN, 2000).

ABDUL-HAMID & LUAN (2000) realizaram estudo sobre as propriedades funcionais das fibras dietéticas do farelo de arroz, confirmando um teor acima de 20% em fibras dietéticas além de excelentes fontes de minerais, ácidos graxos insaturados e vitaminas, e concluindo que estas fibras quando comparadas a uma fonte de fibras comercial (FIBREX) apresentaram uma melhor capacidade emulsificante e uma melhor textura em testes realizados com produtos de panifício.

2.5.3 Lipídios

Cerca de 80% do óleo contido no grão de arroz integral encontra-se no farelo e no gérmen, e contem alta concentração de alguns ácidos graxos poliinsaturados, ocupando entre 73 a 92% em peso da composição do óleo. Sendo os principais: palmítico, linolênico, linoléico, oléico, esteárico e esqualeno. (MARC *et al.*, 2002)

O farelo de arroz contém normalmente entre 16 e 23% de lipídios. Sendo que no farelo de arroz parboilizado os teores podem ser maiores, devido à quase total ausência de amido (SILVA *et al.*, 2001), aproximadamente 68 a 71% do óleo do farelo é composto por triglicerídeos, 2 a 3 % de diglicerídeos, 5 a 6 % de monoglicerídeos e 2 a 3 % de ácidos graxos livres (MACCASKILL & ZHANG, 1999). Os glicolipídios correspondem de 5 a 7%, os fosfolipídios de 3 a 4%, as ceras de 2 a 3% e os lipídios insaponificáveis de 3 a 8%, sendo os três ácidos graxos em maior quantidade o oléico (40-50%), o linoléico (30-35%) e o palmítico (12-18%), os quais perfazem mais de 90% do total de ácidos graxos (MALEKIAM *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2001).

Dependendo do tipo de arroz e do método utilizado para extração e refino, os lipídios saponificáveis do óleo de farelo de arroz podem chegar entre 90-96%,

quantidade maior do que em outros óleos vegetais (ORTHOEFER, 1996; LEMOS & SOUZA-SOARES, 2000; LLOYD *et al.*, 2000).

A fração insaponificável do farelo de arroz contém um complexo único de ocorrência natural de compostos antioxidantes como tocoferóis, tocotrienóis, fitosteróis e orizanol, destacando-se o orizanol que não se encontra em outros óleos vegetais (LEMOS & SOUZA-SOARES, 2000; LLOYD *et al.*, 2000).

Em 1996, TAYLOR *et al.* patentearam nos Estados Unidos (pat. nº 5.552.167) um processo físico de refino do óleo do farelo de arroz pelo qual conseguiram aumentar a retenção de matéria insaponificável. O processo assinado pela NABISCO Inc. visa sua utilização como um antioxidante natural para ser usado como preservante na forma de spray em produtos como biscoitos, snacks e outros.

Dietas para hamsters acrescidas de matéria insaponificável previamente separada do farelo de arroz apresentaram maior redução nos níveis de colesterol que as dietas controle de celulose, constatando a presença de atividade antiolesterolêmica na matéria insaponificável do óleo do farelo de arroz (KAHLON *et al.*, 1996).

NITZKE *et al.* (1998), trabalhando com a avaliação da rancificação do farelo de arroz, concluíram que este por ser rico em óleo e proteínas, necessita de cuidados especiais uma vez que as alterações enzimáticas iniciam sua ação logo após o beneficiamento e polimento, sendo estas intensificadas à medida que o farelo é manipulado e transportado.

2.5.4 Minerais

Entre os principais componentes químicos do farelo de arroz encontram-se os sais minerais. As cinzas provenientes do farelo perfazem de 7-10% de seu peso total. A composição mineral do farelo de arroz depende dos nutrientes do solo, durante o desenvolvimento da planta. Os minerais presentes em níveis consideráveis no farelo de arroz são principalmente potássio, magnésio, fósforo e silício (PRAKASH & RAMANATHAM, 1995).

Estima-se que 80 % do ferro presente no grão de arroz encontra-se no farelo (MALEKIAM *et al.*, 2000). No entanto sua biodisponibilidade é afetada pelo alto teor de fibras, pela presença de fitatos – o que diminui a disponibilidade de fósforo,

encontrado em parte sob o forma orgânica de ácido fítico - e pequenas quantidades de taninos (PRAKASH & RAMANATHAM, 1995).

A Tabela 7 apresenta intervalos de composição mineral para o farelo de arroz.

TABELA 7. Composição mineral do farelo de arroz em mg/g.

ELEMENTOS	FARELO DE ARROZ
Ferro	0,19 – 0,53
Alumínio	0,054 – 0,37
Cálcio	0,25 – 1,3
Sódio	0,18 – 0,29
Potássio	13,2 – 22,7
Magnésio	8,6 – 12,3
Manganês	0,11 – 0,88
Fósforo	14,8 – 28,7
Silício	1,7 – 7,6
Zinco	0,05 – 0,16

Fonte: MALEKIAM et al., 2000.

2.5.5 Vitaminas

Em 1927 a British Medical Research Council propôs a denominação de vitamina B1 ao fator antiberibéri encontrado no farelo de arroz, devido ao episódio ocorrido em 1897 onde EIKJMAN conseguiu curar casos de beribéri (carência de vitaminas do complexo B1) em pessoas com estados debilitados, utilizando arroz integral em substituição ao arroz branco tradicional (TORIN, 1991).

O farelo de arroz é considerado uma boa fonte de vitaminas do complexo B. Além da vitamina B1 encontram-se quantidades consideráveis de tiamina (78%), riboflavina (47%) e niacina (67%) quando proveniente do arroz integral. O conteúdo de vitaminas A, C e D é mínimo ou nulo. O farelo de arroz parboilizado, no entanto, apresenta conteúdo de vitaminas menor que do arroz cru devido à migração desses

nutrientes do pericarpo e aleurona para o endosperma amiláceo durante o processo de parboilização (SILVA *et al.*, 2001).

A Tabela 8 mostra valores de concentração de vitaminas encontradas no farelo de arroz.

TABELA 8. Vitaminas encontradas no farelo de arroz.

VITAMINAS	CONCENTRAÇÃO (ppm)
Vitamina A	4
Tiamina	10-28
Riboflavina	2-3
Niacina	236-590
Piridoxina	10-32
Ác. Pantotênico	28-71
Biotina	0,2-0,6
Myoinositol	4600-9300
Colina	1300-1700
Ac. p-aminobenzoíco	0,7
Ac. Fólico	0,5-1,5
Vitamina B12	0,005
Vitamina E	150

Fonte: SAUNDERS, R. M., 1990.

O óleo do farelo de arroz contém altas concentrações de vitamina E quando comparado aos óleos de outras sementes, aproximadamente 1,0% (v/v) da fração insaponificável do óleo é α -tocoferol (LLOYD *et al.*, 2000), e aproximadamente 1,7% (v/v) da mesma fração insaponificável é composta por tocotrienóis (EITENMILLER, 1997). Ambos, tocoferol e tocotrienóis possuem atividade antioxidante e contém isômeros α , β e γ , mas o tocoferol isolado do farelo de arroz somente tem o isômero δ (TOMEIO *et al.*, 1995, LLOYD *et al.*, 2000).

2.5.6 Orizanóis

O orizanol foi primeiramente isolado por KANEKO e TSUCHIYA (1955) do óleo do farelo de arroz, sendo primeiramente considerado como um componente isolado e depois determinado como uma mistura de ésteres do ácido ferúlico de esterol e álcool triterpênico, presentes no farelo de arroz em níveis que variam entre 1,5 e 2,9% e classificados como α , β e γ orizanóis. Destes o mais estudado é o γ -oryzanol.

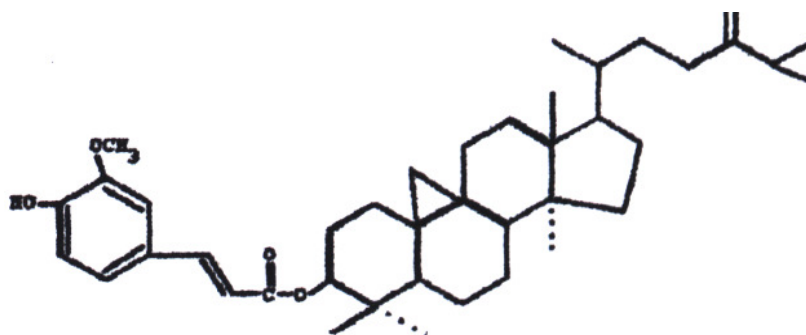


FIGURA 3. Estrutura molecular do ácido ferúlico esterificado com 24-metileno-cicloartanol, um dos cinco compostos do orizanol encontrados no farelo de arroz. Fonte: LLOYD *et al.*, 2000.

Diversos estudos tem sugerido que o γ -oryzanol apresenta capacidade de reduzir a absorção de colesterol no sangue, possuir atividade anticarcinogênica associado com tocotrienóis além de uma funcionalidade antioxidante, que o habilita para uso como conservante no armazenamento de alimentos, como aditivo em alimentos, em produtos farmacêuticos e cosméticos (XU & GODBER, 1999; LLOYD, 2000; KAHN, 1996 e 2000; QURESHI, 1997, 2001 e 2002; RANHOTRA, 1996; SEETHARAMAIAH, G. S. & CHANDRASEKHARA, 1993).

A atividade antioxidante dos orizanóis nos alimentos é atribuída principalmente ao ácido ferúlico, presente na forma de ésteres de polissacarídeos, glicoproteínas em polímeros de carboidratos e como componente estrutural de lipídios na forma de éster de ferulato. A atividade dos orizanóis favorece a oxidação de compostos hidrofóbicos. Essa atividade é aumentada por agentes sinérgicos, como fosfolipídios, aminoácidos e α -tocoferóis presentes no farelo de arroz (SAUNDERS, 1990).

SEETHARAMAIAH & CHANDRASEKHARA (1993) realizaram estudo com diferentes níveis de oryzanol, curcumin e ácido ferúlico, para avaliação '*in vivo*' de seus efeitos hipocolesterolêmico, concluindo que o oryzanol demonstrou resultados superiores em relação aos outros dois, produzindo níveis séricos benéficos sobre os animais estudados.

A estrutura química dos orizanóis é semelhante a do colesterol, sendo as etapas de síntese do colesterol em humanos semelhante à de algumas frações não triglicéridicas em plantas, como os orizanóis, este pode ser o fator responsável pelo efeito hipocolesterolêmico apresentado pelo farelo de arroz, pois o organismo humano reconheceria a estrutura dos orizanóis como se fosse colesterol, inibindo a enzima e reduzindo sua síntese. Entre os efeitos fisiológicos mais importantes cita-se a diminuição do colesterol no plasma, na biossíntese do colesterol hepático, redução da absorção de colesterol e aumento da excreção fecal de ácidos biliares (SEETHARAMAIAH & CHANDRASEKHARA, 1993).

XU & GODBER (1999) isolaram e identificaram 10 componentes do γ -oryzanol usando técnicas cromatográficas.

MARTIN *et al.* (1993) notaram que os primeiros passos do processamento pós-colheita podem afetar a retenção dos antioxidantes, além disso, o processo térmico utilizado para estabilizar o farelo contra a oxidação reduz a concentração de muitos componentes valiosos do óleo. LLOYD *et al.* (2000) citam que NICOLOSI *et al.* (1994) reportaram em seus estudos notável diferença nos níveis de tocotrienóis e orizanóis nos óleos de farelo de arroz disponíveis comercialmente. Estes encontraram que 90% destes compostos foram perdidos durante o processo de refino do óleo.

2.5.7 Fatores Antinutricionais

Encontram-se presentes no farelo de arroz diversos fatores antinutricionais, os quais podem interferir com a disponibilidade de nutrientes ou apresentar efeitos tóxicos ao organismo. O fitato ou ácido fítico é um termo genérico referente ao composto orgânico mio-inositol (IP6). O fósforo na forma de ácido fítico pode interferir na biodisponibilidade agindo, muitas vezes, como quelante dos demais minerais no organismo, sendo este um componente comum em grãos (PAVEL *et al.*, 1995).

Nos cereais, o ácido fítico se localiza nas camadas externas do grão. No farelo de arroz, concentra-se na camada de aleurona e no gérmen, onde 90% do fósforo se apresenta como fitato (CHAMPAGNE, 1985). Estima-se que o farelo de arroz contém 7% de fitato, dos quais 5,01% no gérmen e 6,25% no pericarpo (TORIN, 1991).

A formação de fitatos insolúveis torna o cálcio e o fósforo indisponíveis. O fósforo fítico deve ser hidrolisado pela enzima fitase antes de ser absorvido. A fitase esta presente em alguns grãos de cereais, como por exemplo, os farelos de arroz e de canola (RUTZ, 1995).

O ácido fítico pode se ligar com minerais e proteínas, reduzindo assim sua disponibilidade. A ligação é dependente do pH. As proteínas podem-se ligar ao ácido fítico diretamente ou através de íons minerais, um fator que pode alterar a estrutura da mesma, causando redução na solubilidade, funcionalidade e digestibilidade. A ligação com minerais também reduz a solubilidade e disponibilidade para a absorção. Porém, recentes pesquisas têm sugerido que os fitatos podem apresentar efeitos benéficos, como por exemplo, no combate ao câncer e na prevenção de contaminação por metais pesados (CHAMPAGNE, 1985).

Foi constatado que os fitatos presentes no farelo de arroz, associados a algum componente da fração fibra, podem interagir e atuar como quelantes de determinados minerais e metais pesados no organismo, desse modo reduz-se os níveis de chumbo, o que diminui sua deposição no fígado e rins (CÚNEO *et al.*, 1998).

Além dos fitatos, o farelo de arroz apresenta outros fatores antinutricionais, como inibidores de enzimas proteolíticas (tripsina), hemaglutininas, que são em sua maioria glicoproteínas (globulinas) as quais têm a propriedade de aglutinar células sangüíneas, sendo rapidamente inativadas pelo calor. Além das fibras que podem complexar com minerais e proteínas, reduzindo a biodisponibilidade dos minerais e a digestibilidade protéica (SILVA *et al.*, 2001).

2.6 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO FARELO DE ARROZ

O farelo de arroz é de cor clara, gosto doce, moderadamente oleoso, e tem um sabor de noz. A textura varia de um pó muito fino a uma consistência de floco, dependendo do processo da estabilização. Além do sabor, da cor, e das propriedades

nutritivas, outras propriedades como a absorção de água e gordura, emulsificação e capacidade espumante, são fatores importantes para seu uso em alimentos (MALEKIAM *et al.*, 2000 citando TAO, 1989).

A fibra insolúvel, em maior quantidade no farelo de arroz, é a responsável pela boa retenção de água, enquanto a fibra solúvel pode afetar a textura, a geleificação, o espessamento, e as propriedades emulsificantes (OLSON *et al.*, 1987). De acordo com JAMES & SLOAN (1994), o farelo de arroz extrudado e desengordurado absorve mais água e gordura e tem grande capacidade espumante e estabilidade quando comparado ao farelo de trigo. A água absorvida pelo farelo de arroz nos testes modelo é de cerca de 300%, sendo esta capacidade superior aos 70% do concentrado protéico de soja disponível comercialmente. Em produtos cozidos, a capacidade de retenção de água elevada do farelo de arroz ajuda a manter a umidade e o frescor do alimento.

A elevada capacidade de absorver gordura do farelo de arroz seria desejável em produtos tais como extenders de carne por ajudar a manter a suculência e melhorar a mastigabilidade. O farelo de arroz extrusado integral com menor capacidade de absorção de gordura pode ser melhor para alimentos tais como biscoitos e panquecas que são cozidos na gordura e para os quais a absorção de gordura não é desejável (JAMES & SLOAN, 1984).

A capacidade emulsificante das proteínas do farelo de arroz está relacionada ao pH. O concentrado de proteína do farelo de arroz mostrou boa atividade emulsificante e estabilidade. MALEKIAM *et al.* (2000) citando BARBER & BENEDITO DE BARBER (1980) relatam que o farelo apresenta uma boa estabilidade de emulsão depois de um aquecimento de 30 minutos. O que sugere seu possível uso como emulsificante em preparados alimentícios.

A capacidade espumante ajuda na incorporação de ar, e na texturização em produtos cozidos, como merengues, e coberturas. O farelo de arroz desengordurado e extrudado, apresenta uma capacidade de formação de espuma de 115.5% podendo ser utilizado em sistemas de alimento (JAMES & SLOAN, 1984), no entanto, o farelo de arroz, com baixo teor de gordura e cru, não mostrou nenhuma propriedade espumante (JAMES & SLOAN, 1984; MALEKIAM *et al.*, 2000 citando BARBER & BENEDITO DE BARBER, 1980).

2.7 ENZIMAS NO FARELO DE ARROZ

Muito da história da bioquímica refere-se à pesquisa em enzimas. Em 1926, James Sumner's isolou e cristalizou a primeira enzima, a urease, que catalisa a hidrólise da uréia em NH_3 e CO_2 . As enzimas desempenham a função de catalisar as reações nos organismos. Com exceção de alguns RNAs (ribozimas) que são catalisadores durante seu próprio processamento, todas as enzimas são proteínas, as quais aumentam a velocidade de uma reação por um fator de 10^{14} vezes mais do que uma reação não catalisada (Voet, D. *et al.*, 2000).

O termo biotransformação pode ser aplicado para modificações específicas ou interconversões na estrutura química, realizadas por enzimas presentes nas células ou na forma isolada. A biotransformação difere da fermentação, na qual o substrato é convertido a produtos através de um caminho metabólico bastante complexo na célula.

As enzimas podem ser encontradas em células animais ou de plantas, bem como em microrganismos. Entretanto, quando a permeabilidade da membrana celular é insuficiente para a passagem do substrato ou quando ocorrem reações laterais indesejáveis, é necessário conduzir a biotransformação com enzimas isoladas ou purificadas (Dalla-Vecchia, R. *et al.*, 2004).

Atualmente, mais de 3.000 diferentes enzimas têm sido identificadas e muitas isoladas em sua forma pura. Várias têm sido obtidas na forma cristalina e a seqüência de aminoácidos, bem como a estrutura tridimensional determinadas através de cristalografia de raios-X e RMN-2D.

A aplicação de biocatalisadores na indústria é objeto de muitas investigações, devido à alta atividade catalítica em comparação com os catalisadores convencionais, e ao fato de atuarem com alta eficiência em condições reacionais bastante suaves.

Enzimas são catalisadores essenciais no metabolismo de plantas e animais. No entanto, as enzimas continuam ativas mesmo depois da colheita, contribuindo para o detrimento de parâmetros de qualidade como a cor, textura, aroma, flavor e valor nutricional. Tratamentos térmicos são freqüentemente utilizados para diminuir ou eliminar a atividade enzimática.

As principais enzimas existentes no arroz são as amilases, as lipases, a peroxidase e a lipoxigenase. As lipases do farelo de arroz hidrolisam os triacilgliceróis

produzindo ácidos graxos que aumentam a acidez do farelo, reduzem o pH, produzem um off-flavor e sabor rançoso, além de causar alterações nas propriedades funcionais (TAKANO, 1993).

O farelo de arroz contém diversos tipos de lipase as quais são específicas para clivar ligações 1,3 dos triacilgliceróis. Estas apresentam um tamanho de 40kDa, um pH ótimo de 7,5-8,0 e uma temperatura ótima de 37°C. Além das lipases, se encontram presentes no farelo de arroz fosfolipases, glicolipases e esterases (TAKANO, 1993).

A lipoxigenase catalisa a oxidação de grupos metilenos nos ácidos graxos insaturados e seus ésteres, como o linoléico e o linolênico formando hidroperóxidos. Esta enzima, diferentemente da lipase, e como a maioria das demais enzimas, tem sua atividade acelerada com a adição de água aos produtos de cereais (BARNES & GALLIARD, 1991).

A lipoxigenase é muito importante em alimentos por afetar a cor, flavor e propriedades nutritivas. Por exemplo, ocasiona perdas de ácidos graxos poliinsaturados como o ácido linoléico e interfere na disponibilidade de alguns aminoácidos essenciais, o que diminui a qualidade da proteína. As enzimas lipase e lipoxigenase, ambas encontradas em plantas e animais, são geralmente ativadas quando o tecido é rompido ou danificado (MALEKIAM, 2000).

2.8 AMILASES

As amilases atuam no amido, glicogênio, e polissacarídeos amiláceos hidrolisando as ligações glicosídicas α -1,4 e/ou α -1,6 (PIRES, 2002 citando The British Nutrition Foundation, 1990).

São enzimas hidrolíticas altamente seletivas, conseqüentemente a especificidade depende de quão firmemente a enzima se liga a um composto e de sua rapidez em converter os compostos em produto. Quantitativamente, a especificidade é medida por $V_{m\acute{a}x}/K_m$, onde $V_{m\acute{a}x}$ é mais bem expressa em taxa por moles de enzima. Quanto maior o valor de $V_{m\acute{a}x}/K_m$, chamado de coeficiente de especificidade, mais especifica a enzima é para um substrato (WHITAKER, 1994).

O amido é um polímero de glicose unido por ligações glicosídicas. Estas ligações são estáveis à pHs altos, mas hidrolisáveis em pHs baixos. No final da cadeia polimérica, um grupamento aldeídico latente está presente. Este grupo é conhecido como terminação redutora. Dois tipos de polímeros de glicose constituem o amido: a amilose e a amilopectina, em proporções que variam com a espécie e o grau de maturação, servindo de reserva para plantas e proporcionam um meio pelo qual, organismos não fotossintetizantes, como o homem, podem utilizar a energia proveniente do sol.

A amilose é um polímero linear constituído de mais de 6.000 unidades de glicose com ligações glicosídicas α , 1-4. A amilopectina consiste de cadeias lineares curtas com ligações α , 1-4 de 10-60 unidades de glicose e cadeias laterais com ligações α , 1-6 de 15-45 unidades de glicose (MARC *et al.*, 2002).

Nas plantas, em seu estado nativo, o amido esta presente na forma insolúvel; entretanto, se uma suspensão de amido for aquecida a temperaturas acima de 60°C, as pontes de hidrogênio, que são responsáveis pela manutenção da estrutura, se quebram, os grânulos incham e o amido se dispersa na solução. Este processo de gelatinização é basicamente um pré-requisito para a maioria dos processos onde se deseja hidrólise amilolítica (PIRES, 2002 citando SUCKLING, 1990).

Nas últimas décadas, têm-se visto uma mudança dos métodos de hidrólise ácida do amido para o uso de processos enzimáticos para obtenção de componentes com menor peso molecular, como dextrinas, glicose e frutose (MARC *et al.*, 2002).

As amilases podem ser divididas de acordo com: tipo de ataque ao substrato polimérico (exo ou endo); retenção ou inversão de sua configuração espacial; hidrólise de ligações glicosídicas α -1,4 versus α -1,6; hidrólise ou reação de transferência; procura biológica; e diminuição rápida da viscosidade do substrato (liquefação) ou lenta (sacarificação). Estes critérios são baseados nos diferentes atributos das enzimas, não sendo necessariamente exclusivos (ROBYT, 1984).

PLANCHOT *et al.* (1995) citado por TESTER & SOMMERVILLE (2001) identificou três estágios na hidrólise enzimática do amido em meio aquoso:

- Difusão da molécula da enzima;
- Adsorção da enzima pelo substrato sólido,
- Hidrólise.

Sendo o estágio de difusão influenciado largamente pela porosidade do substrato sólido e a eficiência da enzima em entrar nos poros.

As amilases são comumente classificadas em três grupos principais, de acordo com seu modo de ação e formação de produtos: as α -amilases, que hidrolisam ligações no interior do substrato (endoamilases), as β -amilases, as quais hidrolisam unidades da extremidade não redutora do substrato (exoamilases) e as glicosidases (glicoamilases), que hidrolisam unidades de glicose da extremidade não redutora do polissacarídeo (MARC *et al.*, 2002; WHITAKER, 1994). Um grande número destas enzimas pertencem a uma mesma família: a família da α -amilase. Estas são responsáveis por pelo menos 21 reações diferentes e pela formação de uma diversidade de produtos específicos com inúmeras aplicações industriais (MARC *et al.*, 2002).

2.8.1 α -amilase

A α -amilase (1,4- α -D-glucan glucanohidrolase, EC 3.2.1.1 é uma endoamilase e ocorre naturalmente em plantas superiores, tecidos animais e numa grande variedade de microrganismos. Sendo provavelmente a mais extensamente distribuída das amilases (MARC *et al.*, 2002). Em humanos, as α -amilases da saliva e do pâncreas tem papel fundamental na hidrólise do amido transformando-o em oligossacarídeos, que podem ser hidrolisados, no intestino delgado, pelas di e trissacaridases (WHITAKER, 1994).

2.8.1.1 Modo de ação da α -amilase

O substrato preferencial da α -amilase é o amido, sendo a catálise realizada por adsorção. Recentemente, vários tratamentos do amido tem sido desenvolvidos para realçar a adsorção de α -amilase, como o aquecimento em uma mistura de água e solvente orgânico, ou em solução salina, que incha os grânulos de amido sem que ocorra dissolução. Diversos estudos tem demonstrado que o tratamento por calor úmido, aquecendo o amido a uma umidade relativa de 100%, é efetivo no aumento da adsorção da α -amilase. Neste tratamento, o tamanho de partícula dos grânulos de amido é mantido, mas uma mudança na estrutura interna ocorre devido ao recozimento (KURAKAKE *et al.*, 1996).

A enzima age sobre o amido de uma maneira essencialmente aleatória, no interior da cadeia, através da hidrólise somente de ligações glicosídicas α -1,4, produzindo açúcares redutores. A designação α -amilase é devido ao fato dos produtos de degradação serem açúcares com a configuração óptica α (PIRES, 2002 citando BEMMILLER & WHISTLER, 1996).

A ação da α -amilase na fração amilose do amido ocorre em dois estágios. Inicialmente há uma degradação rápida da molécula de amilose com a formação de maltose e maltotriose. Essa etapa é resultante do ataque aleatório da enzima sobre o substrato. Nessa fase ocorre uma diminuição brusca na viscosidade. O segundo estágio é muito mais lento que o primeiro, envolvendo uma lenta hidrólise dos oligossacarídeos e conseqüente formação de moléculas de glicose e maltose como produtos finais.

A hidrólise da α -amilase na fração de amilopectina do amido produz glicose, maltose e α -dextrinas limite, oligossacarídeos ramificados de quatro ou mais resíduos de glicose, todos eles contendo ligações α -1,6 glicosídicas (MARC *et al.*, 2002).

2.8.1.2 Características da α -amilase

O pH é um fator que influencia diretamente a atividade e a estabilidade das α -amilases. Em plantas superiores, mamíferos, bactérias e fungos, as α -amilases são geralmente estáveis em pH que varia de 5,0 a 8,0. Os valores de pH nos quais se observa ótima atividade enzimática para plantas superiores, bactérias e fungos encontram-se numa faixa entre 5,0 e 6,0. As amilases fúngicas atuam em, geral, em pH mais baixo do que as bacterianas. Seus pesos moleculares são da ordem de 50.000 (WHITAKER, 1994).

A termoestabilidade das α -amilases é relevante na hidrólise enzimática do amido que compreende o rompimento do grânulo por aquecimento (de 60 a 105 °C, dependendo do tipo de material), seguido de hidrólise parcial para reduzir a viscosidade da solução resultante e a liquefação. Com enzimas menos termoestáveis, o rompimento por calor e a hidrólise parcial tem lugar em diferentes estágios. A partir do advento de enzimas termoestáveis disponíveis comercialmente, a liquefação do amido torna-se um único processo.

As α -amilases que contêm cálcio na molécula, são menos sensíveis a altas temperaturas quando comparadas com as β -amilases, que são enzimas que não necessitam de íons estabilizadores. A temperatura ótima das amilases se encontra entre 15 e 40°C, sendo que a maioria das α -amilases purificadas perde sua atividade rapidamente em temperaturas acima de 50°C (MARC *et al.*, 2002).

Os íons cálcio são essenciais tanto para a atividade quanto para a estabilidade térmica das α -amilases, especialmente no caso de α -amilases provenientes de cereais, onde a ligação com o cálcio é bastante fraca (PIRES, 2002 citando GREENWOOD & MILNE, 1968). O papel do cálcio é de manter a estabilidade da estrutura secundária e terciária, não sendo conhecido, entretanto, seu papel na ligação ou transformação do substrato (WHITAKER, 1994). As α -Amilases extraídas de *Bacillus subtilis* e *Bacillus stearothermophilus* são particularmente estáveis a altas temperaturas.

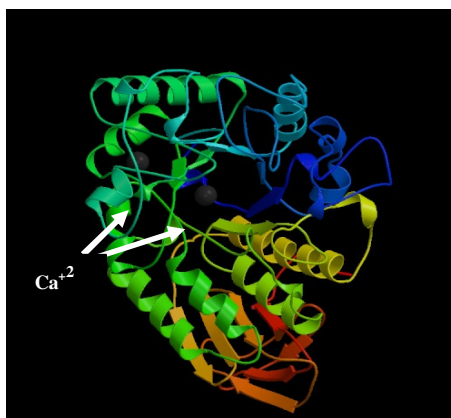


FIGURA 4. Modelo molecular da α -amilase (E. C. 3.2.1.1) proveniente de *Aspergillus oryzae* (TAKA) contendo átomo de Ca^{+2} .

Fonte: SWIFT *et al.*, 2001.

2.8.2 Exo-amilases

A β -amilase (1,4- α -D-glucan maltohidrolase, EC 3.2.1.2), também chamada de amilase sacarogênica, está presente somente em plantas superiores e em alguns microrganismos, não ocorrendo, portanto, em mamíferos. Esta enzima produz β -maltose e β -dextrinas limite de alto peso molecular (PANDEY *et al.*, 2000).

A amiloglicosidase ou glicoamilase (EC 3.2.1.3) e a α -glicosidase (EC 3.2.1.20) são encontradas em uma grande variedade de microrganismos, tendo ação na clivagem de ambas as ligações glicosídicas, tanto α , 1-4 quanto α , 1-6.

2.8.2.1 Modo de ação das exo-amilases

As β -amilases atacam as bandas glicosídicas, partindo da extremidade não redutora até toda a cadeia ser convertida em maltose ou até que a ação da enzima seja bloqueada por algum agente químico ou físico. A β -amilase não hidrolisa ligações glicosídicas α -1,6 na amilopectina e sua ação cessa no ponto de ramificação; por essa razão, a degradação da amilopectina pela β -amilase é incompleta com uma grande quantidade de polímeros remanescentes. As β -amilases podem ter sua atividade enzimática inibida pela presença no meio de cicloamilases (MARC *et al.*, 2002; WHITAKER, 1994).

A β -amilase pode vir a competir com a α -amilase pela degradação das dextrinas e açúcares simples. A existência desses intermediários levou a β -amilase a ser descrita como um complemento da α -amilase, sendo mais tarde considerada uma enzima fundamental na degradação do amido (DUNN, 1974).

A glicoamilase atua nos resíduos de glicose externos da amilose ou amilopectina produzindo somente glicose. A glicoamilase e a α -glicosidase diferem na sua preferência pelo substrato: a α -glicosidase atua melhor em maltooligossacarídeos de cadeia curta e libera glicoses com configuração α , enquanto a glicoamilase hidrolisa melhor polissacarídeos de cadeia longa (PANDEY *et al.*, 2000).

2.8.2.2 Características das exo-amilases

O pH ótimo da β -amilase varia entre 5,0 e 6,0. A enzima é relativamente estável a pHs ácidos, tendo, no geral, um peso molecular maior do que as α -amilases (WHITAKER, 1994).

A estabilidade térmica das β -amilases depende muito de sua procedência, por exemplo, as β -amilases provenientes de cereais e leguminosas são menos estáveis termicamente do que suas respectivas α -amilases e por essa razão são mais rapidamente inativadas pelo calor (PIRES, 2002 citando WONG, 1989).

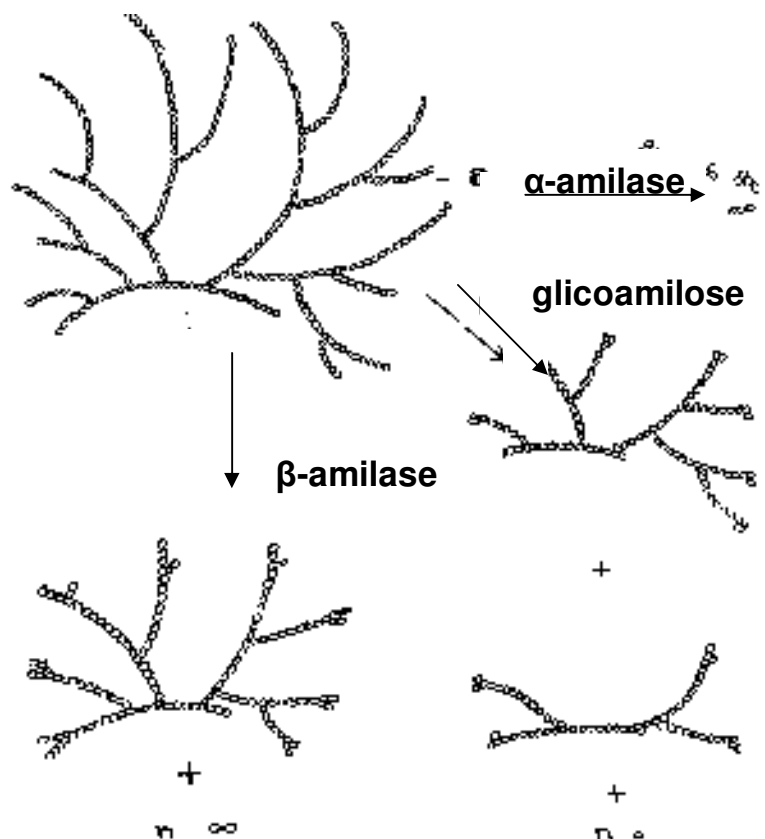


FIGURA 5. Representação da ação da α -amilase, β -amilase e glicoamilase sobre uma estrutura esquemática de amilopectina, onde cada círculo representa uma unidade de glicose.

Fonte: WHITTAKER, 1994.

2.8.3 Enzimas desramificantes e transferases

O grupo das enzimas desramificantes hidrolisam exclusivamente ligações glicosídicas α , 1-6 e é composto pela isoamilase (EC 3.2.1.68) e pululanase (EC 3.2.1.41). As pululanases hidrolisam as ligações glicosídicas α , 1-6 no polissacarídeo formado por unidades repetidas de maltotriose, e amilopectina, enquanto a isoamilase somente hidrolisa as ligações α , 1-6 na amilopectina. Os produtos de degradação deste grupo são maltose e maltotriose.

As transferases compreendem a amilomaltase (EC 2.4.1.25) e ciclodextrina glicosiltransferase (EC 2.4.1.19), estas clivam as ligações glicosídicas α ,

1-4 da molécula doadora e transferem parte do doador para um aceitador glicosídico com a formação de uma nova ligação glicosídica (TAKAHA & SMITH, 1999).

2.9 PROTEASES

Enzimas proteolíticas ou proteases catalisam a quebra das ligações peptídicas em proteínas. São enzimas da classe 3, as hidrolases, e subclasse 3.4, as peptídeo-hidrolases ou peptidases. Estas enzimas constituem uma grande família (EC 3.4), dividida em endopeptidases ou proteinases (EC 3.4. 21-99) e exopeptidases (EC 3.4.11-19), de acordo com a posição da ligação peptídica a ser clivada na cadeia peptídica. Estas endopeptidases podem ser ainda subdivididas de acordo com o grupo reativo no sítio ativo envolvido com a catálise em serina- (EC 3.4.21), cisteína- (EC 3.4.22), aspártico-proteinases ou endopeptidases (EC 3.4.23) e metalloproteinases ou metalloendopeptidases (EC 3.4.24). As enzimas cujo mecanismo de ação não está completamente elucidado são classificadas no subgrupo EC. 3.4.99 (BEYNOM, R.J. & BOND, J.S., 1989).

2.9.1 Exopeptidases

As exopeptidases atuam somente nos extremos das cadeias polipeptídicas da região N- ou C- terminal. Aquelas que atuam na região amino terminal livre liberam um único resíduo de aminoácido (aminopeptidases), um dipeptídeo (dipeptidil-peptidases) ou um tripeptídeo (tripeptidil-peptidases). As exopeptidases que atuam na região carboxi terminal livre liberam um único aminoácido (carboxipeptidases) ou um dipeptídeo (peptidil-dipeptidases). Algumas exopeptidases são específicas para dipeptídeos (dipeptidases) ou removem resíduos terminais que são substituídos, ciclizados ou ligados por ligações isopeptídicas. Ligações isopeptídicas são ligações peptídicas diferentes daquelas entre uma α -carboxila e um α -amino grupo, e estes tipos de enzimas são denominados omega peptidases (BEYNOM, R.J. & BOND, J.S., 1989).

2.9.2 Endopeptidases

Endopeptidases atuam preferencialmente nas regiões internas da cadeia polipeptídica, entre as regiões N e C terminal. A presença de grupos α -amino ou α -carboxila tem um efeito negativo na atividade da enzima (BEYNOM, R.J. & BOND, J.S., 1989).

2.9.3 Proteases: função e aplicação

Proteases são enzimas muito importantes nos processos fisiológicos como a coagulação sanguínea, morte celular e diferenciação de tecidos. As enzimas proteolíticas também participam no metabolismo de proteínas, e na liberação de hormônios (peptídeos ativos). Além disto, são amplamente utilizadas a nível comercial, estando entre os três maiores grupos de enzimas industriais, sendo responsáveis por 60% da venda internacional de enzimas. As proteases têm uma variedade de aplicações principalmente na indústria de detergentes e de alimentos. Tendo em vista os recentes acordos mundiais para uso de tecnologias não poluentes, as proteases começaram a ser usadas em larga escala no tratamento do couro, em substituição aos compostos tóxicos e poluentes até então usados. (RAWLING, N.D. & BARRET, A., 1994).

2.9.4 Proteases de microrganismos

Proteases são encontradas em vários microrganismos, como bactérias, protozoários, leveduras e fungos. A impossibilidade das proteases de plantas e animais atenderem à demanda mundial de enzimas tem levado a um interesse cada vez maior pelas proteases de origem microbiana. Os microrganismos representam uma excelente fonte de proteases devido a sua grande diversidade bioquímica e facilidade de manipulação genética. As proteínas são degradadas por microrganismos, que a utilizam os como nutrientes para o seu crescimento. A degradação é iniciada por endopeptidases secretadas pelos microrganismos, seguida de hidrólise por exopeptidases. Proteinases podem ser produzidas por microrganismos distintos, dependendo da espécie, por diferentes cepas de uma mesma espécie, ou até pela mesma cepa, variando as condições de cultura.

A maioria das serino-proteinases comerciais, principalmente as alcalinas e neutras, são produzidas por microrganismos que pertencem ao gênero *Bacillus*. As

subtilisinas são enzimas representantes deste grupo. Enzimas similares também são produzidas por outras bactérias, como por exemplo, *Thermus caldophilus*, *Desulfurococcus mucosus*, *Streptomyces* e pelos gêneros *Aeromonas* e *Escherichia*. Os fungos também produzem serino-proteinases; entre eles o *Aspergillus oryzae*. As cisteíno-proteinases não são encontradas tão amplamente como as serino- e as aspártico-proteinases. Entretanto, em protozoários da família Trypanosomatidae elas são muito distribuídas, assim como as metaloproteinases, tem sido detectadas em vários gêneros como *Crithidia*, *Phytomonas*, *Herpetomonas*, *Trypanosoma*, *Leishmania* e *Endotrypanum*, as enzimas nestes microrganismos são responsáveis pelo ciclo de vida e na sua diferenciação morfológica (RAWLING, N.D. & BARRET, A., 1994).

Proteases microbianas contam aproximadamente por 40% da venda total mundial de enzimas e são preferidas às enzimas de plantas e animais, uma vez que elas possuem a maioria das características desejadas para aplicação em biotecnologia (RAO M.B. et al., 1998).

2.10 LIPASES

As lipases (triglicerol acil-hidrolases, EC 3.1.1.3) são classificadas como hidrolases e atuam sobre ligações éster presentes em acilgliceróis, liberando ácidos graxos e glicerol, constituindo uma classe especial de esterases (JAEGER, K. E. *et al.*, 1999). A diferenciação entre uma lipase e uma esterase (EC. 3.1.1.1) está no fato de que a primeira catalisa reações de substratos insolúveis em água, enquanto que uma esterase age em substratos solúveis (ALVAREZ-MACARIE, E. *et al.*, 1999). Entretanto, a diferenciação entre lipases e esterases ainda não está completamente definida. Em 1958, Sarda e Desnuelle propuseram definir as lipases a partir de sua característica cinética, que é a propriedade de ativação na presença de substratos insolúveis em água e emulsionados, ou seja, na presença de uma interface lipídeo/água. Segundo estes autores, as lipases seriam ativadas na presença de ésteres emulsionados, enquanto as esterases não apresentariam esta ativação, exercendo sua função hidrolítica sobre substratos solúveis em água (SARDA L. & DESNUELLE, P., 1958).

As lipases são encontradas em tecidos de vários animais e plantas, e podem ser produzidas por fermentação usando várias espécies de microrganismos, tais com os fungos *Aspergillus mucor*, *Rhizopus penicillium*, *Geotrichum* sp, por leveduras de *Tulopsis* sp e *Cândida* sp e bactérias como *Pseudomonas* sp, *Achromobacter* sp e *Staphylococcus* sp. Do ponto de vista econômico e industrial, lipases de microrganismos são preferíveis do que as lipases de fontes animais e plantas, devido ao alto custo do seu isolamento (CASTRO, H. F. *et al.*, 1995).

A massa molecular destas enzimas lipolíticas varia de 20-75 kDa. Seu ponto isoelétrico varia em uma faixa de 3,6 e 7,6, sendo majoritariamente ácidas. O sítio catalítico é formado pela tríade catalítica Ser-His-Asp/ Glu, que se repete em todas as estruturas e é freqüentemente protegido na molécula por uma “tampa” hidrofóbica que ao interagir com a interface lipídeo/água sofre uma mudança conformacional, expondo o sítio ativo. A presença da “tampa” na estrutura da enzima e a propriedade de ativação interfacial passaram a ser fatores determinantes para a caracterização de lipases (BRADY, L. *et al.*, 1990).

Estudos de raio-X realizados por UPPENBERG *et al.* 1994, com a lipase da *Candida Antarctica*, revelou a existência de uma “tampa” similar recobrimdo a tríade catalítica Ser-His-Asp. Por outro lado, as cutinases, enzimas consideradas lipases “verdadeiras”, não apresentam a “tampa” e não precisam da interface para exercer a atividade hidrolítica (CYGLER, M. & SCHRAG, J. D., 1997).

As lipases são muito utilizadas em síntese orgânica devido à sua grande disponibilidade e baixo custo. Além disso, não requerem cofatores, atuam em uma faixa de pH relativamente grande, são muito estáveis neste meio, apresentam especificidade, regiosseletividade, quimiosseletividade e enantiosseletividade. Possuem a habilidade de catalisar reações de esterificações, transesterificações (acidólise, interesterificação, alcoólise), aminólise e tiotransesterificação em solvente orgânico anidro, sistema bifásico e em solução micelar com alta especificidade. O deslocamento do equilíbrio na reação, no sentido direto (hidrólise) ou inverso (síntese), é controlado pela quantidade de água presente na mistura reacional. As lipases têm sido extensivamente investigadas com relação às suas propriedades bioquímicas e fisiológicas e, mais recentemente, para aplicações industriais (PANDEY, A. *et al.*, 1999; GANDHI, N. N., 1997).

2.11 CELULASES

A celulose é o carboidrato mais abundante na natureza, contendo mais de 50% de todo o carbono orgânico. É um polímero não ramificado de resíduos de glicose através de ligações β -1,4. Devido a sua configuração β ao redor do C(1) a cadeia de celulose interage com outras pelo hidrogênio terminal para formar micelas fibrilares cristalinas e orientadas, com baixa solubilidade em água, o que resulta em uma relativa inércia à ação de enzimas hidrolíticas.

A celulase é um complexo de enzimas hidrolíticas, contendo principalmente endo e exo β -glucanase mais celobiose. As enzimas que atuam na celulose e nos produtos derivados da celulose podem ser divididas em quatro grupos (WHITTAKER, 1994):

- a) Endoglucanases são inativas sobre celulosas cristalinas, hidrolizando, no entanto, celulosas amorfas e substratos solúveis como a carboximetil celulose e hidroxidoetil celulose. A atividade da endoglucanase é caracterizada pela clivagem das terminações β -glicosídicas, resultando numa rápida queda de viscosidade relativa ao aumento da quantidade de grupos redutores. Os produtos incluem glicose, celobiose e celodextrinas de vários tamanhos.
- b) Celobiohidrolases são enzimas exógenas. Elas degradam a celulose amorfa pela consecutiva remoção de celobiose das terminações não redutoras do substrato. O aumento na quantidade de grupos redutores em relação ao decréscimo na viscosidade é muito maior do que nas endoglucanases.
- c) Exoglucohidrolases hidrolisam removendo unidades de glicose das terminações não redutoras das celodextrinas. O volume de hidrolisado decresce concomitantemente ao decréscimo do comprimento das cadeias do substrato.
- d) β -glucosidases, atuam hidrolisando a celobiose em glicose e removem glicose das terminações não redutoras de celodextrinas de cadeia curta. Ao contrario das exoglucohidrolases, a quantidade de β -glicosidase aumento com a diminuição do tamanho das cadeias do substrato.

A atividade da celulase pode ser determinada pelo decréscimo na viscosidade ou pela determinação da quantidade de grupamentos redutores formados. Em combinação, os dois métodos podem distinguir entre endo e exo celulases (WHITTAKER, 1994).

2.12 PROCESSOS DE FRACIONAMENTO ENZIMÁTICO EM CEREAIS

MANIÑGAT & JULIANO, em seu estudo de 1982, já mencionavam o crescente interesse no uso da fração insolúvel do farelo para incrementar a ingestão de fibras na dieta, foi adaptado um método em meio aquoso para preparação da parede celular visando simular a forma como o arroz é tradicionalmente preparado para consumo. A proteína do farelo de arroz foi extraída com 0,5% SDS e 0,6% de β -mercaptoetanol para evitar os efeitos adversos do calor úmido sobre a solubilidade protéica. O resíduo foi aquecido a 80°C e hidrolisado com α -amilase do *Bacillus licheniformis*, onde foi obtido um composto insolúvel em água dos componentes da parede celular do farelo de arroz (MANIÑGAT & JULIANO, 1982).

Recentemente, muitos processos têm sido propostos para converter substratos lipídicos sólidos em produtos de alto valor agregado pelo uso de enzimas. Um estudo desenvolvido por PADMINI *et al.* (1994) analisou os efeitos da solubilização dos lipídios do farelo de arroz em solvente orgânico (n-hexano) com posterior hidrólise enzimática e imobilização da lipase obtida da *Cândida lipolytica*. Seus resultados demonstram, porém, uma inibição da atividade enzimática devido ao efeito do solvente na lipólise.

Em relação à presença de complexos amilose-lipídio, os quais diminuem o inchamento e a capacidade obrigatória de água do amido, impedindo o acesso das enzimas amilolíticas aos grânulos, NEBESNY *et al.* (2002) estudaram a relação entre a estabilidade do complexo e as condições da hidrólise enzimática como o tipo de preparação enzimática, se só amilolítica ou ambas, amilolítica e lipolítica, bem como o tempo de hidrólise. Utilizaram primeiramente uma α -amilase bacteriana, seguido de uma hidrólise adicional com um preparado contendo glicoamilase e lisofosfolipase e, para comparação, somente um preparado com glicoamilase. Tendo a investigação revelado uma maior susceptibilidade na degradação do complexo amilose-lipídio com a utilização do preparado contendo glicoamilase e lisofosfolipase.

KURAKAKE *et al.* (1995), citando ROZIE *et al.* (1991) e KOMAKI *et al.* (1985) menciona a importância da α -amilase na hidrólise do amido e os diversos tratamentos desenvolvidos até então para aumentar a eficiência de adsorção da α -amilase, como o aquecimento em uma mistura de água e solvente orgânico ou em solução salina, ou pelo cruzamento de cadeias do amido gelatinizado com epíclorohidrina. É citado ainda um tratamento onde o amido é aquecido em uma umidade relativa de 100%, o que facilitaria a posterior separação do extrato hidrolisado e a eliminação das enzimas. O processo foi otimizado pela adição de etanol (30% v/v) para induzir a formação de uma região a qual tenha escapado a hidrólise enzimática.

Em outro estudo, YAMAGISHI *et al.* (2003) utilizaram a α -amilase do *Bacillus subtilis* e a glicoamilase do *Rhizopus niveus* em suspensão aquosa para obter uma fração solúvel dos polissacarídeos do endosperma do farelo de arroz e uma fração contendo os proteoglicanos do farelo. A α -amilase na concentração de 80 unidades/ml foi adicionada juntamente com cloreto de cálcio, sendo o pH da solução ajustado em 6,0. após a suspensão foi aquecida à 90°C por 60 minutos. O sobrenadante foi adicionado de seis unidades/ml de glicoamilase para converter as dextrinas formadas em glicose. Seus resultados sugerem a existência de atividade anticomplementar por parte dos proteoglicanos presentes no endosperma do farelo de arroz, a qual atuaria de forma benéfica na resposta imunológica do corpo humano.

WANG *et al.* (1999) citam o uso de carboidrases (celulase, pectinase, hemicelulase e viscoenzima L) para aumentar a extractibilidade de proteínas das plantas. Estas, em geral, desintegram o tecido da parede celular facilitando a extração de proteínas. Seus estudos propõem um método enzimático, utilizando fitase e xilanase para produzir um isolado protéico de farelo de arroz estudando suas propriedades funcionais.

Os autores citam ainda que os solventes alcalinos, comumente usados para extração de proteínas do farelo de arroz, podem causar reações laterais indesejáveis e potencial toxicidade, como as lisinoalaninas, diminuindo o valor nutricional das proteínas. Além disso, condições altamente alcalinas podem desnaturar e hidrolisar proteínas, aumentar os efeitos da reação de Maillard, que causam escurecimento dos produtos e aumentar a extração de componentes não protéicos que precipitam conjuntamente diminuindo a qualidade do isolado.

A combinação de processos físicos, com tratamentos enzimáticos, para extração das proteínas do farelo de arroz desengordurado foi realizada por TANG *et*

al. (2002). Estes sugerem que processos físicos podem romper a parede celular facilitando o fracionamento por catálise enzimática pelo incremento da solubilidade protéica. O estudo analisou o rendimento de extração destas proteínas por meio da interação entre os processos físicos de congelamento e descongelamento, sonicação (técnica de homogeneização por ultra-som), mistura a altas velocidades e uso de altas pressões, além do uso de amilases ou combinação de amilases e proteases. A α -amilase, segundo os mesmos autores, produz por hidrólise das ligações α -1,4, glicose e dextrose livres, o que libera as proteínas ligadas a extremidade da cadeia do amido, ajudando em sua extração pelo aumento da solubilidade. Os melhores resultados foram com a utilização de sonicação juntamente a um tratamento com amilases e proteases.

Um outro interesse nas proteínas do farelo de arroz seria devido ao alto conteúdo de aspargina e glutamina presentes, as quais teriam aplicação como flavorizantes para aplicação em alimentos. O método utilizado para separação e fracionamento dos peptídeos consiste em um tratamento enzimático com proteases seguido de um fracionamento por cromatografia líquida de alta eficiência das proteínas hidrolisadas com obtenção de peptídeos funcionais para utilização industrial como flavorizante. estudaram um método do farelo de arroz (HAMADA *et al.* 1998).

O uso das enzimas α -amilase, hemicelulase e celulase foi igualmente estudado por SHIH *et al.* (1999) para obtenção de produtos protéicos a partir do farelo de arroz, tendo o processo enzimático resultado em produtos solúveis e insolúveis com um conteúdo de proteínas entre 10 e 27%.

Buscando estudar os efeitos das frações solúvel e de um concentrado de fibras, obtidos através de tratamento enzimático do farelo de arroz, sobre os níveis de glicose do sangue de portadores de diabetes, QURESHI *et al.* (2002) utilizaram carboidrases (dextranase, α -amilase ou maltase) em um substrato de farelo de arroz em meio aquoso, aquecendo a solução a 70-90 °C. com isso obtiveram uma hidrólise dos carboidratos complexos em dextrinas e carboidratos simples, com uma fração insolúvel contendo altos níveis de fibras (β -glicanos, pectinas e gomas). A separação foi realizada por meio de centrifugação, contendo ambos os extratos os microcomponentes presentes no farelo de arroz estabilizado. Seus resultados demonstram que a fração solúvel do farelo de arroz é mais efetiva na redução dos níveis de glicose no sangue, sendo o concentrado de fibras mais efetivo na redução do colesterol total (LDL) em ambos os tipos de diabetes (A e B).

A tabela 9 apresenta a composição encontrada pelos autores para as frações solúvel e insolúvel obtidas durante o estudo. Nesta pode-se notar a distribuição produzida pela ação enzimática sobre o substrato contendo o farelo de arroz, com uma maior concentração de tocoferóis e lipídios na fração solúvel, e um alto teor de fibras com uma maior concentração protéica presente na fração insolúvel do farelo de arroz.

TABELA 9. Composição do farelo de arroz estabilizado, fração solúvel em água e concentrado de fibras do farelo de arroz.

Componentes	Farelo de Arroz Estabilizado (%)	Fração do Farelo de arroz Solúvel em Água (%)	Concentrado de Fibras do Farelo de arroz (%)
Carboidratos	51,0	57,5	52,5
Proteína	14,5	7,5	20,5
Fibras dietéticas	29,0	6,0	42,0
Lipídios	20,5	26,5	13,5
Tocóis (>90% Tocotrienóis)	350 ppm	270 ppm	30 ppm
γ -oryzanol	3000 ppm	2600 ppm	2400 ppm
Microcomponentes (γ -oryzanol, tocóis, polifenóis, terpenos)	<1,1%	<0,77%	<0,92%

Fonte: QURESHI *et al.* (2002).

CLAYE *et al.* (1996), desenvolveu estudo para extração, fracionamento e análise das fibras insolúveis presentes no farelo de arroz desengordurado. O método utilizado inclui o uso de água fria e quente para remover parcialmente os polissacarídeos e proteínas solúveis antes do tratamento enzimático otimizando o rendimento dos componentes durante a extração das fibras, através da redução de 20% da concentração dos demais componentes. A remoção foi realizada em meio aquoso alcalino com posterior centrifugação, sendo o tratamento enzimático realizado com a adição de uma solução de amiloglicosidase e a subsequente retirada de quatro frações de fibras insolúveis (celulose, hemicelulose A e B e lignina).

Com o mesmo objetivo de isolar as fibras do farelo de arroz para estudar suas propriedades funcionais, ABDUL-HAMID & LUAN (2000) utilizaram o método

enzimático-gravimétrico de Prosky (PROSKY *et al.*, 1988), através de gelatinização com termamyl (uma α -amilase resistente ao calor) à 100°C por uma hora com posterior digestão com uma protease seguida de uma incubação com amiloglicosidase (60°C, 1 h) para remoção das proteínas e amido.

CAPÍTULO III

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS
HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL
PARBOILIZADO**

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO

RESUMO

O presente trabalho visou à solubilização e caracterização dos componentes hidrossolúveis do farelo de arroz obtido na sua forma integral após processo de parboilização, através da interação entre as principais variáveis físicas (temperatura, tempo e pH) que afetam a hidrólise dos macrocomponentes presentes no farelo, além de uma caracterização física e química desta matéria-prima de onde principiou-se o estudo. O farelo de arroz é fonte natural de fibras dietéticas, proteínas, carboidratos, óleo, vitaminas e de compostos com potente atividade antioxidante, como os orizanóis e tocóis. Sendo suas limitações o alto teor de fibras insolúveis e a presença de compostos antinutricionais. Os resultados dos experimentos indicam uma interação das três variáveis estudadas demonstrando a importância das mesmas no processo de solubilização, sendo possível apontar a interação dos níveis: pH 8,0, temperatura de 60°C e tempo de tratamento de 180 minutos ($p < 0,05$), como os mais adequados para o processo, com um rendimento protéico de 41,7% e 12,6% dos lipídios solubilizados.

Palavras-chave: arroz, arroz parboilizado, farelo de arroz, caracterização físico-química, extração física.

ABSTRACT

SOLUBILIZATION AND CHARACTERIZATION OF THE HYDROSOLUBLE COMPONENTS OF INTEGRAL PARBOILED RICE BRAN

This study aim the solubilization and characterization of the hidrosolubles components in the rice bran obtained in your integral form after a parboilled process, through the interaction between the principals physics variables (temperature, time and pH) who affect the hydrolyze of the interest macro components in the bran, apart from a physics and chemistry characterization of the integral parboiled rice bran from where this study begin. Rice bran is natural source of dietary fiber, proteins, carbohydrates, lipids, vitamins and composts with powerful antioxidants activity, like oryzanol and tocopherols, what it characterizes as a functional food. Being its limitations the high levels of insoluble fibers and the presence of antinutricionals compounds. The results indicate an interaction of the three study variables showing the importance of them in the solubilization process, being possible point the nivel interaction: pH 8,0, temperature de 60°C and treatment time of 180 minutes ($p < 0,05$), as the most adequate for the process, with a protein yield of 41,7% and solubilization of 12,6% of the lipids.

Keywords: parboiled rice, rice bran, physical-chemistry characterization, physics extraction.

1 INTRODUÇÃO

O arroz é o produto alimentício predominante ao menos em 15 países na Ásia e no Pacífico, em dez países na América latina e no Caribe e em oito países na África (KENNEDY, 2003). Sua habilidade em adaptar-se às circunstâncias climáticas, agrícolas e culturais, crescer e produzir um alimento de elevado valor calórico por área de unidade em todos os tipos de terra faz do arroz o cereal de colheita mais importante do mundo. Sua importância como o produto principal nos países em desenvolvimento tende a crescer de acordo com o aumento da população humana, a qual se dá em uma taxa mais elevada do que nos países desenvolvidos (MALEKIAM *et al.*, 2000).

Nos últimos anos, o aumento do volume mundial de arroz produzido não tem sido suficiente para compensar o crescimento do consumo. No caso do Brasil, por exemplo, as médias de produção e consumo de arroz no período de 1991 a 2001, de acordo com dados do IBGE (2002) foram, respectivamente, 10,37 milhões e 11,60 milhões de toneladas. No Rio Grande do Sul são cultivados anualmente cerca de 900 mil ha, com produtividade média que oscila entre 5 e 5,5 t/ha., sendo responsável por cerca de 50% da produção nacional do produto (EMBRAPA, 2003).

O farelo de arroz é um subproduto do polimento do arroz descascado para produzir arroz branco ou parboilizado. A utilização desse farelo em sua forma integral apresenta sérias dificuldades devido a este ter um diâmetro de partícula muito fino o que dificulta seu processamento, e principalmente dada a característica de suas lipases acidificarem-se em poucas horas o que causa sua deterioração, produzindo um sabor ácido e desagradável. Por outro lado é um polvilho demasiadamente fino (SILVA *et al.*, 2001). Além destas condições o óleo do farelo de arroz também perde componentes alimentícios valiosos como vitaminas, antioxidantes, entre outros. Por isso, geralmente em regiões tropicais de alta umidade e alta temperatura, e também em condições precárias de sanitização, o farelo de arroz se torna inaceitável para consumo em poucos dias. No Brasil, é utilizado em sua quase totalidade como suplemento para alimentação animal.

O farelo de arroz proveniente do polimento do arroz parboilizado, por outro lado, já se encontra estabilizado pelo próprio processo e se mantém estável durante muitos meses (PANDOLFI, A. R., 1993).

Vários trabalhos científicos realizados nos últimos anos demonstram que o farelo de arroz tem características muito desejáveis, principalmente no que se refere a seu poder de combater a formação de radicais livres, ajudando na prevenção e tratamento de algumas doenças crônico-degenerativas, como a hipercolesterolemia (colesterol alto), alguns tipos de câncer e o diabetes. Isso em grande parte devido aos componentes da fração insaponificável, principalmente o conteúdo de orizanol, antioxidante encontrado somente no óleo do arroz, além de seu potencial no fornecimento de fibras dietéticas, por esses motivos o farelo de arroz vem sendo considerado um alimento funcional por apresentar valor nutritivo e substâncias capazes de melhorar nossa saúde (XU & GODBER, 1999; LLOYD *et al.*, 2000; KAHN, 1996 e 2000; QURESHI, 1997, 2001 e 2002; RANHOTRA, 1996; SEETHARAMAIAH, G. S. & CHANDRASEKHARA, 1993).

No entanto, seu alto teor de fibras insolúveis, além da presença de outros fatores antinutricionais, inviabiliza sua utilização em produtos para alimentação humana. Fazendo-se necessário o desenvolvimento de um processo que permita a utilização de seus componentes nutricionais (SAUNDERS, R. M., 1990).

Este trabalho teve como objetivo estudar as variáveis de um processo de extração dos componentes hidrossolúveis do farelo de arroz integral parboilizado (FAIP), bem como a caracterização química da matéria-prima (FAIP) e dos extratos obtidos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

O farelo de arroz parboilizado foi fornecido pela indústria Camaquã Alimentos S.A. (CAMAL), situada no município de Camaquã - RS em sua forma integral e utilizado desta maneira. O acondicionamento das amostras foi feito em sacos plásticos de 2kg, sendo estocados a uma temperatura entre -5 e 0°C até sua utilização.

2.2 PROCESSAMENTO

As operações do processo para obtenção do extrato hidrossolúvel do FAIP são mostradas na Figura 1.

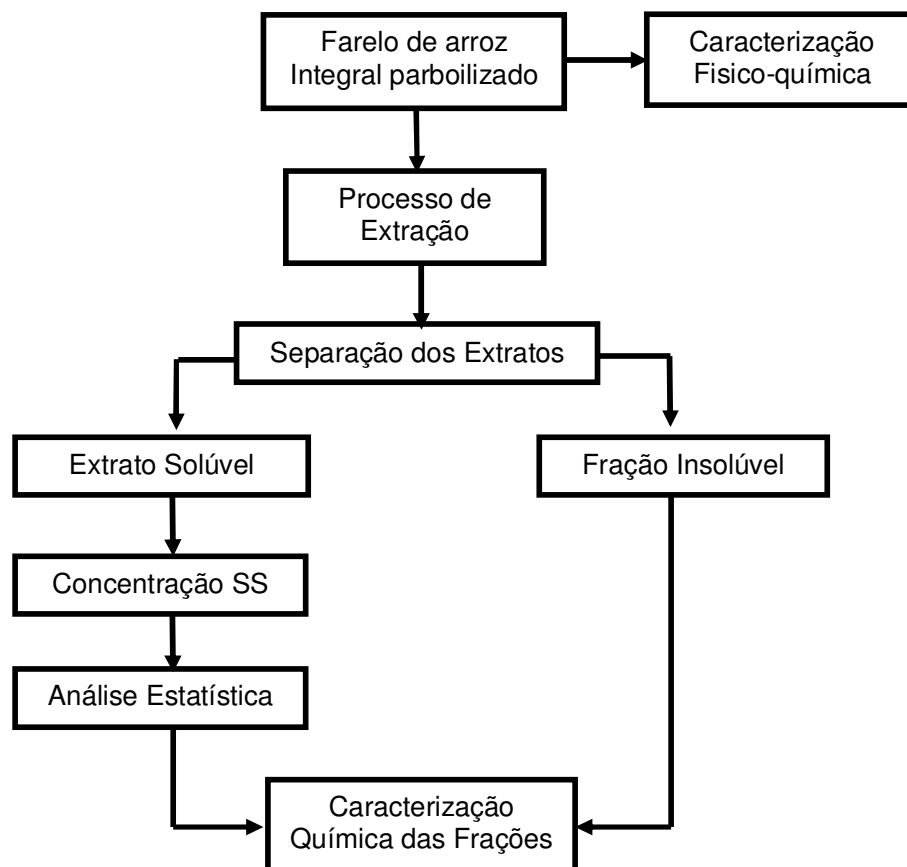


FIGURA 1. Fluxograma operacional do processo de hidrólise física do FAIP.

2.2.1 Classificação Granulométrica

A classificação granulométrica foi realizada através do uso de um conjunto de peneiras com tylers progressivos de 28 a 80 mesh acopladas em agitador mecânico.

2.2.2 Determinação de Capacidade de Retenção de Água - CRA

A CRA foi determinada por um método adaptado do método de LIN *et al.* (1974). O farelo foi seco em estufa a 90°C por trinta minutos, após foram feitas

suspensões aquosas nas relações de 1:3, 1:5 e 1:10, estas foram colocadas em tubos para centrifuga e deixadas em banho-maria a 80°C por trinta minutos. Após centrifugação a 8 rpm por quinze minutos, o sobrenadante foi drenado e o sedimento pesado. A CRA foi calculada pela seguinte equação:

$$\text{CRA} = \frac{\text{p sedimento (g)} - \text{p tubo (g)}}{\text{p amostra}} \times 100$$

FIGURA 2. Equação para cálculo da capacidade de retenção de água.

2.2.3 Caracterização Química do FAIP

A caracterização química do FAIP foi determinada utilizando metodologia oficial para:

- Proteínas: método de micro Kjeldahl (método N° 979.09 AOAC, 2000), fator de conversão do nitrogênio de 5,95 (Juliano, 1972 citado por TANG *et al.*, 2002).
- Gordura: extrato etéreo (método N° 963.15 AOAC, 2000);
- Umidade: gravimetria (método n° 925.09 AOAC, 2000)
- Cinzas: gravimetria (método n° 923.03 AOAC, 2000).
- Açúcares redutores: determinados através de método descrito por Miller (1959), por meio da reação colorimétrica com o reagente 3,5 – DNS.
- Índice de acidez: Método Ca 5A-40, A.O.C.S. (1988) expresso como o numero de miligramas de KOH necessários para neutralizar os ácidos graxos presentes em 100g de produto.
- Teor de fibras Totais, solúveis e insolúveis: O teor de fibras totais foi determinado segundo adaptação do método n° 991.43 da A.O.A.C. (1995), proposto por GONÇALVEZ *et al.*, 1998.

2.2.4 Processo de Extração Aquosa do FAIP

Para obtenção dos extratos hidrossolúveis do FAIP padronizou-se uma relação de cinco partes de água para uma de farelo (FAIP 48 mesh), em função da capacidade de agitação homogênea da massa conforme determinado experimentalmente.

Para execução dos experimentos utilizou-se reatores de vidro de 250 mL conectados em série, cobertos para evitar a evaporação durante o tempo de reação, estes foram acoplados a um banho ultratermostático com controle de temperatura (Quimis – 214 D2), sendo o pH do meio ajustados e mantidos com soluções de hidróxido de sódio 10% e ácido cítrico 30%. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Os extratos foram separados mediante processo de centrifugação (centrifuga Metrimpex 5Z-49) por quinze minutos a 3000g, sendo o sobrenadante, imediatamente filtrado em filtro qualitativo e a seguir em filtro Millipore acoplado a uma bomba de vácuo Prismatec modelo 131 de ¼ c.v. A filtração em Millipore se fez necessária para evitar a turbidez e a conseqüente dificuldade de realização das leituras da variável resposta.

As frações insolúveis obtidas da etapa de filtração em filtro qualitativo foram secas em estufa Fanem modelo 320-SE com circulação forçada de ar a uma temperatura de 60°C por aproximadamente 90 minutos e armazenadas em dessecador até sua utilização.

2.2.5 Planejamento Experimental e Tratamento dos Resultados

As variáveis do processo de obtenção dos extratos hidrossolúveis foram: tempo (30 e 180min), temperatura (20 e 60°C) e pH (4,0 e 8,0), resultando um fatorial completo de 2^3 (8 experimentos) realizados em duplicata. A variável resposta foi o teor de sólidos solúveis estimados por refratometria.

Os resultados experimentais foram analisados por análise de variância, efeitos principais e interação entre as variáveis utilizando o software *statistica for Windows 6.0* a um nível de confiança de 5%.

2.2.6 Caracterização dos Extratos

Os sólidos solúveis foram estimados por refratometria (refratômetro de Abbé) a uma temperatura de 20°C (banho térmico Thermo Haake B3), sendo os melhores resultados utilizados nas determinações de acompanhamento.

As análises químicas de acompanhamento foram:

- A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Folin-Cicolteau, sendo lido o cromóforo à 660nm em espectrofotômetro da marca Varian UV – Vis modelo 634s. A análise foi realizada após diluição das amostras em uma parte para três de água. Elaborou-se uma curva padrão de albumina do soro bovino (BSA).

- Os carboidratos foram determinados pelo método do ácido 3,5 – DNS após purificação dos extratos por precipitação mediante o uso de soluções de Carrez I e Carrez II sendo as alíquotas retiradas do filtrado, diluídas 25 vezes em água destilada e a reação cromogênica realizada em meio alcalino (NaOH 0,5%) a temperatura de ebulição. Utilizou-se uma curva padrão de glicose sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro Varian UV – Vis - 634s.

- A determinação do teor lipídico foi realizada na fração insolúvel pelo método de Bligh & Dyer devido à pequena quantidade de amostra obtida após a etapa de filtração da fração solúvel e a sua dificuldade de secagem. Através dos valores lipídicos encontrados na matéria-prima com utilização deste mesmo método, inferiu-se o teor de óleo presente na fração solúvel por diferença.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DETERMINAÇÃO E SELEÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA DO FAIP

Verifica-se na Tabela 1 que o farelo de arroz integral parboilizado apresenta aproximadamente 52% de partículas com tamanho aproximado a 0,30mm (48 mesh) o que corresponde a mais do dobro das frações de 28 e 65 mesh respectivamente. Estes resultados orientaram a decisão de utilizar a fração de 48mesh na realização dos experimentos.

TABELA 1. Composição percentual das frações do FAIP com diferentes malhas.

TYLER (mesh)	Diâmetro (mm)	Fração retida *
- 28	0,595	22,88 ± 4,83
- 48	0,297	55,40 ± 10,06
- 65	0,210	23,69 ± 3,07
- 80	0,177	3,64 ± 0,91
Fundo	< 0,177	0,12 ± 0,06

* n = 3

A amplitude do desvio padrão indica a dificuldade de se obter amostras homogêneas provavelmente devido à umidade por se tratar de um produto higroscópico, essa diferença foi maior na maior fração do farelo, dessa forma as medias entre tyler 28 e 48, e 48 e 65 respectivamente apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey HSD (p-level = 0,002130), enquanto que as médias entre 28 e 65 tyler não foram significativas, este comportamento pode ser mais bem observado na Figura 3.

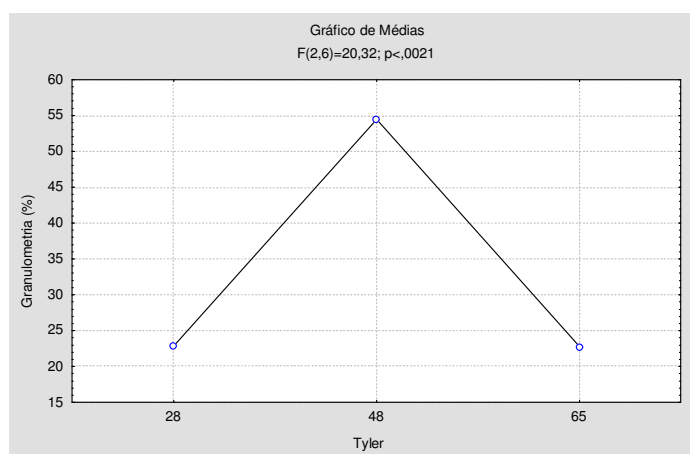


FIGURA 3. Porcentagem de cada fração do FAIP separada por peneiramento.

3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO FAIP

Na Tabela 2 verifica-se que existe pequena diferença entre os componentes do farelo integral e sua principal fração (48 mesh) o qual apresenta maior concentração de proteínas e lipídios principalmente.

TABELA 2. Principais componentes do farelo de arroz integral parboilizado, expressos em porcentagem de base seca.

	Farelo Integral	FAIP Tyler 48
Proteínas	18,97	21,04
Lipídios	30,04	33,01
Cinzas	10,84	9,55
Umidade	10,82	11,58
Fibras Totais	31,00	27,67
Solúveis	5,01	4,30
Insolúveis	25,99	23,37
Carboidratos por DNS	6,15	7,96
CRA	417,93	291,27
Índice de Acidez	1,7	1,6

Os resultados da tabela 2 mostram a complexidade da matéria-prima, a qual apresenta uma alta concentração de fibras insolúveis e lipídios, componentes que juntamente das proteínas deste subproduto formam o grande interesse tanto comercial quanto por seu potencial nutricional.

SAUNDERS (1990) cita que, para o farelo de arroz parboilizado são comuns valores entre 31 e 33% de fibras totais das quais 2,0 a 2,5% são fibras solúveis.

O alto teor de matéria inorgânica (cinzas) pode ser um fator limitante no que diz respeito na sua utilização na alimentação humana, entretanto, torna-se necessário analisar os componentes minerais toda vez que pode conter microelementos importantes. Os teores encontrados encontram-se de acordo com outros resultados experimentais reportados entre 7 e 11% segundo PRAKASH & RAMANATHAM, 1995.

A concentração protéica encontrada no farelo de arroz está de acordo com os valores citados por diversos autores, em uma faixa de 12 a 20% (TANG *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 1999; HAMADA *et al.*, 1998; MALEKIAM *et al.*, 2000), sendo esta variabilidade devido a fatores genéticos, condições de cultivo e processamento.

A baixa concentração de açúcares redutores determinados por 3,5-DNS mostra que o FAIP contém teores muito baixos de componentes amiláceos, isso era esperada devido ao processo de parboilização sofrido pelo arroz. Os resultados são condizentes com os dados de literatura (SAUNDERS, R.M., 1990).

Com relação à fração de tyler 48, observa-se um aumento nas concentrações de proteínas e lipídios provavelmente devido à redução de fibras e cinzas, sugerindo que no fracionamento e separação por peneiramento esses componentes podem ter ficado retidos nas frações de maior tamanho.

O farelo integral apresenta uma capacidade de retenção de água aproximadamente 30% superior que sua principal fração (48 mesh) essa diferença demonstra a natureza de seus componentes hidrofílicos majoritários, verifica-se ainda que a fração 48mesh apresenta maior teor de lipídios provavelmente esse desequilíbrio promoveu a maior CRA do farelo integral. A CRA é uma propriedade funcional interessante por indicar componentes hidrofílicos mas não assinala que esses podem ser facilmente solubilizados conforme se verifica na fração de 48 mesh em decorrência provavelmente da diminuição no teor de fibras o que seria interessante num processo de extração de componentes hidrossolúveis pois melhora a migração dos compostos hidrossolúveis de interesse evitando sua retenção no interior do substrato.

Tanto o farelo integral quanto sua fração de 48 mesh apresentaram valores muito próximos em relação ao seu índice de acidez e levando em consideração que esses resultados foram obtidos semanalmente durante 6 meses veio a confirmar a hipótese sustentada por diversos autores (SAUNDERS, R.M., 1990, PANDOLFI, A. R., 1993) quanto à estabilidade lipídica gerada pelo processo de parboilização o qual inativa as enzimas lipolíticas responsáveis pela rancificação e conseqüente inutilização do farelo para fins alimentícios.

3.3 EFEITO DAS VARIÁVEIS NO TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DO FAIP

Os resultados de sólidos solúveis da Tabela 3 indicam que os extratos apresentam baixo conteúdo de sólidos hidrossolúveis, porém faz-se necessário verificar a significância das variáveis (Tabelas 4 e 5) e principalmente a natureza dos sólidos hidrossolúveis (Tabela 6).

TABELA 3. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nas diferentes condições de processo.

Exp.	Tempo ¹	Temperatura ¹	pH ¹	SS
1	-	-	-	1,05
2	+	-	-	1,15
3	-	+	-	1,90
4	+	+	-	1,45
5	-	-	+	0,90
6	+	-	+	1,05
7	-	+	+	1,00
8	+	+	+	1,65

¹ t = (-) 30min e (+) 180min, T = (-) 20°C e (+) 60°C, pH (-) 4,0 e (+) 8,0.

Os níveis testados da variável pH (4,0 e 8,0) foram selecionados de modo a verificar se existiu diferença entre a solubilização em meio ácido e em meio básico. Os níveis da variável temperatura foram selecionados com base a temperatura ambiente (20 °C) e a temperatura ótima das enzimas comerciais (60 °C). No caso da variável tempo, estudos preliminares realizados em intervalo de 10 a 240 minutos indicaram um aumento crescente na concentração de sólidos solúveis até 180 minutos, a partir do qual apresentaram redução significativa no grau de solubilização, o que levou a definir os tempos de 30 e 180 minutos como os níveis do planejamento.

Na Tabela 4 pode-se observar os principais efeitos do tratamento para as variáveis selecionadas bem como para a interação entre estas, onde destaca-se (**) as que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de confiança.

TABELA 4. Efeitos principais do tratamento.

Fatores*	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Erro QM	F teste	p-level
1	1	,225625	,013125	17,19048	,003226**
2	1	,855625	,013125	65,19048	,000041**
3	1	,050625	,013125	3,85714	,085135
12	1	,050625	,013125	3,85714	,085135
13	1	,330625	,013125	25,19048	,001028**
23	1	,000625	,013125	,04762	,832723
123	1	,275625	,013125	21,00000	,001796**

* fatores: 1 - tempo; 2 - temperatura; 3 - pH.

Observa-se pela Tabela 4 a ocorrência de uma interação de terceira ordem entre as variáveis estudadas, indicando a influencia destas entre si. Devido a este fator relevante dar-se-á preferência à análise e interpretação desta interação. A tabela 5 apresenta os resultados para o teste de Post Hoc, destacando-se (*) as relações onde foi constatada diferença significativa entre os experimentos.

TABELA 5. Estudo da interação entre os fatores tempo, temperatura e pH (Teste de Tuckey HSD).

	{1}1,05	{2}1,15	{3}1,90	{4}1,45	{5}0,90	{6}1,05	{7}1,00	{8}1,65
1		,98097	,00122*	,09067	,87278	1,0000	,99970	,01065*
2	,98097		,00267*	,27109	,44358	,98097	,87278	,03008*
3	,00122*	,00267*		,05196	,00051*	,00122*	,00087*	,44358
4	,09067	,27109	,05196		,01771*	,09067	,05196	,66537
5	,87278	,44358	,00051*	,01771*		,87278	,98097	,00267*
6	1,0000	,98097	,00122*	,09067	,87278		,99970	,01065*
7	,99970	,87278	,00087*	,05196	,98097	,99970		,00655*
8	,01065*	,03008*	,44358	,66537	,00267*	,01065*	,00655*	

A análise realizada entre as variáveis indica a existência de interação. Os melhores resultados da variável dependente (destacados na tabela) mostraram não possuir diferença estatística entre si, tendo, no entanto, apresentado diferença ao nível de 5%, em relação aos demais resultados. Exceção feita ao tratamento 4, o qual demonstrou diferença significativa apenas em relação ao tratamento 5.

A inexistência de diferença significativa entre os tratamentos 3, 4 e 8 possibilita a utilização de qualquer deles em um processo de extração dos sólidos solúveis presentes no FAIP sem uma perda estatisticamente relevante de rendimento, podendo-se com isto levar em consideração diferenças em termos de custo do processo existente entre estes tratamentos. No entanto, esta possibilidade permanece na dependência da análises químicas individuais mostradas mais adiante.

Justifica-se ainda a entrada do tratamento 4 em virtude da possibilidade de utilização de tratamentos outros que não os selecionados, visto este não ter apresentado diferença significativa em relação aos tratamentos de numero 1, 2, 5, 6 e 7.

A Figura 4 mostra os melhores resultados da interação temperatura-tempo-pH no qual conjunto houve maior solubilização.

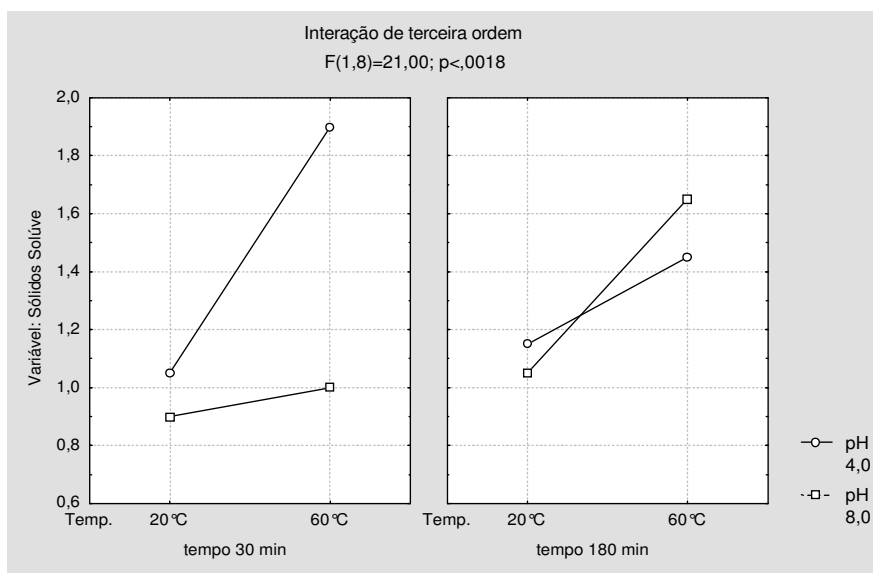


FIGURA 4. Gráfico da interação de terceira ordem entre temperatura-tempo-pH.

Pode-se observar na Figura 3 que com 30 minutos de hidrólise, a 60 °C e pH 4,0 se obtém um rendimento superior aos demais tratamentos (1,90% de

solubilização), sendo, juntamente com os conjuntos onde o tempo foi elevado a 180 minutos com uma temperatura de 60 °C e um pH de 8,0 e o conjunto de 180 minutos à 60 °C e pH 4,0 os que apresentaram uma maior eficiência de extração durante o processo. Sendo estes analisados em relação aos seus macrocomponentes.

3.4 DETERMINAÇÕES QUÍMICAS DE ACOMPANHAMENTO DOS TRATAMENTOS SELECIONADOS

A Tabela 6 apresenta os resultados da composição dos extratos obtidos nos experimentos selecionados.

TABELA 6. Concentração percentual dos extratos.

Tratamento	Proteína	Carboidratos	Lipídios	Sólidos Solúveis
3	2,08	0,06	0,32	1,90
4	2,29	0,12	1,02	1,65
8	2,77	0,03	1,49	1,45

Testes de diferença de médias realizados nos resultados das determinações constataram a existência de diferença significativa, ao nível de 5%, entre os tratamentos selecionados para análise tanto em relação ao teor de proteínas solúveis (p-level=0,004411) quanto ao de carboidratos (p-level =,000088) e lipídios (p-level =,000772). O teste de Tuckey mostra que para as proteínas solúveis não existe diferença significativa entre os tratamentos 3 e 4, sendo o restante dos tratamentos estatisticamente diferentes entre si. Para os carboidratos e lipídios o teste de Tuckey HSD mostrou haver diferença entre todas as amostras.

Com relação à extração de proteínas, WANG *et al.* (1999) mencionam a natureza complexa destas no farelo de arroz e a sua baixa solubilidade devido a sua forte agregação com fitatos e fibras, o que dificulta sua separação dos demais componentes. TANG *et al.* (2002) cita ainda o efeito negativo da estabilização do farelo por aquecimento (utilizado no processo de parboilização), o qual realça as

ligações das proteínas com carboidratos e outros componentes dificultando também sua extração.

O uso de processos físicos para solubilização dos componentes do farelo de arroz, segundo TANG *et al.* (2002) podem romper a parede celular aumentando a solubilidade protéica. Tanto CLAYE *et al.* (1996) quanto TANG *et al.* (2002) sugerem a combinação de processos físicos com tratamentos enzimáticos para extração das proteínas do farelo de arroz.

A Figura 5 apresenta os efeitos principais para os tratamentos de acordo com as análises realizadas em seus componentes onde se observa que houve uma maior extração de carboidratos no tratamento 4, ao contrário do que ocorreu com a extração dos lipídios e proteínas, que foi mais acentuada no tratamento 8.

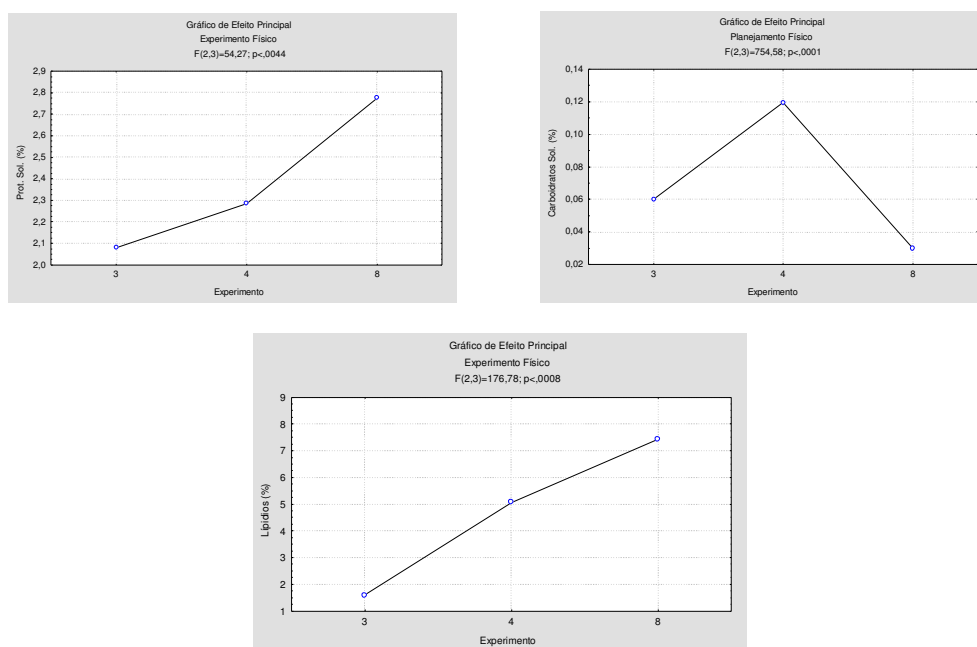


FIGURA 5. Gráficos de efeitos principais para proteína, carboidratos e lipídios respectivamente.

Por meio desses resultados, pode-se inferir que o teor protéico, o qual TANG *et al.* (2002) menciona possuir proteínas de alta qualidade com grande potencial nutracêutico e o teor de lipídios, o qual segundo LLOYD *et al.* (2000) contém em sua fração insaponificável um complexo único de componentes antioxidantes

(tocoferóis, tocotrienóis e orizanóis), obtiveram um rendimento de extração maior no tratamento 8, sendo, no entanto a concentração de carboidratos solúveis menor. Levando em consideração que esses dois componentes são de maior interesse, os resultados sugerem que esse tratamento seja indicado para obtenção do extrato, sendo possível ainda o acréscimo de carboidratos ao processo, caso necessário à apresentação de um possível produto, em uma etapa final sem maiores dificuldades econômicas ou técnicas.

A concentração de proteínas solúveis, obtida no tratamento 8 foi de aproximadamente 41,70% do total de proteínas presentes na fração selecionada de tyler 48 do FAIP (N_T), enquanto o teor lipídico foi de 12,64% de extração na fração solúvel em relação aos lipídios totais do FAIP.

Provavelmente um dos fatores que ocasionaram um menor rendimento na extração foi à filtração em filtro Millipore, a qual se fez necessária para a execução das determinações colorimétricas, pois as proteínas e lipídios podem ter sido absorvidos por partículas em suspensão ficando retidas no filtro.

3.5 EFEITO DO TAMANHO DE PARTÍCULA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

Verifica-se na Tabela 7 que a concentração de sólidos solúveis no extrato da fração retida no tyler 65 foi aproximadamente três vezes maior que o extrato da fração – 28 mesh. Esta tendência de aumento é condizente com o teor de proteínas, mas não se verifica nos teores de lipídios e carboidratos presentes.

Os parâmetros do processo foram selecionados de acordo com o rendimento de extração, sendo estes: Temperatura de 60°C, tempo de 180 min e pH de 8,0.

TABELA 7. Composição porcentual do extrato solúvel em função dos tamanhos de partícula.

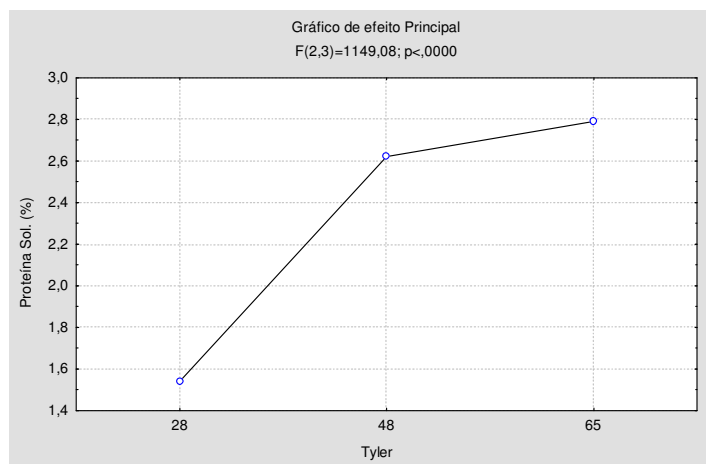
Tyler	Proteínas	Carboidratos	Lipídios	Sólidos Solúveis
- 28	1,54	0,05	1,84	0,9
- 48	2,62	0,06	1,32	1,8
- 65	2,79	0,08	1,38	2,4

*n=2.

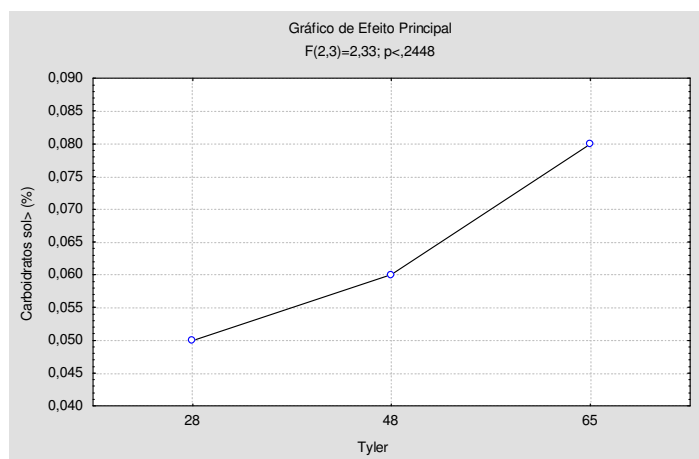
Os resultados da Tabela 7 mostram a maior facilidade obtida no processo de extração física em termos de sólidos solúveis presentes nesta fração devido a um maior contato entre os grânulos do FAIP e o meio aquoso utilizado para a extração.

A baixa concentração de carboidratos deve-se, provavelmente, a maior presença de polissacarídeos insolúveis em água.

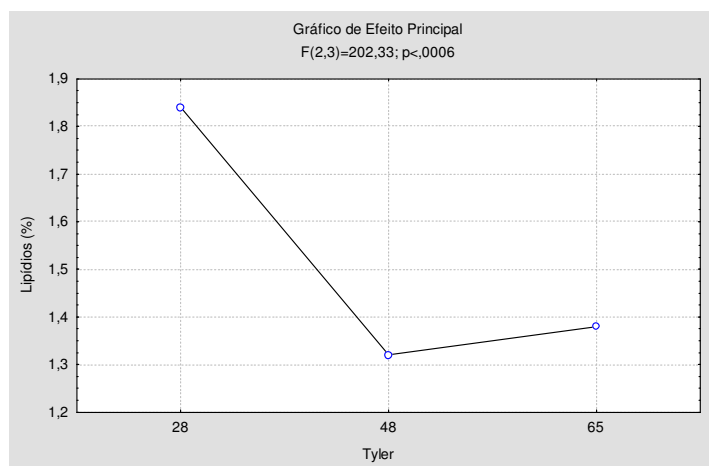
O tratamento estatístico dos resultados da Tabela 7 é mostrado na Figura 6, onde se pode verificar o efeito do tamanho de partícula sobre as proteínas carboidratos e lipídios respectivamente.



(a)



(b)



(c)

FIGURA 6. Influência do tamanho de partícula nos teores de proteína (a), carboidratos (b) e lipídios (c).

A análise de variância mostrou haver diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores de sólidos solúveis nos diferentes tylers. O teor médio de proteínas foi, de acordo com teste de Tuckey HSD, diferentes entre si para todas as amostras, enquanto os carboidratos não apresentaram diferença significativa. O teor de lipídios apresentou diferença significativa entre a amostra de tyler 28 e as demais, sendo os tylers 48 e 65 estatisticamente iguais ($p < 0,05$).

Com relação aos valores encontrados para proteína solúvel e carboidratos solúveis, nota-se, primeiramente, a tendência esperada em obter-se uma maior

extração destes componentes conforme a diminuição do tamanho de partícula, sendo esta afirmação não válida para o teor de lipídios, o que demonstra, possivelmente, um alto grau de colapso entre estes e a maior presença de fibras da matéria-prima (MIHARA, S., 1970) facilitando sua extração devido ao maior tamanho dos grânulos retidos no tyler 28, no qual possivelmente encontra-se uma maior quantidade de gérmen.

Considerando os resultados das Tabelas 1 e 7, justifica-se a utilização da fração retida no tyler 48 para ser aplicação no processo de obtenção dos extratos hidrossolúveis do FAIP.

4 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho mostram um teor de proteínas de 21,04%, com 33,01% de lipídios e 27,67% de fibras na fração selecionada com tamanho de partícula de 48 mesh (rendimento de 52%).

Os experimentos fatoriais realizados indicam a possibilidade de solubilização do FAIP, sobressaindo-se os parâmetros do processo: Temperatura de 60°C, tempo de 180 minutos e pH de 8,0 por apresentaram melhor rendimento de extração dos sólidos solúveis, em relação ao teor de proteínas (rendimento de 41,70%) e lipídios (rendimento de 12,64%).

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16^a ed. Washington, 2000.

AOCS – AMERICAN OIL CHEMIST SOCIETY. Official method Ca 6a-40, 1988.

CLAYE, S. S.; IDOURAINE, A. & WEBER, C. W. Extraction and fractionation of insoluble fiber from five fiber sources. **Food Chemistry**. v. 57. n.2, p. 305-310, 1996.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível on-line em <http://www.cnpaf.embrapa.br/>. Acesso em 7 de novembro de 2003.

GONÇALVES, A. A.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A. & SIERVS, S. T. Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. v. 48, n. 4, p.334-337, 1998.

HAMADA, J. S.; SPANIER, A. M.; BLAND, J.M. & DIACK, M. Preparative separation of value-added peptides from rice bran proteins by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**. v. 827, p. 319-327, 1998.

KAHLON, T. S.; CHOW, F. I.; CHIU, M. M.; HUDSON, C. A. & SAYRE, R. N. Cholesterol-lowering by rice bran and rice bran oil unsaponifiable matter in hamsters. **Cereal Chemistry**. v. 73, n. 1, p. 69-74, 1996.

KAHLON, T. S. & CHOW, F. I. Lipidemic response of hamsters to rice bran, uncooked or processed white and brown rice, and processed corn starch. **Cereal Chemistry**. v. 77, n. 5, p. 673-678, 2000.

KENNEDY, G.; BURLINGAME B. & NGUYEN N. Nutrient impact assessment of rice in major rice-consuming countries. FAO, 1999. Disponível on-line em <http://www.fao.org/>. Acesso em 11 de outubro de 2003.

LLOYD, B. J.; SIEBENMORGEN, T. J. & BEERS, K. W. Effects of commercial processing on antioxidants in rice bran. **Cereal Chemistry**. v. 77, n. 5, p. 551-555, 2000.

MALEKIAM, F.; RAO, R. M.; PRINYAWIWATKUL, W.; MARSHALL, W. E.; WINDHAUSER, M. & AHMEDNA, M. Lipase e lipoxygenase activity, functionality, and nutrient losses in rice bran during storage. **LSU – Louisiana agricultural Experiment Station**. Janeiro, n.870, 2000.

PANDOLFI, A. R. Óleo de farelo de arroz, uma velha-moderna tecnologia aplicada. **Óleos & grãos**. Novembro/dezembro, n° 15, p. 32-35, 1993.

PRAKASH, J. & RAMANATHAM, G. Proximate composition and protein quality of stabilized rice bran. **Journal of Food Science and Technology**. v.32, n. 5, p. 416-419. 1995. QURESHI, A. A.; SAMI, S.A. & KHAN, F.A. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus types I and II. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 13, p. 175-187, 2002.

QURESHI, A. A.; SAMI, S.A.; SALSER, W. A. & KHAN, F.A. Synergistic effect of tocotrienol-rich fraction (TRF₂₅) of rice bran and lovastatin on lipid parameters in

hypercholesterolemic humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 12, p. 318-329, 2001.

QURESHI, A. A.; BRADLOW, B. A.; SALSER, W. A. & BRACE, L. D. Novel tocotrienols of rice bran modulate cardiovascular disease risk parameters of hypercholesterolemic humans. **Nutritional Biochemistry**. v. 8, p. 290-298, 1997.

RANHOTRA, G. S.; GELROTH, J. A. & GLASER, B. K. Effect of resistant starch on blood and liver lipids in hamsters. **Cereal Chemistry**. v. 73, n. 2, p. 176-178, 1996.

SAUNDERS, R. M. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World**. v. 35, n. 7, p. 632-636, 1990.

SEETHARAMAIAH, G. S. & CHANDRASEKHARA, N. Comparative hypocholesterolemic activities of oryzanol, curcumin and ferulic acids in rats. **Journal of Food Science and Technology**. v.45, p. 249-252, 1993.

SILVA, M. A.; SANCHES, C. & AMANTE, E. R. Farelo de arroz composição e propriedades. **Óleos & grãos**. Julho/agosto, 2001.

TANG, S.; HETTIARACHCHY, N. S.; SHELLHAMMER, T. H. Protein extraction from heat-stabilized defatted rice bran. 1. physical processing and enzyme treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 7444-7448, 2002.

WANG, M.; HETTIARACHCHY, N. S.; QI, M.; BURKS, W. & SIEBENMORGEN, T. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 47, p. 411-416, 1999.

XU, Z. & GODBER, J. S. Purification and identification of components of γ -Oryzanol in rice bran oil. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 47, p. 2724-2728, 1999.

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS
HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL
PARBOILIZADO POR TRATAMENTOS ENZIMÁTICOS**

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS HIDROSSOLÚVEIS DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL PARBOILIZADO POR TRATAMENTOS ENZIMÁTICOS

RESUMO

O presente trabalho buscou determinar as melhores condições de um processo enzimático para obtenção de componentes hidrossolúveis do farelo de arroz integral parboilizado (FAIP) através do uso das seguintes enzimas comerciais: Termamyl 120L (Novo), AMG 300L (Novo), Alcalase 2.4L (Novo), Celluclast 1.5L (Novo), Lipase pancreática (Sigma). Foram utilizados planejamentos fatoriais completos para cada enzima onde se variou a concentração enzimática, o tempo, o pH e a temperatura em diferentes níveis e utilizando como variável resposta à concentração de sólidos solúveis determinados por refratometria. Os resultados obtidos indicaram uma solubilização, para amiloglicosidase a 1,5%, de 7,0% nas condições selecionadas de 60°C, pH de 4,0 por 180 minutos com rendimento de 86,82% de solubilização dos carboidratos presentes na amostra solúvel e 19,40% dos lipídios. Para alcalase a 1% por 360 minutos e pH 8,0 obteve-se uma extração de 6,8% dos sólidos solúveis com 68,7% das proteínas e 15,6% dos lipídios do FAIP solubilizados. A celulase a 1% apresentou uma concentração de sólidos solúveis de 3,9% em um meio de pH 4,8, a 60°C e por um tempo de 120 minutos com 20,72% dos lipídios e 16,86% das proteínas totais da amostra. Tendo a lipase pancreática com um pH de 8,0, concentração de 0,06% e 60 minutos de hidrólise, obtido um extrato solúvel com 4,95% dos sólidos da amostra com rendimento de 23,71% de solubilização dos lipídios. A ação conjunta das cinco enzimas selecionadas, após três horas de processo, mostrou uma solubilização das proteínas de 34,45% em relação ao total protéico do FAIP. A ação seqüencial das mesmas enzimas alcançou um rendimento protéico de 81,1% e de 36,8% dos lipídios. As análises do extrato seco obtido por ação seqüencial de enzimas apresentaram um teor de 26,92% de proteínas e 33,42% de lipídios, com uma redução 47,4% do teor de cinzas e 84% do teor de fibras totais em relação ao FAIP 48 mesh.

Palavras-chaves: Farelo de arroz, farelo de arroz parboilizado, enzimas, extração, hidrossolúvel.

OBTENTION AND CHARACTERIZATION OF HYDRO SOLUBLES EXTRACTS OF THE INTEGRAL PARBOILED RICE BRAN BY ENZYMATIC TREATMENTS

ABSTRACT

The present work searched to determine the best conditions of an enzymatic process for attainment of hydro soluble components of the integral parboiled rice bran through the use of following commercial enzymes: Termamyl 120L (Novo), AMG 300L (Novo), Alcalase 2.4L (Novo), Celluclast 1.5L (Novo), pancreatic Lipase (Sigma). Complete factorial planning's for each enzyme had been used where it varied the enzymatic concentration, the time, pH and the temperature in different levels and using the concentration of soluble solids by refratometry how variable response. The gotten results had indicated a solubilization, for AMG at 1,5%, of 7,0% in the conditions selected of 60°C, pH of 4,0 during 180 minutes with a yield of 86,82% of carbohydrates solubilization in the soluble extract and 19,40% of the lipids. For Alcalase at 1% with a time of 360 minutes and pH 8,0 was gotten an extraction of 6,8% of soluble solids with 68,7% of the proteins and 15,6% of the lipids in the FAIP. Celullase at 1% presented a soluble solid concentration of 3,9% in a way of pH 4,8, 60°C for a time of 120 minutes with 20,72% of the lipids and 16,86% of the total proteins in the extract. Having lipase at 0,06% with one pH of 8,0 and 60 minutes of hydrolysis, gotten a soluble solid concentration of 4,95 with a yield of 23,71% of the lipids solubilization. The joint action of these five selected enzymes, after three hours of process, showed a solubilization of proteins of 34,45% in relation to the total protein of the FAIP. The sequential action of the same enzymes reached a protein income of 81,1% and 36,8% of the lipids. The analyses of the dry extract gotten by sequential enzyme action had presented a text of 26,92% of proteins and 33.42% of lipids, with a reduction 47.4% of the text of leached ashes and 84% of the total staple fiber text in relation to FAIP 48mesh.

Keywords: Rice bran, parboiled rice bran, Enzymes, extraction, hydro soluble.

1 INTRODUÇÃO

A fração insaponificável contida no óleo do farelo de arroz, apresenta um complexo único de ocorrência natural de compostos antioxidantes com altos níveis de tocoferóis, tocotrienóis, fitosteróis e oryzanol, que são descritos como potentes antioxidantes, destacando-se o oryzanol que não se encontra presente em outros óleos vegetais (LEMOS & SOUZA-SOARES, 2000; LLOYD *et al.*, 2000).

As proteínas do farelo de arroz possuem um alto valor nutricional além de propriedades nutraceuticas, entre elas a atividade anticarcinogênica, reportada em diversos estudos e suas propriedades hipoalergênicas que as tornam úteis em formulações de alimentos infantis. (TANG *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 1999; HAMADA *et al.*, 1998; MALEKIAM *et al.*, 2000)

Em relação ao teor em fibras do farelo de arroz, existem evidências que favorecem o ponto de vista de que o aumento na ingestão de fibras dietéticas pode ter efeitos benéficos contra doenças crônicas, como a obesidade, doenças cardiovasculares, diverticulose, diabetes e câncer de cólon. (ABDUL-HAMID & LUAN, 2000; AOE *et al.*, 1993)

Devido a todos esses fatores o farelo de arroz tem sido apontado como uma ótima fonte suplementar de nutrientes, no entanto, seu uso na alimentação humana tem sido limitado devido principalmente a atividade lipásica a qual causa rancificação dos lipídios imediatamente depois de produzido (MALEKIAM *et al.*, 2000). No caso do arroz parboilizado, o problema é superado através da estabilização feita pelo próprio processo mantendo-se seu farelo estável durante muitos meses (PANDOLFI, 1993).

O alto teor de fibras insolúveis encontradas no farelo de arroz pode formar complexos com as extremidades protéicas o que dificulta o isolamento e extração das proteínas (TANG *et al.*, 2002), e a presença de outros fatores antinutricionais, como os fitatos os quais igualmente se ligam as proteínas dificultando sua separação, inviabiliza sua utilização em produtos para alimentação humana. Fazendo-se necessário o desenvolvimento de um processo que permita a utilização de seus componentes nutricionais (SAUNDERS, R. M., 1990).

Uma das formas de se buscar uma melhor utilização destes componentes nutricionais é através de processos enzimáticos, devido a sua seletividade e por sua

função de catalisar as reações aumentando sua velocidade por um fator de 10¹⁴ vezes mais do que uma reação não catalisada (VOET, D. *et al.*, 2000).

As enzimas podem ser encontradas em células animais ou de plantas, bem como em microrganismos. Atualmente, mais de 3.000 diferentes enzimas têm sido identificadas e muitas isoladas em sua forma pura. A aplicação de enzimas na indústria é objeto de muitas investigações, devido à alta atividade catalítica em comparação com os catalisadores convencionais, e ao fato de atuarem com alta eficiência em condições reacionais bastante suaves.

As enzimas hidrolíticas (proteases, celulasas, amilases e lipases) são as mais freqüentemente usadas na química orgânica. Entre as várias razões que as tornam uma opção particularmente atrativa, pode-se citar a ampla disponibilidade, baixo custo, facilidade de uso porque não necessitam cofatores e ampla especificidade para substratos (DALLA-VECCHIA, R. *et al.*, 2004). Além disso, por serem derivadas de plantas, animais ou fontes microbianas, são percebidas pelos consumidores como componentes alimentares não tóxicos e, conseqüentemente, preferidas em comparação a métodos químicos (JAMES, J. & SIMPSON, B. K., 1996).

O presente estudo tem por objetivo a obtenção e caracterização dos extratos solúveis do farelo integral de arroz parboilizado através de tratamento enzimático.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 FARELO INTEGRAL DE ARROZ PARBOILIZADO (FAIP)

O farelo de arroz usado nos experimentos foi proveniente do processo de parboilização do arroz, tendo sido fornecido pela indústria Camaquã Alimentos S.A. (CAMAL), situada no município de Camaquã - RS em sua forma integral e utilizado desta maneira.

O acondicionamento foi feito em sacos plásticos, sendo estes estocados a uma temperatura entre -5 e 0°C até sua utilização.

2.2 ENZIMAS

Foram utilizadas durante o desenvolvimento do trabalho duas amilases, uma protease, uma lipase e uma celulase, conforme segue:

Termamyl 120L → 1,4 - α - D – glucan glucanohidrolase (E.C. 3.2.1.1), uma endoamilase proveniente de cepas selecionadas de *Bacillus licheniformis*, com uma atividade declarada de 120 KNU/g (Novozymes S.A.).

AMG 300L → α - 1,4 – D – glucano glucohidrolase (E.C. 3.2.1.3), uma amiloglicosidase (exoamilase) obtida a partir de cepas selecionadas de *Aspergillus niger*, com uma atividade declarada de 300 AGU/mL (Novozymes S.A.).

Alcalase 2.4L → Endoproteinase obtida por fermentação submersa de cepa selecionada de *Bacillus licheniformis*, com uma atividade declarada de 2,4 AU/g (Novozymes S.A.).

Celluclast 1.5L → Celulase líquida obtida por fermentação submersa de cepa selecionada de *Trichoderma reesei*, com uma atividade declarada de 700 EGU/g (Novozymes S.A.).

Lipase pancreática → Lipase proveniente de pâncreas bovino (Sigma Chemical Company), com uma atividade de $4,08 \pm 0,384$ EU/ mg de proteína.

A determinação da atividade específica foi realizada de acordo com método adaptado por TORALLES R. P. (1998).

2.3 TRATAMENTO ENZIMÁTICO DO FARELO DE ARROZ E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS FRAÇÕES

O fluxograma apresentado na Figura 1 mostra as operações de fracionamento enzimático do farelo integral de arroz parboilizado.

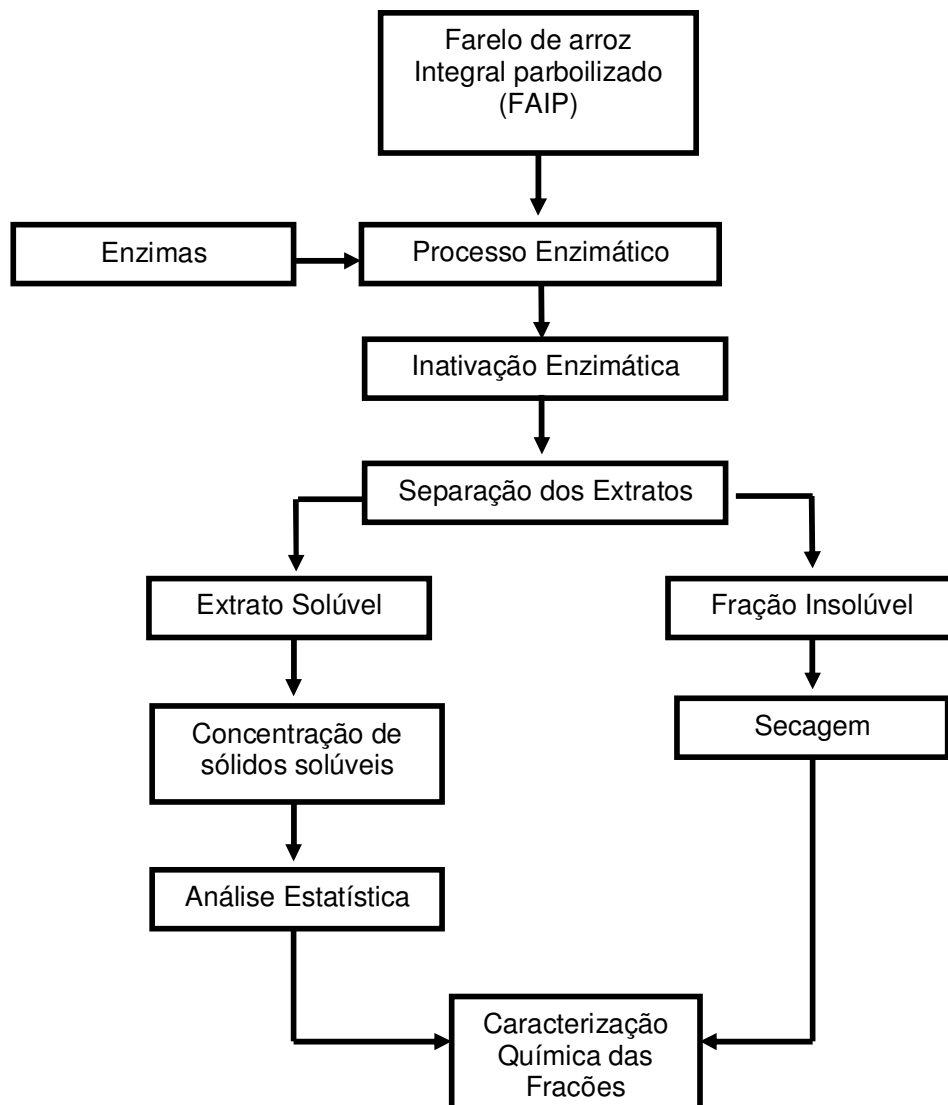


FIGURA 1. Fluxograma operacional de fracionamento enzimático do FAIP.

2.3.1 Preparo do Substrato

O farelo foi peneirado para obtenção de uma fração homogênea retida no tyler 48, homogeneizou-se a uma solução aquosa em uma concentração de 15% de farelo em água destilada através de agitação magnética lenta e contínua, há uma velocidade constante. O substrato obtido teve seu controle de temperatura ajustado e mantido por meio do acoplamento, em série, de reatores de vidro encamisados de 250

mL, cobertos para evitar a evaporação durante o tempo de reação, a um banho ultratermostático (Quimis – 214 D2),

2.3.2 Tratamento Enzimático

Foram utilizadas soluções de cada enzima sendo estas pré-aquecidas em banho-maria a mesma temperatura do substrato em questão. E a seguir adicionadas ao mosto. O ajuste do pH do meio foi realizado através do uso de soluções de hidróxido de sódio a 10% e ácido cítrico a 30%. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

2.3.2.1 Hidrólise conjunta

Testou-se a solubilização do FAIP, em uma etapa final, através do uso conjunto das enzimas estudadas todas em seus parâmetros ótimos de atuação de acordo com os resultados obtidos nos planejamentos individuais realizados anteriormente. As amostras preparadas do FAIP 48 mesh foram hidrolisadas de duas formas distintas: primeiramente realizou-se um processo de hidrólise através da incubação conjunta das enzimas, utilizando para isso parâmetros médios de processamento (temperatura de 60°C; pH de 6,5; tempo de 180 minutos; concentração enzimática de acordo com o ótimo de cada enzima). Foram retiradas e analisadas alíquotas a cada uma hora de processo.

Em uma segunda etapa testou-se a reação do substrato à adição sucessiva das enzimas, na ordem pré-definida mostrada a seguir e respeitando os parâmetros ótimos de atuação destas:

- Lipase: temperatura de 37°C; pH de 8,0; tempo de 60 minutos; concentração enzimática de 0,03%.
- Celulase: temperatura de 60°C; pH de 4,8; tempo de 60 minutos; concentração enzimática de 1%.
- Protease: temperatura de 60°C; pH de 8,0; tempo de 180 minutos; concentração enzimática de 1%.
- α -amilase: temperatura de 60°C; pH de 6,5; tempo de 30 minutos; concentração enzimática de 0,2%.

- Amiloglicosidase: temperatura de 60°C; pH de 4,0; tempo de 60 minutos; concentração enzimática de 1,5%.

Foram retiradas e analisadas alíquotas a cada adição de uma nova enzima ao mosto.

2.3.3 Inativação Enzimática

A inativação foi realizada pelo uso de temperatura de acordo com as características de cada enzima:

- AMG 300L → 80°C por 10 minutos;
- Alcalase 2.4L → 85°C por 10 minutos;
- Celluclast 1.5L → 80°C por 20 minutos;
- Lipase pancreática → 60°C por 15 minutos.

2.3.4 Separação dos Extratos

A separação do extrato e da fração insolúvel foi realizada por processo de centrifugação em centrífuga Metrimpex 5Z-49 durante um tempo de quinze minutos e uma velocidade de 3000g, seguida de filtração em filtro qualitativo e a seguir em filtro Millipore acoplado a uma bomba de vácuo Primatec modelo 131 de ¼ c.v.

As frações insolúveis foram secas em estufa Fanem modelo 320-SE com circulação forçada de ar a uma temperatura de 60°C por aproximadamente 90 minutos e armazenadas em dessecador até sua utilização.

2.3.5 Determinação dos Sólidos Solúveis

Os extratos tiveram seu teor de sólidos solúveis estimados por refratometria (refratômetro de Abbé) a uma temperatura de 20°C (banho térmico Thermo Haake B3), sendo os melhores resultados encaminhados para as análises de acompanhamento.

2.3.5 Caracterização dos Extratos

- A concentração de proteínas dos extratos foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu, sendo lido o cromóforo à 660nm em espectrofotômetro da marca Varian UV – Vis modelo 634s. A determinação foi realizada após diluição das amostras em uma parte para três de água. Elaborou-se uma curva padrão de albumina do soro bovino (BSA).

- Os açúcares redutores foram determinados pelo método do ácido 3,5 – DNS após purificação dos extratos por precipitação mediante o uso de soluções de Carrez I e Carrez II sendo as alíquotas retiradas do filtrado, diluídas 25 vezes em água destilada e a reação cromogênica realizada em meio alcalino (NaOH 0,5%) a temperatura de ebulição. Utilizou-se uma curva padrão de glicose sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro Varian UV – Vis - 634s.

- A análise de determinação do teor lipídico das amostras foi realizada na fração insolúvel pelo método de Bligh & Dyer devido à pequena quantidade de amostra obtida após a etapa de filtração da fração solúvel e a sua dificuldade de secagem. Através dos valores lipídicos encontrados na matéria-prima com utilização deste mesmo método, inferiu-se o teor de óleo presente na fração solúvel por diferença.

2.3.5.1 Caracterização química dos extratos obtidos por hidrólise conjunta

A caracterização química do FAIP foi determinada utilizando metodologia oficial para:

- Proteínas: método de micro Kjeldahl (método N° 979.09 AOAC, 2000), fator de conversão do nitrogênio de 5,95 (Juliano, 1972 citado por TANG *et al.*, 2002).
- Gordura: extrato etéreo (método N° 963.15 AOAC, 2000);
- Umidade: gravimetria (método n° 925.09 AOAC, 2000)
- Cinzas: gravimetria (método n° 923.03 AOAC, 2000).
- Carboidratos por diferença.
- Fibras Totais: O teor de fibras totais foi determinado segundo adaptação do método n° 991.43 da A.O.A.C. (1995), proposto por GONÇALVES *et al.*, 1998.

2.3.6 Planejamento Experimental e Tratamento de Resultados

A Tabela 1 apresenta as variáveis analisadas para cada enzima e seus respectivos níveis.

TABELA 1. Níveis e variáveis das enzimas estudadas.

	Temperatura (°C)		pH (±0,2)		Tempo (min)		Concentração Enzimática (%)	
	-	+	-	+	-	+	-	+
AMG 300L	60	75	4,0	6,5	30	180	0,05	1,5
Alcalase 2.4L	60	60	6,5	8,0	120	360	0,05	1,0
Celluclast 1.5L	50	60	4,8	6,5	20	120	1	3
Lipase pancreática	37	37	6,5	8,0	20	60	0,03	0,06

Os resultados foram tratados através de análise de variância e por teste de Tuckey HSD, por meio do software *Statistica for Windows* 6.0, a um nível de significância de 5%, sendo pesquisadas diferenças estatísticas entre as médias dos níveis testados. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 EFEITO DO TRATAMENTO COM AMIOGLICOSIDASE (AMG 300L)

O estudo desenvolvido para a enzima amiloglicosidase levou em consideração os quatro principais fatores de interesse para o processo de solubilização dos componentes de interesse do FAIP. A tabela 2 apresenta os resultados de sólidos solúveis dos extratos obtidos.

TABELA 2. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos no tratamento com AMG*.

Exp.	Temp.	pH	Tempo	Conc.	SS**
1	-	-	-	-	6,25
2	-	-	-	+	6,75
3	-	-	+	-	6,80
4	-	-	+	+	7,00
5	-	+	-	-	1,65
6	-	+	-	+	3,05
7	-	+	+	-	1,95
8	-	+	+	+	2,50
9	+	-	-	-	6,55
10	+	-	-	+	6,30
11	+	-	+	-	7,35
12	+	-	+	+	6,95
13	+	+	-	-	1,45
14	+	+	-	+	2,85
15	+	+	+	-	2,00
16	+	+	+	+	2,35

*AMG: temperatura de 60 e 75°C; pH de 4,0 e 6,5; tempo de 30 e 180 minutos; concentração enzimática de 0,05 e 1,5%.

**n = 2.

Os resultados apresentados na Tabela 2 indicam que a variável pH foi predominante nos teores de sólidos solúveis dos extratos, tendo o nível de pH próximo da neutralidade (6,5) apresentado valores menores do que os alcançados em meio ácido, o que sugere sua importância para a extração enzimática.

A análise de variância dos tratamentos com amiloglicosidase está apresentada na Tabela 3.

TABELA 3. Análise de variância dos resultados para AMG.

Fatores*	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Erro QM	F teste	p-level
1	1	,0028	,018437	,153	,701269
2	1	163,3528	,018437	8859,813	,000000**
3	1	,5253	,018437	28,492	,000067**
4	1	1,7578	,018437	95,339	,000000**
12	1	,0903	,018437	4,898	,041762**
13	1	,1128	,018437	6,119	,024964**
23	1	,7503	,018437	40,695	,000009**
14	1	,3003	,018437	16,288	,000957**
24	1	1,6653	,018437	90,322	,000000**
34	1	,6903	,018437	37,441	,000015**
123	1	,0153	,018437	,831	,375652
124	1	,1653	,018437	8,966	,008580**
134	1	,0003	,018437	,017	,898040
234	1	,2628	,018437	14,254	,001656**
1234	1	,0153	,018437	,831	,375652

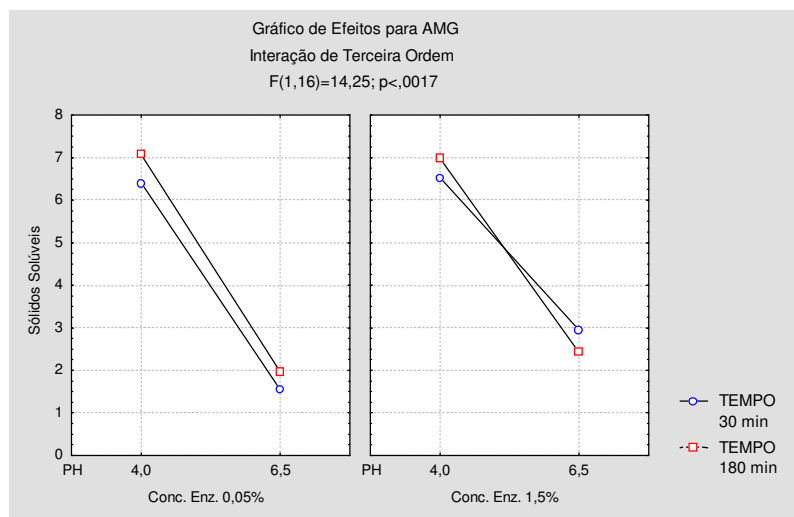
*1=Temperatura; 2= pH; 3= tempo; 4= Conc. Enz.

** Efeitos e interações significativos ($p < 0,05$).

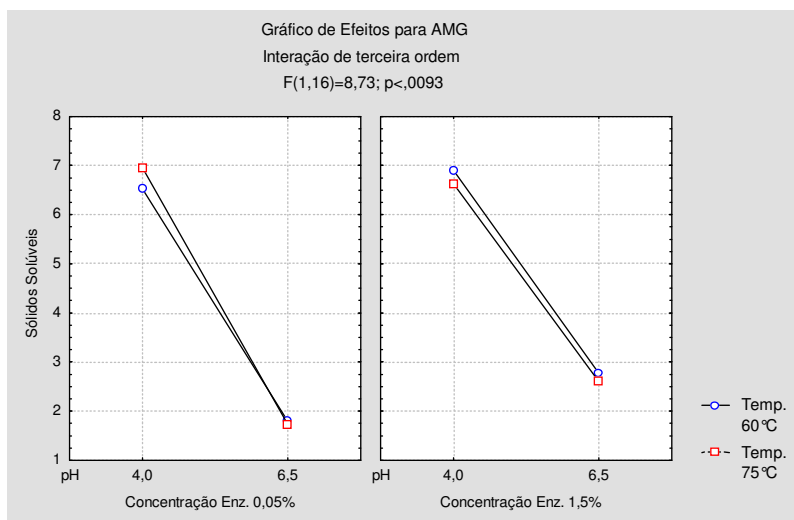
De acordo com a análise de variância o planejamento realizado apresentou interações de terceira ordem para os fatores temperatura-pH-concentração enzimática e pH-tempo-concentração enzimática para um nível de significância de 5%. Não ocorrendo, portanto, uma interação entre os quatro fatores testados, bem como para as relações entre temperatura-pH-tempo e temperatura-tempo-concentração enzimática, o que indica que estatisticamente a interação destes fatores não é significativa para justificar possíveis alterações no processo.

Com respeito à existência de diferença significativa entre os experimentos das duas interações pode-se verificar pelo teste de Tuckey HSD que os experimentos 1 e 6, 2 e 5, 2 e 6, 3 e 7, 4 e 8, 5 e 6 são iguais para a interação temperatura-pH-concentração. No caso da interação pH-tempo-concentração os experimentos 1 e 2 e 3 e 4 podem ser considerados estatisticamente iguais ($p < 0,05\%$), o que equivale dizer que a escolha nestes casos deverá ser feita utilizando outros parâmetros como o custo de produção e/ou facilidade de processamento.

Os gráficos apresentados na Figura 2 mostram as duas interações das variáveis.



(a)



(b)

FIGURA 2. Gráficos de interações de terceira ordem para pH-tempo-concentração (a) e pH-Temperatura- concentração (b).

A Figura 2 (a), representando a interação pH-tempo-concentração enzimática, mostra os mais significativos experimentos em termos de solubilização dos componentes do FAIP, onde se pode observar a diferença quando da alteração do pH do meio reacional, nos demais casos justifica-se a existência das igualdades

mencionadas no teste de tuckey, onde as interações com pH menor (4,0) mostraram-se estatisticamente iguais ($\alpha=0,05\%$) independentemente da concentração de enzima utilizada, o mesmo ocorrendo em relação ao maior tempo de hidrólise (180 min), sendo estes resultados melhores e estatisticamente significativos frente ao menor tempo (30 min).

A maior facilidade de extração dos sólidos solúveis em pH ácido corrobora a descrição desta enzima feita por MARC J.E.C. *et al.* (2002) onde os autores citam que esta glicoamilase proveniente de *Aspergillus niger* tem seu pH ótimo em 4,2. WHITTAKER, J.R. (1994) menciona que a faixa de atividade ótima para esta enzima é de pH entre 4,0-4,4.

Em relação à interação temperatura-pH-concentração enzimática mostrada no gráfico (b) da figura 2, observa-se a mesma ocorrência da interação em relação à variação nos resultados quando se troca o pH do meio, continuando mais eficaz o processo com a utilização de um pH menor (4,0). Para a maior concentração (1,5%) com pH 4,0 não há diferença entre os dois experimentos, observando-se também esta igualdade quando se mantêm as temperaturas em um valor mais alto (75 °C) independente da concentração utilizada de enzima, sendo, portanto os três experimentos que apresentaram valores mais altos de solubilização no gráfico A estatisticamente iguais entre si.

No caso da estabilidade demonstrada no gráfico da figura 2 (b) em relação às temperaturas testadas MARC J.E.C. *et al.* (2002) menciona a estabilidade da AMG a 60 °C e a dependência de fatores que incluem o pH e a força iônica do meio além da presença de ligantes ao efeito da temperatura. Os resultados obtidos indicam, no entanto, que a enzima permaneceu estável, pelo tempo do experimento, a temperatura de 75 °C, em relação a este fato os autores citam que os substratos freqüentemente protegem a enzima da desnaturação pelo calor.

Em nenhuma das interações estudadas houve influência da concentração de enzima, no entanto, os resultados mostram que para a maioria dos experimentos houve um acréscimo na concentração de sólidos solúveis do meio com maior concentração enzimática, indicando que com a menor concentração testada ($p<0,05$) ainda não se teria atingido o nível de saturação enzimática do meio.

Com base nos resultados obtidos selecionaram-se os parâmetros de 60 °C com um pH de 4,0 e uma concentração enzimática de 1,5% durante um tempo de hidrólise de 180 minutos como os mais adequados para o processo de hidrólise do

FAIP com a enzima AMG 300L, correspondendo estes parâmetros a uma concentração de sólidos solúveis de 7,0%.

3.1.1 Caracterização Química dos Tratamentos com AMG

Os experimentos selecionados para análise química dos principais componentes do FAIP após hidrólise com amiloglicosidase, basearam-se na significância das duas interações de terceira ordem constatadas (Temperatura-tempo-concentração, $p=0,001656$; Temperatura-pH-concentração, $p=0,008580$). Sendo o pH em meio ácido determinante para uma maior extração dos sólidos solúveis, selecionou-se experimentos que variassem os demais parâmetros de modo a verificar suas influências na extração dos componentes de interesse.

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos para os principais componentes do FAIP presentes na fração solúvel.

TABELA 4. Composição porcentual dos extratos obtidos por tratamento com amiloglicosidase*.

Tratamento**	Sólidos Solúveis	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
2	6,75	0,56	1,26	1,54
4	7,00	0,65	1,91	1,94
9	6,55	0,71	0,63	1,42
12	6,95	0,66	1,50	1,68

*t=30 min; T=60 °C; pH4,0; conc.enz. 1,5% (trat. 2).

t=180 min; T=60 °C; pH4,0; conc. enz. 1,5% (trat. 4).

t=30 min; T=70 °C; pH4,0; conc. enz. 0,05% (trat. 9).

t=180min; T=70 °C; pH4,0; conc. enz. 1,5% (trat. 12).

**n=2.

Os resultados indicam uma maior extração de carboidratos no tratamento 4, confirmando-se a maior solubilização de carboidratos a qual corresponde a um rendimento de 86,82% com 19,40% dos lipídios. No entanto, a maior extração de proteínas foi constatada no tratamento 9, o qual utilizou uma temperatura maior (75 °C) com tempo e concentração enzimática menor durante o processo de extração, obtendo um rendimento de 12,22%, o qual pode ser considerado baixo, demonstrando a pequena liberação deste componente durante a hidrólise com amilase, devido

possivelmente ao pH ácido necessário a atuação desta enzima, o qual inibe a solubilização das proteínas segundo HAMMOND, N. A. (1994).

3.2 EFEITO DO TRATAMENTO COM PROTEASE (ALCALASE 2.4L)

Analizou-se o comportamento da alcalase através de um planejamento fatorial completo 2^3 , em dois níveis.

A temperatura foi mantida constante no valor de 60°C, sendo esta, de acordo com a ficha técnica da enzima (Novozymes) sua temperatura ótima de atuação e compatível com as necessidades do substrato devido à presença neste de lipídios e proteínas.

A Tabela 5 apresenta a média dos resultados de porcentagem de sólidos solúveis encontrados.

TABELA 5. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nas diferentes condições de processo com a protease*.

Exp.	Tempo	Conc.	pH	SS**
1	-	-	-	3,10
2	-	-	+	3,65
3	-	+	-	4,50
4	-	+	+	5,00
5	+	-	-	3,95
6	+	-	+	5,30
7	+	+	-	5,85
8	+	+	+	6,80

*Protease: temperatura de 60°C; pH de 6,5 e 8,0; tempo de 120 e 360 minutos; concentração enzimática de 0,05 e 1%.

**n = 2.

De acordo com a análise de variância (Tabela 6), constatou-se a existência de interação entre os fatores tempo e pH, além da significância do efeito principal concentração enzimática separadamente ($p < 0,05$).

TABELA 6. Análise de variância dos resultados para alcalase.

Fatores*	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Erro QM	F teste	p-level
1	1	7,980625	,066875	119,3364	,000004**
2	1	9,455625	,066875	141,3925	,000002**
3	1	2,805625	,066875	41,9533	,000193**
12	1	,105625	,066875	1,5794	,244294
13	1	,390625	,066875	5,8411	,042057**
23	1	,050625	,066875	,7570	,409612
123	1	,030625	,066875	,4579	,517671

*1=tempo; 2=concentração enzimática; 3=pH.

** Efeitos e interações significativos ($p < 0,05$).

Com relação ao teste de tuckey HSD para a interação tempo-pH, constatou-se haver diferença significativa entre o experimento de maior rendimento de extração (6,05%) e os demais, tendo este utilizado um pH de 8,2 por um tempo de incubação de 360 minutos.

O efeito principal, concentração enzimática, por sua vez, apresentou diferença significativa ($p < 0,05\%$) entre os dois experimentos analisados, optando-se pelo uso de uma concentração maior de enzima no meio (1%) onde obteve-se um rendimento de extração de 5,54%.

O gráfico da Figura 3 mostra os resultados para a interação de segunda ordem entre as variáveis: tempo e pH do meio.

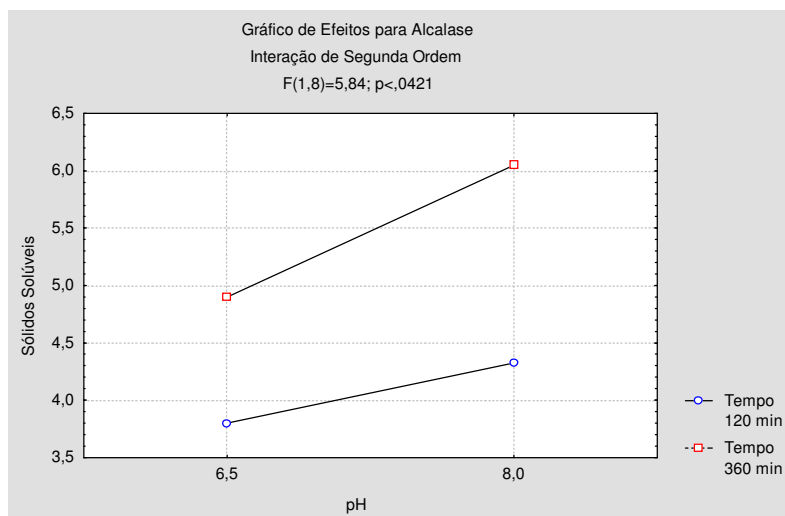


FIGURA 3. Gráfico da interação de segunda ordem para as variáveis estudadas.

De acordo com o gráfico (Fig. 3) fica clara a influência de um maior tempo de incubação no processo, assim como pode-se inferir que o pH de 8,0, o qual segundo HAMADA *et al.* (1998) é o pH ótimo de atuação desta enzima, apresentou uma concentração de sólidos solúveis superior em relação a manutenção do pH normal do substrato, sendo esta diferença mais expressiva num tempo maior de hidrólise. No entanto, WANG *et al.* (1999) adverte que condições de alta alcalinidade podem provocar desnaturação das proteínas e perda de seu valor nutritivo, além de aumentar a reação de Maillard provocando escurecimento do produto, sendo esta última colocação observada durante os experimentos.

Os parâmetros selecionados como os mais adequados para a enzima Alcalase 2,4L foram: tempo de incubação de 360 minutos, com um pH mantido em $8,0 \pm 0,2$ e uma concentração enzimática de 1% em relação à massa de FAIP (mesh 48) utilizado nos experimentos, os quais, juntos, alcançaram uma extração de 6,8% dos sólidos solúveis contidos no farelo. Observa-se que estes valores podem ser maiores durante um processo onde não se faça necessário uma filtração mais fina (filtro Millipore) devido à necessidade de eliminação da turbidez para efetuação da leitura no refratômetro.

Pode-se também mencionar que a concentração de 1% de enzima obteve um rendimento 38,5% maior, em termos de solubilização do extrato do FAIP, em relação ao experimento com concentração enzimática de 0,05%.

HAMADA *et al.* (1998), utilizando tratamento enzimático com proteases cita um interesse nas proteínas do farelo de arroz devido ao alto conteúdo de aspargina e glutamina presentes, as quais teriam aplicação como flavorizantes, na forma de peptídeos funcionais, para aplicação em alimentos.

3.2.1 Caracterização Química dos Tratamentos com Alcalase

A partir de um planejamento experimental onde se testou a influência das variáveis: tempo, pH e concentração de enzima, em dois níveis cada, selecionou-se os dois experimentos mais significativos na extração dos sólidos solúveis do FAIP 48 mesh ($p < 0,05$). A variável concentração de enzima no meio mostrou-se significativa como efeito principal sendo analisada nos dois níveis de testados ($p < 0,05$).

A Tabela 7 apresenta os resultados da composição dos extratos obtidos nos experimentos selecionados.

TABELA 7. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento com alcalase*.

Tratamento**	Sólidos Solúveis	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
8	6,80	3,99	1,48	1,46
7	5,85	2,88	1,72	0,82

* t=360 min., pH 8,2, conc. enz. 1% (trat. 8);

t=360 min., pH 8,2, conc. enz. 0,05% (trat. 7).

**n=2.

Os resultados indicaram que o tratamento com 1% de alcalase apresentou melhores resultados, com um rendimento de 68,65% das proteínas presentes na fração utilizada do FAIP 48 mesh e de 15,57% em relação ao teor lipídico do FAIP, indicando uma melhor atividade da enzima. O teor de carboidratos extraídos, por outro lado, foi significativamente maior no tratamento 7.

Segundo TANG *et al.* (2002) e WANG *et al.* (1999), o farelo de arroz contém em média, 37% de albuminas, as quais são solúveis em água, sendo que o alto teor de fibras acarreta na formação de complexos com as extremidades protéicas, o que dificulta a extração das proteínas, além do processo de inativação das lipases do farelo por aquecimento o qual realça a complexação das proteínas com

carboidratos e outros componentes (TANG *et al.*, 2002). Considerando-se estes fatores pode-se sugerir a possibilidade de um processo enzimático de extração dos componentes hidrossolúveis como uma alternativa viável à obtenção de um extrato aquoso do FAIP.

3.3 EFEITO DOS TRATAMENTOS COM CELULASE (CELLUCLAST 1.5L)

A escolha de uma enzima específica para hidrólise da fração celulósica do FAIP deu-se devido aos baixos valores de carboidratos amiláceos encontrados no FAIP 48 mesh (7,96%) e, por conseguinte, as altas concentrações de fibras insolúveis (23,37%), o que nos levou a pensar sobre a possibilidade deste excesso de fibras estar interferindo na atividade das enzimas testadas até então e na solubilização dos componentes visados devido a uma excedente complexação destas com as proteínas e lipídios presentes como citam SILVA M. A. *et al.* (2001) e QURESHI A. A. *et al.* (2002).

WANG *et al.* (1999) e SHIH *et al.* (1999) citam o uso de carboidrases (celulase, pectinase, hemicelulase e viscoenzima L) para obtenção de produtos protéicos a partir do farelo de arroz, mencionando que estas, em geral, desintegram o tecido da parede celular facilitando a extração de proteínas.

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos em termos de porcentagem de sólidos solúveis extraídos, onde se pode observar a visível influência da variável pH no processo de extração após tratamento com a celulase.

TABELA 8. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nos diferentes tratamentos com celulase.

Exp.	Conc.	Temp.	Tempo	pH	SS*
1	-	-	-	-	3,05
2	-	-	-	+	1,10
3	-	-	+	-	3,65
4	-	-	+	+	1,45
5	-	+	-	-	3,35
6	-	+	-	+	1,25
7	-	+	+	-	3,90
8	-	+	+	+	1,95
9	+	-	-	-	3,20
10	+	-	-	+	1,35
11	+	-	+	-	3,45
12	+	-	+	+	2,05
13	+	+	-	-	3,05
14	+	+	-	+	1,30
15	+	+	+	-	3,65
16	+	+	+	+	2,05

*Celulase: temperatura de 50 e 60 °C; pH de 4,8 e 6,5; tempo de 20 e 120 minutos; concentração enzimática de 1 e 3%.

**n=2.

Na Tabela 9 podem-se observar, os principais efeitos do tratamento e a interação entre estes, que se mostraram significativos para um nível de confiança de 5%.

TABELA 9. Análise de variância dos resultados para celulase.

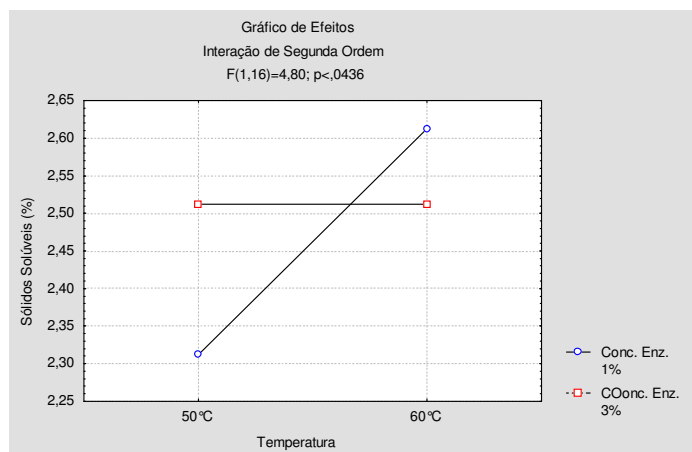
Fatores*	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Erro QM	F teste	p-level
1	1	,02000	,037500	,5333	,475767
2	1	,18000	,037500	4,8000	,043610**
3	1	2,53125	,037500	67,5000	,000000**
4	1	27,38000	,037500	730,1334	,000000**
12	1	,18000	,037500	4,8000	,043610**
13	1	,00125	,037500	,0333	,857425
23	1	,06125	,037500	1,6333	,219473
14	1	,32000	,037500	8,5333	,009992**
24	1	0,00000	,037500	0,0000	1,000000
34	1	,03125	,037500	,8333	,374861
123	1	,00125	,037500	,0333	,857425
124	1	,00500	,037500	,1333	,719783
134	1	,06125	,037500	1,6333	,219473
234	1	,00125	,037500	,0333	,857425
1234	1	,06125	,037500	1,6333	,219473

* 1=concentração enzimática; 2=Temperatura; 3=tempo; 4=pH.

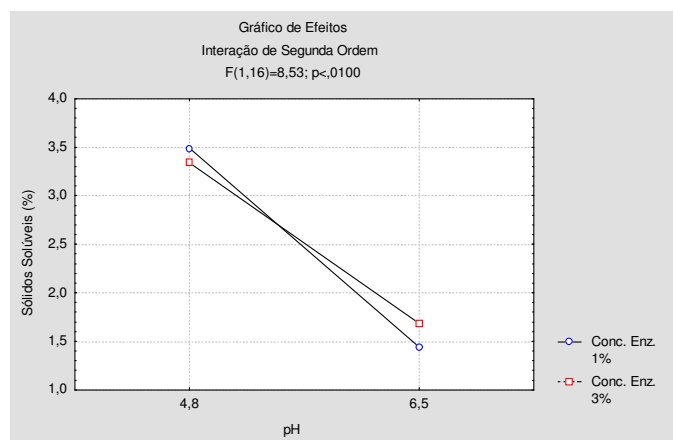
** Efeitos e interações significativos ($p < 0,05$).

A análise de variância efetuada indicou uma interação de segunda ordem entre os fatores concentração de enzima-temperatura (12) e concentração de enzima-pH (14), sendo ainda significativo o efeito principal tempo do processo ($p < 0,05$).

A Figura 4 apresenta os gráficos para os resultados de interação de segunda ordem observados.



(a)



(b)

FIGURA 4. Gráficos de interações concentração-temperatura (a), concentração-pH (b) para as variáveis estudadas.

Com relação à interação concentração-temperatura mostrada no gráfico (a) nota-se que para uma concentração de enzima utilizada de 3% sobre a massa de FAIP no substrato os níveis testados de temperatura mostraram-se iguais em relação a extração de sólidos solúveis. Diferentemente, com a adição de uma concentração menor de enzima ao meio (1%), observou-se uma resposta crescente do teor de sólidos solúveis lidos em relação ao aumento de temperatura, sendo portanto a melhor resposta alcançada com a utilização de 1% do extrato enzimático em um meio mantido a 60°C, a qual é estatisticamente diferente das demais interações entre estas duas variáveis ($p<0,05$).

No caso da segunda interação (concentração -pH) a mudança no pH do meio foi a responsável pela significativa diferença nos resultados, sendo este efeito principal já apontado anteriormente devido a sua grande significância no processo, com um desempenho de extração melhor no pH de 4,8, o qual se enquadra nos parâmetros ótimos de reação desta enzima de acordo com a literatura (STRYER, L., 1979), independente da concentração de enzima utilizada.

O fator tempo de hidrólise mostrou-se estatisticamente superior para o nível testado de 120 minutos, apesar deste não ter apresentado nenhuma interação com os outros fatores ($p < 0,05$).

Existem poucos estudos nos quais a celulose é diretamente solubilizada do farelo de arroz, MIHARA S. (1970) em seu estudo de separação dos componentes do farelo de arroz menciona o baixo índice de hidrólise alcançado com a utilização de uma celulose, independente do tempo de duração da ação enzimática. Esses resultados foram igualmente confirmados pelos tratamentos apresentados, os quais obtiveram um rendimento máximo de 19,5% sobre o total de massa do substrato, tendo em vista o alto teor de fibras existente no FAIP 48 mesh (27,7%). Este rendimento foi alcançado com a utilização de 1% do concentrado enzimático em um meio de pH $4,8 \pm 0,2$ a 60°C por um tempo de 120 minutos.

3.3.1 Caracterização Química dos Tratamentos com Celulase

A celulase mostrou ter sua ação hidrolítica fortemente influenciada pelo pH do meio, no entanto, a extração dos produtos solubilizados pelo processo de hidrólise ficou abaixo do esperado em relação ao alto teor de fibras insolúveis (23,37%) presentes no FAIP 48 mesh.

Selecionou-se para análise experimentos que correspondessem aos maiores teores de sólidos solúveis, obtidos de acordo com o planejamento experimental realizado, e possibilitassem a verificação da relação existente entre esses e a concentração dos componentes individuais. A Tabela 10 apresenta a composição dos principais componentes do FAIP presentes na fração solúvel.

TABELA 10. Composição percentual dos extratos obtidos por tratamento com celulase*.

Tratamento**	Sólidos Solúveis	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
3	3,65	0,69	1,27	2,22
5	3,35	1,04	1,23	1,38
7	3,90	1,12	1,24	2,09
12	2,05	0,71	1,10	1,71
16	2,05	0,78	1,03	1,59

*n=2.

**t=120 min; T=50°C; pH4,8; conc.enz.1,0% (trat. 3).

t=20 min; T=60°C; pH4,8; conc. enz. 1,0% (trat. 5).

t=120 min; T=60°C; pH4,8; conc. enz. 1,0% (trat. 7).

t=120min; T=50°C; pH6,5; conc. enz. 3,0% (trat. 12).

t=120min; T=60°C; pH6,5; conc. enz. 3,0% (trat. 16).

De acordo com os resultados da Tabela 8 nota-se que as diferenças na extração dos sólidos solúveis em relação ao pH utilizado no meio não corresponderam de forma significativa no teor de extração dos componentes individuais, apesar dos melhores resultados (tratamentos 3 e 7) terem sido em pH ácido, com o tratamento 7 obtendo um maior teor de proteínas correspondente a 16,86% das proteínas totais da amostra. Os carboidratos e lipídios, no entanto, tiveram uma maior solubilização no tratamento 3, alcançando um valor máximo de 15,22% de rendimento do total de fibras insolúveis, com 20,72% dos lipídios, sendo a diferença entre os dois tratamentos, para estes componentes, pouco significativa.

3.4 EFEITO DOS TRATAMENTOS COM LIPASE PANCREÁTICA

Estudou-se a reação do FAIP a uma hidrólise lipolítica devido ao alto teor de gordura constatado na fração retida de 48 mesh do FAIP (30%).

Baseado na literatura (TORALLES R.P., 1998 e PADMINI P. *et al.* (1994)) utilizou-se uma temperatura fixa de 37°C para o processo, sendo esta considerada a temperatura ótima para atuação da lipase pancreática.

A Tabela 11 mostra os resultados de solubilização alcançados para esta ação enzimática.

TABELA 11. Porcentagem de sólidos solúveis dos extratos obtidos nos tratamentos com lipase.

Exp.	Tempo	pH	Conc.	SS*
1	-	-	-	3,10
2	-	-	+	3,10
3	-	+	-	4,20
4	-	+	+	4,45
5	+	-	-	3,55
6	+	-	+	3,70
7	+	+	-	4,40
8	+	+	+	4,95

*Lipase: temperatura de 37°C; pH de 6,5 e 8,0; tempo de 20 e 60 minutos; concentração enzimática de 0,03 e 0,06%.

**n=2.

De acordo com a Tabela 11, percebe-se a maior influência do fator pH na solubilização com lipase, notando-se também a uma maior solubilização do FAIP em um tempo maior de hidrólise.

A análise de variância (Tabela 12) acusou uma interação de segunda ordem entre os fatores pH e concentração enzimática (p-level = 0,002416), sendo também o fator principal, tempo de hidrólise (p-level = 0,000043), significativo ($p < 0,05$).

TABELA 12 Análise de variância dos resultados para lipase pancreática.

Fatores*	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Erro QM	F teste	p-level
1	1	,765625	,011875	64,4737	,000043**
2	1	5,175625	,011875	435,8421	,000000**
3	1	,225625	,011875	19,0000	,002416**
12	1	,030625	,011875	2,5789	,146961
13	1	,050625	,011875	4,2632	,072822
23	1	,105625	,011875	8,8947	,017536**
123	1	,005625	,011875	,4737	,510757

*1=tempo; 2=pH; 3=concentração enzimática.

**Experimentos significativos ($p < 0,05\%$).

O gráfico da Figura 5 mostra os resultados para a interação de segunda ordem entre a variável pH e as concentrações de enzima testadas no estudo.

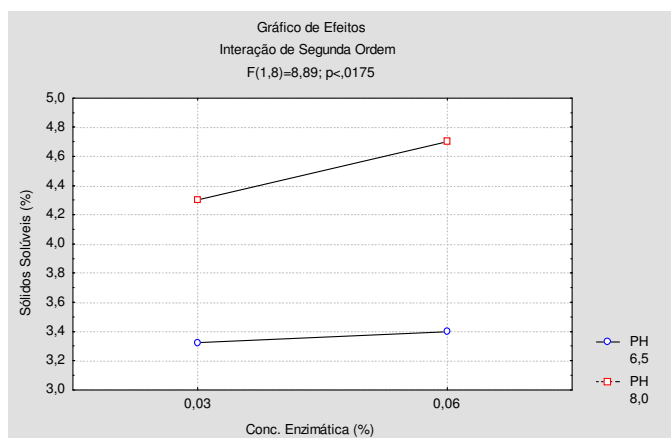


FIGURA 5. Gráfico de interação pH-conc. enzimática para as variáveis estudadas.

Pelo exposto na Figura 5, constata-se principalmente a diferença de solubilidade alcançada com a mudança do pH do mosto, com a enzima atuando de forma mais eficaz em pH alcalino (8,0) o que está de acordo com a literatura (RICHARD, H., 1985), prevalecendo à interação deste com a concentração de 0,06% do extrato preparado de lipase, a qual foi estatisticamente diferente dos demais resultados ($p < 0,05$).

Em relação ao fator tempo observou-se um crescente aumento no índice de extração com o aumento da temperatura, sendo o nível de 60 minutos de hidrólise mais eficiente para o processo de solubilização.

Com relação ao nível de extração dos lipídios do substrato PADMINI, P. *et al.* (1994) menciona a necessidade de se lidar com a resistência a transferência de massa em uma hidrólise enzimática que contenha lipídios em um substrato na fase sólida, o autor menciona que uma das formas de contornar este problema é com a utilização de solventes orgânicos para dissolver os lipídios antes do processo de hidrólise enzimática, porém relata uma sensível diminuição na atividade da enzima, além de possíveis alterações no produto.

MIHARA, S. (1970) cita ainda que os lipídios durante o processo de homogeneização em água formariam partículas coloidais, sendo estas provavelmente perdidas durante a filtração necessária dos sobrenadantes, as quais em um processo em maior escala seriam agregados aos solúveis.

3.4.1 Caracterização Química dos Tratamentos com Lipase

A utilização de uma lipase foi outra tentativa de separar os componentes do FAIP em duas frações distintas, sendo uma solúvel e outra insolúvel em água, no entanto, os resultados mostraram uma baixa extração dos lipídios da amostra apesar de sua alta concentração no meio (30,01%). Provavelmente, esta baixa extração deve-se em parte ao processo de homogeneização em água dos lipídios, os quais segundo MIHARA, S. (1970) formariam partículas coloidais, sendo estas provavelmente perdidas durante a filtração necessária dos sobrenadantes para execução das análises, as quais em um processo em maior escala seriam agregados aos solúveis.

Os tratamentos selecionados para esta enzima corresponderam aos maiores teores de sólidos solúveis, obtidos, segundo análise de variância realizada, através da significância ($p < 0,05$) de uma interação entre a concentração enzimática e o pH do meio ($p = 0,002416$) e da influência do fator tempo no processo ($p = 0,000043$).

TABELA 13. Composição porcentual dos extratos obtidos por tratamento com lipase.

Tratamento	Sólidos Solúveis	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
4	4,95	0,98	0,78	2,13
6	3,70	0,81	0,79	1,38
7	4,40	0,88	0,72	2,02
8	4,45	1,28	0,95	2,54

*n=2.

**t=20 min; T=37 °C; pH8,0; conc.enz.0,06% (trat. 4).

t=60 min; T=37 °C; pH6,5; conc. enz. 0,06% (trat. 6).

t=60 min; T=37 °C; pH8,0; conc. enz. 0,03% (trat. 7).

t=60min; T=37 °C; pH8,0; conc. enz. 0,06% (trat. 8).

Os resultados apontam para os níveis de extração do tratamento 8, o qual atingiu um rendimento de 23,71% de solubilização dos lipídios. Porém esta extração não correspondeu a uma maior liberação dos demais componentes, ficando sua solubilização na média das demais enzimas utilizadas, excluindo-se as específicas, sustentando a hipótese que menciona a dificuldade em se lidar com a resistência a transferência de massa em uma hidrólise enzimática que contenha lipídios em um substrato na fase sólida (PADMINI, P. *et al.* 1994). Pode-se notar também a influência do fator pH no tratamento 6, único dos analisados no nível de pH 6,5, onde observa-se os menores índices de solubilização para as proteínas e lipídios presentes no FAIP, corroborando a literatura (RICHARD, H., 1985).

Salienta-se que o valor comercial e nutricional do óleo presente no farelo de arroz encontra-se em sua fração insaponificável na forma de antioxidantes naturais como os tocóis e os orizanóis.

3.5 EFEITO DO TRATAMENTO COM MISTURA ENZIMÁTICA

A termamyl foi acrescentada nos tratamentos com enzimas em conjunto, pois segundo TANG *et al.* (2002) produz, por hidrólise das ligações α -1,4, glicose e dextrose livres, o que liberaria as proteínas ligadas a extremidade da cadeia do amido, ajudando em sua extração pelo aumento da solubilidade. Esta α -amilase atua clivando de dentro para fora as ligações glicosídicas α -1,4 diminuindo o tamanho das cadeias

de carboidratos e com isso facilitando a ação da exoamilase (AMG 300L) a qual converteria mais facilmente estas em unidades de glicose. Sua característica principal é o fato de atuar em altas temperaturas, sendo seu ótimo entre 90 e 100 °C, para fins deste estudo, no entanto, fixou-se a temperatura do processo em 60 °C devido ao risco de provocar alterações indesejáveis na matéria-prima como a desnaturação protéica e a oxidação lipídica. O pH do meio foi mantido em 6,5 (pH normal do substrato sem adição de enzima) baseado nas características ótimas de atuação desta enzima relatadas na literatura (WHITTAKER, J.R., 1994, MARC J.E.C. *et al.*, 2002). O tempo de incubação foi aumentado para 60 minutos devido à redução na temperatura e a concentração enzimática estabelecida em 0,2%.

3.5.1 Determinação Química dos Experimentos para Teste de Ação Conjunta das Enzimas

Devido à dificuldade encontrada na solubilização das proteínas e lipídios do FAIP com a utilização de uma única enzima, resolveu-se testar a possibilidade de ação conjunta entre as enzimas selecionadas.

A Tabela 14 os resultados obtidos para as alíquotas analisadas em diferentes tempos de incubação.

TABELA 14. Composição porcentual dos extratos obtidos por tratamento com mistura de enzimas.

Tempo de Tratamento	Sólidos Solúveis	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
1h**	5,0	1,55	4,51	2,05
2h**	5,5	1,69	4,65	0,88
3h**	6,0	1,78	4,79	1,16

* Lipase, alcalase, amiloglicosidase, termamyl e celulase.

** n=2.

Os resultados mostram um aumento linear das concentrações de sólidos solúveis no meio até o tempo de 3 horas, tendo a alíquota retirada no prazo de 4 horas, apresentado um teor de 6,1% de sólidos solubilizados, momento onde se

encerrou o experimento separando as três primeiras alíquotas para análise de seus componentes.

Dentre as alíquotas analisadas para os tratamentos com o conjunto de enzimas selecionadas, a que permaneceu em processo de hidrólise por três horas, apresentando um teor de sólidos solúveis de 6,0%, mostrou uma maior solubilização das proteínas ($R=34,45\%$) e carboidratos do FAIP, tendo este último um rendimento vinculado à solubilização conjunta de carboidratos amiláceos e fibras pela ação tanto de uma amiloglicosidase quanto de uma celulase. Os lipídios, no entanto, apresentaram uma maior solubilização no tempo de 1 hora de processo, possivelmente pela maior formação de partículas coloidais, durante um tempo de hidrólise mais longo (MIHARA, S. 1970).

3.5.2 Determinação Química dos Experimentos para Teste de Ação Seqüencial das Enzimas

A segunda maneira pela qual se testou a viabilidade de uma hidrossolubilização dos componentes do FAIP foi através de uma ação seqüencial das enzimas selecionadas, buscando-se uma liberação gradual destes componentes em um meio aquoso.

Principiou-se a ação enzimática seqüencial com a adição das enzimas específicas para hidrólise dos componentes em maior concentração no FAIP 48 mesh (lipídios e fibras), sendo estes também, de acordo com os resultados individuais, os componentes mais resistentes à ação enzimática e os responsáveis pela forte agregação do farelo de arroz (NEBESNY *et al.*, 2002 e WANG *et al.*, 1999).

A Tabela 15 apresenta os resultados das análises realizadas a partir das alíquotas retiradas de acordo com a ordem de colocação das enzimas.

TABELA 15. Composição porcentual dos extratos obtidos por tratamento enzimático seqüencial.

Enzimas*	Sólidos Solúveis	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
L+C	5,9	2,14	2,99	1,46
L+C+A	8,3	4,19	3,08	3,07
L+C+A+T	8,9	3,57	3,53	2,10
L+C+A+T+AMG	11,5	3,90	4,94	1,90

* L=lipase; C=celulase; A=alcalase; T=termamyl (α -amilase); AMG=amiloglicosidade.

Os resultados apresentados na Tabela 15 mostram um aumento gradativo do teor de sólidos solúveis apresentado pela amostras, esta tendência, no entanto, não permanece em relação aos teores dos componentes isoladamente. As proteínas tiveram sua maior solubilização após a adição da alcalase, alcançando um rendimento de 81,10% em relação às proteínas totais presentes na amostra levada ao processo de hidrólise, tendo as alíquotas seguintes, apresentado valores menores de proteínas solúveis, provavelmente devido a desnaturação sofrida pelas alterações no meio reacional. Já os lipídios apresentaram sua solubilização máxima na alíquota retirada após a adição da alcalase (R=36,84%), os motivos para isso podem ser o pH do meio, o qual tem seu ótimo para esta enzima em 8,0 (TORALLES, R. P., 1998), diminuindo sua atividade em pHs menores como o utilizado para celulase (4,8), após a inativação da alcalase e com a adição seqüencial das amilases o pH foi novamente reduzido à faixa ácida, o que pode ter provocado a instabilidade da enzima e a formação de colóides (PADMINI, P. *et al.* 1994) os quais teriam ficado retidos na filtração. Os carboidratos por sua vez mostraram uma solubilização crescente em relação à adição das enzimas, sendo esta mais proeminente após a hidrólise com amiloglicosidase, porém o rendimento fica vinculado à ação tanto das amilases quanto da celulase, pois ambas possuem como um de seus produtos de degradação a glicose, mesmo monômero detectado pelo método do 3,5-DNS.

A Tabela 16 apresenta os resultados para as análises de caracterização realizadas dos extratos solúveis secos, onde se obteve um rendimento das frações solúveis, em base seca, entre 14 e 16%.

TABELA 16. Caracterização porcentual dos extratos solúveis obtidos por tratamento enzimático.

Componentes	FAIP 48 mesh*	Extrato Seco Sequencial*	Extrato seco da Mistura*
Proteínas	21,04	26,92	17,69
Lipídios	33,01	33,42	26,10
Cinzas	9,55	5,02	7,14
Umidade	11,58	8,06	9,11
Fibras Totais	27,67	4,44	8,03
Carboidratos	7,96	22,14	31,93

* Base seca.

Pode-se observar na Tabela 16 os melhores resultados obtidos com o processo de adição sequencial das enzimas em relação ao processo de ação conjunta, o que já era esperado devido à utilização de parâmetros médios para o processo e a possível interferência na atuação simultânea das enzimas. o qual corresponde a um rendimento de aproximadamente 75% das proteínas presentes na amostra, o que se mostra de acordo com os dados de literatura referente à ação conjunta de enzimas para solubilização e fracionamento das proteínas do farelo de arroz (TANG, S. *et al.*, 2002 e HAMMOND, N. A., 1994).

Os lipídios corresponderam a uma extração de 57,85% em relação ao total deste componente encontrado no FAIP 48 mesh, valor bastante superior ao máximo encontrado nas análises da alíquota líquida extraída (36,84%), isso provavelmente devido ao processo de filtração que não foi utilizado para a amostra levada a secagem. A extração dos lipídios provenientes do tratamento com mistura de enzimas teve um rendimento de 45,1%.

Nota-se também a redução importante no teor de cinzas dos extratos solúveis em comparação ao FAIP 48 mesh, o que reduz os problemas acarretados principalmente pelo teor de sílica na utilização destes extratos para alimentação humana. Os teores de fibras, outro problema para formulação de produtos alimentícios, foi grandemente reduzido, demonstrando a viabilidade do processo de fracionamento.

4 CONCLUSÃO

Os resultados experimentais nos levam as seguintes conclusões:

A hidrólise com amiloglicosidase (AMG 300L) a 1,5%, pH 4,0, 60°C e 180 minutos, permitiu obter extratos com 7,0% de sólidos solúveis com um rendimento de 86,82% de solubilização dos carboidratos presentes na amostra solúvel e 19,40% dos lipídios.

Com hidrólise utilizando protease (Alcalase 2.4L) a 1% com 360 minutos de incubação em pH 8,0 obteve-se uma extração de 6,8% dos sólidos solúveis, com rendimento de 68,7% das proteínas e 15,6% dos lipídios do FAIP.

A hidrólise com celulase (Celluclast 1.5L) alcançou uma concentração de sólidos solúveis de 3,9%, correspondente a um rendimento de 19,5% sobre o total de massa do substrato, tendo alcançado 15,22% de rendimento do total de fibras insolúveis, com 20,72% dos lipídios e 16,86% das proteínas totais da amostra.

A hidrólise com lipase pancreática em pH alcalino de 8,0, concentração de 0,06% do extrato enzimático preparado e 60 minutos, apresentou uma concentração de sólidos solúveis de 4,95, com rendimento de 23,71% de solubilização dos lipídios.

A ação conjunta destas das cinco enzimas selecionadas, após três horas de processo, mostrou uma solubilização das proteínas de 34,45% em relação ao total protéico do FAIP. A ação seqüencial das mesmas enzimas alcançou um rendimento protéico de 81,1% e de 36,8% dos lipídios.

As análises do extrato seco obtido por ação seqüencial de enzimas apresentaram um teor de 26,92% de proteínas e 33,42% de lipídios, com uma redução 47,4% do teor de cinzas e 84% do teor de fibras totais em relação ao FAIP 48 mesh.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-HAMID, A. & LUAN, Y. S. Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. **Food Chemistry**. v. 68, p. 15-19, 2000.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16^a ed. Washington, 2000.

AOE, S.; ODA, T.; TATSUMI, K.; YAMAUCHI, M. & AYANO, Y. Extraction of soluble dietary fibers from defatted rice bran. **Cereal Chemistry**. v. 70, n. 4, p. 423-425, 1993.

HAMADA, J. S.; SPANIER, A. M.; BLAND, J.M. & DIACK, M. Preparative separation of value-added peptides from rice bran proteins by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**. v. 827, p. 319-327, 1998.

HAMMOND, N. A. Method for stabilizing rice bran and rice bran products. United States Patent nº 5.512.307. 1994.

LEMOES, M. R. B. & SOUZA-SOARES, L. A. Arroz e seus produtos e subprodutos na região sul do Brasil. **Vetor**. v. 10, p. 21-36, 2000.

LLOYD, B. J.; SIEBENMORGEN, T. J. & BEERS, K. W. Effects of commercial processing on antioxidants in rice bran. **Cereal Chemistry**. v. 77, n. 5, p. 551-555, 2000.

MALEKIAM, F.; RAO, R. M.; PRINYAWIWATKUL, W.; MARSHALL, W. E.; WINDHAUSER, M. & AHMEDNA, M. Lipase e lipoxygenase activity, functionality, and nutrient losses in rice bran during storage. **LSU – Louisiana agricultural Experiment Station**. Janeiro, n.870, 2000.

MARC, J. E. C.; VAN DER VEEN, B.; JOOST, C. M. U. ; LEEMHUIS, H. & DIJKHUIZEN, L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. **Journal of Biotechnology**. v. 94, n. 2 , p. 137-155, 2002.

MIHARA S. Nakataki water process for separating rice bran components. **Chemical Economy & Engineering Review**. Setembro de 1970.

NEBESNY, E.; ROSICKA, J. & TKACZYK, M. Effect of enzymatic hydrolysis of wheat starch on amylose-lipid complexes stability. **Starch-Starke**. v. 54, n. 12, p. 603-608, 2002.

PADMINI, P.; RAKSHIT, S. K. & BARADARAJAN, A. Kinetics of enzymatic hydrolysis of rice bran oil in organic system. **Enzyme Microb. Technol.** v. 16, p. 432-435, 1994.

PANDOLFI, A. R. Óleo de farelo de arroz, uma velha-moderna tecnologia aplicada. **Óleos & grãos.** Novembro/dezembro, n.15, p. 32-35, 1993.

QURESHI, A. A.; SAMI, S.A. & KHAN, F.A. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus types I and II. **The Journal of Nutritional Biochemistry.** v. 13, p. 175-187, 2002.

RICHARD, H. Enzimologia e biocatálise. In: Scriban, ed. René. **Biotecnologia.** São Paulo. Ed Manole Ltda, 1985. p. 180-208.

SAUNDERS, R. M. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World.** v. 35, n. 7, p. 632-636, 1990.

SHIH, F. F.; CHAMPAGNE, E. T.; DAIGLE, K. & ZARINS, Z. Use of enzymes in the processing of protein products from rice bran and rice flour. **Nahrung.** v. 43, n. 1, p. 14-18, 1999.

SILVA, M. A.; SANCHES, C. & AMANTE, E. R. Farelo de arroz composição e propriedades. **Óleos & grãos.** Julho/agosto, 2001.

STRYER, L. Bioquímica. Editorial Reverté S.A. 1979. p. 397.

TANG, S.; HETTIARACHCHY, N. S.; SHELLHAMMER, T. H. Protein extraction from heat-stabilized defatted rice bran. 1. physical processing and enzyme treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v. 50, p. 7444-7448, 2002.

TORALLES R.P. Modelo experimental para a reação de lipólise com lipase pancreática. **Tese de Mestrado,** FURG, Rio Grande, RS, 1998.

VOET, D.; VOET, J.; PRATT, C. Fundamentos de Bioquímica. Editora artes Médicas, Porto Alegre, 2000. p. 294.

WANG, M.; HETTIARACHCHY, N. S.; QI, M.; BURKS, W. & SIEBENMORGEN, T. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. **Journal Agricultural Food Chemistry.** v. 47, p. 411-416, 1999.

WHITTAKER, J.R. **Principles of Enzymology for the Food Sciences.** Second edition, Ed. Marcel Dekker, New York, 1994. p. 389, 400-410.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSÃO GERAL

Os resultados apresentados neste trabalho mostram a viabilidade de obtenção de um extrato solúvel com alto teor protéico e lipídico por meio de um processo de fracionamento do farelo integral de arroz parboilizado com obtenção, o qual apresentou um teor de proteínas de 21,04%, com 33,01% de lipídios e 27,67% de fibras na fração selecionada com tamanho de partícula de 48 mesh (rendimento de 52%).

Os experimentos fatoriais realizados para um processo físico de extração dos componentes do FAIP mostram os parâmetros: Temperatura de 60°C, tempo de 180 minutos e pH de 8,0 como os mais indicados ao processo de solubilização por apresentaram melhor rendimento de extração dos sólidos solúveis, em relação ao teor de proteínas (rendimento de 41,70%) e lipídios (rendimento de 12,64%).

Os resultados experimentais para os tratamentos enzimáticos nos levam as seguintes conclusões:

Com a utilização da amiloglicosidase (AMG 300L) houve uma maior influência do pH do meio, alcançando-se uma extração de 7,0% de sólidos solúveis em pH de 4,0, com uma temperatura de 60°C e concentração enzimática de 1,5% por 180 minutos. A enzima solubilizou 86,82% dos carboidratos presentes na amostra solúvel e 19,40% dos lipídios.

O tratamento com protease (Alcalase 2.4L) obteve maior extração dos sólidos solúveis em pH alcalino de 8,0 com um tempo de incubação de 360 minutos, e uma concentração enzimática de 1%, alcançando uma extração de 6,8% dos sólidos solúveis, com um rendimento de 68,7% de extração das proteínas da amostra e 15,6% dos lipídios do FAIP.

Os tratamentos com celulase e lipase mostraram baixos rendimentos de extração dos sólidos solúveis, com uma concentração de 3,9% (15,22% de rendimento do total de fibras insolúveis) e 4,95 (23,71% de solubilização) respectivamente, considerando-se o alto teor destes componentes presentes no FAIP 48 mesh.

A ação conjunta destas enzimas após três horas de processo mostrou uma solubilização das proteínas de 34,45% em relação ao total protéico do FAIP. A ação seqüencial das mesmas enzimas alcançou um rendimento protéico de 81,1% e de 36,8% dos lipídios.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-HAMID, A. & LUAN, Y. S. Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. **Food Chemistry**. v. 68, p. 15-19, 2000.

AMATO, G. W. & SILVEIRA, F. S. Parboilização do arroz no Brasil. **Fundação de Ciência e Tecnologia – CIENTEC**, 1991.

AMATO, G. W.; CARVALHO, J. L. V. & SILVEIRA F^o, S. **Arroz parboilizado: Tecnologia limpa, produto nobre**. Ed. Ricardo Lewz, 2002.

ANDLAUER, W. & FÜRST, P. Does cereal reduce the risk of cancer? **Cereal Foods World**. v. 44, n.2, p. 76, 77, 1999.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível on-line em <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em 3 de novembro de 2003.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16^a ed. Washington, 2000.

AOCS – AMERICAN OIL CHEMIST SOCIETY. Official method Ca 6a-40, 1988.

AOE, S.; ODA, T.; TATSUMI, K.; YAMAUCHI, M. & AYANO, Y. Extraction of soluble dietary fibers from defatted rice bran. **Cereal Chemistry**. v. 70, n. 4, p. 423-425, 1993.

ASTIER, J. P.; BOISTELLE, R.; MOUREN, G. M.; DESSEAUX, V. & HASER, R. Solubility, phase transition, kinetic ripening and growth rates of porcine pancreatic α -amylase isoenzymes. **Journal of Crystal Growth**. v. 123, p. 109-120, 1992.

BARAJ, E. Interferência dos tricotecnos nos processos fermentativos. **Dissertação de Mestrado**. FURG, Rio Grande, RS, 2000.

BARBER, S. & C. BENEDITO DE BARBER. **Rice bran: Chemistry and technology**. In Rice: Production and Utilization. LUH, B.S. Ed. AVI Publishing Co., Westport, NY. pp 791. 1980.

BARNES, P. & T. GALLIARD. Rancidity in cereal products. **Lipid Technology**. v. 3, p. 23-28, 1991.

BEMMILLER, J. N. & WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3^a ed. Ed. Marcel Dekker, New York, 1069p, 1996.

CHAIR, D. G. Defining dietary fiber. **Cereal Foods World**. v. 44, n.2, pág. 74, 1999.

CHAMPAGNE, E. T.; RAO, R. M.; LIUZZO, J. A.; ROBINSON, J. W.; GALE, R. J. & MILLER, F. Solubility behaviors of the minerals, proteins and phytic acid in rice bran with time, temperature and pH. **Cereal Chemistry**. v. 62, n.3, p. 218-222, 1985.

CLAYE, S. S.; IDOURAINE, A. & WEBER, C. W. Extraction and fractionation of insoluble fiber from five fiber sources. **Food Chemistry**. v. 57. n.2, p. 305-310, 1996.

CÚNEO, F.; AMAYA-FARFÁN, J.; MONTOVANI, D. M. V. Dietas com farelo de arroz e incorporação do chumbo alimentar. **XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Rio de Janeiro, 1998.

DEFELICE, S. L. The time has come for nutraceutical cereals. **Cereal Foods World**. v. 40, n.2, p. 51, 52, 1995.

DULL, B. J. Stabilized rice bran extract for personal care products. **Nutracos**. Março/abril 2002, p. 23-26.

DUNN, G.A. A model for starch breakdown in higher plants. **Phytochemistry**. v. 13, p. 1341-1346, 1974.

EITENMILLER, R. R. Vitamin E Content of Fats and Oils: Nutritional Implications. **Food Technology**. v. 51, n. 5, p. 78-81, 1997.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível on-line em <http://www.cnpaf.embrapa.br/>. Acesso em 7 de novembro de 2005.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível on-line em <http://www.fao.org/>. Acesso em 15 de novembro de 2003.

FAO. 2001. **FAO statistical databases** - FAOSTAT. Disponível on-line em <http://apps.fao.org/>. Acesso em 11 de outubro de 2003.

GARCIA, T. D. α -amilase de *Bacillus subtilis* ATCC 601B: Produção e propriedades da enzima não purificada. **Tese de Doutorado**, UNICAMP, Campinas, SP, 1990.

GONÇALVES, A. A.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A. & SIERVS, S. T. Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. v. 48, n. 4, p.334-337, 1998.

GREENWOOD, C. T.; MacGREGOR, A. W. & ANN MILNE, E. T. The α -amylases from broad beans: purification and properties. **Archives of Biotechnology and Biophysics**. v. 112, p. 459-465, 1965.

HAMADA, J. S.; SPANIER, A. M.; BLAND, J.M. & DIACK, M. Preparative separation of value-added peptides from rice bran proteins by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**. v. 827, p. 319-327, 1998.

HAMADA, J. S. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization. **Cereal Chemistry**. v.74, n.5, p. 662-668, 1997.

HAMADA, J. S. Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exoproteases and endoproteases. **Journal of Food science**. v. 65, n.2, p. 117-121, 2000.

HAMMOND, N. A. Method for stabilizing rice bran and rice bran products. United States Patent nº 5.512.307. 1994.

HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, A. & MARTÍNEZ, C. Calidad de proteínas. Conceptos y evaluación. **Alimentaria**. n. 274, p. 27-37, 1996.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/>. Acesso em 15 de agosto de 2005.

IRRI – Internacional Rice Research Institute. Disponível em: <http://www.irri.org/>. Acesso em 19 de junho de 2003.

JAMES, C. & S. SLOAN. Functional properties of edible rice bran in model system. **Journal of Food Science**. v. 54, p. 143-146, 1994.

JAMES, J. & SIMPSON, B. K. Application of Enzymes in Food Processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. V.36, n. 5, p. 437-463, 1996.

KAHLON, T. S.; CHOW, F. I.; CHIU, M. M.; HUDSON, C. A. & SAYRE, R. N. Cholesterol-lowering by rice bran and rice bran oil unsaponifiable matter in hamsters. **Cereal Chemistry**. v. 73, n. 1, p. 69-74, 1996.

KAHLON, T. S. & CHOW, F. I. Lipidemic response of hamsters to rice bran, uncooked or processed white and brown rice, and processed corn starch. **Cereal Chemistry**. v. 77, n. 5, p. 673-678, 2000.

KENNEDY, G.; BURLINGAME B. & NGUYEN N. Nutrient impact assessment of rice in major rice-consuming countries. **FAO**, 1999. Disponível on-line em <http://www.fao.org/>. Acesso em 11 outubro de 2003.

KIM, H.; LEE, S.; PARK, K. & HONG, I. Characterization of extraction and separation of rice bran oil rich in EFA using SFE process. **Separation and Purification Technology**. v. 15, p. 1-8, 1999.

KOSMALA, I.; ANTONIEWICZ, A.; DE BOEVER, J. HVELPLUND, T. & KOWALCZYK, J. Use of enzymatic solubility with ficin (EC 3.4.22.3) to predict in situ feed protein degradability. **Animal Feed Science and Technology**. v. 59, p.245-254, 1996.

KURAKAKE, M.; TACHIBANA, Y.; MASAKI, K. & KOMAKI, T. Adsorption of *alpha*-amylase on heat-moisture treated starch. **Journal of Cereal Science**. v. 23, p. 163-168, 1996.

KURIKI, T. & IMANAKA, T. The concept of the α -amylase family: structural similarity and common catalytic mechanism. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 87, n. 5, p. 557-565, 1999.

LEMOS, M. R. B. & SOUZA-SOARES, L. A. Arroz e seus produtos e subprodutos na região sul do Brasil. **Vetor**. v. 10, p. 21-36, 2000.

LLOYD, B. J.; SIEBENMORGEN, T. J. & BEERS, K. W. Effects of commercial processing on antioxidants in rice bran. **Cereal Chemistry**. v. 77, n. 5, p. 551-555, 2000.

McCASKILL, D. R. & ZHANG, F. Use of rice bran oil in foods. **Food Technology**. v. 53, n. 2, p. 50-53, 1999.

MADAUSUDHAN, B. & THARANATHAN, R. M. Legume and cereal starch – why differences in digestibility? – Part II. Isolation and characterization of starches from rice (*O. sativa*) and ragi (finger millet, *E. coracana*). **Carbohydrate Polymers**. v. 28, p. 153-158, 1995.

MAES, C. & DELCOUR, J. A. Structural characterisation of water-extractable and water-unextractable arabinoxylans in wheat bran. **Journal of Cereal Science**. v. 35, p. 315-326, 2002.

MALEKIAM, F.; RAO, R. M.; PRINYAWIWATKUL, W.; MARSHALL, W. E.; WINDHAUSER, M. & AHMEDNA, M. Lipase e lipoxygenase activity, functionality, and

nutrient losses in rice bran during storage. **LSU – Louisiana agricultural Experiment Station**. Janeiro, n.870, 2000.

MANIÑGAT, C. C. & JULIANO, B. O. Composition of cell wall preparations of rice bran and germ. **Phytochemistry**. v. 21, n. 10, p. 2509-2516, 1982.

MANTHEY, F. A.; HARELAND, G. A. & HUSEBY, D. J. Soluble and insoluble dietary fiber content and composition in oat. **Cereal Chemistry**. v. 76, n. 3, p. 417-420, 1999.

MARC, J. E. C.; VAN DER VEEN, B.; JOOST, C. M. U. ; LEEMHUIS, H. & DIJKHUIZEN, L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. **Journal of Biotechnology**. v. 94, n. 2 , p. 137-155, 2002.

MARTIN, D.; GODBER, J. S.; SETLHAKO, TG.; VERMA, L. &WELLS, J. H. Optimizing rice bran stabilization by extrusion cooking. **La. Agricultura**. v. 36, n. 3, p. 13-15, 1993.

MARUTA, I.; KURAHASHI, Y.; TAKANO, R.; HAYASI, K.; YOSHINO, Z.; KOMAKI, T. & HARA, S. Reduced-pressurized heat-moisture treatment: a new method for heat-moisture treatment of starch. **Stärke**. v. 46, p. 177-181, 1994.

MIHARA S. Nakataki water process for separating rice bran components. **Chemical Economy & Engineering Review**. Setembro de 1970.

NEBESNY, E.; ROSICKA, J. & TKACZYK, M. Effect of enzymatic hydrolysis of wheat starch on amylose-lipid complexes stability. **Starch-Starke**. v. 54, n. 12, p. 603-608, 2002.

NICOLUSI, R. J.; ROGERS, E. J.; AUSMAN, L. M. & ORTHOEFER, F. T. Rice bran oil and its health benefits. In: **Rice Science and Technology**. W. E. MARSHALL & j. i. WADSWORTH, eds. Marcel Dekker: New York.

NITZKE, J. A. *et alli*. Avaliação da rancificação de farelo de arroz utilizado para consume humano – **XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Rio de Janeiro, 1998.

OHTSUBO, K. & RICHARDSON, M. The amino acid sequence of a 20 kDa bifunctional subtilisin/ α -amylase inhibitor from brain of rice (*Oryza sativa L.*) seeds. **Federation of European Biochemicol Societies**. v. 309, n. 1, p. 68-72, 1992.

OLSON, A.; G.M. GRAY & M. CHIU. Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. **Journal of Food Technology**. v. 41, n.2, p. 71-75, 1987.

ORTHOEFER, F. T. Rice bran oil: Healthy lipid source. **Food Technology**. v. 50, n. 12, p. 62-64, 1996.

PADMINI, P.; RAKSHIT, S. K. & BARADARAJAN, A. Kinetics of enzymatic hydrolysis of rice bran oil in organic system. **Enzyme Microb. Technol.** v. 16, p. 432-435, 1994.

PANDEY, A.; NIGAM, P.; SOCCOL, C. R.; SOCCOL, V. Y.; SINGH, D. & MOHAN, R. Advances in microbial amylases. **Biotech. Appl. Biochem.** v.31, p.135-152, 2000.

PANDOLFI, A. R. Óleo de farelo de arroz, uma velha-moderna tecnologia aplicada. **Óleos & grãos**. Novembro/dezembro, n.15, p. 32-35, 1993.

PAVEL, B.; KVASNICKA, F. & KUNDLER, E. Determination of acid phytic. **Journal Agricultural**. v. 43, p. 129-133, 1995.

PIRES, T.C.R. **Identificação e caracterização de enzimas amilolíticas de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)**. Dissertação de Mestrado. USP, São Paulo, 2002. p. 16-34.

PLANCHOT, V.; COLONNA, P.; GALLANT, P. & BOUCHET, B. Extensive degradation of native starch granules by *alpha*-amylase from *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Cereal Science*. v. 21, p. 163-171, 1995.

PORTO, A. G. Avaliação da qualidade de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) secas e armazenadas em silos metálicos. **Dissertação de Mestrado**. FURG, 2001.

PRAKASH, J. & RAMANATHAM, G. Proximate composition and protein quality of stabilized rice bran. **Journal of Food Science and Technology**. v.32, n. 5, p. 416-419, . 1995.

PSZCZOLA, D. E. Rice: Not just for throwing. **Food Technology**. v. 55, n. 2, p. 53-59, 2001.

QURESHI, A. A.; SAMI, S.A. & KHAN, F.A. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus types I and II. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 13, p. 175-187, 2002.

QURESHI, A. A.; SAMI, S.A.; SALSER, W. A. & KHAN, F.A. Synergistic effect of tocotrienol-rich fraction (TRF₂₅) of rice bran and lovastatin on lipid parameters in hypercholesterolemic humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 12, p. 318-329, 2001.

QURESHI, A. A.; BRADLOW, B. A.; SALSER, W. A. & BRACE, L. D. Novel tocotrienols of rice bran modulate cardiovascular disease risk parameters of hypercholesterolemic humans. **Nutritional Biochemistry**. v. 8, p. 290-298, 1997.

RANHOTRA, G. S.; GELROTH, J. A. & GLASER, B. K. Effect of resistant starch on blood and liver lipids in hamsters. **Cereal Chemistry**. v. 73, n. 2, p. 176-178, 1996.

RICHARD, H. Enzimologia e biocatálise. In: Scriban, ed. René. **Biotecnologia**. São Paulo. Ed Manole Ltda, 1985. p. 180-208.

RICHARDSON, T. & D.B. HYSLOP. Enzymes. In Food Chemistry. **Fennema**, O.R. Ed. Marcel Dekker Inc., New York 2^a ed. p 447, 1985.

ROBYT, J. F. Enzymes in the hidrolisis and synthesis of starch. In: **Starch**. Chapter IV. Second edition, New York: Academic Press, 1984. p. 84-108.

ROZIE, H.; SOMERS, W.; RIET, K. V.; ROMBOUTS, F. M. & VISSER, J. Crosslinked potato starch as an affinity adsorbent for bacterial α -amylase. **Carbohydrate Polymers**. v. 15, p. 349-365, 1991.

RUTZ, F. Aditivos na alimentação animal. Apostila, Curso de Pós-graduação em Zootecnia. UFPel, 1995.

SAUNDERS, R. M. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World**. v. 35, n. 7, p. 632-636, 1990.

SEETHARAMAIAH, G. S. & CHANDRASEKHARA, N. Comparative hypocholesterolemic activities of oryzanol, curcumin and ferulic acids in rats. **Journal of Food Science and Tecnology**. v.45, p. 249-252, 1993.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradação e modificação**. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

SHIH, F. F.; CHAMPAGNE, E. T.; DAIGLE, K. & ZARINS, Z. Use of enzymes in the processing of protein products from rice bran and rice flour. **Nahrung**. v. 43, n. 1, p. 14-18, 1999.

SILVA, M. A.; SANCHES, C. & AMANTE, E. R. Farelo de arroz composição e propriedades. **Óleos & grãos**. Julho/agosto, 2001.

SWIFT, H. J.; BRADY, L. & DEREWENDA, Z. S. Strucure and molecular model refinement of *Aspergillus orizae* (TAKA) α -amylase: an application of the simulated

annealing method. Disponível em: <http://www.rcsb.gov/>. Acesso em 13 de novembro de 2003.

SUCKING, C. J. Enzyme Chemistry: Impact and applications. 2ª ed., Ed. Chapman and Hall, 1990, 383p.

TAHAKA, T. & SMITH, S. M. The functions of 4- α -glucanotransferases and their use for the production of cyclic glucans. **Biotechnology Genetic Engineering Review**. v. 16, p. 257-280, 1999.

TAKANO, K. Mechanism of lipid hydrolysis in rice bran. **Cereal Foods World**. v. 38, n. 9, p. 695-698, 1993.

TANG, S.; HETTIARACHCHY, N. S.; SHELLHAMMER, T. H. Protein extraction from heat-stabilized defatted rice bran. 1. physical processing and enzyme treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 7444-7448, 2002.

TAO & JIAXUN. Method of stabilization of rice bran by acid treatment and composition of the same. **U. S. Patent nº 6.245.377**. Junho, 2001.

TAO, J. Rice bran stabilization by improved internal and external heating methods. **Ph.D. Dissertation**. Louisiana State University, Baton Rouge, 1989.

TAVARES, A. F. S. Polimento, composição e propriedades funcionais de grãos de arroz (*oryza sativa* L.). **Dissertação de Mestrado**. UFPel, 1996.

TAYLOR, J. B.; RICHER; WILHELM; CAROLYN, L.; CHRYSAM; MICHAEL, M.; OTTERBURN; MICHAEL; LEVEILLE; GILBERT, A. Rice bran oil antioxidant. **U. S. Patent nº 5.552.167**. Setembro, 1996.

TESTER, R.F. & SOMMERVILLE, M.D. Swelling and enzymatic hydrolysis of starch in low water systems. **Journal of Cereal Science**. v. 33, p. 193-203, 2001.

THE BRITISH NUTRITION FOUNDATION. Chemistry of complex carbohydrates and their organization in food. In: Complex carbohydrates in food. The report of the British Nutrition Foundation's task force. Published by Chapman And Hall. St. Ives, 1990, p. 3-8.

TOMEIO, A.C., M. GELLER, T.R. WATKINS, A. GAPOR AND M.L. BIERENBAUM. 1995. Antioxidant Effects of Tocotrienols in Patients with Hyperlipidemia and Carotid Stenosis. **Lipids**. v. 30, n. 12, p. 1179-1183, 1995.

TORALLES R.P. Modelo experimental para a reação de lipólise com lipase pancreática. **Tese de Mestrado**, FURG, Rio Grande, RS, 1998.

TORIN, H. R. Utilização do farelo de arroz industrial: Composição e valor nitrificante em dietas recuperativas. **Dissertação de Mestrado**. UNICAMP: FEA, 1991.

UFRGS- ICTA - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos. UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/icta/>. Acesso em 07 de outubro de 2003.

UNITED NATIONS. Rice Bran: Na Under-utilized Raw Material. United Nations Industrial Development Organization. New York, 1985.

XU, Z. & GODBER, J. S. Purification and identification of components of γ -Oryzanol in rice bran oil. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 47, p. 2724-2728, 1999.

YAMAGISHI, T.; TSUBOI, T. & KIKUCHI, K. Potent natural immunomodulator, rice water-soluble polysaccharide fractions with anticomplementary activity. **Cereal Chemistry**. v. 80, n.1, p. 5-8, 2003.

WANG, M.; HETTIARACHCHY, N. S.; QI, M.; BURKS, W. & SIEBENMORGEN, T. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 47, p. 411-416, 1999.

WHITTAKER, J.R. **Principles of Enzymology for the Food Sciences**. Second edition, Ed. Marcel Dekker, New York, 1994. p. 389, 400-410.

WHITAKER, J. R. Enzymes: monitors of food stability and quality. **Trends in Food Science & Technology**. 1991, abril.

WILSON, D. Nutraceuticals: A natural choice for grain-based products. **Cereal Foods World**. v. 43, n. 9, p. 718,719, 1998.

WONG, D. W. S. Mechanism and theory in food chemistry. Ed. Van Nostrand. New York, 1989, 428 p.