

ATIVIDADE AMILOLÍTICA DE EXTRATOS DA GERMINAÇÃO DE MILHO E ARROZ¹

Luiz Antonio Borgo^{2/}
Dilson Teixeira Coelho^{3/}
José Carlos Gomes^{3/}
Godfrey Kalagi Kibuuka^{3/}

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se pesquisado muito o uso de substâncias amiláceas como fontes alternativas para a produção de álcool (1, 4, 6, 10, 11). Dentre os vários problemas encontrados, os gastos com enzimas têm sido fator de peso considerável no custo final.

Essas enzimas (amilases) constituem uma barreira econômica ao processo de utilização das substâncias amiláceas, mesmo porque há necessidade de um suprimento contínuo de enzimas, que não são recuperadas após o uso. Tal perda poderia ser minimizada pelo uso de enzimas imobilizadas; contudo, a tecnologia é nova e pouco conhecida no País. Do mesmo modo, a obtenção e utilização de enzimas microbianas surge como o método mais eficiente de sacarificação de amido, porém a tecnologia, em grande parte, também é nova (4, 5, 6, 8, 10).

Considerando os problemas mencionados, utilizaram-se as enzimas produzidas por cereais durante a germinação. Para tanto, milho e arroz germinados separadamente foram utilizados na obtenção de um extrato enzimático, que foi testado quanto à capacidade de hidrolisar amido solúvel.

¹/ Parte da tese apresentada, pelo primeiro autor, à U.F.V., como uma das exigências para a obtenção do título de M.S. em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Recebido para publicação em 1-6-1983.

²/ Departamento de Engenharia Agronômica da Universidade Federal de Brasília. C.P. 15-2812. 70919 Brasília, DF.

³/ Departamento de Tecnologia de Alimentos da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos da U.F.V., usando-se como matérias-primas milho (*Zea mays*) e arroz (*Oriza sativa*), obtidos no Departamento de Fitotecnia.

As germinações foram realizadas segundo o que está prescrito nas Regras para Análise de Sementes (7). Os grãos, após maceração em água destilada, germinaram a $29 \pm 1^\circ\text{C}$, em estufa previamente esterilizada com formaldeído a 15%, dentro da qual, para prover a devida umidade relativa (90%), foi também colocado um recipiente com água destilada.

Terminada a germinação, os grãos foram triturados em moinho e depois em liquidificador, com solução de NaCl 0,3M ou tampão tris (hidroximetil aminometano — TRIS — 0,1M, a pH 7,5. Utilizaram-se, para o milho, 40 ml da solução extratora (NaCl ou tampão TRIS) para cada 100 g de material triturado. Para arroz, variou-se essa proporção, utilizando-se maior quantidade de solução extratora, em razão de ser o material triturado de difícil liquefação.

Após a extração, o material foi filtrado a vácuo, centrifugado a 1400 x g, por 20 minutos, e estocado sob refrigeração (4°C), para determinação da atividade enzimática, determinada pela produção de açúcar redutor, expresso em glicose, a intervalos de tempo variados, conforme o método do Instituto Adolfo Lutz (4). Em alguns casos, os resíduos foram novamente utilizados na obtenção de um segundo extrato.

As germinações duraram 6 e 7 dias, para o milho, e 7 e 10 dias, para o arroz, e as sementes não foram previamente tratadas com nenhuma solução esterilizante ou promotora da germinação.

Os extratos, com exceção do obtido do arroz germinado durante 10 dias, não receberam adição de nenhuma solução esterilizante ou estabilizante da atividade enzimática.

Os teores de proteína bruta dos extratos foram obtidos de acordo com o método de Kjeldahl, descrito por SILVA (9).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Germinação do Milho

Os resultados das germinações do milho durante 6 e 7 dias estão na Figura 1. No caso do milho germinado durante 6 dias, o segundo extrato, obtido do resíduo do primeiro, apresentou mais atividade enzimática. Tal fato conduz à conclusão de que a primeira extração não foi completa.

Por outro lado, não obstante ter sua atividade enzimática diferido pouco da atividade enzimática do extrato do milho germinado durante 6 dias, a atividade específica do extrato do milho germinado durante 7 dias foi maior, 1,95 contra 1,88 em gramas de açúcar redutor por grama de proteína · hora (g AR/g prot.h).

O primeiro e o segundo extrato do milho germinado durante 6 dias apresentaram 14,03 e 10,66% de proteínas, respectivamente, ao passo que o extrato do milho germinado durante 7 dias apresentou 17,58% de proteínas. Considerando que as atividades enzimáticas desses extratos foram semelhantes, conclui-se que maior percentual protéico não implica maior atividade enzimática, o que é explicado pelo fato de que, durante a germinação, ocorre a formação de enzimas hidrolíticas, enzima R, ribonucleases, etc. (2, 3).

Com relação aos extratos estocados, nota-se, pela Figura 2, que o extrato do milho germinado durante 7 dias apresentou maior perda de atividade enzimática.

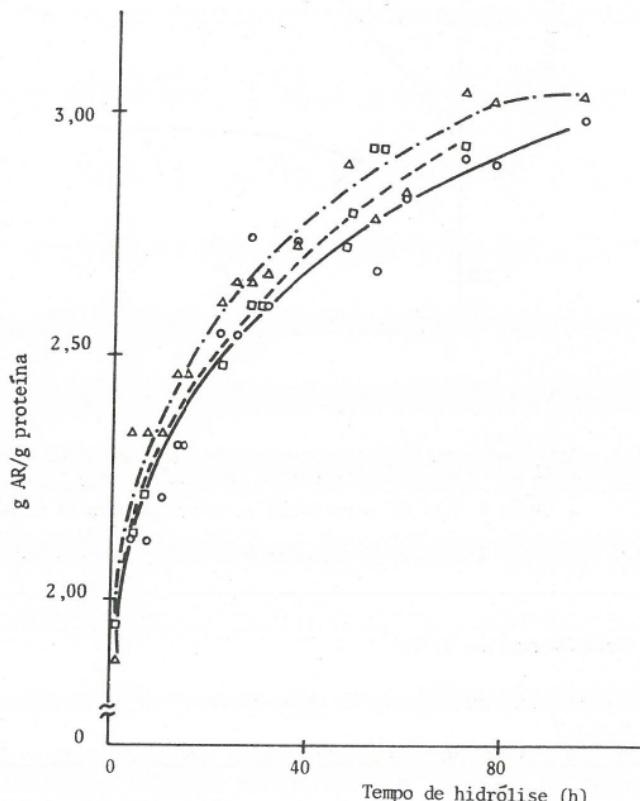


FIGURA 1 - Atividade amilolítica dos extractos salinos ($\text{NaCl } 0,3\text{M}$) de milho germinado. AR = açúcar redutor.

- Após 6 dias de germinação - 1º extrato
- △ Após 6 dias de germinação - 2º extrato
- Após 7 dias de germinação.

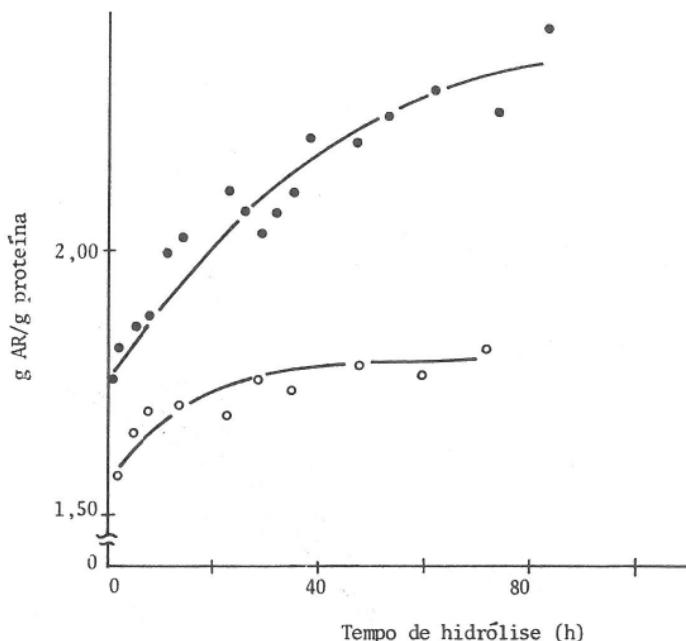


FIGURA 2 - Atividade amilolítica dos extratos salinos ($\text{NaCl } 0,3\text{M}$) de milho, após 6 e 7 dias de germinação. AR = açúcar redutor.

- Após 6 dias de germinação e estocagem por 30 dias a 4°C .
- Após 7 dias de germinação e estocagem por 60 dias a 4°C .

3.2. Germinação do Arroz

Os resultados da germinação de arroz durante 7, 8, 9 e 10 dias estão nas Figuras 3, 4, 5, 6 e 7.

Na Figura 3 vê-se que o segundo extrato, obtido do resíduo do primeiro, do arroz germinado durante 7 dias apresentou atividade enzimática muito maior. Portanto, pode-se concluir que a primeira extração de amilases não foi completa. Apesar de apresentar menos proteína que o primeiro 8,08% e 8,46%, respectivamente, o segundo extrato teve maior concentração de amilases, daf ser também maior sua atividade específica: 1,29 g AR/g prot. h. contra 0,76 g AR/g prot. h.

Na Figura 4, vê-se a comparação dos efeitos da obtenção dos extratos enzimáticos com tampão TRIS 0,1M, pH 7,5 (TRIS), e com $\text{NaCl } 0,3\text{M}$, a partir de arroz germinado durante 8 dias. As atividades específicas dos dois extratos foram semelhantes: 0,85 g AR/g prot. h e 0,83 g AR/prot. h, para o primeiro e segundo extrato, respectivamente. Fato semelhante foi observado durante a obtenção dos extratos do arroz germinado durante 9 dias (Figura 5). Nesse caso, as atividades específicas foram de 0,81 g AR/prot. h e 0,79 g AR/prot. h, para o primeiro ($\text{NaCl } 0,3\text{M}$) e segundo extrato (tampão TRIS 0,1M, pH 7,5), respectivamente.

O maior conteúdo protéico foi apresentado pelo extrato do arroz germinado durante 10 dias (12,85% de proteínas), e sua atividade específica foi de 1,06 g AR/g

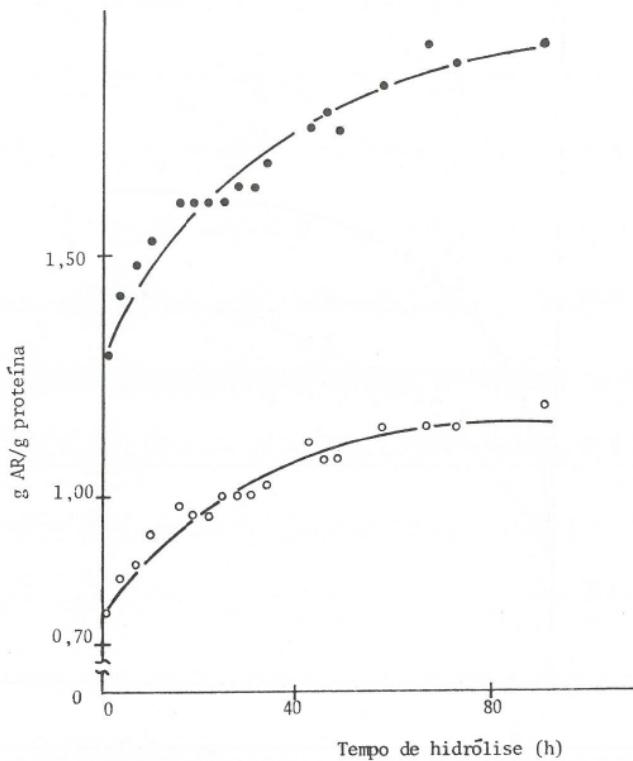


FIGURA 3 - Atividade amilolítica dos extratos salinos (NaCl 0,3m) de arroz, após 7 dias de germinação.

○ 1º extrato.
● 2º extrato.

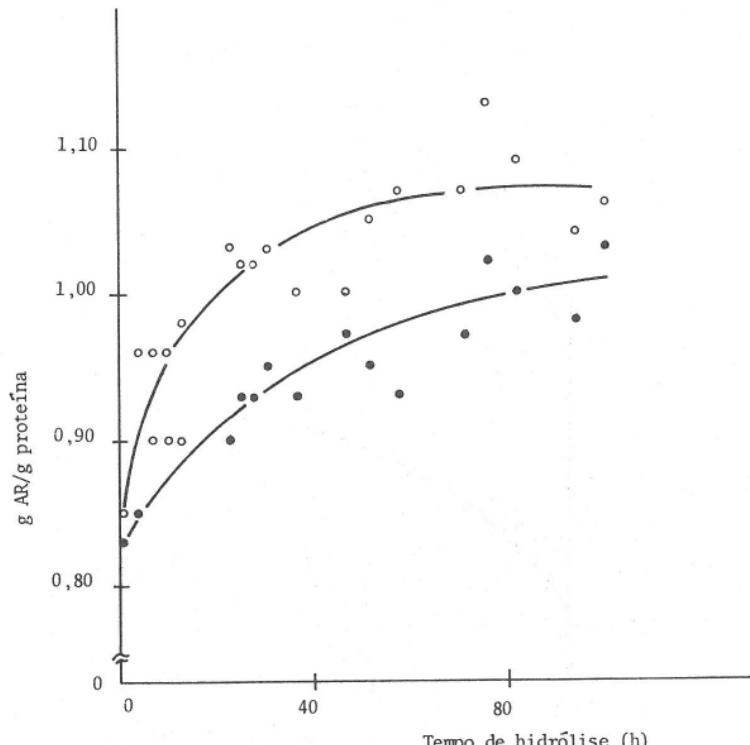


FIGURA 4 - Atividade amilolítica dos extratos salinos de arroz, após 8 dias de germinação.

- Extração com tampão TRIS 0,1M, pH 7,5 (1º extrato).
- Extração com NaCl 0,3M (2º extrato).

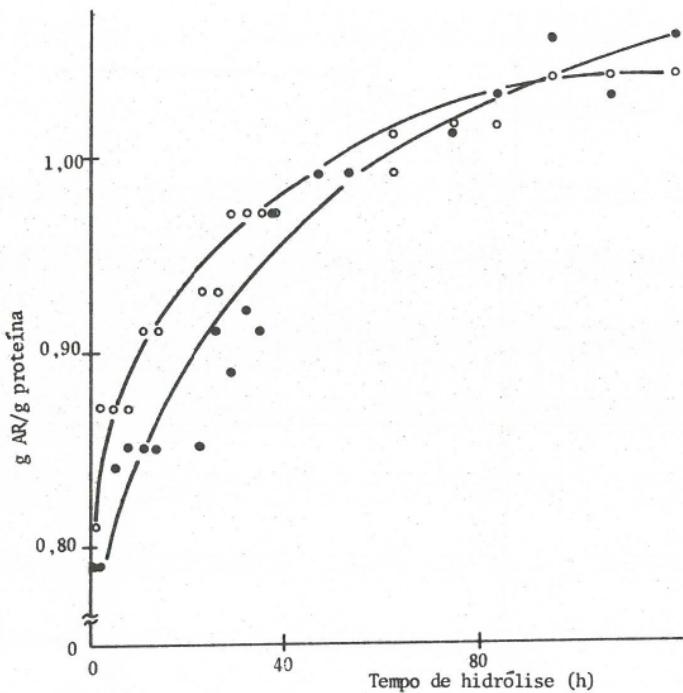


FIGURA 5 - Atividade amilolítica dos extratos salinos de arroz, após 9 dias de germinação.

○ Extração com NaCl 0,3M (1º extrato).
● Extração com tampão TRIS 0,1M, ph 7,5 (2º extrato).

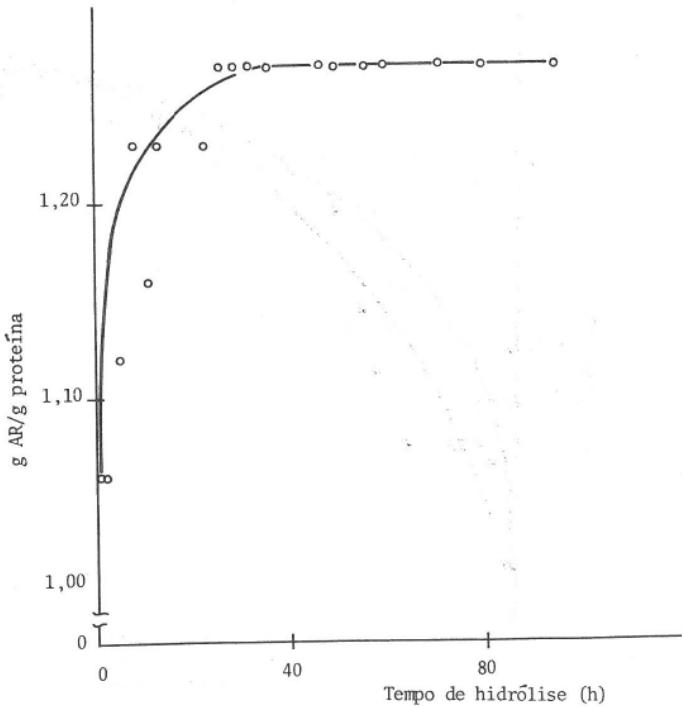


FIGURA 6 - Atividade amilolítica do extrato salino (NaCl 0,3M) de arroz, após 10 dias de germinação (extrato fresco).

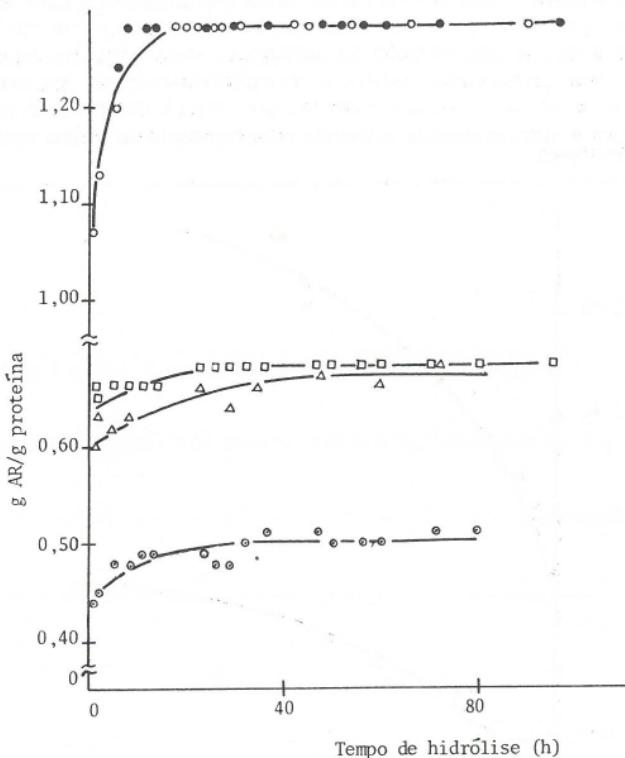


FIGURA 7 - Atividade amiolítica dos extratos salinos ($\text{NaCl } 0,3\text{M}$) de arroz estocados a 4°C .

- Δ Após 7 dias de germinação e 60 dias de estocagem.
- Após 8 dias de germinação e 90 dias de estocagem.
- Após 9 dias de germinação e 60 dias de estocagem.
- Após 10 dias de germinação e 40 dias de estocagem.
- Após 10 dias de germinação e 60 dias de estocagem.

prot. h. Como nem todas as proteínas são enzimas e nem todas as enzimas são amilases, fica explicado por que a atividade específica desse extrato não foi a maior, não obstante seu alto conteúdo protéico (Figura 6).

Percebe-se, portanto, comparando as Figuras 3, 4, 5 e 6, que o segundo extrato do arroz germinado durante 7 dias (Figura 3) foi o que apresentou a maior atividade específica.

Com relação ao efeito da estocagem sobre os extratos descritos, concluiu-se, observando a Figura 7, que o extrato do arroz germinado durante 10 dias foi o único que não apresentou perda de atividade durante a estocagem até 60 dias. Tal fato deveu-se a que a esse extrato foi adicionada uma pequena quantidade de azida sódica, um preservador contra o desenvolvimento de microorganismos.

Especificados os dois extratos com maiores atividades específicas, foi construída a Figura 8, que evidencia a grande superioridade do milho como fonte de enzimas amilolíticas.

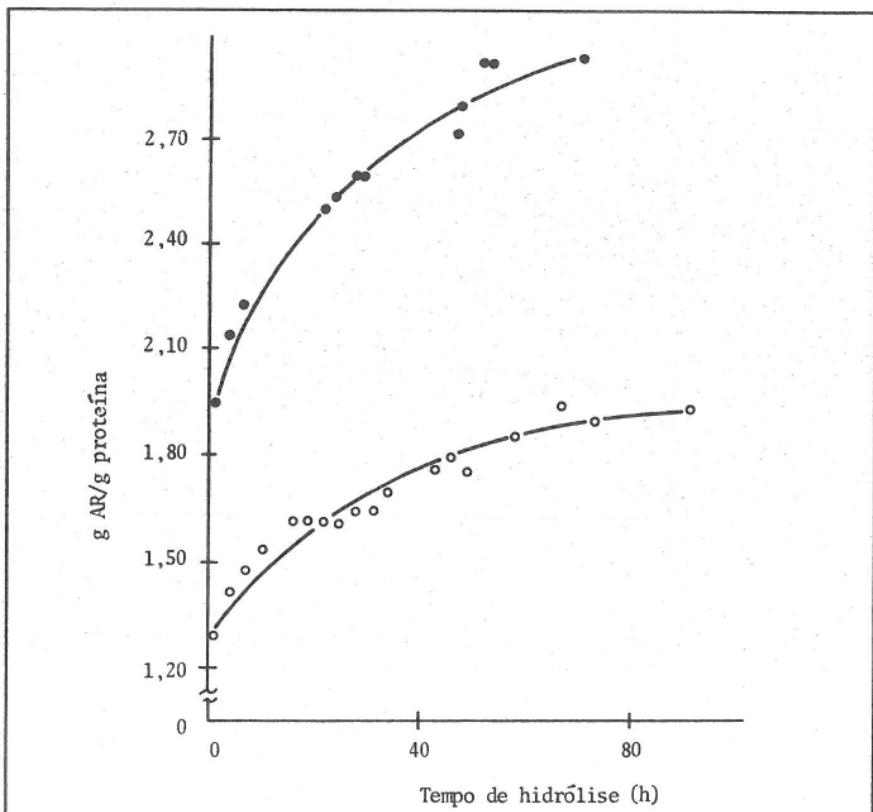


FIGURA 8 - Atividade amilolítica dos extratos salinos ($\text{NaCl} = 0,3\text{M}$) de milho e arroz germinados.

- Milho, após 7 dias de germinação.
- Arroz, após 7 dias de germinação (2º extrato).

4. CONCLUSÕES

O objetivo deste trabalho foi determinar qual dos dois cereais, milho ou arroz,

produziria amilases com maior atividade hidrolítica e com capacidade de sacarificar o amido.

Em se tratando de cereais diferentes, as atividades de seus extratos enzimáticos só podem ser comparados com base nas atividades específicas, que estão relacionadas com os teores protéicos de cada extrato.

Assim sendo, pode-se afirmar que o milho apresentou melhores possibilidades, como fonte de amilases, que o arroz e que o melhor período de germinação foi o de 7 dias, quando o extrato enzimático apresentou maior atividade específica, 1,95 g AR/g prot. h.

A respeito do uso de NaCl 0,3M ou tampão TRIS 0,1M, pH 7,5, como soluções extratoras, não ficou evidenciado que uma atua melhor que a outra na extração de enzimas.

Ficou evidenciado que a perda da atividade dos extratos durante a estocagem a 4°C pode ser evitada pela adição de uma pequena porção de azida sódica ao extrato enzimático, a exemplo do que acontece com o extrato do arroz germinado durante 10 dias.

5. RESUMO

Demonstrou-se que os extratos enzimáticos obtidos do milho e do arroz germinados durante 7 dias apresentam atividade amilolítica capaz de sacarificar amido solúvel, formando açúcares fermentáveis. A atividade específica do extrato do milho foi bem superior à do arroz germinado. O milho apresenta melhores possibilidades, como fonte de amilases, que o arroz.

A utilização de NaCl 0,3M ou TRIS (hidroximetil) aminometano 0,1M, pH 7,5, como soluções extratoras forneceu resultados semelhantes, não havendo restrições práticas ao uso de uma ou de outra solução. A perda de atividade dos extratos foi consequência de atividade microbiana, que pode ser evitada pela adição de agente bacteriostático.

6. SUMMARY

Enzyme extracts with amylolytic activity capable of saccharifying soluble starch to fermentable sugars were obtained from corn and rice grains germinated for 7 days. The specific activities of the enzyme extract from corn proved to be more efficient than that obtained from rice.

Utilization of 0.3M NaCl or 0.1M tris (hydroxymethyl) aminomethane, pH 7.5, as the extraction solutions, gave the same results. The loss in activity exhibited by the enzyme extracts was due to microbial invasion which was then prevented by the addition of a bacterio-static agent.

7. LITERATURA CITADA

1. ARAÚJO, N.Q. Tecnologia da fermentação alcoólica dos polissacarídeos. *Informativo do INT*, 14(25):12-25, 1981.
2. DURE, L.S. Site of origin and extent or activity of amylases in maize germination. *Plant Physiol.*, 35(6):925-934. 1960.
3. HARVEY, B.M.R. & OAKS, A. The hydrolysis of endosperm protein in *Zea mays*. *Plant Physiol.*, 35(3):453-457, 1974.

4. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas* (vol. 1). 2.^a ed. São Paulo, 1976. 371 p.
5. LAGES, A.C.A. & TANNENBAUM, S.R. Production of glucose from *tapioca* (cassava starch) and *farinha de mandioca* (cassava meal). *J. Food Sci.*, 43(3): 1012-1014/18, 1978.
6. MENEZES, T.J.B.; LAMA, P.R.; SALES, A.M. & ARAKAKI, T. Sistemas de hidrólise na produção de álcool etílico da mandioca. *Coletânea do ITAL*, 7:209-215, 1976.
7. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. *Regras para análises de sementes*. Brasília, 1976. 188 p.
8. PARK, Y.K. & PAPINI, R.S. Produção de xarope de glicose do amido de mandioca pelo método enzima-enzima. *Rev. Brasil Tecnol.*, 1(1):13-16, 1970.
9. SILVA, D.J. *Análise de alimentos*. Viçosa, UFV, Imp. Univ., 1981. 166 p.
10. SOUZA GOVÉA, V. Álcool de mandioca por fermentação contínua. *Rev. Lat.-amer. Microbiol.*, 15(3):147-150, 1973.
11. TEIXEIRA, C.G. Produção de álcool de substâncias amiláceas. *Boletim do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos*, 1:16-27, 1964.