Extração de B-glucanas de cevada e caracterização parcial do amido residual

Extraction of barley \(\beta\)-glucans and partial characterization of residual starch

Valéria Maria Limberger^{I*} Alícia de Francisco^{II} Marivone Rosa Borges^I Tatiana Oro^I Paulo Jose Ogliari^{III} Patrícia Matos Scheuer^{II} Carolina Montanheiro Noronha^{II}

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros da extração de β-glucanas de cevada e caracterizar parcialmente o amido residual da extração. Foi desenvolvida metodologia para extração de β-glucanas de cevada sem degradação do amido, avaliando as variáveis pH e temperatura de extração. O percentual de β-glucanas extraída variou de 44,21 a 53,38%, sendo influenciado pela temperatura, e o de amido extraído variou de 65,98% a 77,54%, sendo influenciado pelo pH. O amido residual da extração de β-glucanas de cevada apresentou poder de inchamento e solubilidade de 8,54±0,29% e 6,04±0,073%, respectivamente. O amilograma de ARV desse amido apresentou viscosidade máxima de 164,67±1,30 RVU e quebra de viscosidade de 45,79±2,06 RVU. O espectro de infravermelho do amido residual é típico de amido de cevada nativo e semelhante ao de amidos isolados de milho, trigo e mandioca. De acordo com as micrografias eletrônicas de varredura da fração amido, foi possível visualizar uma mistura de grânulos grandes e lenticulares, com um diâmetro médio de 19,15µm e de granulos pequenos com forma esférica, de 4,78µm. As características demonstradas pelo amido residual da extração de β-glucanas de cevada sugerem sua viabilidade para utilização na indústria de alimentos.

Palavras-chave: subproduto, tecnologia, amido, β -glucana, cevada.

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the parameters of the extraction of barley's \(\beta\)-glucans and partially characterize the residual starch after extraction. A method was developed for the extraction of barley β -glucans without

damaging the residual starch, assessing the variables pH and extraction temperature. The percentage of \(\beta \)-glucans in the extracted fraction varied from 44,21 to 53,38%, being influenced by temperature and the extracted starch varied from 65,98% a 77,54%, being influenced by pH. The residual starch from barley's β -glucan extraction had a swelling power and solubility of $8.54\pm0.29\%$ and $6.04\pm0.07\%$, respectively. The RVA's amylograph for this starch showed a maximum viscosity of 164.67±1.30 RVU and breakdown viscosity of 45.79±2.06 RVU. The infrared spectrum of the residual starch was typical of native barley starch and similar to isolated starch from corn, wheat and cassava. According to the scanning electron micrographs fraction of starch, it was possible to see a mixture of large lenticular granules with an average diameter of 19.15µm and small spherically shaped ones, with 4.78µm. The characteristics showed by the residual starch from barley's β-glucan extraction, suggest a possible application in the food industry

Key words: byproduct, technology, starch, β -glucans, barley.

INTRODUÇÃO

A cevada (Hordeum vulgare L.) ocupa a quarta posição em produção de cereais no mundo (NEWMAN & NEWMAN, 2006). A produção brasileira de cevada é de aproximadamente 268.860 toneladas (IBGE, 2011). Este cereal tem sido destinado, em sua maioria, para alimentação animal e produção de malte cervejeiro (WÜRSCH & PI-SUNYER, 1997).

Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Agrária (CCA), 88034-000, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil. E-mail: vlimberger@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{II}Laboratório de Cereais, CCA, UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.

^{III}Departamento de Informática e estatística, Centro Tecnológico (CTC), UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.

2218 Limberger et al.

Porém, a cevada tem valor nutricional especial, pois possui β-glucanas como constituinte da parede celular. Estudos tem demonstrado que as β-glucanas possuem fisiologicos benéficos, efeitos imunomodulatórios, hipoglicemiantes hipocolesterolêmicos, além de apresentarem importante papel tecnológico em alimentos processados, como espessantes e substitutos de gordura (WÜRSCH & PI-SUNYER, 1997; NEWMAN & NEWMAN, 2006). Processos de extração de \(\beta\)-glucanas têm sido aperfeiçoados para obter maior rendimento e pureza na extração, mas o amido é desprezado nas atuais tecnologias de extração (TEMELLI, 1997; VASANTHAN & TEMELLI, 2008), porém representa de 50-75% dos componentes da cevada (HOSENEY, 1991). Estruturalmente, o amido é constituído por moléculas lineares de amilose e ramificadas de amilopectina (WHISTLER & BEMILLER, 1999). O mercado de amidos vem crescendo nos últimos anos, tendo inúmeras possibilidades de utilização na tecnologia de alimentos, como agente de enchimento em embutidos cárneos, espessante, formadores de géis, adjuvante na estabilização de suspensões e de emulsões e agente na elaboração de filmes (SANDHU et al., 2004). Apesar da grande disponibilidade do amido de cevada, poucas pesquisas têm sido realizadas com este cereal, em comparação com outros, como milho e trigo. Porém, com a extração de β-glucanas da cevada, o amido residual passa a possuir viabilidade econômica para ser utilizado. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros de extração de ß-glucanas de cevada e caracterizar parcialmente o amido residual da extração.

MATERIAL E MÉTODOS

A farinha de cevada utilizada no estudo é integral e pertence à cultivar 'BRS 195', fornecida por SLAlimentos Ltda. Para a obtenção de amido residual, foi utilizada a metodologia de extração de β-glucanas de cevada visando à não degradação do amido, seguindo o método de WOOD et al. (1978), adaptado por TEMELLI (1997), mas com modificações. A amostra de farinha de cevada (50g) foi misturada a 500mL de água destilada, com pH ajustado de acordo com um planejamento de superfície de resposta, usando CaCO₃ (20% p/v) para precipitação do amido e aquecimento em banho com agitação por 30 minutos sob temperaturas definidas pelo planejamento estatístico. A solução foi centrifugada a 4940x g/30min a 4°C. O

amido residual foi removido e caracterizado e o pH do sobrenadante foi ajustado para 4,5 com HCl 2M, para precipitação das proteínas, seguido de centrifugação a 4940 x g /30min a 4°C. O resíduo protéico foi descartado e ao sobrenadante foi adicionado igual volume de etanol p.a. para precipitação das β-glucanas. Depois de 12 horas a 4°C, a solução foi centrifugada a 3780 x g /10min a 4°C. O precipitado de β-glucanas foi recuperado e ressuspenso em etanol p.a., filtrado, lavado com etanol p.a. e seco em estufa com circulação forçada de ar a 25°C durante 1,5 horas. O extrato seco de β-glucanas permaneceu em dessecador por 24 horas e foi pulverizado com nitrogenio líquido. O amido residual da extração de β-glucanas com maior rendimento foi utilizado para caracterização.

Os teores de umidade, proteína (Kjeldahl N x 6,25), fibra alimentar solúvel e insolúvel, lipídeos e cinzas da farinha e do amido de cevada foram determinados pelos métodos da *American Association of Cereal Chemists* (AACC, 2000). Amido total foi determinado pelo método AACC 76-13 e ß-glucanas pelo metodo AACC 32-23 (AACC, 2000), utilizando kit enzimático da Megazyme Internacional Ireland Ltd. Para o teor de amilose aparente, foi utilizado o método *iodine sorption: Blue Value* (GILBERT & SPRAGG, 1964).

Para a caracterização do amido, foram determinados o poder de inchamento e a solubilidade segundo SCHOCH (1964); viscosidade pelo Analisador Rápido de Viscosidade (Modelo ARV-3D), seguindo o protocolo padrão 1 (NEWPORT SCIENTIFIC METHODS, 1998), utilizando amostra 10% (p/p). A espectroscopia na região do infravermelho de transmissão foi avaliada por equipamento da marca ABB, modelo FTLA 2000 e microscopia eletrônica de varredura em Microscópio Eletrônico JEOL JSM-6390LV, a uma voltagem de 10kV.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica 7,0[®]. Para a extração, foi empregado um planejamento de superfície de resposta. Os fatores pH e temperatura, com os seus níveis de variação do processo de extração, são apresentados na tabela 1.

Os fatores mantidos constantes foram a velocidade e o tempo de centrifugação, o pH para precipitação de proteínas e a adição de etanol. Os fatores em estudo foram pH de extração do amido e temperatura do banho para extração. Um delineamento composto central foi adotado, incluindo um total de 14 tratamentos, sendo quatro deles correspondentes ao

Tabela 1 - Níveis de variação e variáveis do processo de extração.

Variáveis independentes	Níveis de variação*				
	-α	-1	0	+1	$+\alpha$
pН	6,6	7	8	9	9,4
Temperatura	35	38	45	52	55

 $[\]alpha = 1.414$

fatorial 2^2 , 4 tratamentos axiais incluindo o nível mínimo e máximo de cada fator codificados como — α e + α , e 6 repeticões do tratamento central para estimar o erro puro, em que todos os fatores estavam em um nível médio codificado como zero (Tabela 1).

O modelo de regressão de segunda ordem é representado pela equação geral:

$$z = b_0 + b_1 * x + b_{11} * (x)^2 + b_2 * y + b_{22} * (y)^2 + b_{12} * x * y + 0.$$

Sendo: z = resultado estimado; x = pH; y = temperatura.

Para as demais análises, os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \le 0.05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A farinha de cevada utilizada no estudo apresentou teores de 10,56±0,13% de umidade, 10,69±0,10% de proteína, 2,44±0,12% de extrato etéreo, 1,35±0,12% de cinzas, 10,19±0,28% de fibra alimentar insolúvel e 5,06±0,75% de fibra alimentar solúvel. O teor de β-glucanas foi 4,74±0,06% e o de amido foi de 58,07±2,49%, o amido contém 18,38±2,51% de amilose. Resultados semelhantes foram descritos por FUJITA & FIGUEROA (2003) para cultivares brasileiras de cevada. A composição da farinha de cevada indica que esta é uma boa fonte para o isolamento de β-glucanas e amido, devido ao elevado teor desses componentes e reduzido teor lipídico, o que facilita a extração.

As equações de regressão estimadas para a extração dos componentes da farinha de cevada são: Equação 1: ß-glucanas

z=-189,56+20,55*x+(-1,01)*(x)²+7,25*y+(-0,07)*(y)²+(-0,11)*x*y Equação 2: amido

z=-110,53+33,37*x+(-1,96)*(x)²+1,84*y+(-0,01)*(y)²+(-0,03)*x*y Sendo (para as Equações 1 e 2): z = resultado estimado; x = pH; y = temperatura.

O percentual de ß-glucanas extraido variou de 44,21 a 53,38%. O efeito do pH dentro da faixa estudada não foi significativo, todavia, a temperatura apresentou efeito linear e quadrático sobre a extração.

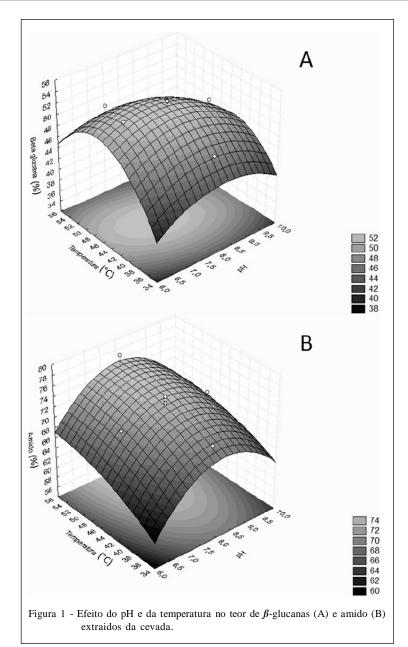
O rendimento de \(\beta\)-glucanas extraídas foi maior para temperaturas entre 43°C e 49°C (Figura 1A). WOOD et al. (1978) demonstraram um aumento na extração de \(\beta\)-glucanas de aveia nas temperaturas de 45°C até 63°C, faixa de temperatura ótima para não contaminar o extrato com amido.

O percentual de amido extraído no experimento variou de 65,98% a 77,54% e a extração de amido foi linearmente influenciada pelo pH, sendo o maior rendimento em torno de pH 8 (Figura 1B). A fração de amido residual apresentou 10,67±0,64% de umidade, 4,26±0,13% de proteína, 1,02±0,01% de extrato etéreo, $1.00\pm0.04\%$ de fibra alimentar solúvel, $5.85\pm0.40\%$ de fibra alimentar insolúvel, 0,54±0,02% de cinzas. LI e colaboradores (2001) obtiveram amido de cevada extraído com alta pureza (96,94%). Esses autores, entretanto, utilizaram técnica de extração específica para amido, o que não é o caso deste estudo, que aproveita resíduos da técnica utilizada para extração de \(\beta\)-glucanas. Pelos resultados das análises químicas empregadas, observa-se que o amido possui proteínas aderidas, as quais não foram completamente retiradas na extração.

O poder de inchamento e solubilidade do amido residual da extração de β-glucanas de cevada foram de 8,54±0,29% e 6,04±0,07%, respectivamente. Esses valores são esperados para o teor de 18% de amilose aparente encontrado na amostra e estão de acordo com a literatura, que indica que, normalmente, quanto menor o teor da amilose, maior o poder de inchamentodo amido (MACGREGOR & FINCHER, 1993; CZUCHAJOWSKA et al., 1998; SONG & JANE, 2000).

O amilograma de ARV para o amido de cevada demonstra suas propriedades de pasta características (Figura 2A). A viscosidade máxima do amido de cevada foi 164,67±1,30 RVU, resultado concordante com o da bibliografia para amido de cevada na mesma concentração e programa de ARV (SOARES, 2003). Esse valor é também comparável ao pico de viscosidade do amido de milho na mesma concentração (FRANCO et al., 2010). Segundo SINGH et al. (2003), a altura do pico a uma dada concentração reflete a habilidade dos grânulos de inchar livremente antes da quebra física. A quebra de viscosidade apresentada no estudo foi de 45,79±2,06 RVU, valores semelhantes foram constatados por SOARES (2003), utilizando a mesma metodologia para amidos isolados de cultivares de cevada. O amido residual do presente trabalho, ao contrário de amidos e féculas cerosos (MCPHERSON

2220 Limberger et al.



& JANE, 1999; JANE et al., 1999; SONG & JANE, 2000), apresentou uma maior tendência à retrogradação sob a mesma base de comparação. É possível sugerir que o teor de amilose, juntamente com o tamanho das cadeias laterais de amilopectina, sejam os responsáveis por tais diferenças (FRANCO et al., 2002). Além da influência da amilose e da amilopectina nas propriedades de pasta do amido, o método de isolamento dele também parece influenciar nas propriedades de pasta (GRANT, 1998; JANE et al., 1999).

O espectro de infravermelho do amido residual é mostrado na figura 2B, sendo típico de amido, semelhante a amidos isolados de milho, trigo e mandioca

(WILSON et al., 1987; WILSON & BELTON, 1988). Essa semelhança demonstra que a amostra extraída pode ser caracterizada como amido.

As micrografias eletrônicas de varredura (Figura 3) mostram uma mistura de grânulos de amido grandes e lenticulares, com diâmetro médio 19,15µm, e pequenos com forma esférica, com 4,78µm de diâmetro médio. Esses resultados estão de acordo com aqueles relatados para amido de cevada por MACGREGOR & FINCHER (1993) e LI et al. (2001). O material residual da extração de ß-glucanas, além da elevada concentração de grânulos de amido, não apresentou evidências visuais de danos mecânicos.

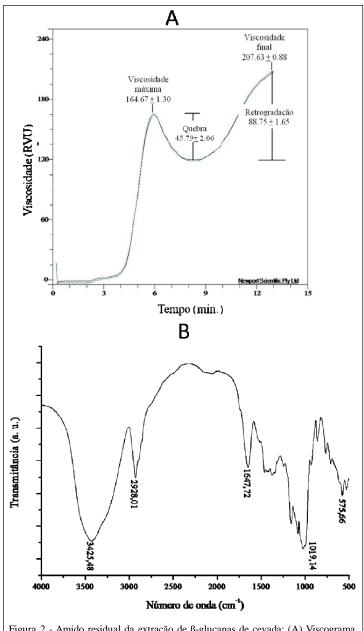


Figura 2 - Amido residual da extração de β-glucanas de cevada: (A) Viscograma, (B) Espectro de infravermelho.

CONCLUSÃO

Os parâmetros estudados para a extração de ß-glucanas de cevada demonstram que esta pode ser obtida com mais de 50% de pureza. A caracterização do amido residual da extração de ß-glucanas de cevada indica que este material possui mais de 75% de pureza em amido. Adicionalmente, as características de tamanho e de viscosidade demonstradas por este amido residual são semelhantes às características de amidos já utilizados

na indústria de alimentos, como o amido de milho, o que sugere que a utilização deste resíduo é viável.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), pelo financiamento do projeto; à SL Alimentos Ltda., pela doação da amostra; à Megazyme Internacional Ireland Ltd., pelo apoio; e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa.

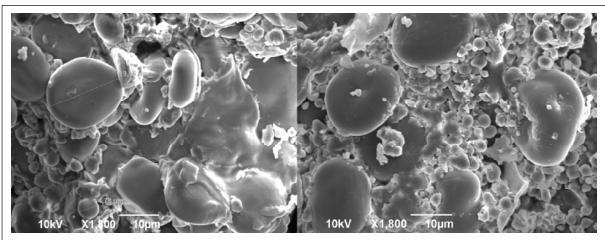


Figura 3 - Microscopia eletrônica de varredura do amido residual da extração de β-glucanas de cevada.

REFERÊNCIAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of AACC. 9.ed. St Paul, 2000.

CZUCHAJOWSKA, Z. et al. Structure and functionality of barley starches. **Cereal Chemistry**, v.75, n.5, p.747-754, 1998.

FRANCO, C.M.L. et al. Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. **Cereal Chemistry**, v.79, n.2, p.243-248, 2002.

FRANCO, C.M.L. et. al. Effect of lactic acid and uv irradiation on the Cassava and Corn Starches. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53 n.2, p.443-454, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132010000200025&lng=en&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 13 jun. 2011. doi: 10.1590/S1516-89132010000200025.

FUJITA, A.H.; FIGUEROA, M.O.R. Composição centesimal e teor de β-glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos,** v.23, p.116-120, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000200003&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 18 nov. 2010. doi: 10.1590/S0101-20612003000200003.

GILBERT, G.A.; SPRAGG, S.P. Iodine sorption: blue value. In: WHISTLER, R.L. et al. **Methods in carbohydrate chemistry**. London: Academic, 1964. p.168-169.

GRANT, L.A. Effects of starch isolation, drying, and grinding techniques on its gelatinization and retrogradation properties. **Cereal Chemistry**, v.75, n.5, p.590-594, 1998.

HOSENEY, R.C. Principios de ciencia y tecnologia de los cereales. Zaragoza: Acribia, 1991. 321p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm. Acesso em: 08 abr. 2011.

JANE, J. et al. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.76, n.5, p.629-637, 1999.

LI, J.H. et al. Starch from hull-less barley: I. Granulemorphology, composition and amylopectin structure. **Food Chemistry**, v.74, p.395-405, 2001. Disponível em: . Acesso em: 12 dez. 2009. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00246-1.

MACGREGOR, A.W.; FINCHER, G.B. Carbohydrates of the barley grain. In: _____; BHATTY, R.S. **Barley - Chemistry and technology**. St. Paul, Minnesota: AACC, 1993. p.73-128.

MCPHERSON, A.E.; JANE, J. Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. **Carbohydrate Polymers**, v.40, p.57-70, 1999. Disponível em: . Acesso em: 24 mar. 2011. doi:10.1016/S0144-8617(99)00039-9.

NEWMAN, C.W.; NEWMAN, R.K. A brief history of barley foods. **Cereal Foods World**, v.51, p.4-8, 2006.

NEWPORT SCIENTIFIC METHOD ST-00, November 1998. Decatur, IL: Developed by A. E. Staley Manufacturing, 62525, 1998. (Revision 3).

SANDHU, K.S. et al. Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. **Journal of Food Engineering**, v.64, p.119-127, 2004.

SCHOCH, J.T. Swelling power and solubility of starch granules. In: WHISTLER, R.J.S.R.J.; WOLFROM, M.L. **Methods in carbohydrates chemistry**. New York, USA: Academic, 1964. p.106-108.

SINGH, J. et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. Food Chemistry, v.81, p.219-231,

2003. Disponível em: . Acesso em: 21 set. 2009. doi:10.1016/S0308-8146(02)00416-8.

SOARES, R.M.D. Caracterização parcial de amido em cultivares brasileiros de cevada (*Hordeum vulgare L.*). 2003. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, SC.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylase varieties. **Carbohydrate Polymers**, v.41, p.365-377, 2000. Disponível em: . Acesso em: 23 out. 2010. doi:10.1016/S0144-8617(99)00098-3.

TEMELLI, F. Extraction and functional properties of Barley â-glucan as affected by temperature and pH. **Journal of food science**, v.62, p.1194-1201, 1997.

VASANTHAN, T.; TEMELLI, F. Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration. **Food Research International,** v.41, p.876-881, 2008. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/

 $science?_ob=ArticleURL\&_udi=B6T6V-4T7086B-1\&_user=687353\&_coverDate=11\%2F30\%2F2008\&_rdoc=1\&_fmt=high\&_orig=gateway\&_origin=gateway\&_sort=d\&_docanc hor=\&view=c\&_acct=C000037882\&_version=1\&_urlVersion=0\&_userid=687353\&md5=a22043d5cb3a058626a6164d7739783a\&searc htype=a>. Acesso em: 23 mar. 2011. doi:10.1016/j.foodres.2008.07.022.$

WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N. Carbohydrate chemistry for food scientists. 2.ed. Minnesota: Eagan, 1999. 241p.

WILSON, R.H. et al. A fourier-transform infrared study of the gelation and retrogradation of waxy-maize starch. Carbohydrate Research, v.166, p.162-165, 1987. Disponível em: . Acesso em: 24 fev. 2011. doi:10.1016/0008-6215(87)80053-8.

WILSON, R.H.; BELTON, P.S. A Fourier-transform infrared study of wheat starch gels. Carbohydrate Research, v.180, p.339-344. 1988.

WOOD, P.J. et al. Extraction of high-viscosity gums from oats. Cereal Chemistry, v.55, p.1038-1049, 1978.

WÜRSCH, P.; PISUNYER, F.X. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes - A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. **Diabetes Care**, v.20, n.11, p.1774-1780, 1997.