

## GRAU DE HIDRÓLISE DE PROTEÍNA DE ARROZ HIDROLISADA COM ENZIMAS PEPSINA E ALCALASE

ANDRESSA DE ASSIS LOURENÇO<sup>1</sup>; CHAIANE GOULART SOARES<sup>2</sup>;  
ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE<sup>3</sup>; MOACIR CARDOSO ELIAS<sup>4</sup>; NATHAN  
LEVIEN VANIER<sup>5</sup>; FABIANA TORMA BOTELHO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Nutrição. Faculdade de Nutrição/UFPel: [andressalourenco@gmail.com](mailto:andressalourenco@gmail.com)

<sup>2</sup>Acadêmica do Curso de Nutrição. Faculdade de Nutrição/UFPel: [chaiane.goulart.s@gmail.com](mailto:chaiane.goulart.s@gmail.com)

<sup>3</sup>Docente da Faculdade de Agronomia da UFPel: [elessandrad@yahoo.com.br](mailto:elessandrad@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Docente da Faculdade de Agronomia da UFPel: [eliasmc@uol.com.br](mailto:eliasmc@uol.com.br)

<sup>5</sup>Pós-Doutorando do PPG em Ciência e Tecnologia Agroindustrial: [nathanvanier@hotmail.com](mailto:nathanvanier@hotmail.com)

<sup>6</sup>Docente da Faculdade de Nutrição/UFPel: [fabibotelho@hotmail.com](mailto:fabibotelho@hotmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Entre os estados brasileiros, o Rio Grande do Sul é um grande produtor de arroz, entretanto, o beneficiamento gera grande quantidade de resíduos. O farelo de arroz é um subproduto da indústria de arroz, obtido durante a operação de polimento sendo uma fração do grão de arroz nutricionalmente importante, pois se concentram proteínas (11 – 17%), fibras (6 - 14%), lipídeos (12 – 22%), além de minerais e vitaminas (PESTANA; MENDONÇA; ZAMBIAZI, 2008). O Brasil produz anualmente cerca de um milhão de toneladas de farelo de arroz, sendo seu principal uso para a alimentação animal e uso em fertilizantes (GASTALDINI; IRION, 2001).

Entre os cereais, a qualidade da proteína do farelo de arroz só é inferior à proteína da aveia, superando as proteínas do trigo e do milho, com digestibilidade em torno de 70 - 75%. Além disso, as proteínas extraídas do farelo de arroz têm sido consideradas favoráveis como ingredientes funcionais, devido a sua estabilidade térmica e ao grande potencial de aplicação, com a capacidade para melhorar a retenção de gás e as propriedades de mistura e condicionamento de massas em produtos de panificação, além de benefícios relacionados à prevenção de doenças, em virtude dos compostos bioativos (ABDULHAMID; LUAN, 2000; TANG et al., 2003; PARRADO et al., 2006).

O tratamento enzimático contribui para a melhoria das propriedades químicas, nutricionais e funcionais das proteínas e principalmente nas características de absorção proteica. A hidrólise proteica é o processo de clivagem das ligações peptídicas, originando peptídeos de diferentes tamanhos e aminoácidos livres. Tal processo pode ser realizado por ação de ácidos, bases ou enzimas e o comprimento da cadeia dos peptídeos influencia sua taxa de absorção, sendo que a extensão da proteólise pode ser avaliada pelo grau de hidrólise, referente ao percentual de clivagem das ligações peptídicas de uma proteína. Ademais, fórmulas contendo oligopeptídeos, especialmente di e tri-peptídeos, possuem maior valor nutricional do que aminoácidos livres ou proteínas intactas (ADLER-NISSEN 1981; FRENHANI; BURINI, 1999; GAUDIX et al., 2000; BOZA et al., 2000; WANG; WANG, 2001; SILVA et al., 2009).

Pelo lado tecnológico, pesquisas que investiguem a funcionalidade dos hidrolisados proteicos, como as propriedades emulsificantes, retenção de água e óleo e estabilidade de espuma, são importantes para especificar suas características de acordo com sua utilização na indústria, quer seja em iogurtes, cremes, pastas e pães. Entretanto, esses estudos são pouco explorados no Brasil, mas são importantes para agregar valor aos subprodutos da indústria,

como é o caso do farelo de arroz considerado um problema de grande impacto ambiental (FURTADO et al., 2001; SCHMIDT; SALAS-MELLADO, 2009).

Diante disso, objetivou-se com este trabalho determinar o grau de hidrólise de proteína de arroz hidrolisada pela ação das enzimas pepsina e alcalase, a fim de posteriormente avaliar suas propriedades funcionais.

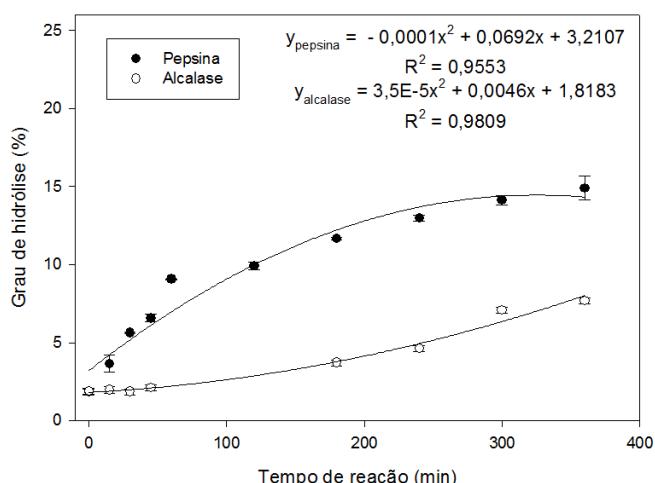
## 2. METODOLOGIA

Foi utilizada a proteína isolada de arroz *Silk* 90%, extraída de grãos de arroz integral orgânico e obtida através de processo enzimático realizado em baixa temperatura, sendo isento de produtos químicos. A proteína isolada foi doada pela empresa *Gramkow Alimentos*®, com 90 g de proteínas, 2 g de carboidratos, isenta de gordura e fibras, por 100 g.

Para o preparo dos hidrolisados, o isolado proteico foi suspenso em tampão fosfato de sódio 35 mM para obter uma solução 5% (p/v). O material permaneceu sob agitação overnight a 4 °C. O processo de hidrólise foi realizado sob condições controladas (temperatura, pH e agitação por 360 minutos), seguindo métodos adotados na literatura: 37 °C/pH 2,5 para pepsina e 50 °C/pH 7,0 para alcalase (HE et al., 2013; KIM et al., 2009). As hidrólises foram realizadas utilizando 5% de enzima:substrato (p/p) por até 6 horas de reação. Após atingir o tempo de reação desejado, com intervalo de 30 minutos, o homogeneizado foi imediatamente aquecido a 90 °C por 10 min para a inativação enzimática. O material foi então, centrifugado a 13.000 rpm por 15 min. O sobrenadante foi coletado, dialisado e liofilizado. O grau de hidrólise foi determinado de acordo com o método descrito por Avramenko, Low e Nickerson (2013). Este método baseia-se na reação do Ácido Trinitrobenzenosulfônico (TNBS) com os grupamentos terminais dos hidrolisados proteicos. A determinação do máximo grau de hidrólise, para efeito de cálculo, foi realizada por digestão ácida dos hidrolisados, com HCl 6N a 110 °C. Os dados foram submetidos aos cálculos de média (ANOVA) e regressão múltipla, sendo significativo quando R for  $\geq 0,95$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentados os graus de hidrólise dos hidrolisados proteicos de arroz obtidos pela ação das enzimas pepsina e alcalase, respectivamente.



**Figura 1.** Grau de hidrólise da proteína isolada de arroz obtido com a ação das enzimas pepsina e alcalase.

A hidrólise realizada com pepsina propiciou maior grau de hidrólise. Ao atingir a primeira hora de reação o grau de hidrólise propiciado pela pepsina foi superior a 8%, enquanto que a alcalase propiciou incremento no grau de hidrólise apenas após 3 horas de reação. Ao término do período de reação testado (6 horas), o grau de hidrólise da proteína de arroz obtido com a ação da pepsina foi de 15%, enquanto que com a ação da alcalase foi de aproximadamente 8%.

Durante o metabolismo de proteínas, o primeiro estágio de hidrólise leva à formação de oligopeptídeos contendo de 2 a 6 resíduos de aminoácidos que são clivados em di e tri-peptídeos para absorção juntamente com os aminoácidos livres, sendo que os di e tri-peptídeos apresentam velocidade de absorção aproximadamente 10 vezes maior que os aminoácidos livres e grandes peptídeos (FRENHANI; BURINI, 1999; SILVA et al., 2009).

Alguns estudos mostraram que quanto maior for o grau de hidrólise, maiores serão os teores de cadeias médias e curtas (di e tri-peptídeos) e de aminoácidos livres, e menores os de grandes peptídeos. Consequentemente, utilizando tais hidrolisados proteicos pode-se obter produtos com melhor digestibilidade e valor nutricional. Além disso, em uma mistura com maior número de aminoácidos livres, di, tri e oligopeptídeos, maior será o número de grupos polares e a solubilidade do hidrolisado, modificando as características funcionais da proteína e resultando na melhor qualidade funcional (SILVA et al., 2009; SCHMIDT; SALAS-MELLADO, 2009).

Tanto a enzima alcalase como a pepsina apresentam atividade endoproteinase, atuando nas regiões internas da cadeia de peptídeos e, dependendo da extensão da hidrólise, podem produzir uma mistura de peptídeos de baixo peso molecular. O maior grau de hidrólise obtido pela ação da pepsina pode ser explicado pela maior atividade de hidrólise da enzima pepsina ( $\geq 400$  U/mg de proteína) do que a alcalase ( $\geq 5$  U/g de proteína) (SIGMA-ALDRICH).

Devido ao maior grau de hidrólise da enzima pepsina, encontrado no presente estudo, espera-se também encontrar melhores propriedades funcionais de solubilidade, formação de espuma, absorção de água e óleo dos hidrolisados submetidos à ação dessa enzima, além de testar outras enzimas, que são etapas posteriores dessa pesquisa. Ademais, análises da qualidade nutricional, digestibilidade proteica e atividade antioxidante desses hidrolisados proteicos também serão avaliados para poder oferecer, nutricionalmente e tecnologicamente, ingredientes com alto valor agregado.

#### 4. CONCLUSÕES

A enzima pepsina obteve melhor grau de hidrólise do isolado proteico de farelo de arroz do que a enzima alcalase, tanto na primeira hora de reação como após o período determinado de 6 horas. Porém, novas enzimas devem ser testadas para comparação e verificação de melhores graus de hidrólise. A continuidade deste trabalho compreende a avaliação das propriedades nutricionais e funcionais dos hidrolisados proteicos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULHAMID, A.; LUAN, Y.S. Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran. **Food Chemistry**, v.68, p.15-19, 2000.
- ADLER-NISSEN, J. Procesamiento enzimático de las proteínas alimenticias. Alimentos. **J. Agric. Food Chem.**, v.6, p.29-33, 1981.

- AVRAMENKO, N. A.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. **Food Research International**, v.51, p.162-169, 2013.
- BOZA, J. J. et al. Protein hydrolysate vs free amino acidbased diets on the nutritional recovery of the starved rat. **Eur. J. Nutr.**, v.39, p.237-243, 2000.
- FRENHANI, P. B.; BURINI, R. B. Mecanismos de absorção de aminoácidos e oligopeptídeos. **Arq. Gastroenterol.**, v.36, n.4, p.227-237, 1999.
- FURTADO, M. A. M.; GOMES, J. C.; SILVA, C. A. S.; ORNELLAS, C. B.; SILVESTRE, M. P. C.; **Ciênc. Agrotecnol.** v.25, p.625, 2001.
- GASTALDINI, M. C. C.; IRION, C. A. O levantamento sanitário da bacia do Rio Ibicui: avaliação das cargas poluidoras atuais. **Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. João Pessoa. Anais eletrônicos. 2001.
- GAUDIX, A. et al. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. **Ars Pharm.**, v.41, p.79-89, 2000.
- HE, R.; GIRGIH, A. T.; MALOMO, S. A.; JU, X.; ALUKO, R. E. Antioxidant activities of enzymatic rapeseed protein hydrolysate and the membrane ultrafiltration fractions. **Journal of Functional Foods**, v.5, p.219-227, 2013.
- KIM, E. K.; LEE, S. J.; JEON, B. T.; MOOM, S. H.; KIM, B.; PARK, T. K.; HAN, J. S.; PARK, P. J. Purification and characterisation of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysates of venison protein. **Food Chemistry**, v.114, p.1365-1370, 2009.
- PARRADO, J.; MIRAMONTES, E.; JOVER, M.; GUTIERREZ, J. F.; TERÁN, L. C. de; BAUTISTA, J. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. **Food Chemistry**, v. 98, 742-748, 2006.
- PESTANA, V. R.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C. Farelo de arroz: características, benefícios à saúde e aplicações. **B. CEPPA**, v.26, n.1, p.29-40, 2008.
- SCHMIDT, C. G.; SALAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas Alcalase e Flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. **Química Nova**, v.32, n.5, p.1144-1150, 2009.
- SIGMA-ALDRICH. Product Especification. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com>. Acessado em 24 de julho de 2015.
- SILVA, M. C.; SILVA, V. D. M.; LANA, A. M. Q.; SILVESTRE, M. P. C. Grau de hidrólise e perfil peptídico de hidrolisados enzimáticos obtidos a partir de concentrado proteico do soro do leite. **Alimentos e Nutrição**, v.20, n.3, p.395-402, 2009.
- TANG, S.; HETTIARACHCHY, N. S.; HORAX, R.; ESWARANANDAM, S. Physicochemical properties and functionality of rice bran protein hydrolyzate prepared from heat-stabilized defatted rice bran with the aid of enzymes. **Journal of Food Science**, v.68, p.152–157, 2003.
- WANG, L.; WANG, Y.-J. Comparison of protease digestion at neutral pH with alkaline steeping method for rice starch isolation. **Cereal Chem.**, v.78, n.6, p.690-692, 2001.