



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PROCESSO ENZIMÁTICO DE LIQUEFAÇÃO E SACARIFICAÇÃO DA
FARINHA DE GRÃOS DO ARROZ CULTIVAR BRS-AG**

AMANDA FERREIRA SCHOLANT

RIO GRANDE – RS
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PROCESSO ENZIMÁTICO DE LIQUEFAÇÃO E SACARIFICAÇÃO DA
FARINHA DE GRÃOS DO ARROZ CULTIVAR BRS-AG**

AMANDA FERREIRA SCHOLANT

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Walter Augusto Ruiz

RIO GRANDE – RS
2020

Ficha Catalográfica

S368p Scholant, Amanda Ferreira.

Processo enzimático de liquefação e sacarificação da farinha de grãos do arroz cultivar BRS-AG / Amanda Ferreira Scholant. – 2020.
66 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Rio Grande/RS, 2020.

Orientador: Dr. Walter Augusto Ruiz.

1. Açúcares Redutores 2. Amido 3. Hidrólise Enzimática I. Ruiz, Walter Augusto II. Título.

CDU 66.0

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Amanda Ferreira Scholant ao Programa de Pós graduação em Engenharia Química e aprovada em 25 de setembro de 2020, pela Comissão Examinadora constituída por:



Dr. Walter Augusto Ruiz - FURG



Dra. Christiane Saraiva Ogrodowski - FURG



Dra. Taiana Denardi de Souza - FURG



Dr. Alexandre Denes Arruda - UNIPAMPA

“Tudo o que for negativo- a
pressão, os desafios – é uma
oportunidade pra eu crescer” –
Kobe Bryant

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado forças para superar os obstáculos, imprevistos e todas as adversidades presentes ao longo deste trabalho.

Aos meus pais, Dorival e Fátima, pelo exemplo de vida, compreensão, paciência, dedicação e incentivo para a minha formação profissional e pessoal.

Aos meus avós Orvandil e Maria Edenir, Seroá e Napoleão por sempre me apoiarem das suas maneiras.

A minha irmã Joice pela amizade e apoio, a quem eu amo muito.

Ao meu namorado Leonardo, pelo incentivo, amizade, apoio em todos os momentos e companheirismo incondicional.

A minha saúde mental que foi testada de todas as formas até o último segundo de conclusão desse trabalho.

Aos meus sogros Ana Lúcia e Elcio por sempre me ajudarem e me tratarem como uma filha.

Ao meu orientador Prof. Dr. Walter Augusto Ruiz pelos ensinamentos e apoio durante toda a realização deste trabalho.

A minha amiga Taiana Denardi, pela qual eu tenho imensa admiração pela sua humildade e sabedoria, e que sempre se fez presente em todos os momentos deste trabalho, me ajudando, dando apoio e incentivo.

A todos meus colegas do Laboratório de Controle ambiental e de Processos Químicos e Biotecnológicos, especialmente a Prof. Dr. Christiane Ogradowski que me abriu as portas do Laboratório, sendo sempre muito atenciosa.

As minhas colegas e amigas Manoela Scalco, Márcia Moreira e Michele Colemberg pela amizade, apoio, risadas e desabafos durante todo o período da pós-graduação.

À Técnica Lorena por toda ajuda, apoio e contribuições.

À CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e torceram por mim.

RESUMO

A economia da metade sul do Rio Grande do Sul é pautada principalmente na atividade agropecuária. Com uma área de 1,1 milhão de hectares dedicadas ao cultivo de arroz, a região contribui com aproximadamente 65 % da demanda nacional deste cereal. Ante esse cenário, surgiu a linhagem de arroz BRS AG que foi incorporada nos programas de melhoramento genético da EMBRAPA. Devido a alta porcentagem em amido, esse grão pode tornar-se uma boa alternativa para a produção de xaropes açucarados. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo propor um sistema enzimático de liquefação e sacarificação do amido presente na farinha de arroz do cultivar BRS-AG para a obtenção de um extrato de xarope açucarado. Os grãos foram convertidos em farinha e determinada a composição centesimal e perfil granulométrico. As enzimas, α -amilase fúngica e amiloglicosidase (AMG), foram caracterizadas pela atividade enzimática. Mediante microscopia eletrônica de varredura foi possível obter imagens dos grânulos do amido. Para definir a melhor condição da liquefação do amido foi adotado um planejamento fatorial tendo como variáveis independentes a relação sólido/líquido, a temperatura e a variável dependente, o teor de açúcares redutores. A etapa da sacarificação, conforme recomendação de outros autores, foi realizada em 30min a 55°C e com concentração enzimática de 4480,2 U.mL⁻¹. O diâmetro médio de Sauter foi de 0,43 mm. Esta matéria-prima apresenta 8,31% de proteínas, 4,68%, de lipídeos, 77,91% de amido, 25,20% de amilose e 52,80% de amilopectina respectivamente. O ponto de gelatinização foi atingido a 80°C em 6min. Na etapa de liquefação a maior concentração de açúcares redutores, expressos como teor de glicose (9,95 μ moles.mL⁻¹) foi obtida com uma relação sólido/líquido de 1/20, concentração enzimática de 2U.mL⁻¹, 30min de hidrólise a 60°C. Na etapa de sacarificação, com a AMG, foi obtido um teor de 11,35 μ moles.mL⁻¹ em 30min de hidrólise a 55°C, e 0,171mL de solução enzimática (4480,2U). Houve um acréscimo de 14% na concentração de açúcares na sacarificação e 86% da conversão total do amido, nessas condições o rendimento total da hidrólise foi 4,6%. A separação cromatográfica por HPLC evidenciou a maior concentração de glicose; assim, a cultivar BRS AG apresenta um potencial importante para a obtenção de hidrolisados enzimático com alto teor de açúcares redutores.

Palavras chaves: Açúcares redutores, amido, hidrólise enzimática.

ABSTRACT

The economy of the southern half of Rio Grande do Sul is based mainly on agricultural activity. With an area of 1.1 million hectares dedicated to rice cultivation, one region contributes approximately 65% of the national demand for this cereal. Against this backdrop, the BRS AG rice strain emerged and was incorporated into EMBRAPA's genetic improvement programs. Due to the high percentage of starch, this grain can become a good alternative for the production of sugary syrups. Therefore, this work aims to propose an enzymatic system of liquefaction and saccharification of the starch present in rice flour of the cultivar BRS-AG to obtain a sugar syrup extract. The grains were converted into flour and a proximate composition and granulometric profile were provided. The enzymes, fungal α -amylase and amyloglycosidase (AMG), were characterized by enzymatic activity. Through scanning electron microscopy it was possible to obtain images of the starch granules. To define the best condition for starch liquefaction, a factorial design was adopted, having the solid / liquid ratio, temperature and dependent variable, the reducing sugar content as independent variables. The saccharification step, as recommended by other authors, was carried out in 30 minutes at 55 ° C and with an enzymatic concentration of 4480.2 U.mL⁻¹. Sauter's average diameter was 0.43 mm. This raw material has 8.31% of proteins, 4.68% of lipids, 77, 91% of starch, 25.20% of amylose and 52.80% of amylopectin respectively. The gelatinization point was reached at 80 ° C in 6 minutes. In the liquefaction stage, the highest concentration of reducing sugars, expressed as glucose content (9.95 μ moles.mL⁻¹) was obtained with a solid / liquid ratio of 1/20, enzymatic concentration of 2 U.mL⁻¹, 30min of hydrolysis at 60° C. In the saccharification step, with AMG, a content of 11.35 μ moles.mL⁻¹ was obtained in 30 minutes of hydrolysis at 55 ° C, and 0.171 ml of enzymatic solution (4480.2U). There was an increase of 14% in the concentration of sugars in saccharification and 86% of the total conversion of starch, under these conditions the total yield of hydrolysis was 4.6%. The chromatographic separation by HPLC showed the highest concentration of glucose; thus, the cultivar BRS AG has an important potential for obtaining enzymatic hydrolysates with a high content of reducing sugars.

Key words: Reducing sugars, starch, enzymatic hydrolysis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características do cultivar de arroz BRS AG.	17
Tabela 2: Composição química de três principais matérias-primas amiláceas.	19
Tabela 3: Estrutura e conteúdo de amilose de amidos provenientes de diversos cereais.	20
Tabela 4: Amilose e amilopectina em diferentes tipos de amido.	21
Tabela 5: Características das enzimas envolvidas na hidrólise do amido.	29
Tabela 6: Procedimento para a curva padrão de glicose.	37
Tabela 7: Matriz do planejamento composto central 2^3 para α - amilase.	39
Tabela 8: Distribuição granulométrica da farinha do cultivar de arroz BRS AG.	42
Tabela 9: Composição proximal do arroz BRS AG.	43
Tabela 10: Viscoamilograma da farinha de arroz do cultivar BRS AG.	48
Tabela 11: Caracterização das enzimas.	49
Tabela 12: Planejamento para o cultivar de arroz BRS AG com a resposta em açúcares reductores.	50
Tabela 13: Estimativa dos efeitos para AR ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$) no planejamento 2^3	51
Tabela 14: ANOVA para enzima α - amilase.	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tamanho dos grãos do cultivar BRS AG (direita) em comparação ao tamanho dos grãos convencionais do tipo agulhinha (esquerda).	17
Figura 2: Corte transversal do grão de arroz.	18
Figura 3: Representação esquematizada da amilose e amilopectina.	21
Figura 4: Micrografia eletrônica de varredura do granulo de amido do arroz.....	22
Figura 5: MEV do granulo de amido de arroz pós ataque enzimático.	23
Figura 6: Curva de viscosidade típica do RVA, mostrando os parâmetros comumente avaliados.	25
Figura 7: Características de quebra das ligações enzimáticas envolvidas na hidrólise do amido.	28
Figura 8: Fluxograma operacional da hidrólise do amido de arroz do cultivar BRS AG.	31
Figura 9: Esquema do equipamento de hidrólise enzimática.	38
Figura 10: Perfil granulométrico da farinha do cultivar de arroz BRS AG.....	41
Figura 11: Cultivar de arroz BRS AG após moagem.	42
Figura 12: Curva analítica de glicose e maltose.	45
Figura 13: Espectro EDS do cultivar de arroz BRS AG.	45
Figura 14: MEV do cultivar de arroz BRS AG em diferentes magnificações. Magnificações: a) 43 X correspondente a tamanho de partícula de 500 μ m ; b) 400 X correspondente a tamanho de partícula de 50 μ m ; c) 1500 X correspondente a tamanho de partícula de 10 μ m; d) 6000 X correspondente a tamanho de partícula de 2 μ m.	46
Figura 15: Curva viscoamilográfica da farinha de arroz BRS AG.	47
Figura 16: Superfície de resposta para AR (a) e curva de contorno (b) em função da temperatura e da relação sólido/líquido para o cultivar BRS AG.	53
Figura 17: Cromatograma de separação de glicose e maltose.	55

LISTA DE SIGLAS

DCH	Desqualificado para consumo humano
DSC.....	Differential Scanning Calorimetry
RVA.....	Rapid Visco-Analyser
AR.....	Açúcares redutores
EDS.....	Microsonda de energia dispersiva
MEV.....	Microscopia eletrônica de varredura

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 ARROZ, CULTIVAR BRS-AG	16
3.2 COMPOSIÇÃO DO GRÃO DE ARROZ	18
3.3 AMIDO.....	19
3.3.1 Amido de arroz.....	22
3.4 GELATINIZAÇÃO DO AMIDO.....	24
3.5 HIDRÓLISE QUÍMICA DO AMIDO	26
3.6 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO AMIDO	27
3.7 LIQUEFAÇÃO	29
3.8 SACARIFICAÇÃO.....	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 MATÉRIA-PRIMA E ENZIMAS	32
4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DO ARROZ	32
4.2.1 Moagem	32
4.2.2 Perfil granulométrico	32
4.2.3 Composição proximal	32
4.2.3.1 Determinação de umidade	33
4.2.3.2 Determinação do teor de lipídeos	33
4.2.3.3 Determinação do teor de proteínas	33
4.2.3.4 Determinação do teor de cinzas.....	34

4.2.3.5 Determinação do teor de carboidratos	34
4.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMIDO	34
4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMILOSE	35
4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)	35
4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS ENZIMAS	35
4.6.1 Determinação do teor de proteínas	35
4.6.2 Determinação da atividade enzimática	36
4.7 CURVAS PADRÕES DE GLICOSE E MALTOSE.....	36
4.8 PRÉ-TRATAMENTO DO ARROZ PARA A HIDRÓLISE	37
4.8.1 Extração de lipídeos.....	37
4.8.2 Gelatinização	37
4.9 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS GRÃOS DE ARROZ.....	38
4.9.1 Planejamento experimental para liquefação.....	38
4.9.2 Etapa de sacarificação.....	39
4.10 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE	39
4.11 DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA.....	40
4.12 TRATAMENTO DOS DADOS	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 PERFIL GRANULOMÉTRICO.....	41
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	43
5.3 CURVAS ANALÍTICAS DE GLICOSE E MALTOSE	44
5.4 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO (EDS) DE PARTICULAS DA MATÉRIA-PRIMA	45
5.5 IMAGENS MEV DOS GRÂNULOS DE AMIDO	46
5.6 PERFIL VISCOAMILOGRÁFICO DA MATÉRIA-PRIMA	47
5.7 CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA.....	49

5.8 LIQUEFAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA COM α – AMILASE FÚNGICA.....	50
5.9 SACARIFICAÇÃO COM AMG	53
5.10 RENDIMENTO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA.....	53
5.11 IDENTIFICAÇÃO DOS AÇÚCARES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA.....	54
6 CONCLUSÕES.....	57
7 SUGESTAO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	58
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1 INTRODUÇÃO

A economia da metade sul do Rio Grande do Sul é baseada principalmente na agropecuária sendo a produção de arroz irrigado, produção de carne ovina e bovina as de maior importância econômica do estado, contribuindo com mais de 65% da demanda nacional. A área cultivada é de 1,1 milhão de hectares, entretanto, há um potencial de 3,5 milhões de hectares para incrementar esse cultivo. Esse cenário motivou a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA, através do programa de melhoramento genético, desenvolver novas linhagens, ou cultivares de arroz irrigado, como a BRS-AG (JÚNIOR, 2015; JUNIOR et al, 2016).

A cultivar de arroz BRS AG não compete com os grãos de arroz para a alimentação, considerado desqualificado para consumo humano. Isto por que, a sua qualidade durante o cozimento não é adaptada culturalmente no Brasil. Esse grão tem sido utilizado para a produção de álcool, e devido sua alta porcentagem em amido e por ser uma alternativa às matérias primas amilaseas já existentes, pode ser utilizado na produção de xaropes açucarados (JÚNIOR, 2015; JUNIOR et al, 2016). O processo de produção de xaropes açucarados pode ser realizado através de hidrólises ácidas ou enzimáticas. A hidrólise enzimática é realizada pela gelatinização, intumescimento do grão de amido com água sob o efeito de temperatura e tempo, seguido da liquefação pela ação de α -amilases, e na sequência a sacarificação que atua na presença de enzimas desramificantes (SUN et al., 2015).

A liquefação seguida da sacarificação, são etapas imprescindíveis para a produção de xaropes açucarados. A liquefação, se refere a ação da enzima α -amilase e tem como objetivo a transformação do amido em dextrinas, resultando na pasta de amido-água em uma suspensão com queda brusca de sua viscosidade. A sacarificação é a etapa de transformação dos hidrolisados da liquefação, principalmente em açúcares de baixa massa molecular. (REGULY, 1996).

A hidrólise enzimática apresenta vantagens e desvantagens frente a hidrólise ácida. Entre as vantagens estão o fácil manuseio, estabilidade operacional, alto grau de hidrólise, xaropes com propriedades químicas e físicas bem definidas, reações mais brandas que resultam em menos reações secundárias e menor escurecimento do produto final. A principal desvantagem da hidrólise enzimática é o elevado custo das enzimas comerciais, logo deve-se analisar individualmente a necessidade de cada processo para a utilização da hidrólise mais conveniente (TORABIZADEH, 2019).

Extratos açucarados são de interesse comercial, portanto o desenvolvimento de uma tecnologia enzimática para sua obtenção é uma alternativa importante para a viabilidade técnica da obtenção desses produtos. O arroz, linhagem BRS-AG, como matéria-prima para a obtenção desses produtos apresenta características muito favoráveis para o desenvolvimento de um processo enzimático. Este cenário justifica a implementação de um processo enzimático utilizando a BRS-AG devido a suas vantagens demonstrada frente a processos químicos tradicionais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Propor um sistema enzimático de liquefação e sacarificação do amido presente na farinha de arroz do cultivar BRS-AG para a obtenção de um extrato de xarope açucarado.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Caracterizar físico-quimicamente a farinha de arroz do cultivar BRS AG;
- Caracterizar quimicamente o amido presente na farinha de arroz do BRS AG;
- Caracterizar as enzimas α -amilase e Amiloglicosidade (AMG);
- Realizar com o auxílio de um planejamento experimental, a otimização do processo de obtenção de extrato de açúcares para a etapa de liquefação;
- Propor procedimento para a obtenção de um extrato açucarado.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ARROZ, CULTIVAR BRS-AG

O arroz (*Oryza sativa*) é o cereal mais cultivado no mundo e o Brasil é um dos maiores produtores de arroz, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior em produção com um rendimento de 7,5 ton/ha, acima da média brasileira que é de 4,5ton/ha (EMBRAPA,2019).

Além de ser base alimentar para milhões de brasileiros, o arroz tem importância econômica e social devido a sua grande produção gerar valores bastante lucrativos. A cultura de plantio de arroz permite a plantação em pequenas e grandes áreas, desta forma, gerando renda, empregos e conseqüentemente o aumento da economia (SOSBAI, 2014).

O cultivar de arroz BRS AG, é um cultivar presente nos programas de melhoria de cultivares de arroz da Embrapa-RS, isto devido ao seu imenso potencial na utilização para o uso na ração animal. Essa linhagem apresenta grãos maiores que os convencionais (ex: arroz agulhinha), porém sua relação de amilose-amilopectina acaba resultando em um arroz de qualidade menor na etapa de cozimento, tornando o grão empapado e acabando por ser classificado como (“Desqualificado para consumo humano”), isto deu-se também, devido a preferência nacional, que é um grão do tipo longo e fino, vítreo e solto após o cozimento, logo, então desta forma ele foi mantido no programa como fonte de variabilidade genética. Sua origem genética é provinda do cultivar americano Gulfmont de arroz irrigado e da linhagem SLG1, de origem japonesa, realizada na safra de 1995/1996. As primeiras sementes foram colhidas e armazenadas para plantio na safra de 1995/1996, após serem semeadas e ao atingirem 20cm de altura, foram transportadas para o campo experimental da Embrapa Estação de Terras Baixas de Clima Temperado, onde foi realizada uma maior produção das sementes e com isso o surgimento e melhoramento do cultivar BRS AG (JÚNIOR, 2015; JÚNIOR et al 2016). A Tabela 1 descreve algumas características importantes deste cultivar.

Tabela 1: Características do cultivar de arroz BRS AG.

Características (mm)	BRS AG
Largura do grão*	3,64
Comprimento do grão*	7,82
Espessura do grão*	2,60

* Pode ser alterado dependendo das características do ambiente de cultivo

Fonte: Júnior et al (2016).

A linhagem do cultivar de arroz BRS AG, além de apresentar grãos maiores que os convencionais (Figura 1) é bastante farináceo, esses motivos tornam esse cultivar também uma excelente opção de matéria-prima para a produção de etanol, e produção de açúcares pelo seu alto teor em amido. Sua época de semeadura deve seguir o Zoneamento Agrícola para a cultura do arroz irrigado no Rio Grande do Sul, e a colheita do grão deve ser realizada quando sua umidade estiver entre 23% e 18%. Em comparação ao grão de arroz convencional, a linhagem BRS AG apresenta uma maior produtividade, no qual pode ultrapassar o valor de 12ton/há, isto devido ao seu peso e comprimento ser maior do que os demais, ocasionando um maior número de grãos por panícula. Além disso, a massa média do seu grão é 52g, enquanto na maioria dos cultivares fica em torno de 25,6g. As plantas deste cultivar apresentam aproximadamente 126 dias de ciclo biológico, ou seja da sua emergência até a sua maturidade. A média da altura da planta do cultivar BRS AG constitui cerca de 110cm de altura e sua espessura chega em torno de 5,5mm, isto lhe oferece apesar da altura, colmos fortes e resistentes e suas folhas são peludas e classificadas como decumbentes (JÚNIOR, 2015; JÚNIOR et al, 2016).

Figura 1: Tamanho dos grãos do cultivar BRS AG (direita) em comparação ao tamanho dos grãos convencionais do tipo agulhinha (esquerda).

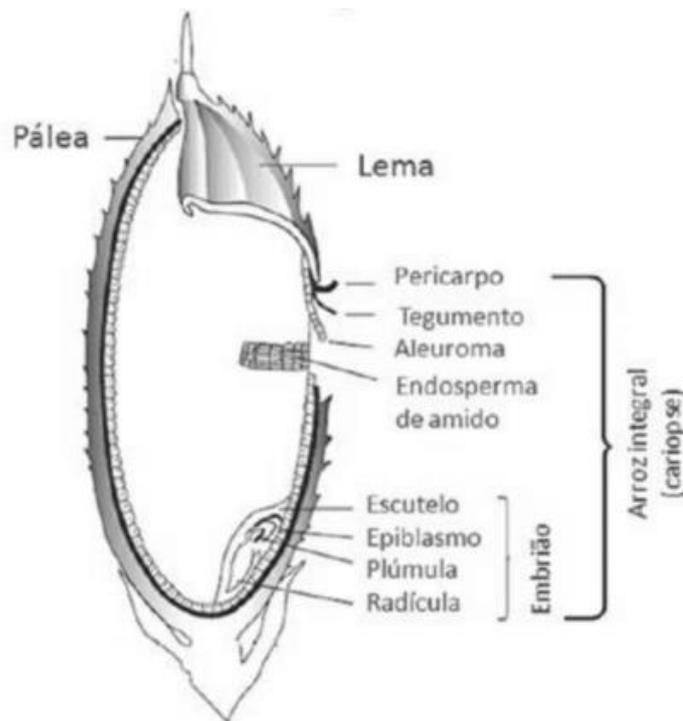


Fonte: Embrapa (2014).

3.2 COMPOSIÇÃO DO GRÃO DE ARROZ

Os principais constituintes do grão de arroz estão demonstrados na Figura 2 e são: pericarpo, tegumento, pálea, camada aleunora, gérmen, endosperma e casca. A casca do grão de arroz constitui cerca de 15 a 30% da sua massa, essa variação no percentual depende de fatores como a variedade do grão, localização geográfica de plantio, estações do ano e temperatura. O pericarpo é composto pelas camadas que envolvem o endosperma, ele constitui cerca de 5 a 7% da massa do grão, já a camada aleurona é formada pela parte externa do endosperma e é composta de camadas que também variam dependendo da origem do grão de arroz e fatores ambientais (WEBER, 2012).

Figura 2: Corte transversal do grão de arroz.



Fonte: Maclean et al. (2002).

A composição do grão de arroz é um fator determinante para a sua viabilidade de produção em diversos produtos. A Tabela 2 apresenta a composição proximal de algumas matérias-primas ricas em amido, em comparação a composição proximal de arroz, ambas

matérias-primas também podem ser utilizadas para a produção de xaropes açucarados (glicose, maltose e maltotriose) (WALTER et al, 2008).

Tabela 2: Composição química de três principais matérias-primas amiláceas.

Componente	Milho^a (%)	Mandioca^b (%)	Arroz^c *(%)
Amido	72	18-32	74,1
Umidade	-	65	-
Lipídeos	4	0,2	2,5
Cinzas	-	0,9-1	1,1
Fibra bruta	9,40	1,1	11,7
Proteína	8,82	1	10,4

*- Valores referentes ao arroz integral

Fonte: a – Langer (2012) ; b – Okudoh et al. (2014) e c – Walter et al.(2008)

3.3 AMIDO

O amido é um polissacarídeo encontrado basicamente nos vegetais e vastamente utilizado pelas indústrias alimentícias, de bens de consumo, química, farmacêutica, papelaria, de construção civil, têxtil e petrolífera (LEONEL, 2011). É uma matéria-prima abundante, biodegradável, não tóxica e renovável, o amido de forma geral, pode ser extraído com alta pureza através de processos industriais simples, além de ser facilmente convertido em diversas substâncias por processos químicos e bioquímicos. Há uma ampla representatividade do amido na nutrição humana, sendo ele o responsável por cerca de 70% da energia consumida. Do ponto de vista comercial a extração do amido dá-se por duas fontes, que são elas: cereais, como milho, arroz e trigo e de tubérculos, como a mandioca e a batata (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2015).

A forma dos grânulos de amido pode ser característica de um gênero e espécie, logo a morfologia dos grânulos de amido varia com o genótipo da planta e práticas culturais, mas também depende da bioquímica e da fisiologia da planta (ZHOU, 2013). O tamanho dos grânulos difere consideravelmente entre os amidos e varia de 1 a 110 µm (Hoover, 2001). Na Tabela 3 observa-se as diferentes formas e tamanhos do amido conforme diferentes cereais.

Tabela 3: Estrutura e conteúdo de amilose de amidos provenientes de diversos cereais.

Fonte	Forma do grânulo	Tamanho ou diâmetro do grânulo (nm)	Conteúdo de amilose (%)
Trigo	Lenticular ou redondo	20-25	22
Milho	Redondo ou poliédrico	15	28
Milho ceroso	Redondo	15 (5-15)	1
Cevada	Redondo ou elíptico	20-25	22
Arroz	Poliédrico	3-8	17-23
Aveia	Poliédrico	3-10	23-24

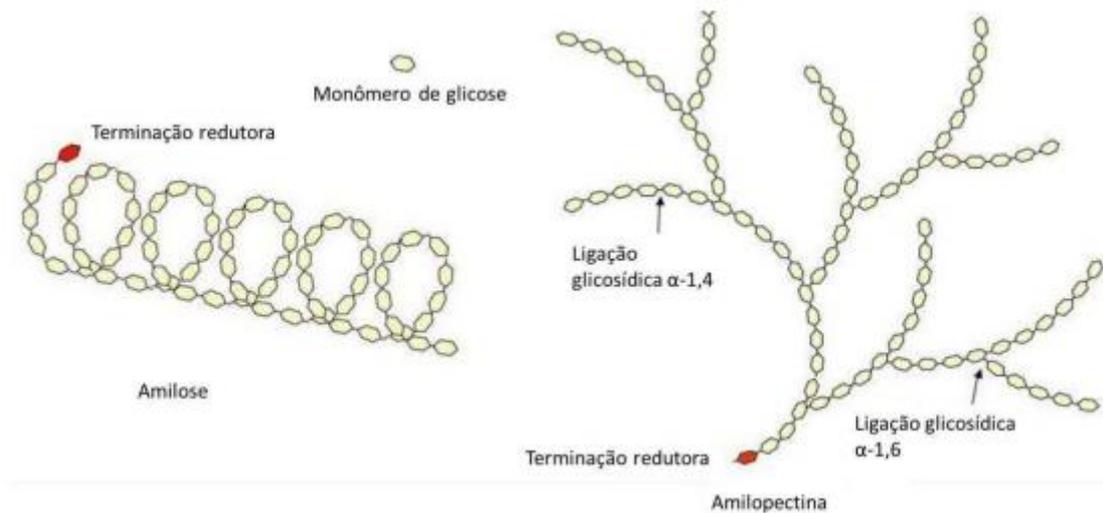
Fonte: Zhou et al. (2013).

O amido é composto de amilose (ligações $\alpha - 1,4$ D-glicose) e de ramificações denominadas amilopectina (ligações $\alpha - 1,6$ D-glicose), é um polímero homogêneo de alta massa molecular, composto de moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas (NELSON e COX, 2011).

A amilose é um polímero de cadeia linear formada por mais de 6.000 moléculas de glicose, cerca de 1000 a 2000 unidades de glicose por cadeia, através de ligações glicosídicas $\alpha-1,4$. Amiloses possuem na sua molécula, extremidades redutoras e não redutoras, estas extremidades redutoras tratam-se de grupos de aldeídos latentes (TERRAPON,2017; OKAFOR,2019). O valor médio do teor de amilose em distintos amidos fica em torno de 20 a 30 %, a origem da sua proporção é referente aos antecedentes genéticos dentro de uma espécie e também entre espécies de plantas (FUJITA,2017).

A amilopectina é uma macromolécula altamente ramificada, sendo a união de várias cadeias de amilose unidas por ligações $\alpha-1,6$. A amilopectina é composta de uma extremidade redutora e muitas extremidades não-redutoras, a mesma pode variar de porcentagem também de acordo com o grão ou tubérculo de sua origem, esta variação encontra-se estimada no valor de 70 a 80 %. A representação esquematizada da amilose e amilopectina, pode ser observada na Figura 3 (NIGAM & SINGH, 1995; FUJITA, 2017; ROMANI,2017).

Figura 3: Representação esquematizada da amilose e amilopectina.



Fonte: Domenez (2016).

Como a origem da proporção entre amilose e amilopectina numa molécula de amido é definida através das suas características genóticas, a Tabela 4 descreve a diferença em porcentagem em relação a quantidade de amilose e amilopectina em diferentes fontes de amido.

Tabela 4: Amilose e amilopectina em diferentes tipos de amido.

Grânulo	Milho	Milho	Batata-	Arroz ^c (%)
	Comum ^a	Cereoso ^a	doce ^b	
	(%)	(%)	(%)	
Amilose	27,8	1,8	19,2	27
Amilopectina	72,2	98,2	80,8	73

Fonte: a – Weber, Queiroz e Chang (2009); b - Gonçalves et al. (2009); c – Lin (2011)

Além da amilose e da amilopectina, o amido pode conter outras frações, como por exemplo de lipídeos, compostos nitrogenados e minerais como o fósforo. Essas outras frações no amido podem ser pequenas, porém podem apresentar influência nas propriedades do

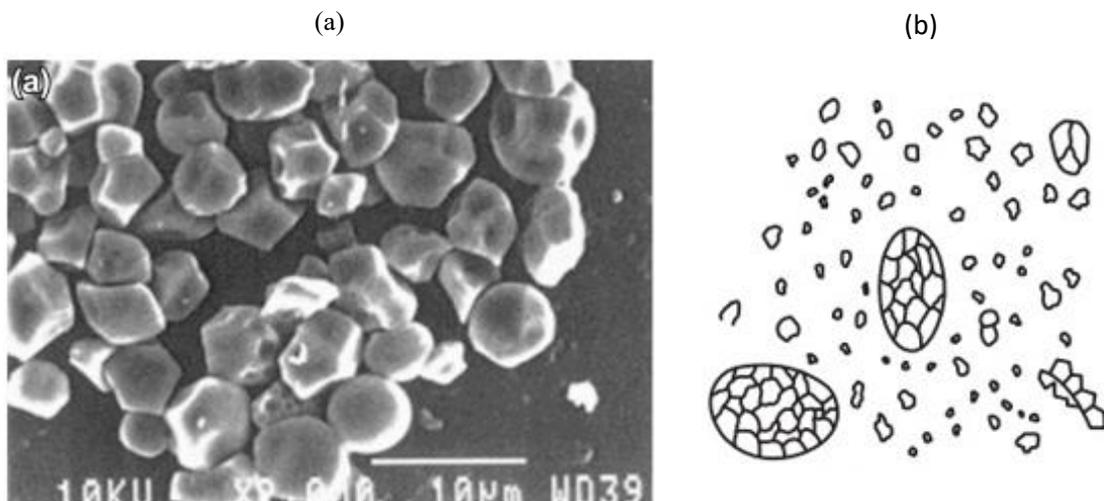
amido (CEREDA, 1996). Os lipídeos por exemplo podem por sua vez complexar com a amilose gerando alterações reológicas na amostra de amido, outros componentes como as proteínas por exemplo, podem ser considerados impurezas, uma vez que não estão ligadas covalentemente ao polissacarídeo formador do grânulo (ELIS et al.,1998; PERONI, 2003).

3.3.1 Amido de arroz

A morfologia dos grânulos de amido é característica do um gênero e espécie. Sabendo disso, os grânulos de amido provindos de grãos de arroz, podem ser simples ou compostos, além disso, são irregulares e de forma poliédrica. Os grânulos simples são poliédricos, possuem entre 2-12 μm de diâmetro, já os grânulos compostos são ovóides e possuem tamanhos de 12-30 μm x 7 a 12 μm . Eles podem conter entre 2-150 componentes (ZHOU, 2013; LINN, 2020).

Os grânulo de amido de arroz são na sua grade maioria de tamanho similar aos de trigo e cevada e menores que os grânulos de amido provindo de grãos de milho. Na Figura 4 podemos observar as características microscópicas de um grânulo de amido presente em um grão de arroz, além disso os grânulos de amido de arroz geralmente variam de 3 a 5 μm de tamanho como mostrado na micrografia eletrônica de varredura - MEV (ZHOU, 2013; LINN, 2020).

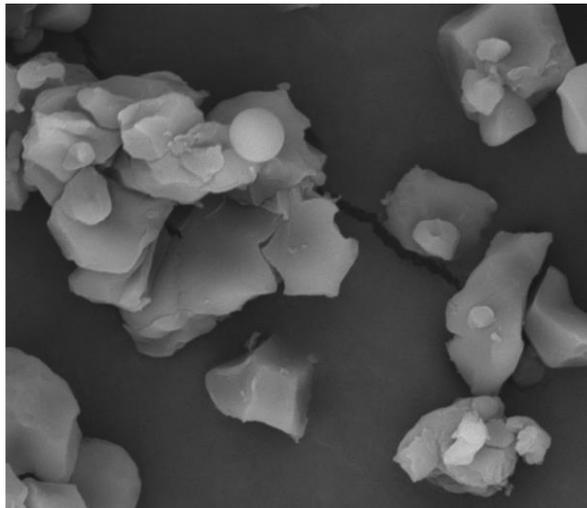
Figura 4: Micrografia eletrônica de varredura do granulo de amido do arroz.



Fonte: (a)- Singh (2016); (b) Fonte: Linn (2020).

A estrutura do grânulo é importante para explicar as características funcionais identificadas no amido. Uma maneira indireta que possibilita o entendimento da estrutura física e química dos amidos é o uso de enzimas sobre o amido granular. A taxa de hidrólise dos grânulos de amido depende, fortemente, da origem botânica do sistema enzimático utilizado e do tamanho dos grânulos. Amidos que naturalmente apresentam superfícies porosas, como o de milho, são degradados mais facilmente que aqueles cuja superfície é lisa, como o de mandioca e grânulos de menor diâmetro são mais suscetíveis às enzimas que aqueles de maior diâmetro. A partir da Figura 5 observa-se como fica o grânulo de amido após o ataque enzimático (RODRIGUES & RUIZ, 2016).

Figura 5: MEV do granulo de amido de arroz pós ataque enzimático.



Fonte: Rodriguez & Ruiz (2016).

Na obtenção do amido de arroz, é necessário que os de grãos sejam moídos, embebidos em água com solução diluída de hidróxido de sódio (0,5%), após isso são diluídos e sua preparação segue com as etapas de purificação e centrifugação. Após secagem o amido de arroz está pronto para ser comercializado. Diversos produtos são gerados a partir do amido provindo do grão de arroz, são eles: cosméticos, adesivos, colas, sais de banho, iogurtes, biscoitos, doces e maquiagens, de tantos produtos que existem atualmente no mercado fabricados a partir do amido proveniente do arroz é que surge a necessidade de maiores estudos sobre essa matéria-prima (LINN, 2020).

3.4 GELATINIZAÇÃO DO AMIDO

A gelatinização é o resultado do tratamento térmico de uma suspensão do amido por um determinado período de tempo, esse fenômeno acaba levando a um inchaço dos grânulos, produzindo uma pasta viscosa que pode ser utilizada em produtos alimentícios, ela é importante para tornar os grânulos de amido suscetíveis a ação enzimática. A gelatinização é geralmente definida como inchaço e hidratação irreversível dos grânulos de amido (LELIEVRE, 1994; ROHAYA ET AL, 2013; ZHANG ET AL, 2015).

A gelatinização ocorre inicialmente nas regiões mais amorfas do amido devido a fragilidade das ligações de hidrogênio que compreendem essa área, bem ao contrário do que ocorre nas regiões cristalinas presentes na estrutura, à medida que os grânulos de amido seguem se expandindo, ocorre a lixiviação da amilose para a fase aquosa, resultando em alterações nas propriedades reológicas da pasta de amido, logo, entende-se que, com a gelatinização ocorre o intumescimento do grão de amido e com isso o aumento da viscosidade, caso a temperatura da pasta amido-água siga sendo elevada, ocorre o rompimento dos grânulos de amido e com isso a queda da viscosidade e a mudança de textura do amido (Figura 6) (SINGH, 2003; BIDUSKI et al., 2018; DOAN, 2019).

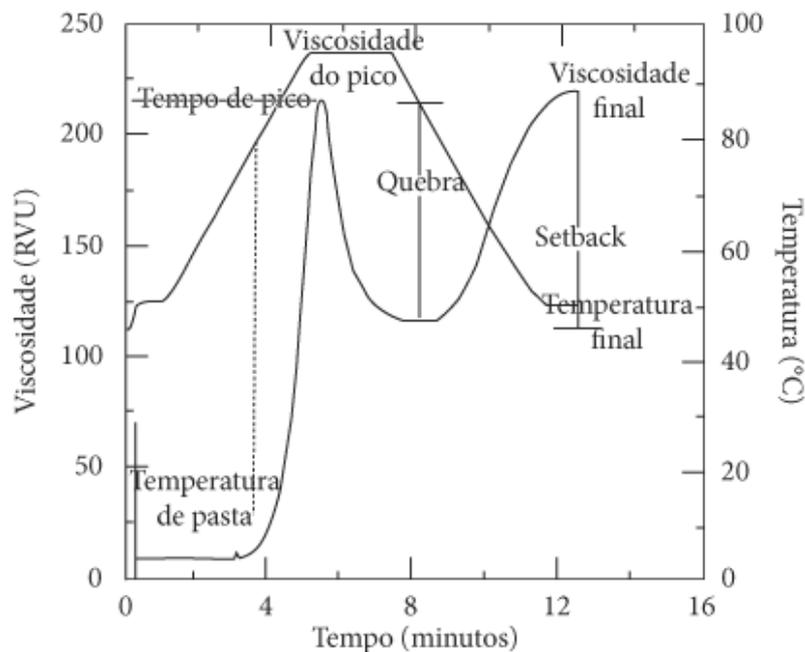
Outro fator importante a ser destacado, é que cada fonte de amido possui uma temperatura de gelatinização diferente, a mandioca, por exemplo, fica em torno de 52° a 65° C, o trigo de 52 ° a 85°C, e a batata de 58° a 65°C. Logo pode-se afirmar que dentro de cada tipo de espécie também ocorrem variações nas faixas características de temperatura da gelatinização, são elas: inicial, de pico, retrogradação e final. Essa diferença nas temperaturas características da gelatinização ocorre devido a muitos fatores, dentre eles, temos a diferença nos pontos de inchamento do grão, ponto de solubilidade do grão e o principal que trata-se da presença de água na pasta de amido, isso ocorre porque a água atua como agente plastificante nos cristais de amido. Nos grãos de arroz, durante o fenômeno da gelatinização, os grânulos de amido fecham as rachaduras presentes na parte denominada como endosperma do arroz, levando a consolidação dos grãos (CEREDA, 2002; LEONEL, 2011; ITUEN & UKPAKHA, 2011).

Outra questão importante em pastas de amido, são suas propriedades reológicas. Essas propriedades reológicas descrevem o comportamento da pasta de amido perante forças de cisalhamento e deformação, logo a característica básica da reologia do amido é a sua viscosidade. Outras características reológicas envolvem textura, transparência, resistência ao cisalhamento e tendência a retrogradação, sendo assim as “propriedades da pasta de amido”

são o termo utilizado para tratar das propriedades estudadas após o amido sofrer o fenômeno de gelatinização (MEIRELES, 2015).

Atualmente para avaliar o comportamento dos grânulos de amido perante a genatinização, ou seja, perante as mudanças na viscosidade em suspensões amiláceas devido ao intumescimento do grânulo de amido sob aquecimento, algumas técnicas têm sido utilizadas, são elas: difração de raios-X, calorimetria exploratória diferencial (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*), e também equipamentos que avaliam a viscosidade da pasta de amido, como o viscoanalisador rápido (RVA - *Rapid Visco-Analyser*), no RVA o fluido amido-água é analisado de acordo com a unidade RVU e não de forma convencional (Pa.s), porém além destas técnicas, o DSC tem-se mostrado como o método térmico mais comum para avaliar a gelatinização do amido (BENINCA, 2013; TAGHINEZHAD et al., 2016)

Figura 6: Curva de viscosidade típica do RVA, mostrando os parâmetros comumente avaliados.



Fonte: Newport Scientific (1998)

Como já mencionado, outra característica do amido é denominada retrodegradação. Este fenômeno é decorrente da reaproximação das moléculas pela redução de temperatura durante o resfriamento do gel, ou seja, é a formação de um gel elástico quando uma suspensão de amido aquecido é resfriada. Nesse processo ocorre a formação de pontes de hidrogênio e a liberação de água entre as moléculas, esse processo gera ao amido o aumento de sua firmeza

e também da opacidade do gel. A retrogradação influencia profundamente a qualidade e o prazo de validade de alimentos que contenham amido e envolve interação entre as cadeias de amilose e amilopectina, aumentando as concentrações cristalinas das mesmas. Amidos com teores elevados de amilose são os que tem maior propensão a este fenômeno, formando uma estrutura cristalina mais organizada e rígida, enquanto uma matriz com baixo teor de amilose resulta em uma estrutura mais aberta, que tende a desintegrar em meio aquoso (AMBIGAIPALAN et al., 2013; FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2015; BIDUSKI et al., 2018).

3.5 HIDRÓLISE QUÍMICA DO AMIDO

A hidrólise é uma reação química em que a água é o principal reagente, esta reação pode ser classificada em três diferentes tipos, sendo eles: ácida, alcalina ou enzimática, já a hidrólise química, é subdividida nas hidrólises ácidas e básicas (HIJAZIN1; SIMÕES; SILVEIRA, 2010).

A hidrólise ácida ocorre quando usa-se um ácido mineral em solução aquosa, os ácidos mais utilizados nesse tipo de hidrólise são o ácido sulfúrico e o ácido clorídrico, porém também podem ser utilizados em alguns casos, o ácido nítrico e o fosfórico. A hidrólise ácida provoca a quebra de ligações glicosídicas dos polímeros do amido reduzindo o peso molecular das moléculas de amilose e amilopectina, ela pode ocorrer com ésteres, açúcares, compostos orgânicos e outros. A importante vantagem desse tipo de hidrólise é que ela pode ser utilizada como uma alternativa para o tratamento de alguns tipos de resíduos sólidos. Atualmente o tratamento ácido tem sido bastante utilizado como ferramenta para promover maior entendimento sobre a estrutura dos grânulos de amido, visto que este tipo de hidrólise produz amilodextrinas que mantêm a estrutura granular do amido intacta (BARCZA, 2010; ROCHA, 2010).

A hidrólise alcalina, ou também denominada hidrólise básica, ocorre na presença de uma base em solução aquosa, podendo ser diluída ou concentrada. A base é utilizada no lugar da água pois libera OH^- , fazendo com que no final da reação obtenha-se como produto um sal alcalino e um ácido, este tipo de hidrólise também mostra-se como alternativa de tecnologias limpas, porém ela reverte o hidrolisado à condição de polímero, motivo pela qual não é utilizada para a hidrólise do amido (HIJAZIN1; SIMÕES; SILVEIRA, 2010).

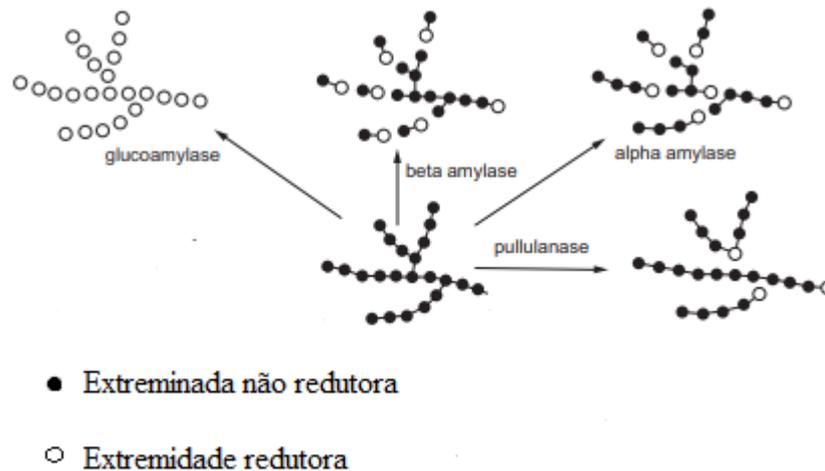
3.6 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO AMIDO

A hidrólise enzimática, trata-se de uma reação química aquosa, no qual utiliza-se enzimas como catalisadores, as enzimas trabalham acelerando a velocidade das reações e diminuindo a energia de ativação das mesmas. O uso de processos enzimáticos apresenta vantagens, como condições operacionais brandas de temperatura, pH e pressão. A hidrólise enzimática também apresenta a geração de menos produtos indesejáveis, porém de forma geral as enzimas utilizadas nesse tipo de hidrólise são caras e por isso menos utilizadas quando comparadas aos demais catalisadores (ZAVAREZE, 2009; MENDES, 2011).

Dentre as enzimas mais conhecidas, temos as enzimas amilolíticas, essas enzimas também denominadas como amilases, podem ser classificadas segundo seu modo de ação e formação de produtos como: enzima alfa amilase (alfa-1,4-D-glicano glicanoidrolase) (EC 3.2.1.1), enzima beta amilase (1,4-a-D-glucano-malto-hidrolase) (EC 3.2.1.2), enzima gama amilase (1,4-a-D-glucohydrolase) (EC 3.2.1.3) também conhecida como glucoamilase ou amiloglucosidase (a-D-glicosídeo glucohidrolase) (EC 3.2.1.20), enzima oligo-1,6-glucosidase (dextrina-6-a-D-glucano-hidrolase) (EC 3.2.1.10), enzima isoamilase (glicogênio 6-glucano-hidrolase) (EC 3.2.1.68), enzima pululanases tipo I (a-dextrina6-glucano-hidrolase) (EC 3.2.1.41) e enzima pululanase tipo II (alfa amilase-pululanase) (EC 3.2.1.1.41) (TOMASIKI; HORTON, 2012).

A hidrólise enzimática do amido, ocorre principalmente devido a três grupos de enzimas, são elas: as α -amilases, as glicoamilases e as β -amilases. O modo de ação dessas enzimas pode ser esquematizado a partir da Figura 7

Figura 7: Características de quebra das ligações enzimáticas envolvidas na hidrólise do amido.



Fonte: Adaptado de Tomasiki; Horton (2012)

As α – amilases (α -1,4 glicano 4-glicanohidrolases, EC 3.2.1.1) ocorrem naturalmente em microrganismos, plantas e tecidos animais, a ação destas enzimas depende tanto da natureza da enzima a ser utilizada, quanto da natureza do substrato, essa enzima age de forma aleatória na degradação do amido através da hidrólise somente por ligações glicosídicas α -1,4, produzindo cerca de 70 % em açúcares redutores. A ação desta enzima se caracteriza pela rápida diminuição da viscosidade da suspensão amido-água, além da diminuição da viscosidade, também é responsável por dar opacidade a suspensão. Esta enzima também é chamada de liquidificante ou dextrinizante, isto devido a sua atuação na etapa de liquefação em hidrólises enzimáticas. Seu principal uso está relacionado a processos industriais de panificação, produção de álcool, bebidas alcoólicas, preparação de xaropes de glicose e acabamento de papéis e tecidos (REGULY, 1996; DIVAKAR,2013; HUA e YANG, 2015; GOPINATH et al., 2017; LIU e KOKARE, 2017).

As β – amilases, também chamadas de amilases sacarogênicas, por atuarem na sacarificação, estão presentes em alguns microrganismos e em algumas plantas, não ocorrendo em mamíferos, elas hidrolisam ligações glicosídicas α -1,4 do amido, são exoamilases que partem da extremidade não redutora até toda cadeia ser convertida em maltose, ou até a ação da enzima ser bloqueada por um componente químico ou físico (DIVAKAR,2013; HUA e YANG, 2015; GOPINATH et al., 2017; LIU e KOKARE, 2017).

As glucoamilases, também chamadas de amiloglicosidades ou AMG (α -1,4 glicano glicohidrolase EC 3.2.1.3) é uma exoenzima, elas hidrolisam os resíduos de glicose unidos por ligações do tipo α -1,4 e α -1,6 sucessivamente, a partir das extremidades não redutoras do

amido com a liberação de glicose. A AMG tem grande importância em processos industriais na produção de xaropes açucarados, como os de glicose, e sua faixa de pH atuante está entre 3,0 e 5,5, além disso entre suas principais fontes encontram-se os fungos do gênero *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Mucor* (REGULY, 1996; DIVAKAR, 2013; HUA e YANG, 2015; GOPINATH et al., 2017; LIU e KOKARE, 2017).

Características das enzimas envolvidas na hidrólise do amido, podem ser visualizadas a partir dos dados demonstrados na Tabela 5:

Tabela 5: Características das enzimas envolvidas na hidrólise do amido.

Enzimas	Microrganismos produtores	Substrato	Ótimo	
			pH	T °C
Amilase bacteriana	<i>B. subtilis</i>	α -1,4-glicosil	6,0	65-70
	<i>B. Licheniformis</i>		5,0-7,0	90
	<i>A. oryzae</i>		4,5	50-60
Amilase fúngica, amiloglucosidade β -amilase bacteriana	<i>A. niger</i>	α -1,4-glicosil e α -1,6-glicosil	4-5	60
	<i>Bacillus sp.</i>		5,0	55-60
	<i>Clostridium sp.</i>		5,5-6,0	75-85
Pululanase Isoamilase	<i>K. aerogenes</i>	α -1,6-Maltotriosil, α -1,6-Heptasac.	5,0	60
	<i>Pseudomonas sp</i>		4,0	50-55
Glicose Isomerase	<i>B. circulans</i>	Aldo/ceto pentose Aldo/ceto hexose	8,2	65

Fonte: Maldonado & Lopez (1995).

3.7 LIQUEFAÇÃO

A etapa de liquefação ou também denominada dextrinização recebe este nome devido a ação da enzima α -amilase, esta enzima provoca características como: redução drástica da viscosidade (característica física) e formação de dextrinas (característica química). Logo o

objetivo desta etapa é a transformação do amido em dextrinas por meio da atuação da enzima α -amilase, resultando na pasta de amido-água previamente gelatinizada em uma suspensão com queda brusca de sua viscosidade, para esta etapa é de suma importância que o reator esteja agitado de forma homogênea (REGULY, 1996).

Desta forma, usa-se a temperatura ótima da α -amilase abaixo da temperatura de gelatinização, porém o mais próximo da temperatura ótima da enzima, possibilitando a ação desta. Assim a enzima α -amilase acaba sendo adicionada junto com a matéria-prima diretamente no reator. Outros fatores que influenciam a liquefação, é por exemplo, a granulometria ou cominuição da matéria-prima pós moagem, isto devido ao fato de que, quanto menor a granulometria da partícula, mais fácil torna-se a hidrólise enzimática, outro fator importante é a temperatura e o tempo de hidrólise, visto que a enzima tem uma faixa de temperatura ótima e o tempo, é necessário cuidarmos para que não haja menor ou maior geração de um produto indesejado na reação hidrolítica (REGULY, 1996; SCIPIONI, 2011).

3.8 SACARIFICAÇÃO

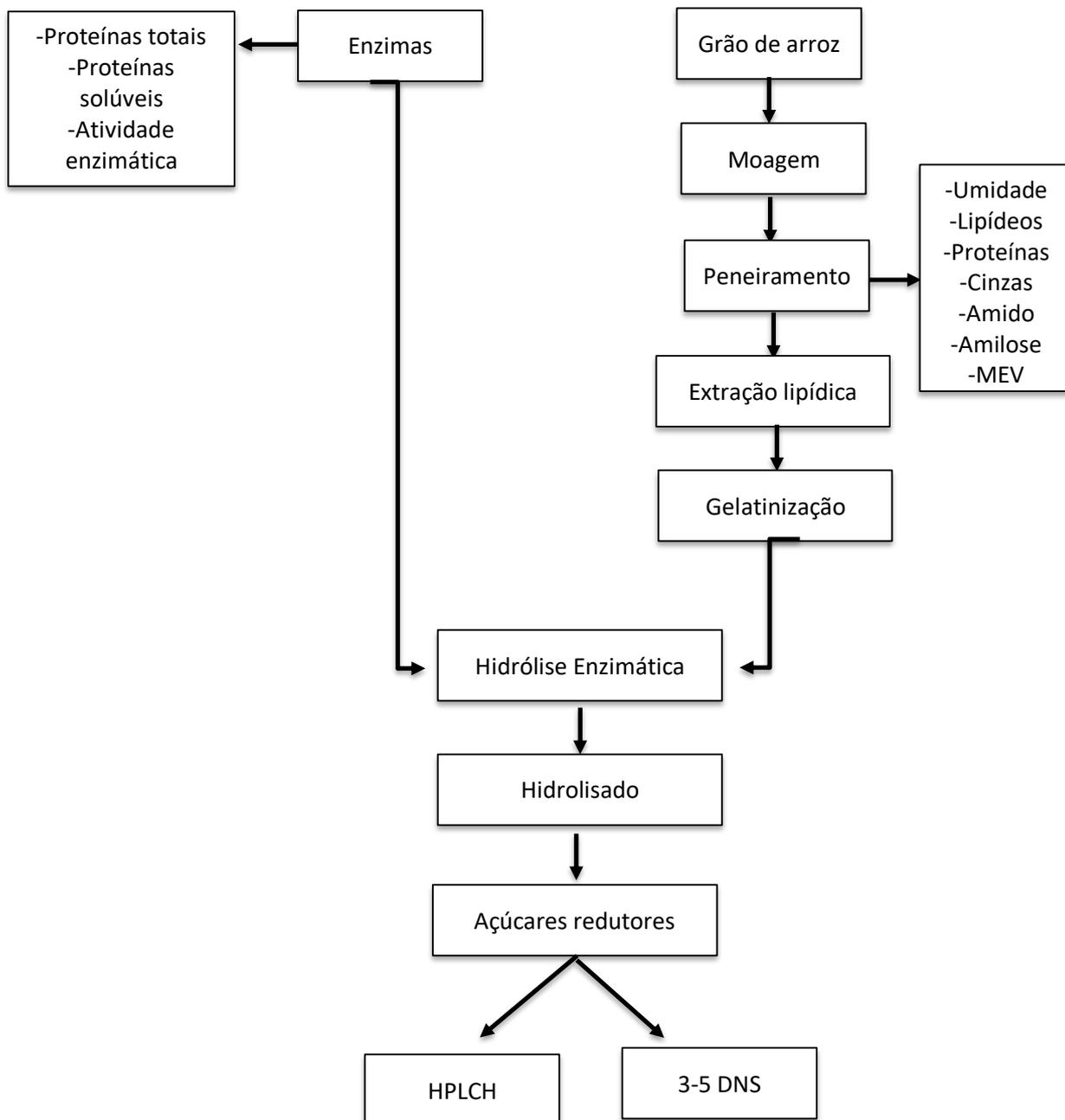
Nesta etapa, o amido anteriormente liquefeito pela liquefação, é transformado em hidrolisados contendo principalmente açúcares de baixo peso molecular. Este processo é realizado com o auxílio de enzimas específicas como a AMG ou β -amilase, e é denominado como etapa de sacarificação, as enzimas que podem ser utilizadas nesta etapa dependem do tipo de hidrolisado desejado (REGULY, 1996; SCIPIONI, 2011).

A agitação nesta etapa da hidrólise, não é tão importante quanto na etapa da liquefação, servindo apenas para garantir um melhor contato do amido liquefeito com as enzimas da sacarificação, além disso, também serve para homogeneizar o meio. A temperatura ideal para esta etapa vai variar de acordo com a enzima que será utilizada, porém normalmente fica em torno de 55°C a 65°C (REGULY, 1996; SCIPIONI, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nos Laboratórios de Tecnologia Enzimática, Controle ambiental e Processos Químicos e Biotecnológicos localizados no EQA, FURG, e foi executado segundo o fluxograma proposto na Figura 8:

Figura 8: Fluxograma operacional da hidrólise do amido de arroz do cultivar BRS AG.



4.1 MATÉRIA-PRIMA E ENZIMAS

O arroz da cultivar BRS AG foi cedido pela Embrapa Clima Temperado – Pelotas / RS. As enzimas α -amilase fúngica (EC 3.2.1.1) e a Amiloglicosidase AMG 300L (EC 3.2.1.3), foram cedidas pela LFN Latino América de (Bento Gonçalves – RS).

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DO ARROZ

4.2.1 Moagem

Primeiramente o cultivar de arroz BRS-AG passou pela etapa física de moagem, no qual esta etapa deu-se em um moinho de facas em que a amostra de arroz foi moída em um diâmetro de aproximadamente 1mm.

4.2.2 Perfil granulométrico

O perfil granulométrico foi realizado em peneiras vibratórias por 20min e com diferentes aberturas de malha, entre 0,18 e 0,85mm (80 – 20 Tyler). As partículas foram caracterizadas de acordo com o diâmetro médio de Sauter conforme a Equação 1.

$$Dm_s = \frac{1}{\sum_j^N \frac{x_j}{D_{p,j}}} \quad (1)$$

Onde:

X_j – fração mássica retida na peneira;

$D_{p,j}$ –abertura da peneira j (mm);

N – Número de peneiras.

4.2.3 Composição proximal

Com base nos resultados obtidos do perfil granulométrico realizou-se a composição proximal da fração escolhida da farinha de arroz do cultivar de arroz BRS AG.

4.2.3.1 Determinação de umidade

A umidade foi determinada segundo o método da AOAC 925.45b, no qual foram pesados em um cadinho 2g da amostra de farinha, que foram secas em estufa durante um período de 24h em temperatura de 105°C até massa constante. O percentual de matéria seca é obtida pela Equação 2.

$$\% \text{ Matérias seca} = \frac{(\text{Cadinho} + \text{amostra seca}) - (\text{Cadinho vazio})(g)}{\text{Massa da amostra seca (g)}} \times 100 \quad (2)$$

4.2.3.2 Determinação do teor de lipídeos

Realizou-se o teor de lipídeos seguindo o método da AOAC 920.39, que consiste na pesagem de 5g da amostra em um cartucho de celulose, no qual posteriormente foi coberto por uma amostra de algodão. A extração foi realizada durante 4h em extrator Soxhlet e como solvente utilizou-se éter de petróleo. A temperatura da extração foi de 50°C. A fração lipídica extraída foi colocada em estufa na temperatura de 60°C.

O teor de lipídeos pode ser calculado de acordo com a Equação 3:

$$\text{Teor de lipídeo} = \frac{\text{Massa de óleo extraída (g)}}{\text{Massa inicial da farinha (g)}} \times 100 \quad (3)$$

4.2.3.3 Determinação do teor de proteínas

Realizou-se a determinação de proteínas na farinha de arroz por Macro-Kjeldahl. Pesou-se 1,5g da amostra de farinha de arroz e 10g de catalisador composto de 5g K₂SO₄ p.a e 5g CuSO₄ p.a. Esta mistura catalítica juntamente com a amostra foi levada a digestão com a adição de 20mL de H₂SO₄ e após destilação e titulação. A destilação foi realizada ao adicionar solução de NaOH 40 % ao destilador acoplado a erlenmeyer contendo 20mL de uma solução de H₃BO₃ 4% com 5 gotas de indicador misto, por fim, a titulação posterior até o ponto de viragem da solução, foi realizada com HCL 0,1mol/L. O teor de proteína bruto foi obtido multiplicando o fator de 6,25, conforme recomendações do Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.2.3.4 Determinação do teor de cinzas

Realizou-se o teor de cinzas seguindo o método da AOAC 923.03, que consiste na pesagem de 2g de farinha de arroz calcinadas em chama e mantidas em mufla a 550°C durante 6h. A equação para o cálculo do teor de cinzas é a Equação 4.

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{(\text{Cadinho+cinzas})-(\text{Cadinho vazio})(g)}{\text{Massa da amostra (g)}} \times 100 \quad (4)$$

4.2.3.5 Determinação do teor de carboidratos

O teor de carboidratos foi obtido pela diferença dos demais teores calculados na amostra analisada.

4.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMIDO

A determinação do amido da amostra da farinha de arroz seguiu a metodologia descrita pela ABAM (2004). Foram pesadas 1g da amostra de farinha de arroz e em seguida realizou-se lavagem com solução hidro alcoólica na proporção 80:20 (álcool: água) para a remoção de açúcares solúveis. Transferiu-se o material filtrado em papel filtro para um Erlenmeyer com 50mL de Ácido clorídrico 1M. Os frascos Erlenmeyers com as amostras foram submetidas ao micro-ondas por 5min em potência de 900W. Logo após as amostras foram neutralizadas com solução de Fehling até o aparecimento da coloração vermelho tijolo. Os cálculos para a determinação do teor de amido seguem a Equação (5) descrita abaixo.

$$\% \text{ amido} = \frac{100*TL*0,9*100}{LM*PA} \quad (5)$$

Onde:

100 – É o volume total da diluição da amostra;

TL – Título do licor de Fehling;

0,9 – Fator que transforma açúcares em amido;

100 – Expressão do amido em porcentagem na amostra;

LM – Leitura média da titulação;

PA – Peso da amostra.

4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMILOSE

A determinação da amilose foi baseada no método descrito por Martinez e Cuevas (1989), no qual 0,1g da amostra a ser analisada que foi transferida para frascos Erlenmeyeres de 250mL, foram adicionados 1mL de álcool etílico 95% e 9mL de solução de hidróxido de sódio 1N. Essa mistura foi levada a banho-maria fervente por 10min. Após a mistura esfriar, foi transferida para balões volumétricos de 100mL, onde seu volume foi aferido com água destilada.

De cada amostra, transferiu-se alíquotas de 5mL para balões volumétricos de 100mL, onde nos mesmos foram adicionados 1mL de ácido acético 1N e 2mL de solução de iodo 2% e completados com água destilada. A leitura da absorbância foi realizada após 30min de repouso da amostra em comprimento de onda de 590nm. A amilopectina foi determinada pela diferença de amilose presente na amostra.

4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)

Para a determinação do perfil das imagens dos grânulos de amido, as amostras foram secas a vácuo por 24h. Utilizou-se, uma pequena quantidade da amostra que foi depositada em um *stub* através de uma fita adesiva dupla face e recobertas com ouro, *Dentun Vacuum*, no qual o procedimento durou 120s a uma corrente de 50mA. As imagens foram emitidas através de um microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JSM-661-LV), com microsonda de energia dispersiva (EDS), no qual produz imagens de alta ampliação e resolução. As ampliações utilizadas foram de 43X, 400X, 1500X e 6000X, o valor do feixe de eletricidade utilizado para a realização das imagens foi de 6kV.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS ENZIMAS

4.6.1 Determinação do teor de proteínas

O teor de proteínas das enzimas estudadas foi determinado através de dois métodos: biureto e Macro-Kjeldahl.

O método de Biureto proposto por Macedo et al (2005) consiste na reação do reativo do biureto, que é constituído de uma mistura de cobre e hidróxido de sódio com um complexante que estabiliza o cobre, por exemplo, tartarato de sódio. Utilizou-se curva padrão

de albumina bovina ($y = 0,0636x + 0,0547$, com um coeficiente de determinação de 0,9944) para a determinação do teor de proteína solúvel. O procedimento transcorreu com a adição de 1mL de extrato enzimático devidamente diluído (1:10; 1:40; 1:70; 1:100) e 3mL da solução de Biureto, após transcorrido o tempo de 5min, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 540nm. O método de Macro-Kjeldahl foi realizado conforme o item 5.2.4.

4.6.2 Determinação da atividade enzimática

A atividade enzimática da α -amilase e AMG foi realizado pelo método descrito por Miller (1959) que baseia-se na determinação de grupos redutores da hidrólise do amido com a reação do ácido- 3-5, dinitrosalicílico -DNS.

A preparação do reagente DNS dá-se pela adição de 20mL de hidróxido de sódio 2N, 1g do ácido 3,5-DNS e 50mL de água destilada. Após a adição dos reagentes, os mesmos foram homogeneizados e adicionados 30g de tartarato de sódio e potássio a uma temperatura de 50°C durante 5min, e o volume aferido a 100mL.

A determinação enzimática dava-se pela preparação de 8 tubos de ensaio, no qual foram adicionados 1mL da solução de enzima previamente diluída e 1mL de solução de amido 1%, cada tubo ficava um determinado tempo (2,5 – 5,0 – 7,5 – 10 – 15 – 20min) em banho-maria (37°C para a α -amilase e AMG e 60°C), após adicionava-se 1mL da solução de DNS e eram levadas a banho-maria fervente durante 5min. As amostras eram completadas com 8mL de água, e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 540nm, por fim, curvas-padrões de glicose foram utilizadas para a quantificação de açúcares redutores. Além da atividade enzimática, as atividades foram calculadas através da Equação 6.

$$\textit{Atividade específica (U. mg}^{-1}\text{)} = \frac{\textit{Atividade enzimática (U.mL}^{-1}\text{)}}{\textit{Proteína Solúvel (mg.ml}^{-1}\text{)}} \quad (6)$$

4.7 CURVAS PADRÕES DE GLICOSE E MALTOSE

Para a obtenção das curvas padrões de glicose e maltose, utilizou-se o procedimento descrito na Tabela 6, onde retirava-se 1mL da solução padrão completa com água, juntamente com 1mL do reagente DNS.

Tabela 6: Procedimento para a curva padrão de glicose.

Tubo	Solução Padrão (mL)	H₂O (mL)	mL para reação (mL)	µmoles glicose	Reagente DNS (mL)	Banho maria fervente (min)	H₂O (mL)
Branco	0	10	1	0	1	5	8
1	2	8	1	2	1	5	8
2	4	6	1	4	1	5	8
3	6	4	1	6	1	5	8
4	8	2	1	8	1	5	8
5	10	0	1	10	1	5	8

Após banho maria foram adicionados de 8mL de água destilada em cada tubo, e as leituras realizadas em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 540nm.

4.8 PRÉ-TRATAMENTO DO ARROZ PARA A HIDRÓLISE

4.8.1 Extração de lipídeos

Para o melhor ataque enzimático no substrato de interesse, foi necessário realizar a extração de lipídeos da farinha de arroz seguindo o método descrito pelo item 4.2.2.2.

4.8.2 Gelatinização

Para o intumescimento e facilitação do ataque enzimático na farinha de arroz, foi necessário outro processo de pré-tratamento na amostra, que é comumente denominado gelatinização.

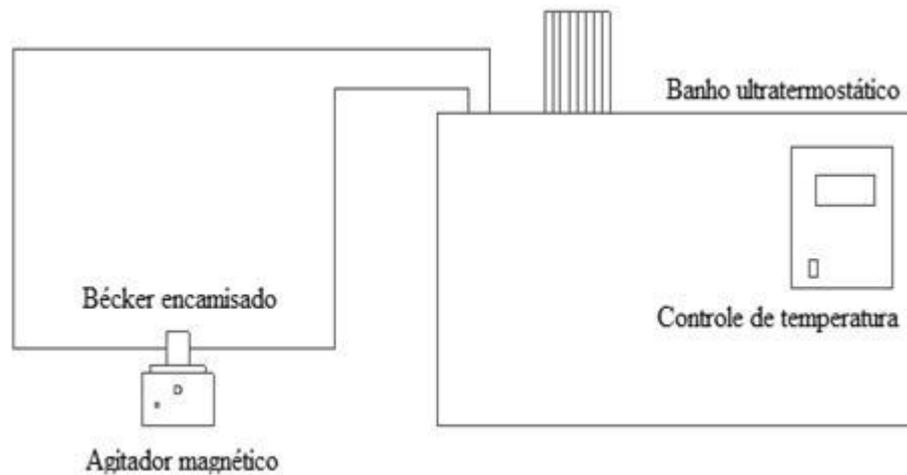
Para a obtenção dos parâmetros de gelatinização da amostra realizou-se uma análise de RVA (*Rapid Visco Analyser*) que fornece um perfil de viscosidade do amido durante o aquecimento e o resfriamento. O perfil de temperatura utilizado foi o *Standard 1*, no qual as amostras são tratadas da seguinte forma: as amostras são mantidas a 50°C por de 1min, aquecidas até 95°C no tempo de 4min e 45s e mantidas a essa temperatura até 7min e 15s, após são resfriadas a 50°C durante 11min e mantidas nessa temperatura constante por mais

2min, completando desta forma 13min de análise. A gelatinização da solução amido-água da farinha de arroz do cultivar BRS AG foi realizada em reator de vidro encamisado na temperatura e tempo pré-determinado pela análise de RVA.

4.9 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS GRÃOS DE ARROZ

As reações de hidrólise enzimática foram realizadas em reator de vidro encamisado, sob agitação magnética e acoplado a um banho ultratermostático como mostra o esquema da Figura 9.

Figura 9: Esquema do equipamento de hidrólise enzimática.



4.9.1 Planejamento experimental para liquefação

Na etapa de liquefação foi utilizado o planejamento composto central 2^3 conforme a Tabela 5, tendo como variável resposta a quantidade de açúcares redutores. Os níveis estudados seguiram os parâmetros descritos por Barcelos (2012). A liquefação utilizando a α -amilase fúngica foi realizada utilizando solução tampão acetato pH5,5 e tempo de hidrólise de 30min.

A Tabela 7 apresenta a matriz e os valores codificados e reais utilizados na execução do planejamento, onde apresenta 11 ensaios com 3 pontos centrais.

Tabela 7: Matriz do planejamento composto central 2^3 para α - amilase.

Ensaio	Variáveis Independentes		
	Relação sólido/líquido	Temperatura (°C)	Concentração enzimática (U.mL ⁻¹)
1	-1 (1/20)	-1 (40)	-1 (2)
2	1 (1/20)	-1 (40)	-1 (2)
3	-1 (1/20)	1 (60)	-1 (2)
4	1 (1/40)	1 (60)	-1 (2)
5	-1 (1/20)	-1 (40)	1 (8)
6	1 (1/40)	-1 (40)	1 (8)
7	-1 (1/20)	1 (60)	1 (8)
8	1 (1/20)	1 (60)	1 (8)
9	0 (1/30)	0 (50)	0 (5)
10	0 (1/30)	0 (50)	0 (5)
11	0 (1/30)	0 (50)	0 (5)

4.9.2 Etapa de sacarificação

Com base nos estudos de Peres (2013), que avaliou a enzima comercial AMG para o mesmo cultivar do grão de arroz, pode-se testar as condições para a sacarificação. O tempo de sacarificação proposto foi de 55°C, tempo de 30min e 0,171mL de enzima, que correspondem a 4480,2U. As hidrólises desta etapa foram realizadas em triplicata.

4.10 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE

A determinação do grau de hidrólise foi realizado pela determinação dos açúcares redutores consistiu na adição de 100µL das amostras hidrolisadas juntamente com 300µL do reagente DNS em tubos de ensaio, no qual estes tubos eram colocados em banho-maria fervente por aproximadamente 5min. Após esse aquecimento, adicionou-se 5mL com água destilada nos tubos, para desta forma ser realizada a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 540nm. A concentração de açúcares redutores foi realizada utilizando curva padrão de glicose.

4.11 DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

Os produtos da hidrólise enzimática foram determinados por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Utilizou-se um cromatógrafo líquido Prominence (Shimadzu, Japão) equipado com uma bomba LC-20AD, forno CTO-20A, detector RID-10A, e um injetor automático SIL-20A. A coluna cromatográfica utilizada foi a Aminex HPX-87H de 30cm. A fase móvel foi composta por H₂SO₄ 5 mM, com vazão de 0,6mL.min⁻¹. Os produtos avaliados na análise foram glicose e maltose.

4.12 TRATAMENTO DOS DADOS

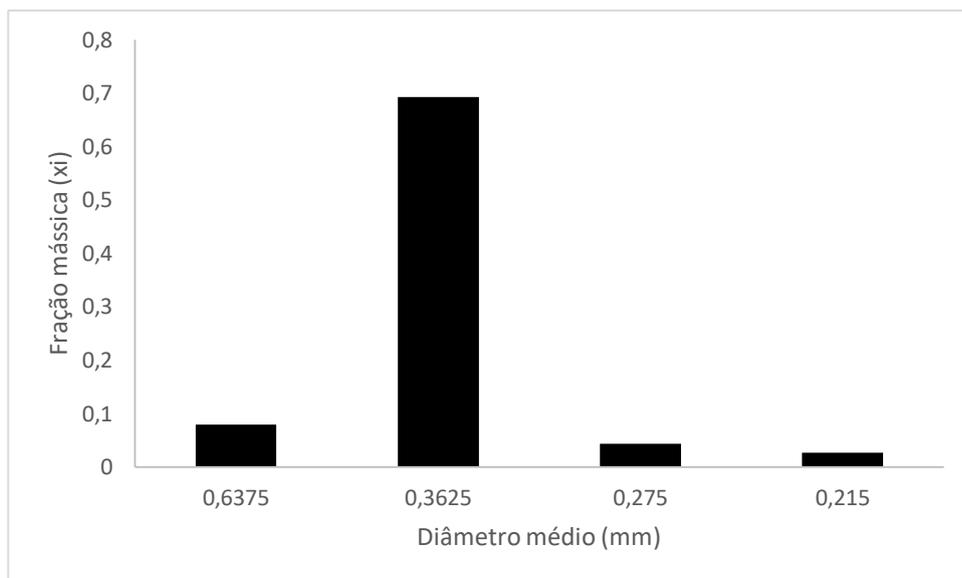
Para a verificação das variáveis estudadas no processo, os dados experimentais foram tratados utilizando o *Software Statistica 5.0* e tabela de análises ANOVA.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PERFIL GRANULOMÉTRICO

O perfil granulométrico é de extrema importância visto que a partir de uma amostra padronizada podemos quantificar e analisar melhor os resultados finais de pesquisas e estudos, além de termos uma amostra homogênea para as etapas posteriores. Após processo de moagem no cultivar de arroz BRS AG, realizou-se a obtenção do perfil granulométrico (Figura 10) da partícula. A Figura 10 evidencia a maior fração mássica em torno de 0,7 com um tamanho de partícula equivalente 0,36mm e com diâmetro médio de Sauter calculado em 0,43mm.

Figura 10: Perfil granulométrico da farinha do cultivar de arroz BRS AG.



Na Tabela 8 é possível observar os diâmetros médios e frações que ficaram retidas em cada uma das peneiras.

Tabela 8: Distribuição granulométrica da farinha do cultivar de arroz BRS AG.

Abertura de malha (mm)	Diâmetro médio (mm)	Fração retida
-0,85 + 0,425	0,6375	0,079
- 0,425 + 0,3	0,3625	0,70
- 0,3 + 0,25	0,275	0,043
- 0,25 + 0,18	0,215	0,027
- 0,18	0,18	0,042

O tamanho de partícula é uma variável muito importante para o processo de extração de qualquer componente da matéria-prima, visto que partículas menores possuem uma maior área superficial o que resulta em um melhor ataque enzimático nas etapas posteriores. Neste caso tentou-se homogeneizar o tamanho destas partículas (Figura 11) em todo o processo enzimático posterior, no qual pode-se observar que a farinha de arroz do cultivar BRS AG apresentou-se de forma esférica após moagem.

Figura 11: Cultivar de arroz BRS AG após moagem.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A caracterização da matéria-prima é de extrema importância, pois a partir dela conhecemos melhor suas características e de que forma pode-se trabalhar nas etapas posteriores a partir dessas caracterizações. Na Tabela 9 apresenta a composição proximal da farinha de arroz do cultivar de arroz BRS AG após moagem.

Tabela 9: Composição proximal do arroz BRS AG.

Parâmetro	Porcentagem (%)
Umidade	10,54 ±0,20
Proteínas ^a	8,31±0,31
Lipídeos	4,68 ±0,13
Cinzas	0,54±0,01
Carboidratos	75,93±0,19

*média ± desvio padrão (n = 3); a – 6,25 = Valor de conversão utilizado para cálculos.

Segundo Eifert (2020), o teor de umidade para o acondicionamento em temperatura ambiente de farinha de arroz está em torno de 9 %, onde o resultado experimental fica próximo a este valor referência conforme apresentado na Tabela 9.

Reporta-se grande variação na concentração de proteínas nos cultivares de arroz, variando de 4,3 a 18,2 % (LUMEN,1995; WALTER et al., 2008; SACCHETTI et al., 2004; ILO, LIU e BERGHOFER, 1999; BARBORA et al., 2006). Essa diferença pode ocorrer devido as características genotípicas, adubação nitrogenada, temperatura e radiação solar no desenvolvimento do cultivar (WALTER et al., 2008).

Teores próximos aos determinados experimentalmente (8,31%) foram reportados por Júnior et al. (2016), que estudou um lote do cultivar de arroz BRS AG encontrou um teor de proteínas de 11,99%.

O teor de lipídeos do cultivar BRS AG apresenta-se ligeiramente superior dos valores reportados na literatura. Teores que variam entre 2,3 a 3,2 % (TAIRA, 1988), porém sabe-se que o teor de lipídeos também é afetado pelas características genotípicas do cultivar (TAIRA,1988). A maior concentração lipídica é encontrada no gérmen do grão de arroz (TAIRA, 1988). Isto explica o motivo pelo qual grãos polidos (sem o gérmen) apresentam menor fração lipídica.

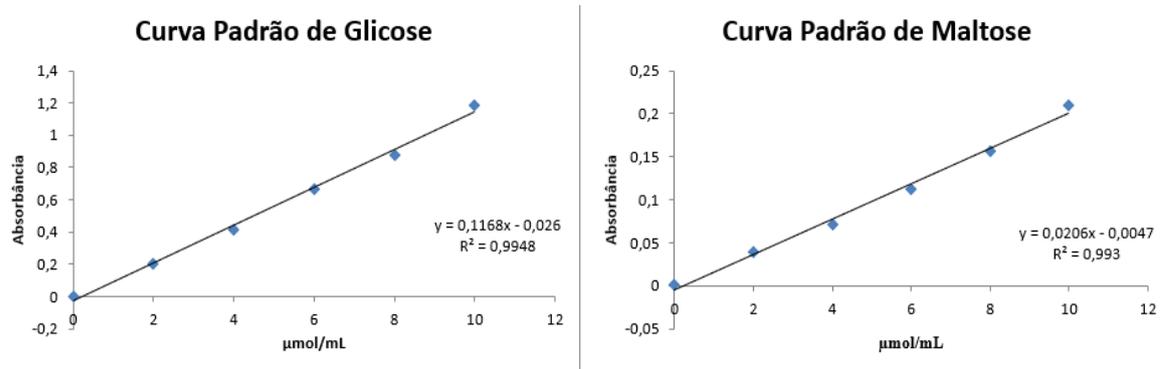
O teor de cinzas mostrou-se similar ao reportado na literatura, entre 0,47 e 1,15% (WALTER et al., 2008; CASTRO, 1999; BARBOSA et al., 2006; GUHA 2003; YEH e JAW, 1999; SACCHETTI et al., 2004). O teor de cinzas de 0,71% do cultivar BRS AG foi reportado por Júnior et al. (2016). Quando comparada com a farinha de trigo e não havendo especificidade quanto o teor de cinzas de uma farinha de arroz, segundo a Portaria nº 354 de 18 de julho de 1996, que estabelece as características mínimas de 0,65% de cinzas para estabelecer a qualidade para farinha de trigo especial ou de primeira, ou de farinha comum, o cultivar de arroz BRS- AG mostrou-se dentro dessa porcentagem o que o classificou como de boa qualidade (BRASIL, 1988).

Como era esperado a composição proximal evidencia uma matéria-prima com um alto teor de carboidratos, com predominância do amido com um teor de amilose de 25,20 % \pm 0,2 e 52,8% amilopectina

Os valores de amilose podem variar de 1-% a 37-% em matriz de arroz conforme Jennings, Coffman e Kauffman (1985). De acordo com Martinez e Cuevas (1989) o amido da BRS-AG pode ser classificado como de teor intermediário de amilose (23 a 27-% de amilose). O teor de amilopectina sugere que os grânulos do amido da BRS-AG apresentam um elevado potencial para o entumescimento e facilidade na entrada de água ao grão, culminando em um grão menos enrijecido (MARTINEZ & CUEVAS, 1989).

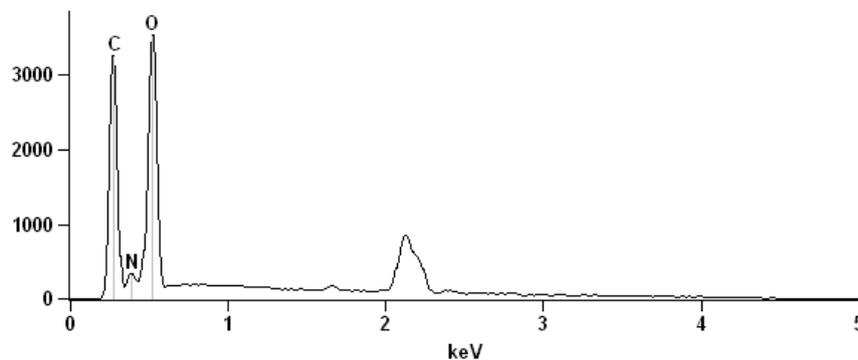
5.3 CURVAS ANALÍTICAS DE GLICOSE E MALTOSE

O teor de açúcares redutores foi determinado com auxílio das curvas de calibração apresentadas nas Figuras 12. A sensibilidade de calibração para glicose foi 0,1168 μ moles de glicose/mL, com um limite de detecção de $8,56 \times 10^{-5}$ μ moles de glicose/mL para um desvio padrão de $2,89 \times 10^{-5}$, e para a maltose a sensibilidade de calibração foi de 0,026 μ moles de maltose/mL, unidades de absorvância⁻¹ com um limite de detecção de 0,0055 μ moles de maltose/mL para um desvio padrão de 0,002; observa-se que a determinação de maltose pelo método colorimétrico do ácido 3,5-DNS é mais sensível que para a glicose.

Figura 12: Curva analítica de glicose e maltose.

5.4 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO (EDS) DE PARTICULAS DA MATÉRIA-PRIMA

A espectroscopia de energia dispersiva ou espectroscopia de raios X por dispersão (EDS) é uma técnica de microanálises para identificar a morfologia de partículas e correlacionar com sua natureza química. A Figura 13, permite verificar predominância de 3 elementos: oxigênio (com 3500 de intensidade e 0,5 KeV), carbono (3100 de intensidade de emissão e 0,37 KeV) e nitrogênio (250 de intensidade e 0,42 keV), e uma fração desconhecida com intensidade de 1000 e energia de 2,12 keV.

Figura 13: Espectro EDS do cultivar de arroz BRS AG.

A presença de oxigênio e carbono são devido ao amido presente no cultivar de arroz, lembrando que o elemento hidrogênio não aparece neste tipo de análise de EDS. O pico de nitrogênio ocorre devido a quantidade de proteína encontrada na farinha de arroz. O cultivar

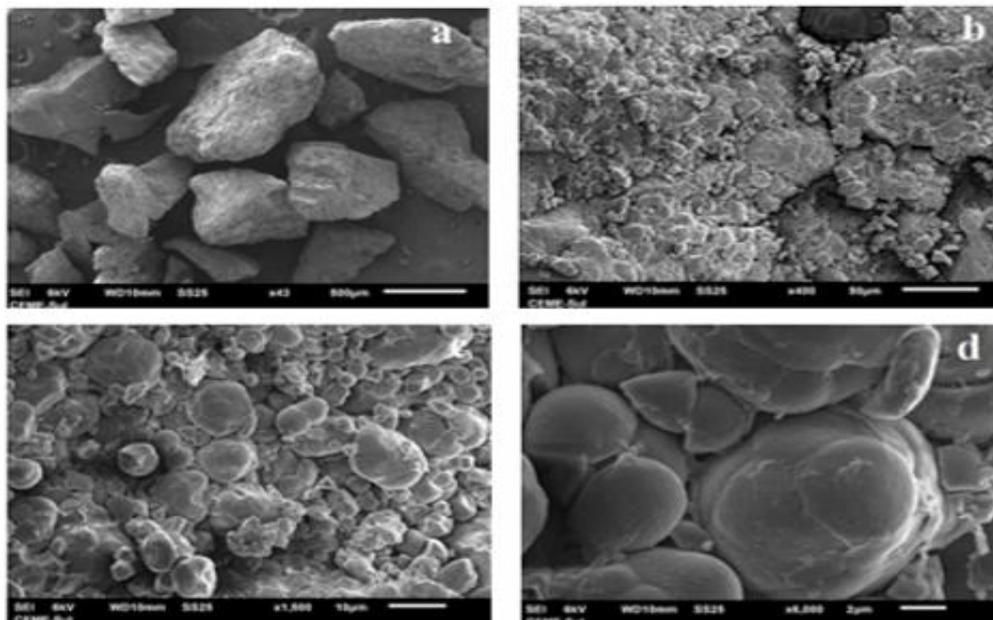
de arroz apresentou um teor de carboidratos de 75,93%, que mostrou-se comprovado pelos maiores picos do mapeamento em EDS serem carbono e oxigênio.

Nos estudos de Makarov, Munch e Moehring (2019), que realizaram o mapeamento da composição do grão de arroz através de análises de EDS, também foi possível encontrar carbono, oxigênio e nitrogênio, visto que estes componentes são os principais constituintes do grão de arroz juntamente com alguns compostos inorgânicos.

5.5 IMAGENS MEV DOS GRÂNULOS DE AMIDO

Utilizou-se a técnica de MEV afim de analisar principalmente as propriedades morfológicas e estruturais dos grânulos de amido do cultivar de arroz com diâmetro médio de 0,43mm. A Figura 14 apresenta imagens obtidas a partir do MEV ampliado em diferentes magnificações, sendo elas de 43X, 400X, 1500X e 6000X, e também compara com imagens de MEV de grãos de arroz de sofreram ação enzimática em ampliação de 2500X.

Figura 14: MEV do cultivar de arroz BRS AG em diferentes magnificações. Magnificações: a) 43 X correspondente a tamanho de partícula de 500 μ m ; b) 400 X correspondente a tamanho de partícula de 50 μ m ; c) 1500 X correspondente a tamanho de partícula de 10 μ m ; d) 6000 X correspondente a tamanho de partícula de 2 μ m.



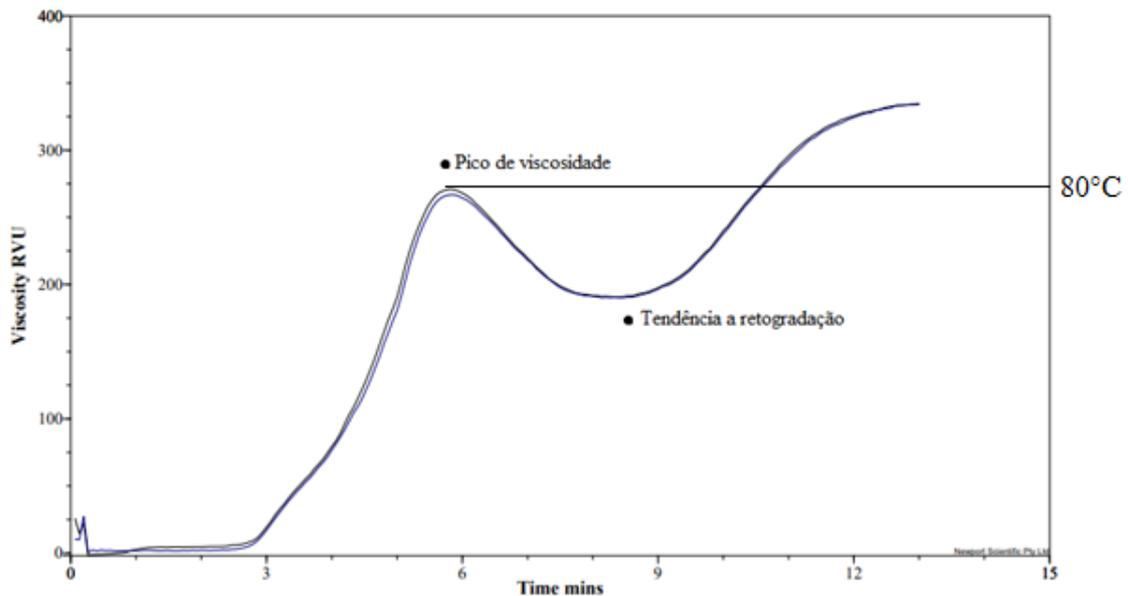
Nestas imagens é possível observar uma composição heterogênea, apresentando estruturas irregulares, com aspecto esponjoso, formas indefinidas e partículas aglomeradas,

pode-se identificar também, pequenas sujidades, no qual estão aderidos entre si e entre os grânulos.

5.6 PERFIL VISCOAMILOGRÁFICO DA MATÉRIA-PRIMA

A curva viscoamiliográfica da suspensão amido-água da farinha de arroz do cultivar BRS AG está apresentada na Figura 15.

Figura 15: Curva viscoamiliográfica da farinha de arroz BRS AG.



O viscoamilograma demonstra o perfil de viscosidade do amido. Este apresenta o início do aumento de viscosidade da pasta em aproximadamente 3min, posteriormente o pico de viscosidade em 6min e sua diminuição decorrente da quebra da viscosidade em aproximadamente 8min. No período de resfriamento da pasta de amido, o aumento da viscosidade é conduzido pela tendência a retrodegradação. Este comportamento está de acordo com o perfil viscoamiliográfico para amidos nativos que não sofreram nenhum tipo de modificação ou processamento(GUHA et al., 1998).

Os valores de pico de viscosidade, viscosidade final, quebra de viscosidade (*breakdown*) e tendência a retrodegradação (*setback*) da farinha de arroz do cultivar BRS AG estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Viscoamilograma da farinha de arroz do cultivar BRS AG.

Determinações	Resultados (RVU)
Pico de viscosidade	268,92 ± 1,92
Viscosidade final	334,38 ± 0,30
Quebra de viscosidade	78,46 ± 1,63
Tendência a retrogradação	143,02 ± 0,00

* Valores correspondem a média ± desvio padrão para amostras em triplicata

O pico de viscosidade ocorre após o início do aquecimento e antes do início do resfriamento, ele é um parâmetro que mede a resistência do grânulo de amido ao colapso provindo da temperatura. O ciclo de aquecimento é onde ocorre o intumescimento e a gelatinização do grânulo (GUHA et al., 1998).

A farinha de arroz do cultivar BRS AG apresenta seu pico de viscosidade na temperatura de 80°C em um tempo de 6min, isto também aconteceu com o cultivar CNA 8502 estudado por Becker (2010), que apresentou um teor de 23,41% de amilose e pico de viscosidade correspondente a temperatura de 71°C.

O aumento da viscosidade com o aumento da temperatura ocorre devido à perda parcial das pontes de hidrogênio que unem as frações do amido, elas acabam por originar sítios hidrofílicos que ligam-se as moléculas de água ocasionando o aumento da solubilidade (ASCHIERI; CARVALHO, 2006).

A viscosidade final da pasta de amido apresentou um valor mais elevado que o próprio pico de viscosidade, em torno de 334,38 RVU, durante o resfriamento, as pastas de amido *in natura* (sem processamentos físicos ou químicos), normalmente tendem à retrogradação resultando no aumento da viscosidade final (ASCHIERI et al., 2006). A retrogradação, trata-se do efeito de recristalização das moléculas de amilose e amilopectina (CARVALHO; ASCHIERI; CAL-VIDAL, 2002). Este fenômeno ocorreu após o ápice de viscosidade, quando o conteúdo de amilose e amilopectina foi resfriado formando uma pasta de amido opaca, com tendência a perda de água e maior rigidez (THOMAS; ATWELL, 1999).

A quebra de viscosidade representada neste perfil viscoamilográfico (78,46 RVU) representa a diferença entre o pico de viscosidade e o menor valor de viscosidade após o pico, esta propriedade nos permite validar a estabilidade do amido em temperaturas altas, além de ser importante para sabermos se após o cozimento do grânulo de amido, o mesmo se manterá

íntegro, um exemplo para esta discussão são os alimentos pré-cozidos (TEBA; ASCHIERI; CARVALHO, 2009).

5.7 CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA

A partir da caracterização enzimática, é possível o estudo das demais etapas subsequentes deste trabalho, as mesmas afetam diretamente os produtos obtidos nas hidrólises. A Tabela 11 mostra os resultados encontrados de atividade enzimática e porcentagem de proteínas encontradas nas enzimas em questão.

Tabela 11: Caracterização das enzimas.

	α –amilase (Amilase fúngica)	AMG (Amiloglucosidade)
Nitrogênio total – kijeldah (%)	13,63± 0,16	12,83± 2,31
Proteína Biureto – proteína solúvel (mg.mL⁻¹)	661,1± 1,19	600 ± 5,66
Atividade (U.mL⁻¹)	7,2 x 10 ⁵ ± 0,003	2,6 x 10 ⁴ ± 0,002
Atividade específica- proteína solúvel (U.mg⁻¹ de proteína)	1089,1	4,33

* Valores correspondem a média ± desvio padrão para análises em triplicata.

O pH ótimo de atuação da enzima amilase é o de 5,5 (tampão acetato) em temperaturas brandas de 37°C (TOMASIKI; HORTON, 2012). Para a enzima AMG também utilizou-se o pH 5,5 (tampão acetato) e uma temperatura de incubação de 40°C.

Relacionando o teor de proteínas totais pelo método de macro-kjeldahl com o teor de proteínas solúveis percebe-se que a enzima α –amilase tem um teor de proteínas maior que a enzima AMG e conseqüentemente uma atividade específica maior, isto deve-se também ao valor da atividade enzimática (Tabela 11) destas enzimas terem diferenciado-se entre si em 1000x.

A atividade enzimática (U.mL^{-1}) das enzimas α –amilase e AMG mostraram-se bastante elevadas em comparação a não serem enzimas recém compradas, desta forma, a enzima α –amilase e a AMG atuaram no amido, clivando suas ligações e formando produtos como os açúcares redutores.

5.8 LIQUEFAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA COM α – AMILASE FÚNGICA

A Tabela 12 apresenta os resultados da matriz do planejamento fatorial composto central do tipo 2^3 com a enzima α – amilase fúngica na etapa de liquefação da hidrólise enzimática. Os valores quantificados em açúcares redutores variaram de $1,31 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ para $9,95 \mu\text{mol.mL}^{-1}$, onde a maior conversão foi observada no ensaio 3, em condições de relação sólido/líquido 1/20, temperatura de 60°C e concentração enzimática de 2 U.mL^{-1} .

O pH de trabalho nas hidrólises foi de 5,5 e a curva analítica utilizada foi a curva de glicose para a obtenção da concentração dos açúcares redutores.

Tabela 12: Planejamento para o cultivar de arroz BRS AG com a resposta em açúcares redutores.

Ensaio	Relação sólido/líquido	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Concentração enzimática (U.mL^{-1})	AR ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$)
1	1/20 (-1)	40 (-1)	2 (-1)	4,61
2	1/20 (1)	40 (-1)	2 (-1)	1,31
3	1/20 (-1)	60 (1)	2 (-1)	9,95
4	1/40 (1)	60 (1)	2 (-1)	5,70
5	1/20 (-1)	40 (-1)	8 (1)	6,22
6	1/40 (1)	40 (-1)	8 (1)	2,55
7	1/20(-1)	60 (1)	8 (1)	4,85
8	1/40(1)	60 (1)	8 (1)	4,94
9	1/30 (0)	50 (0)	5 (0)	4,45
10	1/30 (0)	50 (0)	5 (0)	4,95
11	1/30 (0)	50 (0)	5 (0)	4,26

O tempo de 30min das reações foram baseados nos estudos de Barcelos (2012), que estudou a hidrólise do amido dos grãos de sorgo com enzimas comerciais, e também nos estudos de Peres (2013), que estudou a hidrólise do amido de arroz com enzimas comerciais

A Tabela 13 apresenta os efeitos das variáveis sobre a resposta analisada. Dentre as 3 variáveis estudadas, apenas duas apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$). A primeira delas foi a relação sólido/líquido (S/L), que apresentou efeito significativo e negativo, indicando que um menor volume de água para a mesma massa da amostra de arroz, torna a relação sólido/líquida menos diluída em relação aos açúcares redutores e com isso ocorre o aumento da concentração dos açúcares, mostrando que a relação 1/20 seria a melhor diluição. Semelhante acontece ao trabalho de Neto (2018), onde mostrou que quanto menos diluído a relação sólido/líquido, maior era a quantidade de AR obtidos a partir da palha de arroz. A temperatura apresentou um efeito significativo positivo, ou seja, com aumento da temperatura de 40°C para 60°C aumenta a produção de açúcares redutores, isto devido a aproximação ao valor de temperatura ótima das amilases, que é em torno de 60 °C. O efeito significativo encontrado para a variável temperatura mostra-se de acordo com os estudos de Barcelos (2012)

A variável concentração enzimática não apresentou efeito significativo e, por isso, foi fixada em 2U.mL⁻¹, utilizando desta maneira uma menor quantidade de enzima e com isso empregando um custos mais acessível para a reação, ou seja, a enzima não é necessária em grandes quantidades para que a reação tenha o efeito esperado, visto que a mesma tem uma ótima atividade, logo torna-se adequado em termos de gastos nesse insumo. Desta forma manteve-se fixado para a próxima etapa do processo a concentração enzimática de 2U.mL⁻¹, temperatura de 60°C e a relação sólido/líquido de 1/20.

Tabela 13: Estimativa dos efeitos para AR ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$) no planejamento 2³.

Fatores	Efeito	Erro padrão	t(3)	p- valor
Média	4,89	0,65	7,49	0,00
S/L*	-5,28	0,80	-6,61	0,01
T*(°C)	5,19	0,80	6,49	0,01
Conc. Enzim. (U.mL⁻¹)	1,75	0,80	2,19	0,12

* Variáveis com efeito significativo

O modelo de regressão obtido a partir da Tabela 13 de estimativa de efeitos para o planejamento experimental é descrito a partir da Equação (7), onde X1 representa a relação sólido/líquido, X2 a temperatura e X3 a concentração enzimática.

$$AR = 2,44 - 2,64X_1 + 2,6X_2 + 0,88X_3 - 0,9X_1X_2 - 0,75X_1X_3 - 0,17X_2X_3 \quad (7)$$

Como demonstrado na equação acima, o termo que mais influência na produção de açúcares redutores é o relacionado a temperatura, porém nenhuma interação de combinação entre fatores mostrou-se significativa, mostrando que eles exercem influência individualmente sobre a reação, porém não de forma conjunta, visto que em forma conjunta não apresentaram-se significativos.

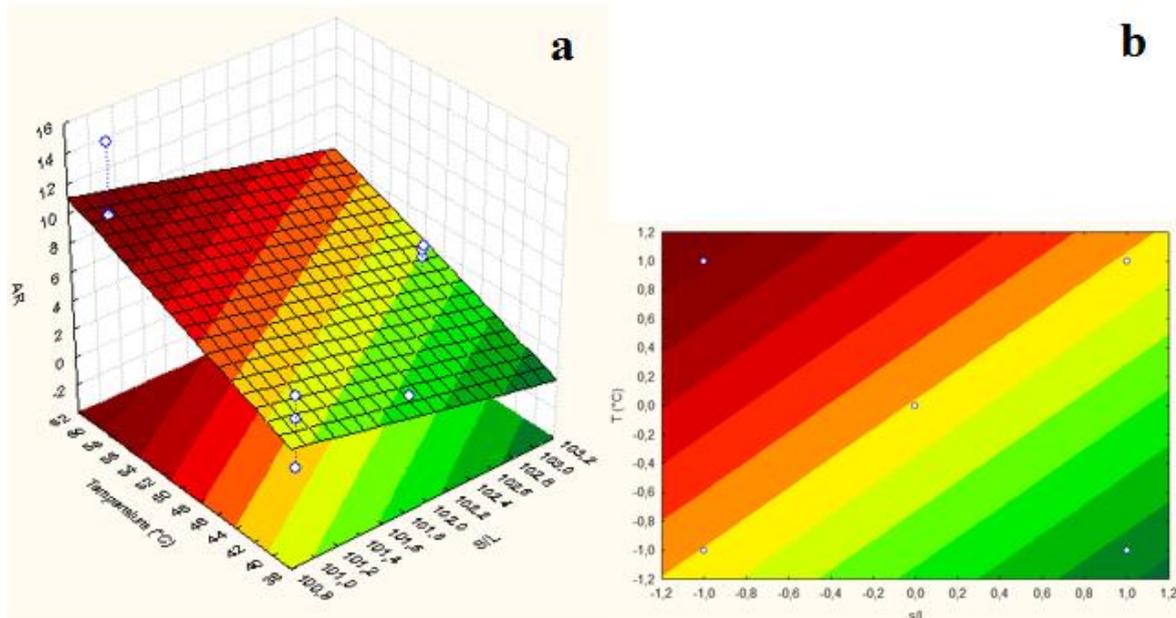
Todos os termos que apresentaram efeito significativo (relação sólido/líquido e temperatura) foram utilizados para o cálculo da ANOVA, demonstrado na Tabela 14. Como o valor do F calculado de 17,34, mostrou-se superior ao F tabelado de 4,46, conclui-se que o modelo não é preditivo, porém é significativo devido ao coeficiente de determinação (R^2) de 0,9716, que foi bem próximo a 1, logo esse modelo é dado como significativo e não preditivo.

Tabela 14: ANOVA para enzima α - amilase.

Fator de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F calculado	F tabelado	R²
Regressão	109,64	2	54,82	17,34	4,46	0,97
Resíduo	25,29	8	3,16			
Total	134,93	10				

A Figura 16 apresenta a superfície de resposta e a curva de contorno, que com o aumento da temperatura e a menor relação sólido/líquido nos fornece o maior resultado em termos de açúcares redutores.

Figura 16: Superfície de resposta para AR (a) e curva de contorno (b) em função da temperatura e da relação sólido/líquido para o cultivar BRS AG.



5.9 SACARIFICAÇÃO COM AMG

Com as variáveis da liquefação definidas pelo planejamento experimental 2^3 , deu-se seguimento para a etapa de sacarificação pelo qual mostrou-se eficiente para a liberação de açúcares redutores, visto que ao adicionar a enzima sacarificante (AMG) nas condições descritas neste trabalho, verificou-se o aumento da concentração dos mesmos. A hidrólise resultante da etapa da liquefação (amilase) juntamente com sacarificação (AMG) culminou em um total de $11,35 \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$. Com a utilização da enzima sacarificante, esta hidrólise representa um aumento de 14x em açúcares redutores em comparação ao melhor resultado da liquefação. Este resultado é resultante da melhor etapa da liquefação juntamente a uma relação sólido/líquido de 1/20, temperatura de 55°C e concentração enzimática de $4480,2 \text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$.

5.10 RENDIMENTO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Nas condições de hidrólise de 30min, $2 \text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ e temperatura de 60°C para a etapa da liquefação (amilase fúngica), juntamente a 30min, $4480,2 \text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ a uma temperatura de 55°C

(AMG), o que totalizou 1h de hidrólise, foi possível obtermos a eficiência desta melhor condição. A concentração de açúcares redutores após a sacarificação foi de 11- 35moles.mL⁻¹, que representa 4,5894% do rendimento em 1h, em 24h isto equivaleria a 110% de rendimento. A porcentagem de rendimento pode ser observada a partir do cálculo a baixo:

$$Rdto \% = \frac{(0,96 * 20 * 180 * 100)}{(1 * 0,77 * 1,11 * 10^6)} = 0,404352 * AR = 4,5894 \% em 24h = 110\%$$

Onde:

0,96 – massa (g) de farinha desengordurada por grama de farinha integral;

20 – mL da suspensão;

180 – PM de glicose;

0,77 – massa equivalente (g) de amido em 100g de amostra;

1,11 – fator de conversão de amido para AR;

10⁶ – fator de conversão de amido para micromoles.

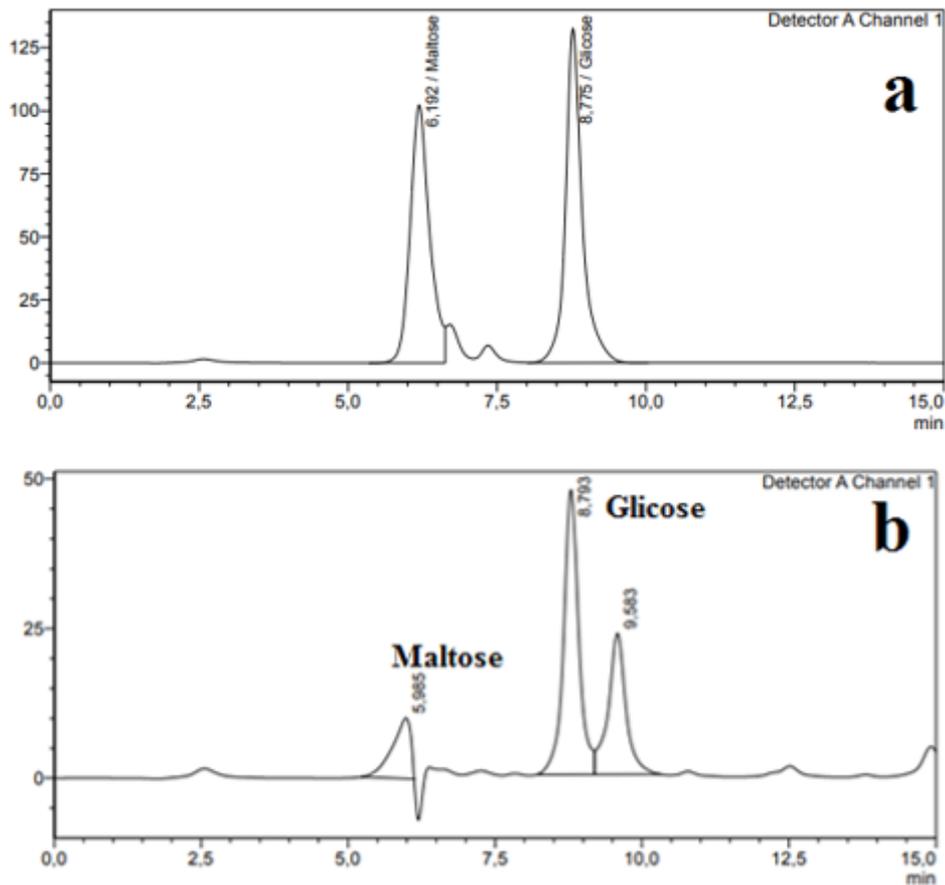
Júnior et al. (2016) que também utilizou o cultivar de arroz BRS AG para obtenção de açúcares como glicose, obteve um valor de 89,4% de eficiência em suas hidrólises, o mesmo realizou hidrólises enzimáticas de 24h com a utilização de uma enzima alfa-amilase bacteriana com temperatura de 90°C na etapa de liquefação, e a enzima amiloglicosidade na etapa da sacarificação, no qual ao comparar ao tempo estudado de 1h por este trabalho, acaba resultando em um rendimento de 110%. Vale ressaltar que os estudos de Júnior et al. (2016) não comentam sobre a atividade enzimática das enzimas em questão.

5.11 IDENTIFICAÇÃO DOS AÇÚCARES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

Para a determinação de quais açúcares estavam presentes nas amostras após o processo de hidrólise, foi realizado por cromatografia líquida. O cromatograma de separação de açúcares apresentado na Figura 17 foi obtido no hidrolisado a 30min, 2U.mL⁻¹ e temperatura de 60°C para a etapa da liquefação (amilase fúngica), juntamente a 30min, 4480,2U.mL⁻¹ a uma temperatura de 55°C (AMG), totalizando 1h de hidrólise. Os picos do cromatograma são referentes a glicose e maltose, glicose no tempo de retenção de 8,793min

e concentração de 6,550g/L e maltose no tempo de 5,985min e concentração de 1,811g/L, mostrando que a hidrólise mostrou-se eficiente para a produção de açúcares e liquidificação e sacarificação da farinha de arroz do cultivar BRS AG.

Figura 17: Cromatograma de separação de glicose e maltose.



* a – Padrões de glicose e maltose na concentração de 10 g/L; b – Cromatografia resultante da liquefação mais sacarificação.

O resultado do cromatograma deu-se provavelmente devido a hidrólise estudada, ter sido realizada de forma ao favorecimento de açúcares como a glicose, e com isso o surgimento de uma quantidade considerável de glicose e uma quantidade menor de maltose. Utilizou-se de duas enzimas do tipo sacarificante, este fato ocasionou na resposta em elevada concentração de glicose, para um melhor resultado em concentração de outros açúcares como a maltose, deve-se utilizar por exemplo uma α -amilase bacteriana ao invés de fúngica e desta forma não favorecendo apenas o açúcar glicose.

A amilase fúngica na primeira etapa da liquefação tem preferência por ligações α -1,4 de forma não seletiva sobre vários pontos da cadeia simultaneamente, a mesma atua tanto na amilose quanto na amilopectina (componentes do amido), desta forma gerando tanto glicose como maltose (BRUCHMANN, 1980).

A enzima AMG tem preferência pelas ligações α -1,4 e α -1,6 do amido, além da amilose e amilopectina outras moléculas como a maltose, dextrinas e glicogênio são hidrolisados por esta enzima, logo, a AMG tem uma alta taxa de conversão em glicose. Spier (2005) menciona que em inúmeros estudos esta enzima é utilizada em amidos liquefeitos para a obtenção de glicose e dextrinas.

Desta forma, a utilização de uma amilase fúngica seguida de uma amiloglicosidade (AMG), mostrou-se eficiente para a liquefação e sacarificação da farinha de arroz no cultivar BRS AG, pois gerou açúcares como glicose e maltose. Levando em consideração o cultivar de arroz utilizado nos ensaios, nota-se a sua comprovação diante do teor de amido, pois as enzimas atuantes geraram quantidades significativas em açúcares, comprovando os 77,91% de amido presente no substrato enzimático contido no cultivar de arroz BRS AG, visto que para ocorrer a geração de açúcares faz-se necessário a presença de amido.

O pico desconhecido, ao lado do pico de glicose, trata-se de um pico que não pode ser identificado pelo cromatograma, pode-se assumir que provavelmente seja uma tetramaltose ou trimaltose. De forma geral, as enzimas estudadas nas condições estabelecidas obtiveram uma concentração de 6,550g/L para a glicose e 1,811g/L para a maltose.

6 CONCLUSÕES

A farinha dos grãos de arroz do cultivar BRS AG, com diâmetro de Sauter de 0,43mm apresentou 0,54% de cinzas, 8,31% de proteínas, 4,68% de lipídeos, 77,91% de amido com 25,20% de amilose. Esta matéria-prima atingiu seu pico de gelatinização em 6min a uma temperatura de 80°C. A liquefação, por hidrólise enzimática, utilizando uma relação 1 g de massa de farinha desengordurada para cada 20mL de solução aquosa, pH de 5,5, com concentração de 2 U.mL⁻¹ de α -amilase fúngica, a uma temperatura de 60 °C por 30min de hidrólise obteve-se uma concentração de 9,95mM de açúcares redutores expresso como glicose. A sacarificação dessa massa com uma concentração de AMG de 4480,2U.mL⁻¹, durante uma hidrólise de 30min a 55°C mantendo o pH de 5,5 permitiu obter uma concentração de açúcares redutores de 35mM expresso como glicose. A identificação dos açúcares resultantes foram determinados por CLAE, no qual evidenciou maior concentração de formação de glicose do que de maltose, comprovando-se dessa forma a facilidade de conversão do amido em glicose nas condições estudadas, o que evidencia o potencial de utilização desta matéria-prima na obtenção de açúcares redutores, no qual os mesmos poderiam ser utilizados em diversas finalidades e desta forma mostrando a utilidade científica do estudo em questão.

7 SUGESTAO PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar processos de obtenção de açúcares redutores a partir desta matéria-prima com outras amilases comerciais;
- Otimizar o processo enzimático, tanto para quanto para a sacarificação enzimática;
- Aplicar este processo em outros cultivares de arroz;
- Estudar a potencialidade de obtenção de açúcares a partir de outras matérias primas amiláceas;

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAM- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA, 2004. METODOLOGIA DE DETERMINAÇÃO DE AMIDO DIGESTÃO ÁIDA EM MIROONDAS.

AMBIGAIPALAN, P.; HOOVER, R.; DONNER, E.; LIU, Q. **Retrogradation characteristics of pulse starches**. Food Research International, Canada, 6 jun. 2013.

ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. **Características de fubá extrusado**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2006. 3 p. (Comunicado Técnico, 98).

BARBOSA, L. N.; GARCIA, L. V.; TOLOTTI, K. D.; GOELLNER, T.; AUGUSTO-RUIZ, W.; ESPÍRITO SANTO, M. **Elaboração de embutido tipo mortadela com farinha de arroz**. Vetor, Rio Grande, v. 16, n. 1 e 2, p. 11-20, 2006.

BARCELOS, C.A. **Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacaríneo para a produção de bioetanol**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

BARCZA, Marcos Villela. **Hidrólise**. Escola de Engenharia de Lorena, EEL. USP. Disponível em: . Acesso em 23 fev. 2020.

BECKER, Fernanda Salomoni. **CARACTERIZAÇÃO DE FARINHAS CRUAS E EXTRUSADAS OBTIDAS A PARTIR DE GRÃOS QUEBRADOS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE ARROZ**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

BENINCA, C., et al., **The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures**. Thermochemica Acta, 2013. 552(65-69)

BIDUSKI, B.; SILVA, W. M. F.; COLUSSI, R.; EL HALAL, S. L. M.; LIM, T.; DIAS, Á. R. G.; ZAVAREZE, E. R. Starch hydrogels: **The influence of the amylose content and gelatinization method**. International Journal of Biological Macromolecules, a Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, 22 fev. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Norma de identidade, qualidade, embalagem e apresentação do arroz**. Brasília, 1988. 28 p. Disponível em: Acesso em: 08 mai. 2020.

BRUCHMANN, E. Bioquímica técnica. Zaragoza: Editorial Acribia, 1980. 233 p. 146
CANNEL, E.; MOO-YOUNG, M. **Solid-state Fermentation Systems**. Process Biochemistry. Jun, 1980. p. 2-7.

CARVALHO, R.V.; ASCHERI, J.L.R.; CAL-VIDAL, J. **Efeito dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de extrusados (3G) de misturas de farinhas de trigo, arroz e banana**. Ciência e Agrotecnologia, v. 26, n. 5, p. 1006-1018, 2002.

CASTRO, E. da M. de; VIEIRA, N. R. de A.; RABELO, R. R.; SILVA, S. A. da. **Qualidade de grãos em arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 30 p. (Circular Técnica, 34).

CEREDA, M. P. Amidos Modificados. **Bol. SBCTA**. n. 30, v. 1, p. 31-36, 1996.

CEREDA M. et al. **Propriedades Gerais do Amido**, 2002.

DIVAKAR, S., 2013. **Enzymatic Transformations**. Springer, Kerala, India.

DOAN, H.X.N. Characterization of rice starch gels reinforced with enzymatically-produce resistant starch. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], 7 jan. 2019.

DOMENEZ, E.P. **PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE AMIDO E FARINHA DE ARROZ TRATADOS POR ANNEALING**. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa.2016

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Empresa brasileira de pesquisa agropecuária**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/clima-temperado>>. Acesso em: 01 dez. 2019.

FOOD INGREDIENTS BRASIL: Amido. São Paulo: Vogler, 2015.

FUJITA, N. Starch. **Biotechnology**, Akita City, Japan, 2017

GONÇALVEZ, Maria Flávia Vaz et al. Tratamento térmico do amido de batata-doce (*Ipomoea batata* L.) sob baixa umidade em micro-ondas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, jun. 2009.

Gopinath, S.C.B., Anbu, P., Arshad, M.K.M., Lakshmi priya, T., Voon, C.H., Hashim, U., Chinni, S.V., 2017. **Biotechnological processes in microbial amylase production**. *Biomed. Res. Int.* 2017, 1272193.

GUHA, M.; ALI, S.Z.; BHATTACHARYA, S. **Screening of variables for extrusion of rice flour employing a Plackett-Burman design**. *Journal of Food Engineering*, v. 57, p. 135-144, 2003.

HIJAZIN1, Carlos Atalla Hidalgo; SIMÕES, Aline Tonial; SILVEIRA, Diogo Rhoden. Hidrólise ácida, alcalina e enzimática. **Revista Atitude**, Porto Alegre, jun. 2010.

HUA, X., YANG, R., 2015. **Enzymes in starch processing**. In: Chandrasekaran, M. (Ed.), *Enzymes in Food and Beverage Processing*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 139–169.

ILO, S.; LIU, Y.; BERGHOFER, E. **Extrusion cooking of rice flour and amaranth blends**. *Food Science and Technology*, v. 32, p. 79-88, 1999.

ITUEN E U U, Ukpakha A C. 2011. **Improved method of par-boiling paddy for better quality rice**. World J Appl Sci Technol, 3(1): 31–40.

JENNINGS, P. R.; COFFMAN, W. R.; KAUFFMAN, H. E. El mejoramiento del arroz. In: TASCÓN J. E.; GARCIA D., E. **Arroz: investigación y producción**. Cáli: CIAT, 1985. p. 205-231.

JÚNIOR, A. M. M.; FAGUNDES, P. R. R.; FRANCO, D. F.; MORAIS, O. P.; SIQUEIRA, F. G.; STRECK, E. A.; AGUIAR, G. A.; FACCHINELLO, P. H. K. **BRS AG: first cultivar of irrigated rice used for alcohol production or animal feed**. Crop Breeding and Applied Biotechnology, [s. l.], 2 ago. 2016.

JÚNIOR. A. ISSN 1516-8654, Junho, 2015. **BRS AG Cultivar de arroz irrigado desenvolvida como matéria-prima para produção de álcool de cereais e/ou alimentação animal**, Pelotas, RS, ano 372, 2015.

ZHOU.K.; SLAVIN.M.; LUTTERODT. H.; WHENT. M.; ESKINZ N. A. M. in **Biochemistry of Foods** (Third Edition). Edited by N. A. Michael Eskin and Fereidoon Shahidi, ISBN : 978-0-12-242352-9. Elsevier Inc. 2013

LANGER, C.N.; OLIVEIRA, N.T.E.; SANGALI, C.P.; CASTILHA, L.D.; BERWANGER, E.; OLIVEIRA, T.M.M.; HENZ, J.R. **Avaliação da composição química e energética de seis cultivares de milho da região oeste do estado do Paraná**. VI Fórum Internacional de Suinocultura, [s. l.], 26 set. 2012.

LELIÉVRE, J.; LIU, H. A review of thermal studies of starch gelatinization. **Thermochemica Acta**, n. 246, p. 309-315, 1994.

LEONEL, Magali; DO CARMO, Eequiel Lopes; LEONEL, Sarita; FRANCO, Célia Maria Landi; CAMPANHA, Raquel Bombarda. **Extração e caracterização do amido de diferentes genótipos de bananeira**. Bras frutic, Instituto de Bioiências, Letras e Ciências Exatas. Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, v. Volume Especial, p. 599-605,

17 out. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v33nsp1/a82v33nsp1.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2020.

LIN, Qinlu; XIAO, Huaxi; LIU, Gao-qiang; LIU, Zhonghua; LI, Lihui; YU, Fengxiang. Production of Maltose Syrup by Enzymatic Conversion of Rice Starch. **Food And Bioprocess Technology**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 242-248, 7 set. 2011. Springer Science and Business Media LLC.

LINN. **Starch**. 2020. Disponível em : pharmacy180.com/article/starch-116/. Acesso em: 10 ago.2020.

LIU, X., KORAKE, C., 2017. **Microbial enzymes of use in industry**. In: Brahmachari, G., Demain, A.L., Adrio, J.L. (Eds.), *Biotechnology of Microbial Enzymes*. Academic Press - Elsevier, London, UK, pp. 267–298.

LUMEN, B.O.; CHOW, H. Nutritional quality of rice endosperm. In: LUH, B. S. (Ed.). **Rice utilization**. 2.ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1995. V.2, cap.15, p.363-395.

MACLEAN, J.L.; DAWE, D.C.; HARDY, B.; HETTEL.G.P. Hettel.Rice **Almanac**. 3 ed. FAO. 2002

MACEDO, G.A.; PASTORE, G. M.; SATO, H. H.; PARK, Y. K. **BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL DE ALIMENTOS**. SÃO PAULO: VARELA, 2005.

MAKAROV, A.; MUNCH, C.; MOEHRING, T. Spatial distribution mapping of molecules in the grains of different rice landraces, using desorption electrospray ionization mass spectrometry. **A virtual event designed for the masses**, [s. l.], 23 jan. 2019.

MALDONADO, M.G.; LOPEZ, O.P. Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.5, p.373-403, 1995.

MEIRELES. A.; ALAY. A.C.A. **Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources.** 2015.

MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C.; CASTRO, H. F.; GIORDANO, R. L. C. **Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial.** Quím. Nova, v. 34, p. 831-841, 2011.

MIRANDA NETO, Miral. **Desenvolvimento de processo hidrotérmico e enzimático para a obtenção de açúcares redutores a partir da palha de arroz BRS -AG.** 2018. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2018.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica de Lehninger.** 5 ed. São Paulo: Artmed Editora. 2011.

NIGAM, P.; SINGH, D. Enzyme and microbial systems involved in starch processing. **Enzyme and Microbial Technology**, v.17, n.9, p.770-778, 1995.

OKAFOR, D.C.; OFOEDU, C.E.; NWAKAUDU, A.; DARAMOLA, M.O. **Enzymes as Additives in Starch Processing: A Short Overview. In: ENZYMES in Food Biotechnology.** University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa: Elsevier Inc, 2019. cap. 10, p. 149-167

OKUDOH, V.; TROIS, C.; WORKNEH, T.; SCHMIDT, S. The potential of cassava biomass and applicable technologies for sustainable biogas production in South Africa: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.39, 2014, 1035-1052.

PEREIRA, Jorge Luís Gabriel F. S. Costa. **Determinação do teor de açúcar numa amostra de produto alimentar.** 2012. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas.** 2003., 118f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência

de Alimentos) –Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2003.

REGULY, Júlio Carlos. **Biotecnologia dos processos fermentativos: Matérias-primas Agrícolas, processos e produtos.** 1996. 1v.330p.

ROCHA, Thaís de Souza. **Estudo das características estruturais de amido: efeito do "annealing", da hidrólise ácida e da hidrólise enzimática.** 2010. 181 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2010.

RODRIGUES. M.H.P.; RUIZ. W.A. **EFEITO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA NA MORFOLOGIA DO AMIDO DE ARROZ. COBEQ 2016.**

Rohaya M S, Masakat M Y, Maaruf A G. 2013. **Rheological properties of different degree of pregelatinized rice flour batter.** 344 Rice Science, Vol. 23, No. 6, 2016 Sains Malay, 42(12): 1707–1714.

Romani, V.P., Prentice-Hernandez, C., Martins, V.G., 2017. **Active and sustainable materials from rice starch, fish protein and orégano essential oil for food packaging.** Ind>Crop.Prod. 97, 268-274.

SACCHETTI, G.; PINNAVAIA, G. G.; GUIDOLIN, E.; DALLA ROSA, M. Effects of extrusion temperature and feed composition on the functional, physical and sensory properties of chestnut and rice flour-based snack-like products. **Food Research International**, v. 37, p. 527-534, 2004.

SCIPIONI, Gustavo. **Otimização do Processo de Sacarificação do Amido da Batata utilizando Enzimas Amilolíticas.** 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Processos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

SINGH, N., et al., **Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources.** Food Chemistry, 2003. 81: p. 219-231.

SINGH J.; KAUR.L. **Potato Starch and Its Modification. In Advances in Potato Chemistry and Technology. (Second Edition)**, Elsevier. ISBN: 978-0-12-800002-1. 2016.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO – SOSBAI. 2014. **Recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. Disponível em: http://www.irga.rs.gov.br/upload/20141205095320recomendacoes_tecnicas_sosbai_2014.pdf. Acesso em 10 de jul. 2020.

SPIER, Michele Rigon. **PRODUÇÃO DE ENZIMAS AMIOLÍTICAS FÚNGICAS α -AMILASE e AMILOGLUCOSIDASE POR FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO**. 2005. 178 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

SUN, Y.; DUAN, X.; WANG, L.; WU, J. **Enhanced maltose production through mutagenesis of acceptor binding subsite +2 in *Bacillus stearothermophilus* maltogenic amylase**. *Journal of Biotechnology*, [s. l.], 12 nov. 2015.

TAGHINEZHAD, E.; KHOSHTAGHAZA, M. H.; MINAEI, S.; SUZUKI, T.; BRENNER, T. **Relationship Between Degree of Starch Gelatinization and Quality Attributes of Parboiled Rice During Steaming**. Elsevier, China, v. vol 23, p. 1-6, 6 jun. 2016.

TAIRA, H.; ITANI, T. Lipid content and fatty acid composition of brown rice of cultivars of the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, p.460-462, 1988.

TEBA, C. S.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. **Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades de pasta de massas alimentícias pré-cozidas de arroz e feijão**. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 411-426, 2009.

Terrapon, N., Lombard, V., Drula, E., Coutinho, P.M., Henrissat, B., 2017. **The cazy database/ the carbohydrate-active enzyme (cazy) database: Principles and usage guidelines**. In: *A Practical guide to using glycomics databases*. Springer, Japan, pp.117-131.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches. Eagen Press Handbook Series.** American Association of Cereal Chemists. St. Paul, 1999.

TOMASIK, Piotr; HORTON, Derek. **Enzymatic conversions of starch.** Chemistry Department, Ohio State University, Columbus, Ohio, USA: [s. n.], 2012. v. vol 68

WALTER, M., MARCHEZAN, E., AVILA, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v.38, 2008, 1184 – 1192.

WEBER, Fernanda Hart; QUEIROZ, Fernanda Paula Collares; CHANG, Yoon Kil. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, cereoso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 5, n. 8, p.1-6, dez. 2009.

WEBER, Jéssica Muniz. **Arroz: características químicas, culinárias e nutricionais das diferentes variedades consumidas no Brasil variedades.** 2012. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição) - Universidade de Brasília, Faculdade de Ciência da Saúde, [S. l.], 2012.

YEH, A-I.; WU, T-Q.; JAW, Y-M. **Starch transitions and their influence on flow pattern during single-screw extrusion cooking of rice flour.** *Trans IChem E*, v. 77, p. 47-54, 1999.

Zhang J, Cheng H T, Xu H, Xia Y J, Liu C X, Xu Z J. 2015. **Relationship between cooking-eating quality and subspecies differentiation in RILs population from indica and japonica crossing.** *Chin J Rice Sci*, 28(2): 206–210.

ZAVAREZE, Elessandra da Rosa; SILVA, Carolina Moroni; SALAS-MELLADO, Myriam; PRENTICE-HERNÁNDEZ, Carlos. **Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas.** In: *Quím. Nova*. vol.32 no.7 São Paulo: 2009. Disponível em: Acesso em: 23 Fev. 2020.