

CINÉTICA DE HIDRATAÇÃO E DA LIBERAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO E DE SUA ISOLINHA

B. C. MARQUES¹, L. M. M. JORGE², R. M. M. JORGE^{3*}

^{1,3} Universidade Federal do Paraná, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Av. Cel. Francisco H dos Santos, s/n, Jardim das Américas, CEP: 81530-900 – Curitiba - PR – Brasil

² Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química, CEP 87020-900 – Maringá – PR - Brasil

*E-mail para contato: rjorge@ufpr.br

RESUMO – A hidratação dos grãos de milho realizada na indústria alimentícia para o processo de moagem úmida tem como principal objetivo a obtenção do amido. Neste trabalho foi estudada a cinética de absorção de água do grão de milho transgênico cultivar 2B587 Hx e sua isolinha cultivar 2B587. As amostras foram obtidas em experimentos conduzidos pelo Programa Milho do Instituto Agronômico de Campinas (IAC/APTA) na safra 2012. As isotermas de absorção de água dos grãos foram modeladas pelo modelo de parâmetros concentrados nas temperaturas de imersão de 40, 50, 60 e 67 °C. Verificou-se que a velocidade de absorção de água aumentou com a elevação da temperatura. Além disto, foi avaliada a cinética da liberação de sólidos solúveis na água de hidratação. Os resultados mostraram que os modelos cinéticos apresentaram boa qualidade de ajuste aos dados experimentais, destacando-se que a temperatura de imersão exerceu forte influência na liberação de sólidos solúveis durante a hidratação dos grãos.

1. INTRODUÇÃO

Em processos na indústria como a moagem úmida os grãos de milhos são primeiramente imersos em solução contendo 0.1-0.2 % de dióxido de enxofre (agente antimicrobiano) e 0.5-1.5 % de ácido lático em temperaturas que variam de 45 a 55 °C. Os grãos podem permanecer imersos por tempos que podem variar de 24 a 60 h para auxiliar a separação do amido e da proteína. A etapa de hidratação esta relacionada com a qualidade dos subprodutos do milho (germe, proteína, fibra e amido), pois com o amolecimento do grão, ocorre melhora da difusão dos outros dois solutos e ativação de enzimas. Além disto, o processo físico da moagem é favorecido (Lopes Filho *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2001; Shandera e Jackson, 1996).

O milho *Bt* (*Zea mays* L.) é aquele que tem sido modificado geneticamente para expressar o gene *cry1Ab* da bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) e produzir toxinas para controlar a infestação de pestes da ordem lepidópteras (Saxena e Stotzky, 2001). No Brasil na safra de 2013/14 foram disponibilizadas 253 cultivares transgênicas e 214 cultivares convencionais, sendo que pela primeira vez o número de cultivares transgênicas superou o número de cultivares convencionais (Cruz *et al.*, 2014).

Modelos cinéticos têm sido utilizados para prever o tempo de hidratação do grão para obter o teor de umidade desejado em uma determinada temperatura. Para o estudo do processo de hidratação dos grãos têm sido utilizados modelos empíricos e fenomenológicos (Peleg, 1988; Omoto *et al.*, 2009). Neste trabalho foram estudadas as características da hidratação de grão de milho transgênico e de sua isolinha convencional simulando condições industriais. Para isto, foi utilizado o modelo fenomenológico de parâmetros concentrados de Omoto *et al.* (2009) para o estudo da hidratação dos grãos de milhos. Também foi estudada a liberação de sólidos solúveis durante o processo utilizando-se modelo cinético de ordem zero.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para os experimentos foram utilizados grãos de milhos transgênicos cv. 2B587 Hx e sua isolinha convencional cv. 2B587. As amostras foram obtidas em experimentos conduzidos pelo Programa Milho do Instituto Agronômico de Campinas (IAC/APTA) na safra 2012, no município de Cândido Mota. Os grãos foram selecionados a fim de obter grãos de tamanhos mais uniformes e eliminar grãos defeituosos. A análise da composição química das amostras foi realizada de acordo com a AOAC (1995) para a determinação do conteúdo de umidade (base seca), proteína pelo método micro-*Kjeldahl* ($N \times 6,25$) lipídeos (solvente éter etílico) e cinzas. As fibras brutas foram determinadas conforme procedimentos do Instituto Adolfo Lutz (2008). Os carboidratos foram calculados por diferença em base seca (carboidratos % = 100 - [umidade % + proteína % + lipídeos % + cinzas % + fibras brutas %]). As determinações foram feitas em triplicatas

Os ensaios de hidratação foram realizados em temperaturas de 40, 50, 60 e 67 °C em banho termostático com agitação de 70 rpm. No banho termostático foram colocados frascos herméticos de 500 mL contendo 300 ml de solução com 0,20 % de dióxido de enxofre (SO_2) e 0,55 % de ácido lático. A solução foi obtida adicionando-se 11 ml de ácido lático e 5,9 g de metabissulfito de sódio em 2000 ml de água destilada, conforme procedimento de Lopes Filho, Ramos e Romero (2006). Posteriormente, foram adicionados 160 g de grãos de milho aos frascos. Os ensaios foram realizados em duplicatas. Amostras foram retiradas dos frascos em tempos pré-determinados e a água superficial de cada amostra foi retirada com papel toalha. Em seguida avaliou-se a umidade, densidade aparente e a concentração mássica de água nos grãos. A umidade foi obtida através do método de estufa a 105 °C até peso constante (Instituto Adolfo Lutz, 1985) e calculado conforme a Equações 1.

$$X_{bu} = \frac{MU - MS}{MU} \quad (1)$$

Outra parte da amostra foi destinada para determinação da densidade na qual foi registrada a massa e o número de grãos e em seguida foram transferidos para uma proveta graduada contendo água destilada. O volume da água deslocado em proveta foi utilizado para determinar a densidade do milho (ρ_{milho}). Posteriormente, calculou-se a concentração mássica de água nos grãos através da Equação 2. Também foi calculado o raio dos grãos, para isto o valor obtido do volume deslocado na proveta graduada foi dividido pelo número dos grãos na proveta para obter o volume de um grão. Com isto, foi calculado o raio dos grãos considerando-os partículas esféricas obtendo-se r_o médio de 0,37 cm para os dois milhos.

$$\rho_A = X_{bu} \cdot \rho_{milho} \quad (2)$$

2.1. Modelagem Matemática Da Cinética De Absorção de Água

Para o estudo da absorção de água pelos milhos foi utilizado o modelo de Omoto *et al.* (2009) que consiste na Equação 3, obtido por balanço de massa em regime transitório isotérmico para a água contida no grão. Para isto, considerou-se concentração de água homogênea dentro do grão, volume constante e geometria esférica.

$$\frac{d(\rho_A)}{dt} = \frac{K_s}{r_0} (\rho_{Aeq} - \rho_A) \quad (3)$$

Esta equação possui dois parâmetros ajustáveis sendo eles o coeficiente de transferência de massa aparente (K_s) e a concentração mássica de equilíbrio (ρ_{Aeq}). Foi adotado como condição inicial que no início da hidratação $t = 0$, a concentração de água no grão é uniforme e conhecida, $\rho_A = \rho_{A0}$. Após a integração da Equação 3 foi obtida a forma analítica conforme apresentada pela Equação 4 sendo o parâmetro K_s obtido por regressão linear. Para isto, foi utilizado ρ_{Aeq} obtido experimentalmente.

$$\ln \frac{(\rho_{Aeq} - \rho_A)}{(\rho_{Aeq} - \rho_{A0})} = -\frac{3K_s}{r_0} \cdot t \quad (4)$$

2.2. Análise da Água de Hidratação

A análise dos sólidos solúveis durante a hidratação na água de imersão dos milhos foram baseadas em procedimentos realizados por Bayram *et al.* (2004). Para isto, alíquotas da água de imersão dos milhos foram retiradas em tempos pré-determinados mantendo-se a proporção água/produto e as análises foram realizadas com as alíquotas em temperatura de 25 °C. Para determinação dos sólidos solúveis utilizou-se refratômetro (RL3, PZOG warszawa). As análises foram realizadas em duplicatas.

2.3. Modelo Para a Análise Dos Sólidos Solúveis

A perda de sólidos durante a hidratação dos grãos foi descrita como a interação de água com moléculas hidrofílicas dentro da matriz do grão, liberando algumas delas na água do processo. Por isto o fenômeno de liberação de sólidos foi avaliado com a abordagem da cinética de reação. A equação cinética utilizada para o estudo da liberação de sólidos foi o modelo de ordem zero, conforme indicada na Equação 5 (SAYAR *et al.*, 2011).

$$\frac{dM_{ds}}{dt} = k_{ds} \quad (5)$$

Integrando e rearranjando a Equação 5 foi obtida a Equação 6.

$$M_{ds} = k_{ds} t \quad (6)$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Modelo para a Análise da Cinética de Hidratação dos Grãos

O milho geneticamente modificado cultivar 2B587 Hx apresentou maior quantidade de carboidratos (2B587 Hx=75,3 % e 2B587=74,7 %) e cinzas (2B587 Hx=1,08 e 2B587=0,96 %) e menor quantidade de fibras brutas (2B587 Hx=1% e 2B587=1,51 %) em relação ao milho convencional 2B587 ($p<0,05$). Balieiro Neto *et al* (2011) também observaram diferenças na composição química entre milhos transgênicos e suas isolinhas convencionais no primeiro quando ano os danos provocados pelas condições ambientais e infestação de insetos na lavoura foram altos. Uma variedade transgênica estudada pelos autores apresentou menor teor de fibras e maior teor de carboidratos não fibrosos em relação a sua isolinha convencional. Já a outra variedade transgênica apresentou maior teor de Ca e K em relação a sua isolinha. Porém no segundo ano quando os danos foram menores as composições foram equivalentes.

Na Figura 1 pode-se observar as isotermas de hidratação dos milhos 2B587 e 2B587 Hx nas quatro temperaturas de imersão. Verifica-se que no início ocorre rápida absorção de água pelos grãos e que posteriormente diminui ao aproximar-se de condições de equilíbrio. Com a elevação da temperatura a velocidade de absorção se intensifica e os grãos atingem as condições de equilíbrio mais rapidamente.

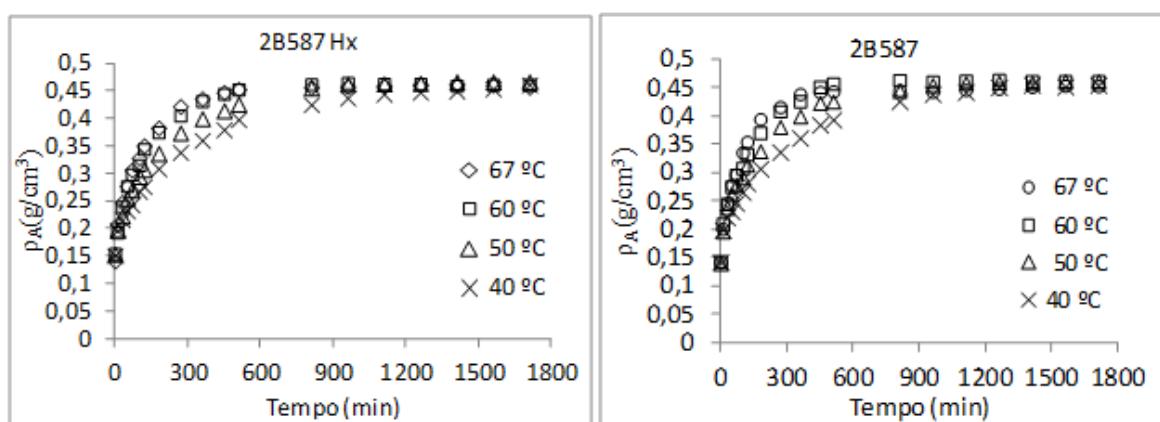


Figura 1 – Isotermas de absorção de água dos milhos 2B587 e 2B587 Hx nas temperaturas de 40, 50, 60 e 67 °C.

Na Tabela 1 são apresentadas as concentrações mássicas de equilíbrio (ρ_{Aeq}) obtidas para os dois milhos nas quatro temperaturas. Observou-se que a concentração mássica de equilíbrio (ρ_{Aeq}) não apresentou variação significativa na faixa de temperatura estudada e o milho convencional 2B587 obteve valor médio de $0,4577 \text{ g/cm}^3$ e o milho transgênico 2B587 Hx foi de $0,4614 \text{ g/cm}^3$. Estes valores de ρ_{Aeq} médios foram utilizados na Equação 4 para obtenção do parâmetro K_s que foi obtido por meio de regressão linear para cada temperatura, conforme mostrado na Figura 2 .

Tabela 1 - Concentrações mássicas de equilíbrio dos dois milhos nas quatro temperaturas de imersão

Temperatura (°C)	2B587 ρ_{Aeq} (g/cm ³)	2B587 Hx ρ_{Aeq} (g/cm ³)
40	$0,4550 \pm 0,0002$	$0,4610 \pm 0,0038$
50	$0,4614 \pm 0,0059$	$0,4665 \pm 0,0024$

60	0,4614±0,0025	0,4611±0,0024
67	0,4531±0,0039	0,4570±0,0021

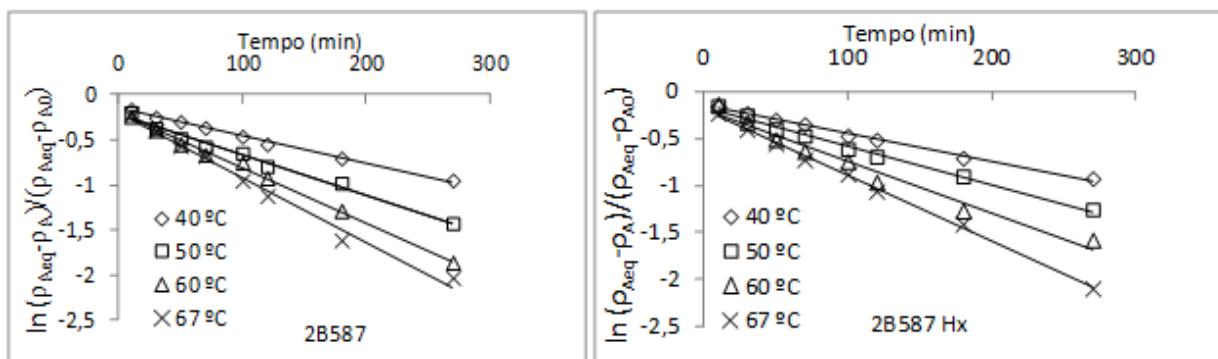


Figura 2 – Ajuste do modelo de Parâmetros concentrados aos dados experimentais para os dois milhos em cada temperatura.

A Tabela 2 mostra os valores obtidos dos coeficientes de difusão (K_s) para os dois milhos. Os valores do parâmetro K_s aumentaram com a elevação da temperatura indicando aumento da velocidade inicial de absorção de água dos grãos em temperaturas mais altas. O milho convencional 2B587 obteve mesmo valor de K_s na temperatura de 40°C e com a elevação da temperatura os valores foram maiores com diferença média de 7 % em relação ao transgênico. Os valores de R^2 variaram de 0,9709 a 0,9977 indicando adequado ajuste do modelo.

Tabela 2 – Coeficientes de difusão (K_s) dos milhos com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2)

Temperatura (°C)	2B587		2B587 Hx	
	K_s (cm ² /min)	R^2	K_s (cm ² /min)	R^2
40	0,00037	0,9956	0,00037	0,9945
50	0,00056	0,9881	0,00053	0,9937
60	0,00077	0,9958	0,00069	0,9709
67	0,00092	0,9864	0,00088	0,9977

Os valores dos coeficientes de difusão (K_s) foram relacionados com a temperatura por meio da equação de Arrhenius linearizada conforme mostrado na Equação 7. Por meio de regressão linear foi obtido o Parâmetro E' com R^2 de 0,9942 e 0,9969 indicando adequado ajuste aos dados experimentais. A partir de E' foram calculadas as energias de ativação, sendo $E' = E_a/R$ e R é a constante universal dos gases e igual a 8,314 KJ/mol/K. Deste modo, os valores de E_a obtidos foram de 29,91 KJ/mol para os milhos 2B587 e 27,81 KJ/mol para o milho 2B587 Hx. O milho convencional 2B587 obteve maior E_a indicando que este grão experimentou maiores mudanças e o coeficiente de difusão foi mais influenciado pela variação de temperatura do que o milho 2B587 Hx.

$$\ln K_s = \ln K_0 - E' \frac{1}{T} \quad (7)$$

O tempo para os grãos alcançarem a condição de equilíbrio (t_{eq}) pode ser definido como aquele no qual a umidade dos grãos atingem 99 % da umidade de equilíbrio ($\rho_A = 0,99 \rho_{Aeq}$) conforme apresentado na Equação 8. Os tempos foram obtidos admitindo os valores médios das concentrações mássicas de equilíbrio (ρ_{Aeq}) nas quatro temperaturas, utilizando-se $K_s=37,31\exp(-3600,1/T)$ para o milho 2B587 e $K_s=16,37\exp(-3347,7/T)$ para o milho 2B587 Hx. Os valores dos tempos em que os grãos atingem condições de equilíbrio variaram de 1348,8 a 571,99 minutos para o milho 2B587 que foram menores do que para o milho 2B587 Hx que variaram de 1414,9 a 622,62 minutos com a elevação da temperatura de 40 para 67 °C.

$$t_{eq} = \frac{r_0}{3K_s} \ln \left(\frac{100(\rho_{Aeq} - \rho_{A0})}{\rho_{Aeq}} \right) \quad (8)$$

3.2. Modelo para a Análise da Cinética de Sólidos Solúveis Liberados

A Figura 3 mostra a liberação de sólidos solúveis na água de imersão dos dois milhos nas temperaturas de 40, 50, 60 e 67 °C. Pode-se observar que a liberação de sólidos ocorreu após 120 minutos e posteriormente aumentou de forma crescente durante a hidratação. Verificou-se que os dois grãos liberam quantidades de sólidos solúveis próximas entre si. O conteúdo de sólidos solúveis liberados nas temperaturas de 40 e 50 °C em 1710 minutos para os dois milhos foram em média de 3,4, enquanto que na temperatura de 60 e 67 °C aumentou para 5,6. Através da Equação 6 e por meio de regressão linear foram obtidos os valores de k_{ds} , conforme mostrado na Tabela 3 com valores de R^2 variando de 0,8975 a 0,9438. Observou-se que a taxa de liberação de sólidos solúveis apresentou forte influência da temperatura com a variação de 50 para 60 °C.

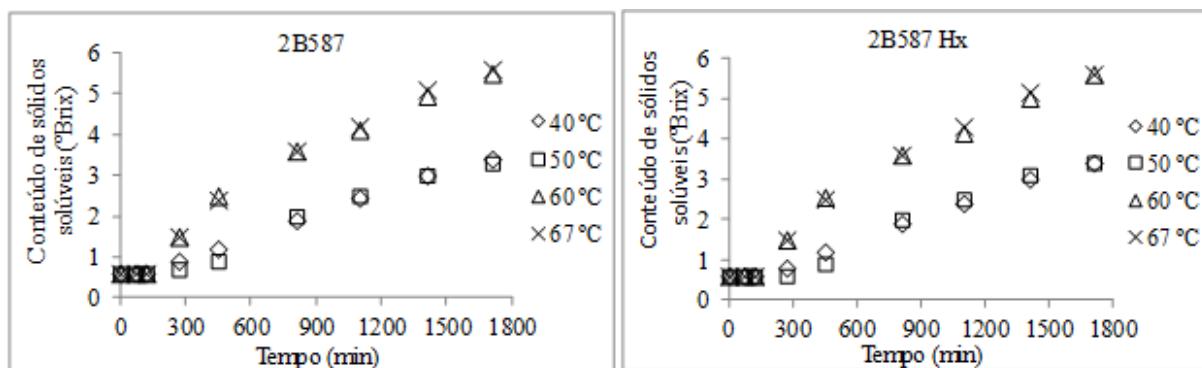


Figura 3 – Liberação de sólidos solúveis na água de imersão nas quatro temperaturas

Tabela 3 - Constante k_{ds} para os dois milhos e seus coeficientes de determinação (R^2)

Temperatura (°C)	2B587		2B587 Hx	
	k_{ds} (/min)	R^2	k_{ds} (/min)	R^2
40	0,0020	0,9144	0,0020	0,9072
50	0,0022	0,9134	0,0020	0,9072
60	0,0037	0,8975	0,0037	0,9005
67	0,0037	0,9438	0,0038	0,9396

A constante k_{ds} foi relacionada com a temperatura por meio da Equação de Arrhenius conforme mostrado na Equação 9 e E' foi obtido através de regressão linear para cada milho. Com estes valores foram calculadas as energias de ativação (E_a) que foram de 23,20 KJ/mol para o milho 2B587 e 24,78 KJ/mol para o milho 2B587 Hx com R^2 de 0,8829 e 0,8270, respectivamente.

$$\ln k_{ds} = \ln c - E' \frac{1}{T} \quad (9)$$

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram observadas diferenças nas composições químicas entre as duas amostras. A velocidade de hidratação aumentou com a elevação da temperatura e o modelo de Parâmetros concentrados representou adequadamente o processo de hidratação dos grãos de milho. Os valores de K_s variaram de 0,00037 a 0,00092 cm²/min para o milho 2B587 e 0,00037 a 0,00088 cm²/min para o milho 2B587 Hx. A relação de K_s com a temperatura foi satisfatoriamente representada pela equação de Arrhenius obtendo-se energia de ativação (E_a) de 29,91 para o milho 2B587 e 27,81 KJ/mol para o milho 2B587 Hx. O modelo obteve ajuste adequado aos dados experimentais e constitui-se uma ferramenta útil para otimização das condições de hidratação dos milhos e projeto do processo. A liberação de sólidos solúveis apresentou forte influência da temperatura de imersão e o modelo cinético de ordem zero obteve boa qualidade de ajuste aos dados experimentais. Para a liberação de sólidos solúveis foi obtida energia de ativação de 23,20 KJ/mol para o milho 2B587 e 24,78 KJ/mol para o milho 2B587 Hx.

5. NOMENCLATURA

- c constante da Equação de Arrhenius
- E' Parâmetro da equação de Arrhenius (/K)
- K_0 Parâmetro pré-exponencial da equação de Arrhenius. (cm²/min)
- k_{ds} constante da taxa de liberação de sólidos solúveis (/min)
- K_s Coeficiente de transferência de massa aparente (cm²/min)
- MS Massa do grão seco (g)
- MU Massa do grão úmido (g)
- M_{ds} sólidos liberados (°Brix)
- r_o Raio inicial do grão (cm)
- T Temperatura (°C)
- t Tempo (min.)
- t_{eq} Tempo de equilíbrio (min.)
- X_{bu} Umidade em base úmida (g/g)
- ρ_A Concentração mássica de água (g/cm³)
- ρ_{Ao} Concentração mássica inicial de água no grão (g/cm³)
- ρ_{Aeq} Concentração mássica de água no grão no equilíbrio (g/cm³)
- ρ_{milho} Densidade do grão (g/cm³)

6. REFERÊNCIAS

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 958.06). Arlington: A.O.A.C. v. 39. p. 21, 1995.

BALIEIRO NETO, G.; BRANCO, R. B. F.; CIVIDANES, T. M., dos S.; NOGUEIRA, J. R.; FELIX, M. R. F.; ROMA JUNIOR, L. C.; BUENO, M. S., FERRARI JÚNIOR, E.; POSSENTI, R.; REI, F. M. C. T. Relação custo benefício na produção de silagem com milho Bt. In: Clóves Cabreira Jobim; Ulysses Cecato; Marcos Weber do Canto. (Org.). Anais do IV Simpósio: Produção e Utilização de Forragens Conservadas. 1 ed. Maringá, PR, Brasil: Sthampa Gráfica e Editora, v. 1, p. 131-172, 2011.

BAYRAM, M.; KAYA, A.; ÖNER, M. D. Changes in properties of soaking water during production of soy-bulgur. *J. Food Eng.*, v.61, p. 221-230, 2004.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; QUEIROZ, L. R. Milho - Cultivares para 2013/2014. Quatrocentas e sessenta e sete cultivares de milho estão disponíveis no mercado de sementes do Brasil para a safra 2013/2014. Embrapa Milho e sorgo. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/>. Acesso em: março 2014.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolf Lutz, v.1, 3^a ed., São Paulo: O Instituto, 1985.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos . 4^a ed. Brasília, Anvisa 2008. (item 044/IV).

LOPES FILHO, J. F.; RAMOS, A. P.; ROMERO, J. T. Difusividades da água, dióxido de enxofre e ácido lático em grãos de milho durante a maceração para o processo de moagem úmida. *Braz. J. Food Technol.*, v. 9, n. 4, p. 257-263, 2006.

OMOTO, E. S.; ANDRADE, C. M. G.; JORGE, R. M. M.; COUTINHO, M. R.; PARAÍSO, P. R.; JORGE, L. M. M. Modelagem matemática e análise da hidratação de grãos de ervilha. *Ciênc. e Tecnol. de Aliment.*, v. 29, n. 1, p. 12-18, 2009.

PELEG, M. An empirical model for the description of moisture sorption curves. *J. Food Sci.*, v. 53, p. 1216-1219, 1988.

PÉREZ, O. E., HAROS, M. and SUAREZ, C. Corn steeping: influence of time and lactic acid on isolation and thermal properties of starch. *J. Food Eng.*, v. 48, p. 251-256, 2001.

SAXENA, D.; STOTZKY, G. Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *Am. J. Bot.* v. 88, n. 9, p. 1704-1706, 2001.

SAYAR, S.; TURHAN, M.; KÖKSEL, H. Solid loss during water absorption of chickpea (*Cicer arietinum L.*). *J. Food Process Eng.*, v. 34, p. 1172-1186, 2011.

SHANDERA, D. L.; JACKSON, D. S. Effect of corn wet-milling conditions (sulfur dioxide, lactic acid and steeping temperature) on starch functionality. *Cereal chem.*, v. 73, n. 5, p. 632-637, 1996