



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU  
EM CIÊNCIAS MOLECULARES



**TATIELIH PARDIM DE OLIVEIRA**

**CARACTERIZAÇÃO DE AMIDOS DE RIZOMAS DO  
*Hedychium coronarium* (LÍRIO-DO-BREJO) *IN NATURA*  
E MODIFICADOS POR FOSFATAÇÃO**

Anápolis – Goiás

2012

TATIELIH PARDIM DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE AMIDOS DE RIZOMAS DO**  
***Hedychium coronarium* (LÍRIO-DO-BREJO) *IN NATURA***  
**E MODIFICADOS POR FOSFATAÇÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

Orientador: Dr. Diego Palmiro Ramirez Ascheri.

Co-orientador: Dr. Tiago Venâncio

Anápolis – Goiás

Fevereiro- 2012

CARACTERIZAÇÃO DE AMIDOS DE RIZOMAS DO  
*Hedychium coronarium* (LÍRIO-DO-BREJO) *IN NATURA*  
E MODIFICADOS POR FOSFATAÇÃO

TATIELIH PARDIM DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao corpo docente do Programa de Mestrado em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

Data: 29 /02 /2012.

BANCA EXAMINADORA:

---

Dr. Diego Palmiro Ramirez Ascheri  
(Orientador)

---

Dra. Máisa Borges Costa  
Membro da banca

---

Dra. Maria Assima Bittar Gonçalves  
Membro da banca

Anápolis – Goiás  
Fevereiro- 2012

### **Dedico esta dissertação...**

Aos meus queridos pais, Arlete Dias Pardim de Oliveira e Paulo Afonso de Oliveira, que são minha inspiração de vida, minha coragem e que com todo amor e sabedoria me prepararam para a escola da vida.

Agradeço imensamente a Deus por ter vocês em minha vida.

### **Dedico ainda...**

A minha irmã Kelle Pardim de Oliveira, que é minha amiga, conselheira e confidente.

Espero que mais esta vitória possa servir de inspiração para a tua vida, e que te incentive a lutar e acreditar que todos os sonhos são possíveis de alcançar.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço a Deus, pelas bênçãos em minha vida.

Ao meu orientador, Dr. Diego Palmiro Ramirez Ascheri, que considero um grande amigo, que me incentivou com todo carinho e compreensão durante todo o tempo que dediquei à realização deste trabalho.

Ao meu Co-orientador, Dr. Tiago Venâncio, pela amizade, compreensão, paciência e dedicação na realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de estudos e pelo financiamento da pesquisa por meio dos recursos do Programa Especial e do Procad.

À Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPEG), pela ajuda financeira no desenvolvimento do trabalho.

Ao meu amigo Cleiber, pela amizade, colaboração e dedicação na realização das análises deste trabalho.

A minha amiga Eloá pelo exemplo de superação. Com você aprendi que mais importante do que ver, é saber sentir.

Ao meu amor e amigo Fernando, pelo carinho, amizade e companheirismo em todos os momentos de alegrias e tristezas.

Aos meus amigos e companheiros de laboratórios, em especial ao Francisco, Jois, Josiane e Suelem, pela amizade, carinho, atenção e momentos de distração.

Aos colegas do laboratório de RMN da UFScar, pela ajuda nas análises e contribuição nas pesquisas, especialmente a Lorena e ao Elenilson.

## **CURRICULUM VITAE**

### **FORMAÇÃO ACADÊMICA:**

- Bacharel em Química Industrial – Universidade Estadual de Goiás: 2005– 2009.

### **ATUAÇÃO PROFISSIONAL:**

- Estágio supervisionado na Vigilância Sanitária de Anápolis, SMS-VISA, Brasil.

### **FORMAÇÃO COMPLEMENTAR:**

- 2011 - Caracterização de Nanomateriais. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos- São Paulo.
- 2010 - Caracterização de Pequenas Moléculas por DRX. Universidade Federal de Goiás, Goiânia- Goiás.
- 2010 - Microchips Analíticos: Plataformas Miniaturizadas. Universidade Federal de Goiás, Goiânia- Goiás.
- 2010 - Toxicologia e Química Forense. Universidade Federal de Goiás, Goiânia- Goiás.
- 2010- EX/IN-Clusão na Aula de Química. Universidade Federal de Goiás, Goiânia- Goiás.
- 2010- Biodiesel. (Carga horária: 3h). FATEC SENAI Roberto Mange, Anápolis- Goiás.
- 2010- Preparo de Amostras para Determinações Inorgânicas.. FATEC SENAI Roberto Mange, Anápolis- Goiás.
- 2010- Introdução às Análises Térmicas. FATEC SENAI Roberto Mange, Anápolis- Goiás.
- 2009- Curso de Perícia Criminal (Toxicologia Forense). Integra Cursos, Goiânia- Goiás.
- 2008- Noções de Ciência e Tecnologia dos Polímeros. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis- Goiás.
- 2008- Abertura e Preparação de Amostras. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis- Goiás.

- 2007 - Desafios dos Poluentes Orgânicos Persistentes. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis- Goiás.
- 2007 - Métodos de Controle da Qualidade da Água. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis- Goiás.
- 2006 - Higienização na Indústria de Alimentos. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis- Goiás.

#### **PUBLICAÇÕES:**

- Efeito do sorbitol e das misturas de amidos de milho e de Lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) no tempo de secagem das soluções filmogênicas. Revista Agrotecnologia, v. 01, p. 111-126, 2010.
- O uso do software excel como apoio didático ao entendimento do teorema do limite central. Educação Matemática em Revista (São Paulo), v. 13, p. 17-24, 2007.

#### **APRESENTAÇÕES DE TRABALHO:**

- Filmes biodegradáveis de amido de *Hedychium coronarium*: caracterização do amido, secagem e propriedades físicas e mecânicas. Florianópolis, SBQ- 2011.
- Propriedades físicas e químicas do amido da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum*) modificado por fosfatação. Florianópolis, SBQ- 2011.
- Filmes Plásticos de Misturas de Amido de Milho e Lírio-do-Brejo: Elaboração e Caracterização. Anápolis, UEG- 2009.
- Estimativa da Difusividade Térmica da Pasta de Pequi pelos Métodos de Muller e Lavenberg-Maquardt. Rio de Janeiro, CBQ- 2008.
- Teorema do Limite Central com o Apoio do Software Excel. Anápolis, UEG- 2006.

#### **INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

- Biofilmes de misturas de amidos de milho e de Lírio-do-brejo: Elaboração, Caracterização e Aplicação funcional. CNPQ, 2008-2009.

## RESUMO

O lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) é uma planta de caráter invasivo, com alta capacidade de proliferação de rizomas, sendo possível seu uso como uma nova fonte de amido não convencional para diversos usos. Como não existe na literatura informações disponíveis sobre a modificação química deste amido, o presente trabalho teve por objetivo estudar as características do amido *in natura* e modificado por fosfatação em função do tempo de reação (20, 30 e 40 min) e da concentração de tripolifosfato de sódio (3, 5 e 7%). Das amostras foram determinadas a composição química, densidade, tamanho e forma dos grânulos de amido por microscopia óptica e eletrônica de varredura, poder de inchamento e índice de solubilidade, difração de raios-X, calorimetria diferencial de varredura, espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier e Ressonância Magnética Nuclear. Os grânulos de amido *in natura* apresentaram forma elipsóide, pentagonal e irregular, com comprimento e largura médios entre 44,7-57,1 e 29,9-36,4  $\mu\text{m}$ , respectivamente. O modelo de regressão linear ajustou-se aos teores de cinzas e fósforo, verificando um aumento destes teores com o aumento da concentração de TPS e tempo de reação. Maior efeito foi exercido pela concentração de TPS. Quanto às dimensões dos grânulos de amido fosfatados foi observado um ligeiro aumento. Foi possível, através da metodologia utilizada, obter amidos de lírio-do-brejo com teores de fósforo aceitáveis pela legislação para fins alimentícios nos níveis de fosfatação de 3% e 5%. Nas amostras com 7% de TPS, foram obtidos teores de fósforo superiores a 0,4%, o que remete a aplicação funcional destes para outros fins tecnológicos. As amostras de amido fosfatado estudados apresentaram redução na densidade, aumento do poder de inchamento e índice de solubilidade e um maior grau de cristalinidade. Nas análises de RMN verificaram-se sinais em 2,74 ppm, indicativo de presença de fosfato inorgânico ou amido monoéster fosfato, e um sinal em 0,16 ppm, indicativo de presença de ligação fosfodiéster, sendo este um indicativo de que a reação de fosfatação foi efetiva e que a ligação amido-fosfato ocorreu com formação de formas monoéster e amido fosfato diéster.

## ABSTRACT

The lily of the marsh (*Hedychium coronarium*) is an invasive plant with high proliferation capacity for rhizomes, and it can be utilized as a new non-conventional source of starch for different uses. Since there is no information available in the literature on the chemical modification of this starch, the present work aimed to study the characteristics of natural and modified starch according to the phosphating reaction time (20, 30 and 40 min) and concentration of sodium tripolyphosphate (3, 5 and 7%). The chemical composition, density, size and shape of starch granules of each sample were determined by light microscopy and scanning electron microscopy, swelling power and solubility index, X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, infrared spectroscopy with spectroscopy and nuclear magnetic resonance. The natural starch granules presented an ellipsoid and irregular pentagonal shape with average length and width from 44.7 to 57.1 and from 29.9 to 36.4  $\mu\text{m}$ , respectively. The linear regression model was adjusted to ash and phosphorus levels, and an increase of these levels was verified with increasing concentration of TPS and reaction time. The greatest effect was exerted by the concentration of TPS. When it comes to the dimensions of the phosphate granules, a slight increase was observed. With the methodology used, it was possible to obtain lily of the marsh starches with levels of phosphorus acceptable by the legislation for food with phosphating levels of 3% and 5%. Phosphorus concentrations above 0.4% were obtained in samples with 7% of TPS, which suggests the functional application of those in other technological purposes. The samples of starch phosphate studied presented reduced density, increase in swelling power and solubility rate, and a greater degree of crystallinity. In the analysis of NMR, there were signs at 2.74 ppm, which indicates the presence of inorganic phosphate or starch phosphate monoester, and a signal at 0.16 ppm, indicative of the presence of phosphodiester bond, which is an indication that the phosphorylation reaction was effective and that the starch-phosphate binding occurred with the formation of monoester forms and starch phosphate diester.



## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	02
3. OBJETIVOS.....	12
3.1. Objetivo geral.....	12
3.2. Objetivo específico.....	12
4. MATERIAS E METODOS.....	13
4.1. Extração do amido do Lírio-do-brejo.....	13
4.2. Modificação química.....	14
4.3. Caracterização química e físico-química dos amidos <i>in natura</i> e quimicamente modificados.....	15
4.3.1. Análise microscópica dos grânulos de amido.....	15
4.3.2. Composição química do amido.....	16
4.3.3. Densidade absoluta.....	16
4.3.4. Poder de inchamento e índice de solubilidade.....	16
4.3.5. Difração de Raio-X.....	17
4.3.6. Análise calorimétrica.....	17
4.3.7. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	18
4.3.8. Aquisição das medidas espectroscópicas de RMN.....	18
4.4. Análise estatística.....	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	21
5.1. Composição química.....	21
5.2. Teores de cinzas e fósforo, densidade e análise das dimensões e da morfologia dos grânulos.....	21
5.3. Poder de inchamento (PI) e índice de solubilidade (IS) dos grânulos de amido.....	27

5.4. Análises da estrutura grânular cristalina por difração de Raios - X.....	30
5.5. Caracterização por calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	30
5.6. Caracterização por espectroscopia na região do Infravermelho.....	32
5.7. Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear RMN no estado sólido.....	34
5.8. Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear RMN em solução.....	36
6. CONCLUSÕES.....	42
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
8. APÊNDICES.....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA - Análise de variância

d – Densidade absoluta

DSC- Calorimetria diferencial de varredura

FTIR - Infravermelho com transformada de Fourier

IS – Índice de Solubilidade

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

P – Teor de fósforo

p/v – peso/volume

PI – Poder de Inchamento

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

t – tempo de reação

TPS – Tripolifosfato de Sódio

v/v – volume/volume

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Parâmetros de Aquisição dos espectros de RMN.....	19
<b>Tabela 2:</b> Composição química (em base seca) dos amido de lírio-do-brejo <i>in natura</i> e fosfatado.....	21
<b>Tabela 3:</b> Teores de cinzas e fósforo do amido dos rizomas de lírio-do-brejo <i>in natura</i> e modificados com TPS em diferentes tempos de fosfatação.....	22
<b>Tabela 4:</b> Resumo da análise de variância aplicada ao modelo matemático linear para efeitos do tempo de reação e concentração de TPS nos teores de cinzas, fósforo, densidade, comprimento e largura dos amidos fosfatados de lírio-do-brejo.....	24
<b>Tabela 5:</b> Densidade e dimensões dos grânulos de amido <i>in natura</i> e modificados com TPS em diferentes tempos de reação.....	26
<b>Tabela 6:</b> Propriedades térmicas dos amidos de lírio-do-brejo <i>in natura</i> e modificados com tripolifosfato de sódio.....	32
<b>Tabela 7:</b> Deslocamentos químicos no estado sólido do $^{13}\text{C}$ para o amido de lírio-do-brejo.....	35
<b>Tabela 8:</b> Deslocamentos químicos no estado líquido do $^{13}\text{C}$ para o amido de lírio-do-brejo.....	37
<b>Tabela 9:</b> Deslocamentos químicos no estado líquido do $^1\text{H}$ para o amido de lírio-do-brejo.....	38

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Planta de <i>Hedychium coronarium</i> . (a) Folhas, flores, e haste. (b) Rizomas.....	02
<b>Figura 2:</b> Estrutura da amilose.....	03
<b>Figura 3:</b> Estrutura da amilopectina.....	04
<b>Figura 4:</b> Esquema das medições longitudinais e transversais feitas nos grânulos de amidos.....	15
<b>Figura 5:</b> Efeitos da concentração de tripolifosfato de sódio e tempo de reação da fosfatação nos teores: (a) cinzas e (b) fósforo, dos amidos modificados do lírio-do-brejo.....	25
<b>Figura 6:</b> Microfotografia dos grânulos de <i>Hedychium coronarium</i> (a) in natura (b) modificado 3% TPS (c) modificado 5% TPS e (d) modificado 7% TPS observado em microscópio eletrônico de varredura com aumento de 1000x.....	27
<b>Figura 7:</b> (a) Poder de inchamento e (b) índice de solubilidade dos grânulos de amido de lírio-do-brejo.....	29
<b>Figura 8:</b> Difractogramas de Raio-X das amostras de amido de lírio-do-brejo.....	31
<b>Figura 9:</b> Espectro de FTIR dos amidos in natura e fosfatados.....	33
<b>Figura 10:</b> Posições dos carbonos e respectivos hidrogênios.....	34
<b>Figura 11:</b> Espectros de RMN no estado sólido do $^{13}\text{C}$ dos amidos de lírio-do-brejo in natura e fosfatados.....	35
<b>Figura 12:</b> Espectros de RMN no estado líquido do $^{13}\text{C}$ dos amidos de lírio-do-brejo in natura e fosfatado.....	36
<b>Figura 13:</b> Espectros de RMN no estado líquido do $^1\text{H}$ dos amidos de lírio-do-brejo in natura e fosfatados.....	38
<b>Figura 14:</b> Espectros de RMN no estado líquido do $^{31}\text{P}$ dos amidos de lírio-do-brejo in natura e fosfatados.....	40

## 1. INTRODUÇÃO

O amido modificado tem diversas funções na indústria tais como melhoria do tempo de vida útil do material, redução da absorção de umidade que evita danos físicos e biológicos, melhoria da viscosidade dos produtos elaborados, dentre outros.

Vários estudos têm sido realizados a fim de se obter amidos com propriedades superiores às dos amidos naturais, aprimorando o desenvolvimento desta tecnologia de produção de amidos modificados empor meio do uso de matéria-prima de fontes não convencionais.

O *Hedychium coronarium*, conhecido popularmente como lírio-do-brejo e/ou lírio-borboleta, é uma fonte alternativa de amido por ser uma planta invasiva com grande potencial de uso, apesar de atualmente ainda não ter nenhum tipo de aproveitamento industrial.

A utilização do tripolifosfato de sódio (TPS) para o processo de fosfatação é viável, pois este sal apresenta custo relativamente baixo sendo o processo executado com facilidade. Com estes aspectos aliados à grande necessidade de matéria-prima que resista ao processamento sem perder a qualidade até a obtenção do produto final, espera-se obter amidos com características satisfatórias e que tenham aplicabilidade funcional viável.

Considerando o grande potencial invasor dos rizomas de *Hedychium coronarium* devido à sua alta capacidade de proliferação e que ainda não há estudo sobre a modificação química deste amido, este trabalho tem por objetivo estudar as características do amido *in natura* e verificar os efeitos que causam os fatores tempo de reação e concentração de tripolifosfato de sódio sobre as propriedades físicas e físico-químicas deste amido, com o intuito de se obter um amido fosfatado com teores de fósforo permitido pela legislação brasileira.

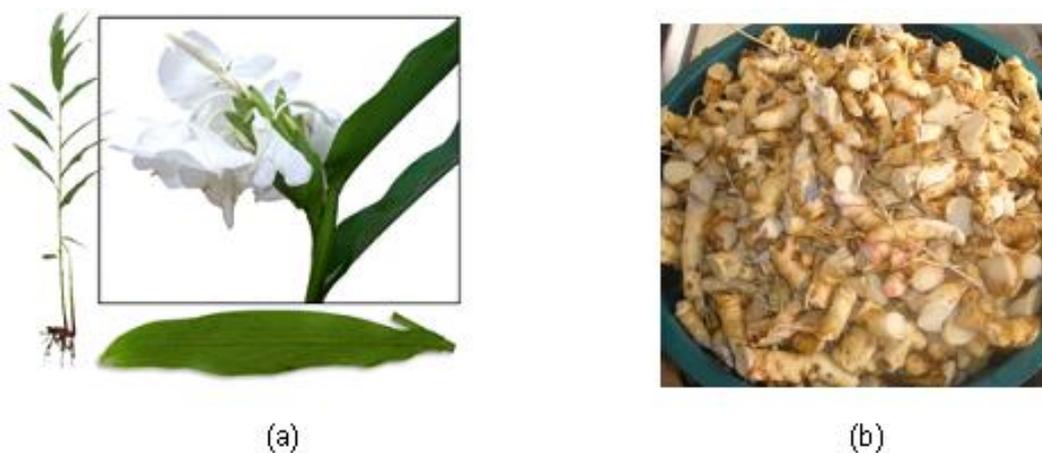
## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O lírio-do-brejo é uma macrófita da família Zingiberaceae, originária da Ásia Tropical e aclimatada nas Américas, principalmente no Brasil (LORENZI, 2001), sendo encontrada em regiões de águas rasas e semi-paradas.

Conhecida popularmente como lírio-do-brejo, gengibre-branco ou lírio-borboleta, esta espécie é considerada uma planta daninha devido ao rápido crescimento e dispersão (SANTOS, 2005).

É geralmente encontrada em toda a zona litorânea do território brasileiro apresentando parte aérea organizada em caule cilíndrico de coloração avermelhada na base, folhas lanceoladas de distribuição alternada e seus frutos apresentam-se de cor alaranjada quando maduros.

Segundo SMITH (1985), o lírio-do-brejo (Figura 1) é uma planta exótica de grande potencial invasor, devido à sua alta capacidade de proliferação pelos rizomas, porém há poucos estudos sobre seu aproveitamento. Por apresentar flores brancas vistosas e muito perfumadas, seu uso tem se limitado para aplicação ornamental.



**Figura 1:** Planta de *Hedychium coronarium*. (a) Folhas, flores, e haste. (b) Rizomas.

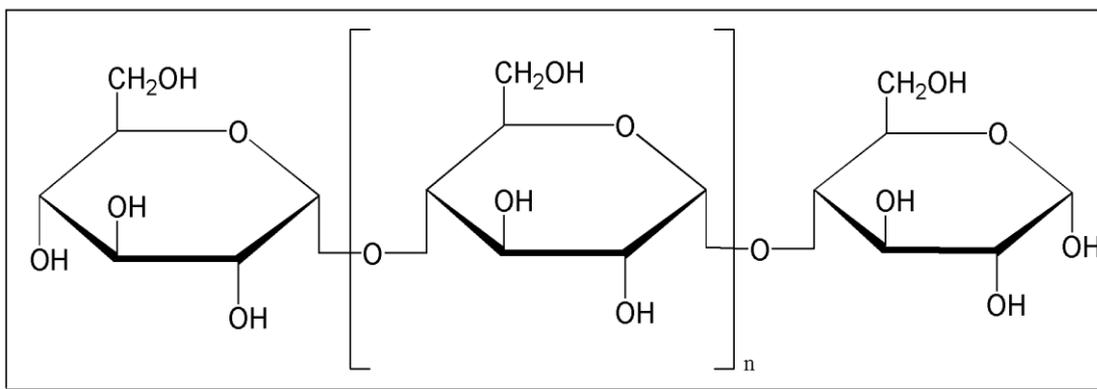
Entretanto alguns estudos foram realizados por ASCHERI *et al.*, (2010) descreveram que o amido dos rizomas de lírio-do-brejo possui elevada temperatura de empastamento (73,1-78,7°C), tendência ao inchamento e índice de solubilidade baixos, suas pastas apresentaram elevada estabilidade frente ao aquecimento e sob agitação mecânica, e seus géis apresentam alta

tendência à retrogradação. Estes autores também elaboraram filmes biodegradáveis com este amido que se mostraram bastante resistentes.

Assim como nos rizomas, o amido é encontrado nas sementes, caules, raízes, etc., de várias plantas como milho, trigo, mandioca, arroz, feijão, batata e outras, e sua extração a nível comercial é restringida aos cereais, raízes e tubérculos.

Os grânulos de amido são insolúveis em água fria, sendo seu tamanho e forma característicos da origem botânica. Possuem propriedades físico-químicas e funcionais exclusivas de grande importância nos mais diversos setores industriais, principalmente na indústria alimentícia. Sua composição baseia-se em dois tipos de polímeros da glicose, a amilose e a amilopectina, sendo que a proporção entre estes dois polímeros é variável com a fonte botânica, o que irá lhe conferir certas características específicas de pasta (PERONI, 2003).

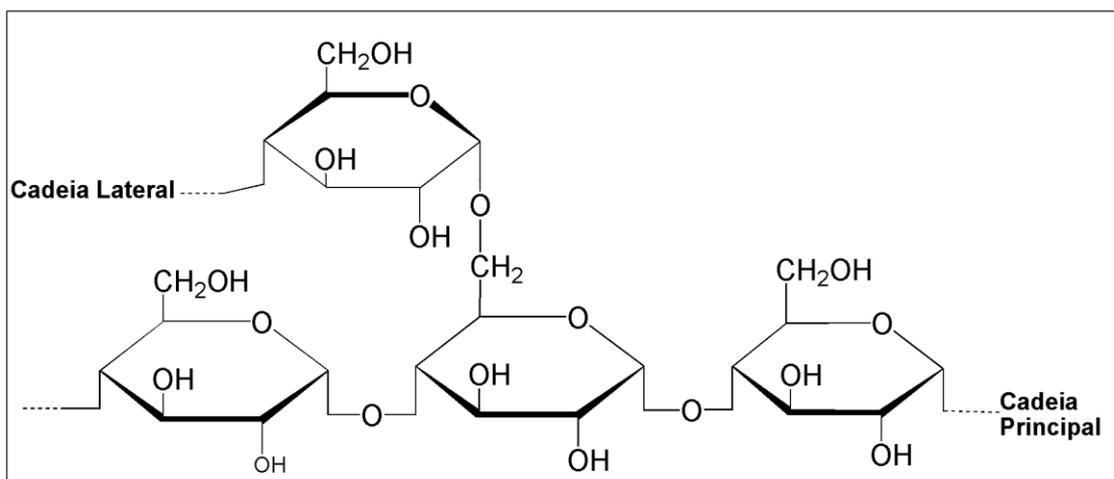
A amilose (Figura 2) é uma molécula linear composta por 250 a 300 unidades de D-glicose ligadas uniformemente por ligações glicosídicas  $\alpha(1\rightarrow4)$ . Consiste de cadeias longas, não ramificadas, apresentando conformação helicoidal na forma cristalina.



**Figura 2:** Estrutura da amilose.

Fonte: (FENIMAN, 2004) com modificações.

A amilopectina (Figura 3) é formada por várias unidades D-glicose ( $\geq 1000$ ) unidas por ligações glicosídicas  $\alpha(1\rightarrow4)$  nas porções retilíneas e ligações  $\alpha(1\rightarrow6)$  nas cadeias ramificadas. Os pontos de ramificações ocorrem entre cada 24 e 30 resíduos, de glicose.



**Figura 3:** Estrutura da amilopectina.

Fonte: (FENIMAN, 2004) com modificações.

Segundo (SASAKI & MATSUKI, 1998; LU *et al*, 2005 e HOOVER, 2007) as propriedades funcionais do amido são dependentes de sua composição, estrutura molecular que inclui a razão amilose/amilopectina, massa molecular, tamanho do grânulo e teor de fósforo.

O amido pode sofrer modificações químicas, físicas e enzimáticas em seus grânulos para melhor atender as suas diversas aplicações nas indústrias. De acordo com FOCUS (1993), a modificação tem por finalidade melhorar as características dos grânulos elevando sua capacidade de ligação, espessamento, formação de gel e textura.

BEMILLER (1997) descreveu as razões que levam a modificar amidos:

- modificar as características de cozimento (gelificação);
- diminuir a retrogradação;
- diminuir a tendência das pastas e formarem géis;
- melhorar a textura das pastas ou géis.
- aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e descongelamento;
- melhorar a transparência das pastas ou géis e a também sua adesividade;

De acordo com SINGH *et al.* (2007) a modificação química de amidos envolve a introdução de grupos funcionais na molécula por meio de reações

de derivatização (eterificação, esterificação de reticulação e enxertia) ou decomposição (hidrólise ácida ou enzimática e oxidação). Já a modificação física é feita por meio de calor e umidade.

Os processos de modificação são utilizados para adaptar o amido a aplicações específicas em alimentos, através de alterações em suas características físicas e químicas que visa melhorias em suas características funcionais (HERMANSSON & SVEGMARK, 1996).

O setor industrial está em frequente desenvolvimento, necessitando cada vez mais de matérias-primas que atendam suas necessidades e, conseqüentemente, as novas exigências do consumidor. Devido a grande demanda de amidos com características específicas, capazes de conferir alta qualidade ao produto final (SILVA *et al*, 2006), vários estudos relacionados a processos modificação estão sendo desenvolvidos.

Os grânulos de amidos não modificados possuem resistência limitada às condições físicas da indústria, tais como condições extremas de temperatura, pH e cisalhamento durante o processamento.

A modificação por fosfatação restringe o inchamento interno e mantém a resistência a ação mecânica do amido estabilizando a viscosidade da pasta quente. Neste caso o amido não incha facilmente e pode ser manuseado em altas temperaturas e pressões, devido a melhorias em suas propriedades de pasta. Segundo KARIM *et al.*, 2007, a presença de fósforo no amido promove importante variação nas propriedades funcionais destes, tais como a gelatinização e retrogradação.

NABESHIMA & EL-DASH, (2004) consideram que a presença de ligação cruzada na estrutura do amido é uma das mais importantes modificações químicas, uma vez que aumenta a resistência ao inchamento e à gelatinização do grânulo.

A modificação do amido pode ser realizada de acordo com a aplicação funcional específica a que se pretende destinar o produto modificado. A Portaria nº 42, de 14 de janeiro de 1998 (ANVISA, 1998a) define aditivo alimentar como sendo qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos com o objetivo de modificar suas características. Os amidos modificados quimicamente estão incluídos nesta classe de ingredientes, sendo estes denominados “amidos modificados”.

A modificação química do amido com tripolifosfato de sódio (TPS,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) acontece por meio de esterificação (WATTANCHANT *et al.*, 2003), que pode ocorrer em qualquer oxidrila, produzindo géis mais claros e suaves, com alta viscosidade, que poderão ser estocados por longos períodos em condições de refrigeração ou congelamento, sem apresentarem sinerese.

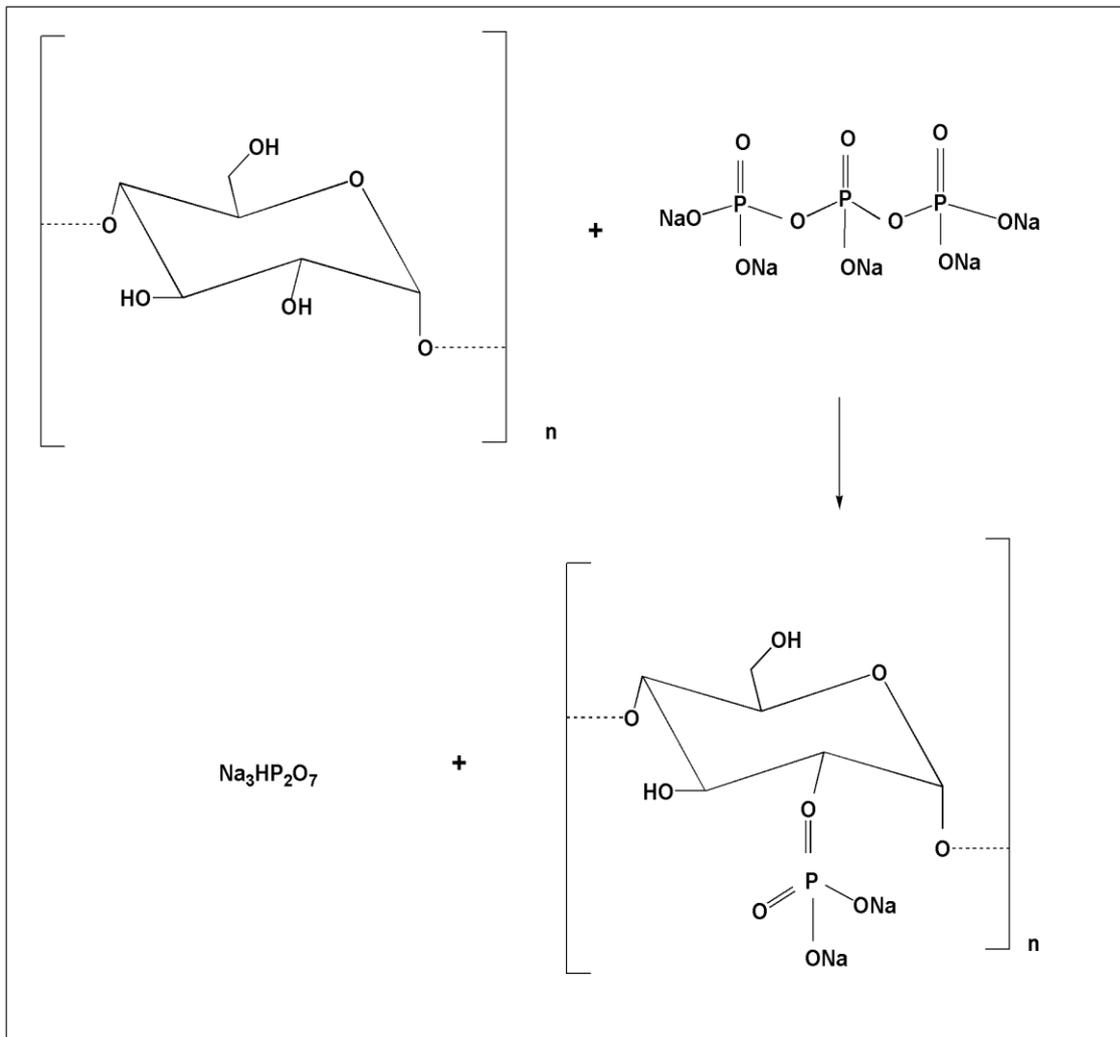
O TPS possui grande aceitação nos processos de fosfatação de amido por ser um sal relativamente barato, pela facilidade de execução do processo e pela produção de pastas com boa claridade (LIM & SEIB, 1993).

A legislação internacional estabelece níveis de fósforo não superiores a 0,4% (Codex Alimentarius – FAO, 2010). A resolução (RDC) n°. 234/2002 da (ANVISA, 2002b), permite uma concentração residual de 0,1% de fósforo ou 0,5% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  quando se usa o tripolifosfato de sódio (TPS) na modificação de amidos (BRASIL, 2002).

A *Food and Drug Administration* (2007) permite o uso de amidos modificados em alimentos com tripolifosfato de sódio e ortofosfato monossódio (desde que o fósforo residual não exceda de 0,4%).

Segundo CEREDA *et al.*, 2003 no Brasil, menos de 10% dos amidos modificados estão sendo destinados à indústria de alimentos, pois o principal foco está na indústria de papel e papelão.

O Esquema 1 representa a fosfatação do amido com tripolifosfato de sódio:



**Esquema 1:** Fosfatação do amido com tripolifosfato de sódio.

Segundo SITOBY *et al.* (2000), a introdução de grupos fosfato nas cadeias de amido provoca um aumento no poder de inchamento e no índice de solubilidade, devido à repulsão dos grupos fosfato negativamente carregados nas moléculas. Fatores tais como a concentração de reagente, o tempo de reação, dentre outros, irão determinar o número de grupos fosfato incorporados a molécula de amido.

De acordo com RECHSTEINER, (2009) se somente hidroxi amido é envolvido na ligação amido-fosfato, o produto é um monoéster, sendo possível também a obtenção do amido fosfato diéster.

Segundo HIRSCH & KOKINI, (2002), as propriedades químicas e funcionais obtidas com a modificação do amido dependem da fonte botânica,

das condições reacionais (concentração de reagente, tempo de reação, pH dentre outros) e a distribuição do substituinte na molécula de amido.

CEREDA (2003) verificou importantes alterações reológicas e físicas nos amidos modificações tais como aumento do poder de inchamento e do índice de solubilidade dos grânulos, redução da temperatura de gelatinização e aumento da viscosidade do gel.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC, *Differential scanning calorimetry*) é uma técnica que vem sendo aplicada na caracterização de amidos para determinação de sua temperatura de gelificação. Segundo KRIEGER *et al.*, (1997), as propriedades térmicas de gelificação do amido são determinantes para determinar a sua funcionalidade e utilização na indústria.

A DCS é baseada na diferença de energia fornecida à amostra em relação a um material de referência. A quantidade de calor envolvida em uma transformação, decorrentes de transições físicas ou químicas, são obtidas utilizando-se termopares por meio de uma programação controlada de temperatura. Esta quantidade de calor é diretamente relacionada à área contida sob o pico gerado pela referida transformação (LUCAS, *et al.*, 2001).

As variações de entalpia, chamadas de transições de primeira ordem, podem ser endotérmicas (absorção, fusão, transição cristalina, etc) e exotérmicas (cristalização e adsorção, etc), dando origem a picos. Segundo COUPLAND *et al.*, (2000), nas transições térmicas de segunda ordem ocorre variação da capacidade calorífica da amostra, porém estas não apresentam variações de entalpia, gerando apenas alterações na linha de base.

Em análises de DSC é comum realizar duas varreduras, porém em algumas amostras é realizada apenas uma varredura e observam-se apenas transições ditas de primeira ordem, pois ao final da primeira varredura a amostra se degrada impossibilitando a realização de uma segunda varredura (LUCAS, *et al.*, 2001). Amostras de amido apresentam este comportamento.

A espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR- *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) é uma técnica baseada nas vibrações dos átomos de uma molécula, sendo frequentemente utilizada na identificação de grupos funcionais.

As moléculas quando absorvem radiação no infravermelho são excitadas para atingir um maior estado de energia. Neste processo são absorvidas frequências de radiação no infravermelho que equivalem às frequências vibracionais naturais da molécula e esta energia absorvida serve para aumentar a amplitude dos movimentos vibracionais das ligações moleculares. Porém apenas ligações que têm um momento de dipolo que muda como uma função do tempo são capazes de absorver radiação nesta região. Como cada molécula apresenta uma combinação única de átomos, dois compostos diferentes nunca apresentam exatamente o mesmo espectro. (PAVIA, *et al.*, 2011)

Por meio da absorção de frequência característica da radiação na região do infravermelho, é obtido um gráfico de intensidade de radiação, que é registrado como transmitância percentual (%T), versus frequência (número de onda,  $\text{cm}^{-1}$ ).

TAPARELLI, (2005) estudando a modificação química do amido de mandioca, não obteve informações relevantes para a identificação da presença de grupos N-metilois utilizando a técnica de espectroscopia na região do infravermelho.

PASSAUER *et al.* (2010), mostraram que a espectroscopia Raman é uma técnica mais adequada para revelar e quantificar grupos fosfato no amido modificado. Este autor demonstrou um novo método para a determinação do grau de substituição de amido, por meio da verificação de uma relação linear entre a intensidade de uma banda Raman de C-O-P e o grau de substituição, que foi determinado por método colorimétrico.

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é um método espectroscópico que oferece informações sobre o ambiente eletrônico em que os núcleos de um mesmo isótopo se encontram. Este ambiente eletrônico muda de acordo com a conectividade dos átomos numa estrutura. Dessa forma é possível obter informações sobre a maneira pela qual os átomos estão ligados. A este ambiente eletrônico estão relacionadas duas propriedades principais, o deslocamento químico e a constante de acoplamento, que são os principais parâmetros que permitem a atribuição dos sinais de ressonância de um núcleo, de acordo com o ambiente eletrônico no qual ele se encontra. Este ambiente eletrônico faz com que o núcleo interaja com o campo magnético

externo de maneira diferente e, por isso, passa a precisar com frequências distintas, e com isso se obtém informações sobre o deslocamento químico. Já a constante de acoplamento escalar permite avaliar a interação spin nuclear-spin eletrônico, promovida por ligações químicas, e assim avaliar a conectividade entre os átomos. Este acoplamento escalar faz com que ocorram sensíveis diferenças nas frequências de ressonância e, com isso, um desdobramento dos sinais é observado, obtendo-se então, um sinal com uma estrutura hiperfina. A forma como esse sinal se desdobra depende de como os átomos estão ligados entre si. A diferença de frequência (em hertz) entre os sinais formados pelo desdobramento é chamada constante de acoplamento (PAVIA, *et al.*, 2011).

A RMN tem se mostrado de grande aplicação nas análises de misturas complexas de vários ramos industriais, tais como alimentício, biocombustíveis (MONTEIRO *et al.*, 2009) e farmacêutico. Esta técnica tem sido muito utilizada no estudo de propriedades físico-químicas e também na caracterização de polímeros.

Os amidos são uma classe de biopolímeros de alto valor agregado e com muitas aplicações. No entanto, muitas dessas aplicações dependem das características estruturais, e importantes informações sobre essas características podem ser adquiridas por meio desta ferramenta. Além das vantagens quanto ao preparo de amostras, que é rápido e prático, esta é uma técnica não destrutiva que fornece informações sobre o ambiente químico e possibilita uma visualização da dinâmica estrutural do sistema em estudo.

Os núcleos mais empregados nos estudos que envolvem polissacarídeos são o hidrogênio-1 e o carbono-13. Porém, a ressonância de fósforo-31 também tem sido utilizada na caracterização amidos fosfatados, tanto para substratos *in natura* como também na identificação qualitativa dos sítios reativos do biopolímero, por meio de fosfatação em amidos modificados (KASEMSUWAN & JANE, 1994; LIM, *et al.*, 1994 e SANTACRUZ, *et al.*, 2005).

SANTACRUZ, *et al.*, (2005) caracterizaram amidos de tubérculo de batata por meio da RMN do  $^{31}\text{P}$ , KASEMSUWAN *et al.*, (1994) estudaram este mesmo núcleo para o amido de trigo e da fécula de batata. TIZZOTTI, *et al.*, 2011, aplicaram a RMN de  $^1\text{H}$  para caracterizar o amido de milho.

Vários estudos têm sido desenvolvidos para a caracterização de amidos *in natura* e fosfatados por meio da ressonância de fósforo-31 (SANG, *et al.*, 2007; PASSAUER *et al.*, 2010), do carbono-13 em estado sólido (KULIK & HAVERKAMP, 1997), do hidrogênio- 1 (TIZZOTTI , *et al.*, 2011) e carbono-13 em estado líquido para análises de outros sistemas polissacarídeos (BARBOSA *et al.*, 2003), uma vez que é alta a sua demanda do amido como matéria-prima em diversos setores industriais, principalmente na indústria alimentícia.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral:**

No presente trabalho estudaram-se as características do amido do lírio-do-brejo *in natura* e se verificaram-se as influências que exercem o tempo de reação e concentração de tripolifosfato de sódio sobre as propriedades físicas, químicas e funcionais do amido *in natura* com intuito de se obter um amido fosfatado com teores de fósforo permitido pela legislação brasileira.

#### **3.2. Objetivos específicos:**

- Extração do amido e sua caracterização física e físico-química;
- Modificação química do amido com tripolifosfato de sódio e caracterização física e físico-química;
- Comparação das propriedades dos amidos *in natura* e modificados.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram utilizados como matéria-prima rizomas do lírio-do-brejo coletados aos arredores do município de Anápolis (GO). Os rizomas foram lavados em água corrente, arejados e encaminhados até o Campus Henrique Santillo da Universidade Estadual de Goiás (UEG), onde foram devidamente armazenados até sua utilização.

As análises de difração de raio-X (DRX) foram realizadas no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (UFG), a análise calorimétrica (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas no Departamento de Engenharia de Materiais (DEMA) da Universidade Federal de São Carlos (UFScar).

As análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas no Laboratório de Instrumentação do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFScar), as análises de RMN foram realizadas no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFScar) e as demais análises foram realizadas no Laboratório de Enzimologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG).

### **4.1. Extração do amido**

Os rizomas foram selecionados de acordo com o estado de maturação, sendo estes reconhecidos pela cor amarelada quando fisiologicamente desenvolvidos (maduros), lavados com água corrente, arejada e transportada em sacos de polietileno para minimizar perdas de umidade até seu posterior uso.

Para a obtenção do amido, os rizomas foram descascados com uso de facas de aço inoxidável, picados e recebidos em baldes plásticos contendo uma solução de metabissulfito ( $5 \text{ g L}^{-1}$  de água), numa proporção de 1 kg de amostra por 2 L de solução de metabissulfito. A moagem foi feita em um moinho de facas tipo "CROPON", modelo MA-580 com malha de 10 mesh, onde se obteve uma massa. Esta foi passada em peneiras de 100 e 325

mesh, com sucessivas lavagens com água corrente para separação do amido e posterior decantação em bacias plásticas. O material decantando foi lavado com álcool absoluto e filtrado a vácuo, desidratado a 75 °C por 12 h. O amido desidratado permaneceu 12 h num dessecador contendo sílica-gel como agente dessecante e, em seguida, foi reduzido a pó com o auxílio de gral e pistilo, peneirado em peneira de 48 mesh. Obteve-se a amostra seca para análise.

#### 4.2. Modificação química

A modificação para a produção do amido fosfatado foi feita por esterificação do amido *in natura* com tripolifosfato de sódio (TPS) utilizando o método de PASCHALL (1964), com algumas modificações.

Com o intuito de alcançar níveis máximos de fosfatação, o tempo de reação (T: 20, 30 e 40 min) e a concentração de tripolifosfato de sódio (TPS: 3, 5 e 7 dag kg<sup>-1</sup>) foram combinados em um planejamento fatorial completo inteiramente casualizado com três repetições.

A proporção de TPS por amido *in natura* foi de 3:5 (p/v). As misturas foram agitadas em um agitador mecânico Fisaton (713D, São Paulo) e centrifugada em centrífuga Fanem 206 (São Paulo) a 2000 rpm por 5 min. O centrifugado foi seco em estufa a 45 °C por 48 h, pulverizado e novamente seco a 65 °C até massa constante. No material fosfatado foi adicionado 99 mL de etanol a 50% (v/v), e centrifugado a 2000 rpm por 5 min, sendo esta operação repetida mais duas vezes. O produto resultante foi seco a 45 °C por 48 h.

A remoção do excesso de sais de fósforo foi realizada por diálise. Suspensões aquosas de amido fosfatado a 10 % (p/v) foram colocadas em sacos de papel celofane e imersas em água destilada durante sete dias, sob refrigeração ( $\pm 6$  °C), sendo a água trocada diariamente. Após a diálise, o amido fosfatado foi seco a 45 °C e pulverizado em uma peneira de 150 m $\mu$ .

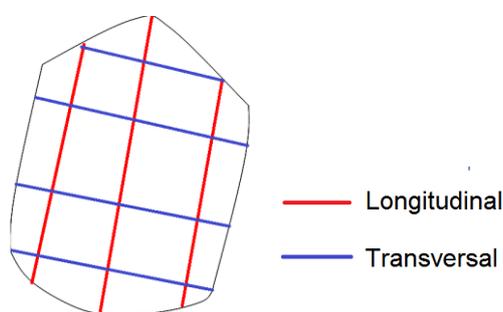
O teor de fósforo (P) foi determinado de acordo com a técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985) por espectrofotometria usando um espectrofotômetro UV/ visível (SP-2000UV) a 420 nm.

### 4.3. Caracterização química e físico-química dos amidos *in natura* e quimicamente modificados

#### 4.3.1. Análise microscópica dos grânulos de amido

Amostras de amido foram analisadas por meio de imagem, fazendo uso de um microscópio óptico, sendo avaliados quanto à forma e tamanho por análise de imagem segundo a técnica descrita por VIGNEAU *et al.* (2000) com modificações. Os parâmetros avaliados foram: forma, diâmetro maior e diâmetro menor ( $\mu\text{m}$ ) com 10 medidas em 9 lâminas, sendo três longitudinal e quatro transversal, como descrito na Figura 4.

As amostras de amido foram coletadas com fio de platina e misturadas, sobre lâmina de vidro, com uma gota de lugol e, posteriormente, coberta com lamínula. As lâminas foram observadas em microscópio óptico LEICA (DME, Wetzlar, Alemanha) e as imagens selecionadas analisadas pelo software LAS EZ.



**Figura 4:** Esquema das medições longitudinais e transversais feitas nos grânulos de amidos.

A morfologia dos grânulos também foi conferida por meio de análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), onde foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura, marca Philips com filamento de tungstênio, modelo TMP-XL30, para a aquisição das imagens.

### 4.3.2. Composição química

O amido foi caracterizado quanto ao teor de umidade, cinzas, fibra bruta, lipídeos, acidez titulável e pH, segundo metodologia do IAL, (1985). O teor de proteínas e açúcares totais foram determinados de acordo com a metodologia da AOAC, (2000). O teor de amido foi determinado pelo método de Lane-Eynon segundo metodologia disposta no IAL, (1985).

### 4.3.3. Densidade absoluta

A densidade absoluta dos grânulos foi determinada pelo método de deslocamento do xileno em picnômetro a 30 °C, segundo SCHOCH & LEACH (1964), por meio de um picnômetro de 50 mL. Este foi pesado à temperatura ambiente, sendo posteriormente preenchido com xileno e pesado. Após a retirada do xileno, o frasco foi devidamente lavado e foram adicionados exatamente 10 g de amido, e colocou-se xileno até cobrir a amostra contida no picnômetro. Após 5 min efetuou-se agitação no frasco e manteve-se o sistema o repouso por 10 min. O volume do picnômetro foi completado com xileno, sendo feita sua pesagem após este estar devidamente tampado e seco na parte externa.

A densidade absoluta ( $d$ ) do amido foi determinada pela equação:

$$d = \frac{m(\text{amido}) \times d(\text{tolueno})}{m(\text{amido}) + m(\text{picnômetro} + \text{tolueno}) - m(\text{picnômetro} + \text{tolueno} + \text{amido})} \quad (1)$$

Onde:  $m$ = massa(g)

$d$ = densidade ( $\text{g.mL}^{-1}$ )

### 4.3.4. Poder de inchamento e índice de solubilidade

Determinou-se o poder de inchamento (PI) e índice de solubilidade (IS) nas temperaturas de 30 a 100°C, conforme metodologia do IAL (1985). A determinação envolve a suspensão em 10 mL de água deionizada de 1 g de amostra que foi colocada em tubo plástico de centrífuga e em banho-maria

nas temperaturas citadas, sendo mantida em suspensão por agitação a cada 5 min.

Após 30 min de tratamento térmico, o tubo que continha os grânulos de amido intumescidos foi pesado e em seguida levado à centrífuga para a separação de fases. O sobrenadante foi coletado em uma proveta e, depois de anotado o volume, uma alíquota de 7 mL foi tomada e transferida para uma placa de Petri, sendo seca em estufa a 60 °C para a quantificação da fração solúvel.

O IS foi determinado pela equação:

$$IS = \frac{\text{Peso do resíduo após evaporação}}{\text{Peso seco da amostra}} \times 100 \quad (2)$$

E o PI foi determinado pela equação 3:

$$PI = \frac{\text{Peso do sedimento após centrifugação}}{\text{Peso seco da amostra} \pm \text{Peso do resíduo da evaporação do sobrenadante}} \quad (3)$$

#### 4.3.5. Difração de Raio-X

Os difratogramas de raio-x foram obtidos de amostras de amido utilizando o equipamento Shimadzu modelo XRD 6000, com a radiação Cu – K $\alpha$  ( $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ ), voltagem de 40KV e corrente de 30 mA, calibrado em relação à linha em  $2\theta = 28,466^\circ$  do padrão de silício. As medidas foram feitas em varredura contínua no intervalo de  $5^\circ \leq 2\theta \leq 50^\circ$ , a uma velocidade de varredura de  $2^\circ$  por min.

#### 4.3.6. Análise calorimétrica

Para a análise calorimétrica foram pesadas 5 mg das amostras de amido diretamente em cápsulas herméticas de alumínio e analisadas em um calorímetro diferencial de varredura DSC Q200 (TA Instruments, New Castle, EUA). As amostras foram resfriada e estabilizada a  $-10 \text{ }^\circ\text{C}$  e, posteriormente, aquecida a uma taxa de  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ , sob um fluxo de  $50 \text{ mL de N}_2 \text{ min}^{-1}$ .

#### **4.3.7. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho**

As análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas utilizando-se pastilhas de KBr e um equipamento Bomem Hartmann & Braun/MB modelo 102, com as seguintes condições de operação: região 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ , com 32 varreduras e resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ . Para o preparo das pastilhas, aproximadamente 1,0 mg de cada amostra de amido foram misturados com 100 mg de KBr (brometo de potássio) sendo esta mistura comprimida entre dois pastilhadores sob alta pressão até a formação de uma pastilha translúcida e sem deformações.

#### **4.3.8. Aquisição das medidas espectroscópicas de RMN**

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance III operando em um campo magnético Oxford de 9,4 Tesla, que tem relacionada uma frequência de 400 MHz para o núcleo de hidrogênio-1. As análises em solução foram realizadas com o uso de uma sonda sintonizável para uma ampla faixa de frequências (40-160 MHz), e que utiliza tubos de 10 mm de diâmetro, e permite variação e controle de temperatura. Foram realizadas ainda análises em estado sólido utilizando um sonda para amostras em estado sólido com rotores de 4 mm. Esta sonda, com rotação em torno do ângulo mágico, é sintonizável em uma faixa de 40 a 160 MHz e permite variação controlada de temperatura.

As amostras em estado sólido, na forma de pó, foram empacotadas em um rotor de zircônia, de 4 mm e, para tanto, foi utilizada uma massa aproximada de 60 mg. Foram feitos experimentos de polarização cruzada com rotação em torno do ângulo mágico e supressão de bandas laterais (CPTOSS- *cross polarization with total sideband suppression*) e foram analisados os núcleos de carbono-13 e fósforo-31. Para tanto a sequência CPTOSS foi aplicada com tempo de contato de 3 ms e intervalo entre experimentos de 3 s. No caso do carbono-13 foi utilizado um padrão externo de adamantano, calibrando o deslocamento químico pelo sinal mais intenso

em 38.5 ppm (com relação ao TMS-tetrametilsilano), e para o núcleo de fósforo-31 foi utilizada uma solução 10% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em água (deslocamento químico de 0 ppm). Para a obtenção do espectro de RMN de carbono-13 no estado sólido o rotor foi girado a uma rotação de 5 KHz e no caso dos experimentos com fósforo-31 a rotação de foi de 10 KHz.

Para as análises em solução as amostras de amido foram solubilizadas em aproximadamente 2,5 mL de DMSO/d6 utilizando tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os espectros foram de carbono-13 foram obtidos de forma qualitativa, no modo totalmente acoplado e com transferência de NOE (Efeito Overhauser Nuclear). Todos os experimentos foram obtidos em uma temperatura de 70 °C. Os parâmetros utilizados são apresentados na Tabela 1:

**Tabela 1:** Parâmetros de Aquisição dos espectros de RMN.

	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	<sup>31</sup> P
Tempo de aquisição (s)	0,68	1,49	0,25
Tempo de espera em cada aquisição (s)	0,1	0,5	0,1
Números de acumulações	81920	8	51408
Número de pontos de aquisição	32768	24036	32768

#### 4.4. Análise estatística

As médias das respostas obtidas foram expressas em valor ± desvio padrão. Um modelo matemático polinomial de segunda ordem (Equação 4) foi aplicado para estabelecer uma equação preditiva nos teores de cinzas e fósforo (Y) e as dimensões dos grânulos de amido *in natura* e fosfatados, em função dos fatores T (x<sub>i</sub>) e TPS (x<sub>j</sub>) (KHURI *et al.*, 1987):

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} b_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (4)$$

Os coeficientes  $b$  foram estimados pelos métodos dos mínimos quadrados, sendo sua significância avaliada pelo valor da probabilidade ( $p$ ), adotando-se um valor  $p \leq 0,05$ , para todos os ensaios, e  $\xi$  é o erro experimental.

A adequação dos modelos propostos foi realizada comparando-se a proporção da variação explicada pelo modelo, isto é, pela análise do coeficiente de determinação ajustado  $R_{aj}^2$ . Os coeficientes da Equação 4 foram obtidos do melhor modelo polinomial ajustado às respostas do desenho experimental.

Os gráficos de superfície de resposta foram desenhados através do modelo matemático proposto nos níveis reais das variáveis mantendo-se a resposta em função do eixo Z, com eixos X e Y as variáveis independentes.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Composição química

O amido extraído dos rizomas do lírio-do-brejo apresenta teor de água abaixo de 4% em base seca (Tabela 2), indicando boas condições de conservação durante as análises químicas realizadas.

**Tabela 2:** Composição química (em base seca) dos amidos de lírio-do-brejo *in natura* e fosfatados.

Teores	<i>In natura</i>	Modificado		
		(3%)	(5%)	(7%)
Água	3,93 ±0,22	2,87±0,06	2,24±0,06	2,22 ±0,06
Fibra bruta	0,42±0,09	0,42±0,00	0,43±0,01	0,43±0,01
Lipídios	1,31±0,03	1,31±0,03	1,31±0,03	1,3 ±0,03
Proteínas	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,02

Médias obtidas de três repetições ± desvio padrão.

Os teores de fibra, lipídios e proteínas permaneceram em torno de 0,43, 1,31 e 0,02%, respectivamente, indicando que estes componentes não foram influenciados pelo processo de fosfatação, isto é, no decorrer deste processo não houve contaminação das amostras de amido por substâncias gordurosas, celulósicas e/ou nitrogenadas.

### 5.2. Teores de cinzas e fósforo, densidade e análise das dimensões e da morfologia dos grânulos

Na Tabela 3 observa-se que o amido *in natura* apresentou baixos teores de cinzas (0,31%) e fósforo (0,003%), porém, estes teores variam com a fosfatação, confirmado pelo teste de Tukey aplicada a nível de 5% de probabilidade, indicando que o processo fosfatação foi efetivo.

**Tabela 3:** Teores de cinzas e fósforo do amido dos rizomas de lírio-do-brejo *in natura* e modificados com TPS em diferentes tempos de fosfatação.

TPS (%)	Tempo (min)	Cinzas <sup>1</sup> (%)	Fósforo <sup>2</sup> (%)
-	<i>In natura</i>	0,31 <sup>h</sup> ±0,06	0,003 <sup>j</sup> ±0,01
3	20	1,95 <sup>g</sup> ±0,06	0,013 <sup>i</sup> ±0,01
3	30	2,13 <sup>f</sup> ±0,02	0,045 <sup>h</sup> ±0,01
3	40	2,37 <sup>e</sup> ±0,03	0,097 <sup>g</sup> ±0,01
5	20	2,52 <sup>d</sup> ±0,01	0,116 <sup>f</sup> ±0,01
5	30	2,61 <sup>d</sup> ±0,01	0,233 <sup>e</sup> ±0,01
5	40	2,89 <sup>c</sup> ±0,01	0,365 <sup>d</sup> ±0,01
7	20	3,13 <sup>ab</sup> ±0,03	0,405 <sup>c</sup> ±0,01
7	30	3,19 <sup>ab</sup> ±0,03	0,444 <sup>b</sup> ±0,01
7	40	3,24 <sup>a</sup> ±0,03	0,477 <sup>a</sup> ±0,01

<sup>1</sup> Teste F<sub>(9,20,0,05)</sub>=1841,5; <sup>2</sup> Teste F<sub>(9,20,0,05)</sub>=257011,5.

Médias distintas nas colunas diferem pelo Teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Verifica-se na Tabela 3 que os teores de fósforo dos amidos modificados apresentaram valores crescentes com os níveis de adição de TPS. A amostra com tempo de reação de 40 min e concentração 5% de TPS foi o valor mais próximo ao teor de fósforo máximo estabelecido pela legislação para uso alimentício (< 0,4%). O valor máximo obtido para o teor de fósforo é de 0,48% com concentração de 7% de TPS e tempo de reação de 40 min.

LIMBERGER (2008) estudou a modificação química da quirera de arroz por fosfatação com TPS e verificou que as amostras dialisadas apresentaram teores de fósforo dentro do limite recomendado pela legislação, porém as amostras não dialisadas alcançaram valores superiores a 0,4%. Isto comprova a importância do processo de diálise na remoção residual de fosfato, método também aplicado no presente trabalho.

BATISTA *et al.*, (2010), fosfataram amidos de trigo e milho com TPS em quatro diferentes níveis de adição e produziram quantidades significativas de

amido resistente com teores de fósforo aceitáveis na indústria alimentícia. Os teores de fósforo obtidos na modificação do amido do lírio-do-brejo com 3% e 5% de TPS também podem ser aceitos em produtos alimentícios, uma vez que estão abaixo do limite percentual permitido.

Para o nível de fosfatação de 7% de TPS, os teores de fósforo obtidos estão entre 0,4 e 0,5%, sugerindo outras formas de aplicação funcional destes amidos, tais como na indústria de papel para selagem de poros, na indústria têxtil para engomagem de fios, dentre outros ramos tecnológicos.

O teor de cinzas pode aumentar a cor escura do amido (GUTKOSKI *et al.*, 2007) interferindo na sua aplicação, já que a coloração de uma matéria-prima é um fator de grande relevância neste ramo. Visualmente o amido *in natura* apresentou-se de coloração branca, um indicativo de um eficiente processo de purificação durante a extração. Nas concentrações de TPS utilizadas neste trabalho não foram observados mudanças de colorações nos amidos fosfatados.

O resumo de análise de variância aplicada ao modelo matemático escolhido para prever os dados experimentais dos teores de cinzas e fósforo, densidade, comprimento e largura dos grânulos está na Tabela 4. A regressão linear foi o modelo que melhor se ajustou aos teores de cinzas e fósforo, apresentando coeficientes de correlação ajustado superiores de 0,95, indicando que mais de 95% da variação foi devido à regressão e menos de 5% foi devido aos resíduos. Embora a ANOVA acusasse diferenças significativas na variação de TPS nas medidas de densidade, comprimento e largura, o modelo de regressão linear não é bem adequado para esses dados experimentais, uma vez que o coeficiente de determinação foi inferior de 0,6, e 0,2 para densidade e dimensões do grânulo, respectivamente.

**Tabela 4:** Resumo da análise de variância aplicada ao modelo matemático linear para efeitos do tempo de reação e concentração de TPS nos teores de cinzas, fósforo, densidade, comprimento e largura dos amidos fosfatados de lírio-do-brejo.

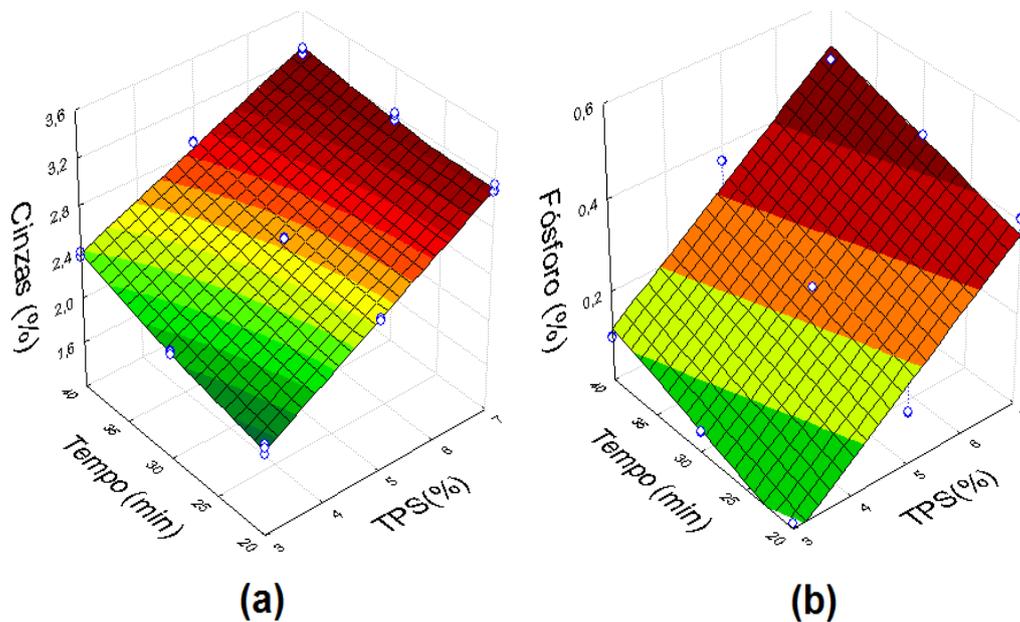
Causas da variação	Teste F				
	Cinzas	Fósforo	Densidade	Comprimento	Largura
TPS	1046,1**	543,1**	29,9**	5,8*	4,367*
T	89,9**	65,1**	0,5 <sup>ns</sup>	0,023 <sup>ns</sup>	2,493 <sup>ns</sup>
R <sup>2</sup> <sub>aj.</sub>	0,978	0,959	0,522	0,128	0,157
Coeficientes da regressão					
Intercepto	0,925**	- 0,447**	1,618 <sup>ns</sup>	45,404**	28,687**
TPS	0,258**	0,097**	-0,013**	1,282*	0,532*
T	0,015**	0,007**	-0,000 <sup>ns</sup>	-0,016 <sup>ns</sup>	0,080 <sup>ns</sup>

\*\* altamente significativo ao nível de 5% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade, <sup>ns</sup> não significativo.

A Figura 5 mostra a evolução dos teores de cinzas e fósforo em função da concentração de TPS e tempo de reação. Estas respostas aumentam de valor com o aumento das variáveis independentes, alcançando-se valores mínimos e máximos de 2 e 0,01% e 3,3 e 3,5% para teores de cinzas e fósforo, respectivamente, em valores próximos de 3 e 7% de TPS e 20 e 40 min de agitação, respectivamente.

Mesmo não tendo como explicar a variação das medidas físicas dos amidos por meio de uma regressão, se optou por aplicar ANOVA de fator único a esses dados experimentais (Tabela 5).

A variação da densidade e dimensões dos grânulos foi aleatória, não apresentando uma tendência, porém verificou-se uma diferença significativa entre a densidade do amido *in natura* quando comparado aos fosfatados. O amido *in natura* apresentou uma densidade de 1,47 g ml<sup>-1</sup> enquanto que os amidos fosfatados apresentaram uma densidade média de 1,54 g ml<sup>-1</sup>. Não foi verificando nenhuma diferença entre os valores médios de densidade dos amidos modificados.



**Figura 5:** Efeitos da concentração de tripolifosfato de sódio e tempo de reação da fosfatação nos teores: (a) cinzas e (b) fósforo, dos amidos modificados do lírio-do-brejo.

Com exceção do amido modificado com 5% de TPS e 30 min de agitação, que apresentou menor comprimento dos seus grânulos (44,7  $\mu\text{m}$ ), o comprimento e largura dos grânulos de amido modificados aumentaram quando submetidos à fosfatação. Quanto ao amido *in natura*, seus grânulos possuem as dimensões de comprimento e largura de 45,9 e 29,9  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Já os amidos modificados apresentaram essas mesmas dimensões em torno de 51,3 e 33,7  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Este fenômeno pode ser atribuído à introdução de grupos fosfatos nas cadeias de amido que causa a repulsão entre cadeias e aumenta seu volume (LIM & SEIB, 1993; LIU *et al.*, 1999, PEREIRA, 2011).

**Tabela 5:** Densidade e dimensões dos grânulos de amido *in natura* e modificados com TPS em diferentes tempos de reação.

TPS (%)	Tempo (min)	Densidade <sup>1</sup> (g. mL <sup>-1</sup> )	Dimensão (μm)	
			Comprimento <sup>2</sup>	Largura <sup>3</sup>
-	<i>in natura</i>	1,47 <sup>b</sup> ± 0,01	45,9 <sup>bc</sup> ± 10,2	29,9 <sup>b</sup> ± 8,2
3	20	1,57 <sup>a</sup> ± 0,04	51,7 <sup>abc</sup> ± 11,7	33,3 <sup>ab</sup> ± 4,1
3	30	1,56 <sup>a</sup> ± 0,04	50,2 <sup>abc</sup> ± 15,4	33,1 <sup>ab</sup> ± 5,0
3	40	1,57 <sup>a</sup> ± 0,03	50,5 <sup>abc</sup> ± 11,3	33,0 <sup>ab</sup> ± 3,5
5	20	1,55 <sup>a</sup> ± 0,04	47,9 <sup>abc</sup> ± 11,7	31,3 <sup>ab</sup> ± 7,7
5	30	1,54 <sup>a</sup> ± 0,02	44,7 <sup>c</sup> ± 13,2	32,0 <sup>ab</sup> ± 6,7
5	40	1,54 <sup>a</sup> ± 0,03	49,1 <sup>abc</sup> ± 14,0	35,3 <sup>ab</sup> ± 7,5
7	20	1,52 <sup>ab</sup> ± 0,04	56,7 <sup>a</sup> ± 13,3	34,2 <sup>ab</sup> ± 7,4
7	30	1,51 <sup>ab</sup> ± 0,02	54,0 <sup>ab</sup> ± 12,9	35,0 <sup>ab</sup> ± 6,1
7	40	1,51 <sup>ab</sup> ± 0,04	57,1 <sup>a</sup> ± 14,3	36,4 <sup>a</sup> ± 6,8

<sup>1</sup> Teste F<sub>(9,20,0,05)</sub> = 6,0<sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Teste F<sub>(9,20,0,05)</sub> = 4,5<sup>\*\*</sup> e <sup>3</sup> Teste F<sub>(9,20,0,05)</sub> = 3,0<sup>\*</sup>.

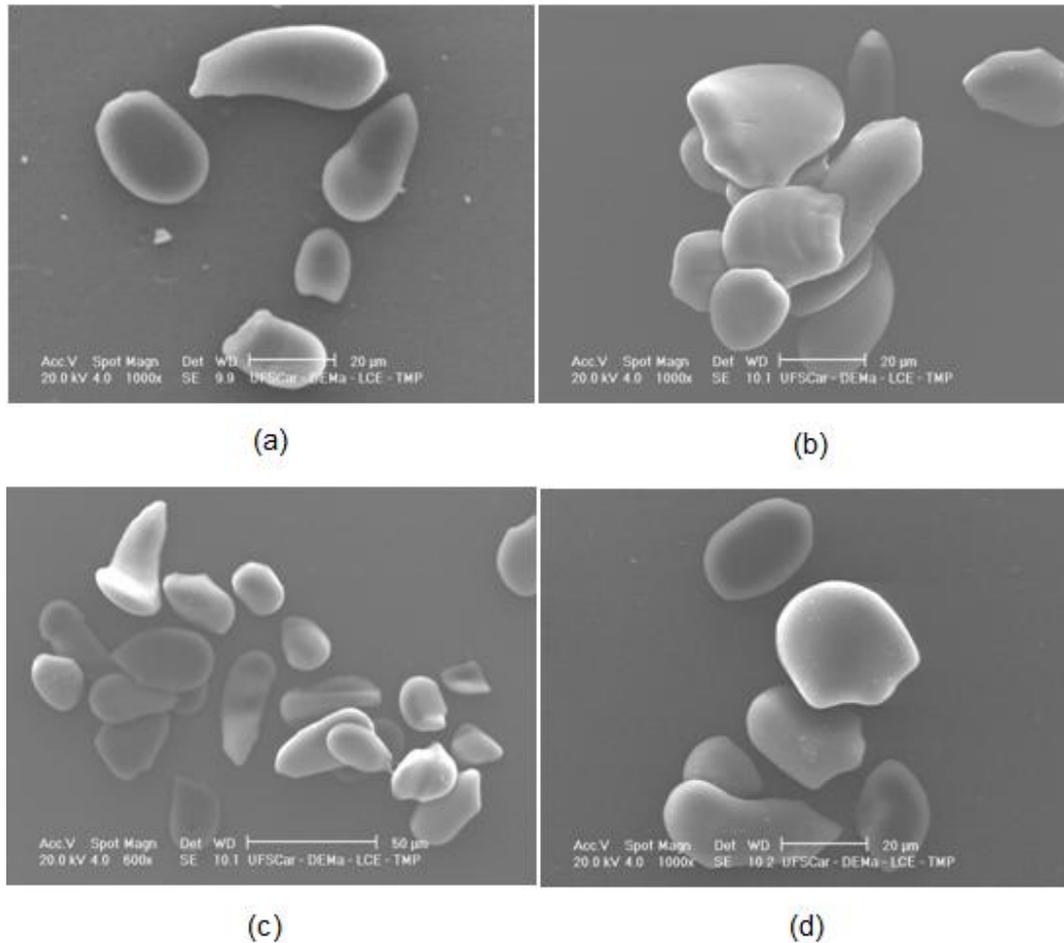
Médias distintas nas colunas diferem pelo Teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Vistos ao microscópio eletrônico de varredura, os grânulos de amido do Lírio-do-brejo se mostraram constituídos de uma massa homogênea que possui estrutura particular, em que a forma e o tamanho são característicos de sua origem botânica. Eles apresentaram forma elipsóide, pentagonal e irregular (Figura 6), com comprimento e largura médios entre 44,7-57,1 μm e 29,9-36,4 μm, respectivamente (Tabela 5). Sua forma é semelhante à da mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) que também possui forma elipsóide e truncada (BERMUDEZ, 1999).

Seus grânulos apresentaram-se com tamanho superior quando comparados com os do amido de mandioca (*Manihot esculenta*), que possui formato oval e truncado e tamanho na faixa de 4,0 a 35,0 μm (CEREDA, 2001), porém seus valores são semelhantes ao amido de biri (*Canna indica*) de tamanho variando entre 25 a 45 μm (HURTADO, 1997).

ASCHERI *et al.*, (2010), estudaram as dimensões dos grânulos do amido de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) e verificaram grande irregularidade

nos formatos de seus grânulos obtendo diâmetros na faixa de 21,77 a 49,52  $\mu\text{m}$ , valores estes semelhantes ao obtidos no presente trabalho.



**Figura 6:** Microfotografia dos grânulos de lírio-do-brejo (a) *in natura* (b) modificado 3% TPS (c) modificado 5% TPS e (d) modificado 7% TPS observado em microscópio eletrônico de varredura com aumento de 1000x.

### 5.3. Poder de inchamento (PI) e índice de solubilidade (IS) dos grânulos de amido.

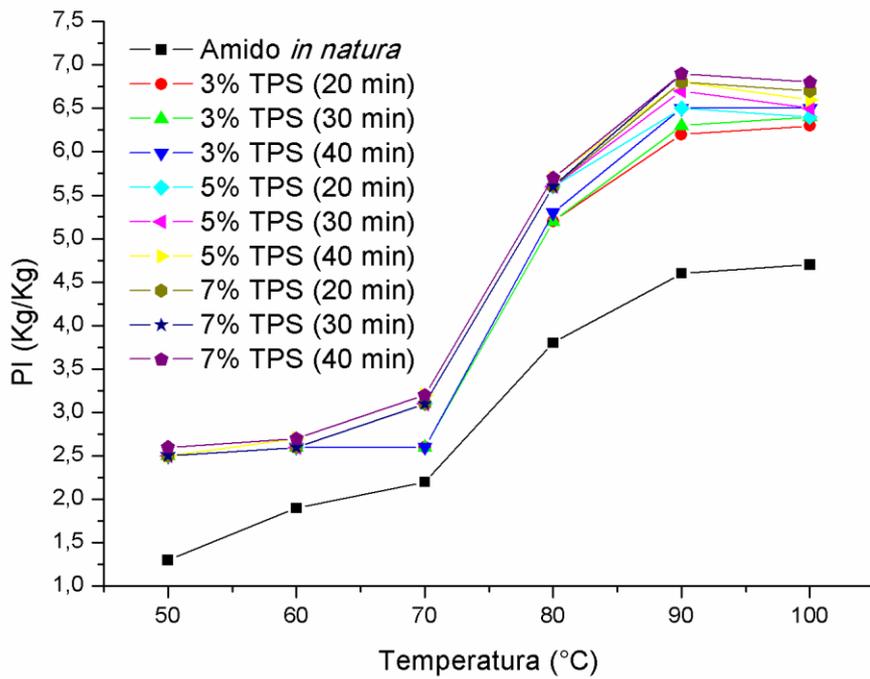
A introdução de grupos fosfato nas cadeias de amido promove uma redução nas forças inter-moleculares de ligação, devido à repulsão dos grupos fosfato negativamente carregados nas moléculas, gerando um

aumento no poder de inchamento e no índice de solubilidade (SITOHY *et al.*, 2000; LIU *et al.*, 1999; LIBERATO *et al.*, 2010).

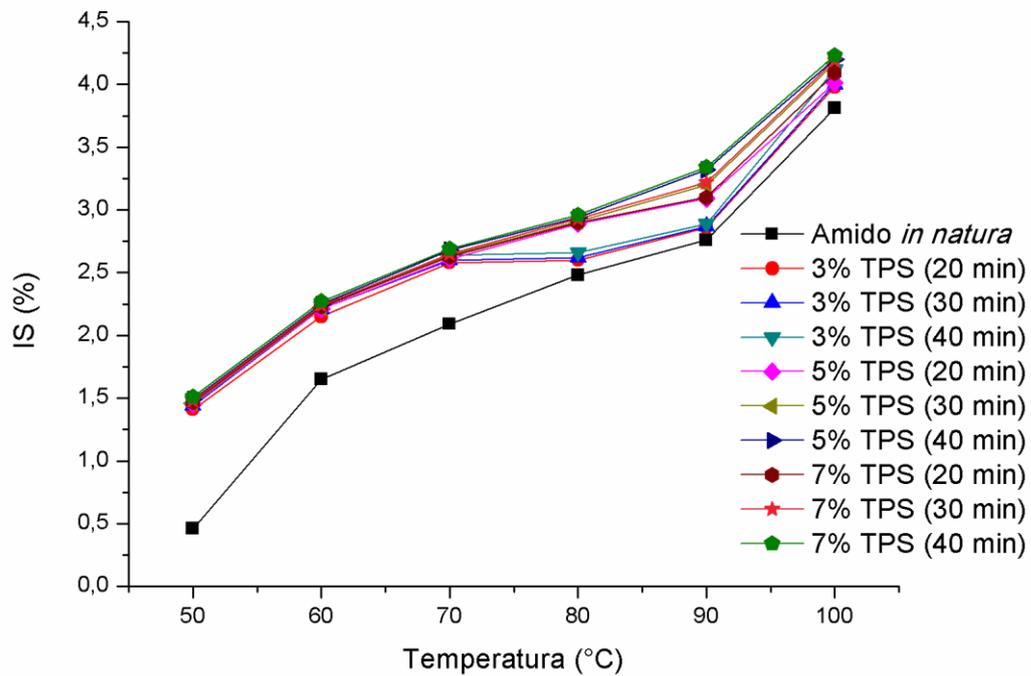
LAWAL (2004), verificou que a introdução de grupos (volumosos) acetil em moléculas de amido por meio de acetilação leva a uma reorganização estrutural, devido ao impedimento estérico, resultando em repulsões entre as moléculas de amido e aumento do fluxo de água através das regiões amorfas dos grânulos, o que promove um aumento do seu poder de inchamento.

Pela Figura 7 verifica-se que o PI e o IS dos amidos fosfatados mostraram-se superiores quando comparados aos valores do amido *in natura*, e foram observadas também significativas diferenças entre 70°C e 80°C para os valores de poder de inchamento e entre 70°C e 90°C para os valores de índice de solubilidade. Tanto o poder de inchamento quanto o índice de solubilidade só apresentaram variações representativas a partir de 70°C. No amido fosfatado a 3% ocorre uma certa estabilização no IS em torno de 2,6%. É possível observar que a partir de 90°C o PI (kg/Kg) torna-se constante, uma característica positiva para este grânulo pois, em temperaturas muito altas, se este índice continuasse aumentando bruscamente, ocorreria uma desagregação das moléculas de amido, causando assim, uma diminuição na viscosidade de suas pastas.

Os valores de PI e IS encontrados para o amido de lírio-do-brejo são inferiores aos obtidos por LIMBERGER (2008) em quirera de arroz, porém este autor obteve maiores valores destes índices para as amostras fosfatadas, fato também verificado neste trabalho.



(a)



(b)

**Figura 7:** (a) Poder de inchamento e (b) índice de solubilidade dos grânulos de amido de lírio-do-brejo.

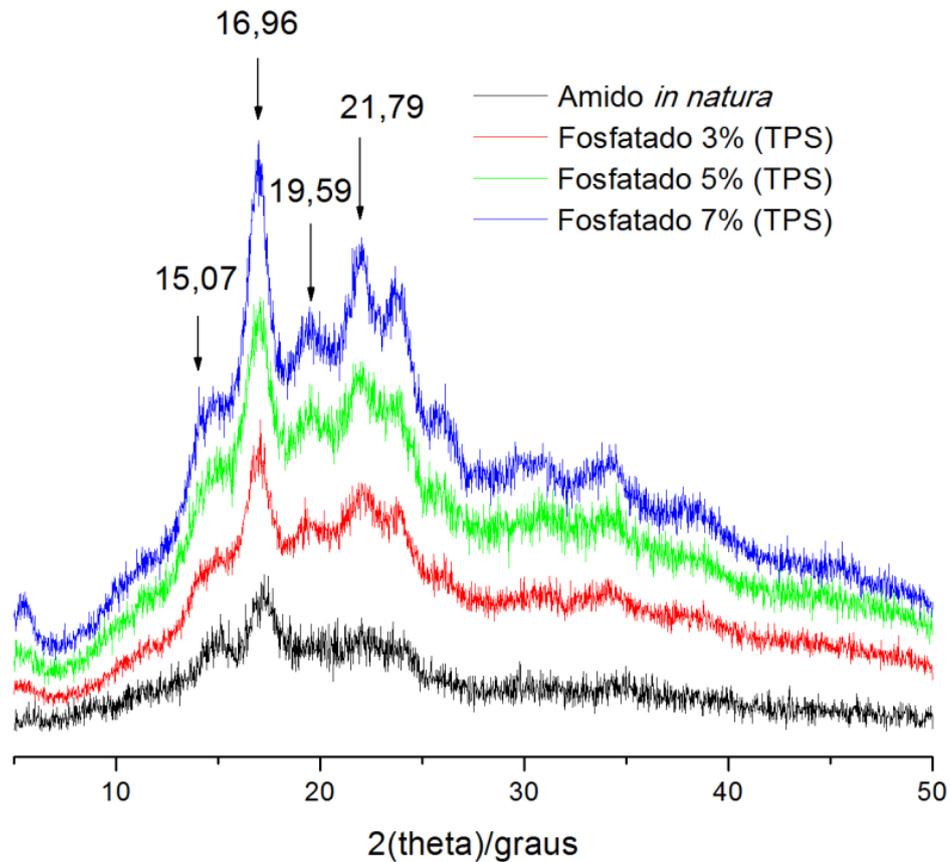
#### 5.4. Análises da estrutura grânular cristalina por difração de Raios-X.

Os grânulos de amido são parcialmente cristalinos, o que se deve à organização das moléculas de amilopectina nos grânulos. Padrões específicos foram estabelecidos para os grânulos de amido de acordo com a sua fonte botânica.

Segundo SCHLEMMER (2007), o padrão A é característico do amido de cereais, apresentando um arranjo monoclinico. Estes são aqueles que incham muito e têm pouca resistência à ação mecânica. O padrão B é encontrado em amido de tubérculos e de frutas, apresentando ramificações longas, consistindo de dupla hélice empacotada em arranjo hexagonal. Estes apresentam um comportamento moderado.

De acordo com LOPEZ-RUBIO *et al.*, (2008), o padrão tipo C é dividido em C<sub>A</sub> (é padrão do tipo C que está mais próximo de A) e C<sub>B</sub> (é o padrão de tipo C que está mais próximo de B). Estes são encontradas principalmente em legumes.

ZOBEL (1988) descreveu os valores geralmente verificados em amidos. O padrão A apresenta picos forte nos espaços de 5,8 Å; 5,2 Å; e 3,8 Å. Para o padrão B há um pico forte que está entre 15,8 Å e 16,0 Å, um pico de menor intensidade e mais largo em 5,9 Å e outro em 5,2 Å e um par de picos com intensidade de média a forte entre 4,0 e 3,7 Å. O padrão C é descrito como semelhante ao padrão A, porém apresenta um pico a mais em 16 Å.



**Figura 8:** Difratoformas de Raio-X das amostras de amido de lírio-do-brejo.

O difratograma de Raios-X dos grânulos do amido de *H. Coronarium* pode ser observado na Figura 8. Ele apresentou quatro picos principais em torno dos ângulos de difração de 15, 17, 20 e 22°, picos estes característicos dos grânulos de estrutura tipo A. Estes valores são semelhantes aos descritos por MESTRES (1996) que descreve o padrão A apresentando picos para os ângulos 15, 17, 18 e 23°, porém diferentes dos picos típicos de padrão A estabelecidos por ZOBEL (1988).

Em geral, quanto maior o número de cristais em um plano de uma estrutura, mais estreitos, intensos e finos serão os picos na difração de raios-X (NETO, 2003). Nos difratogramas obtidos verifica-se que o amido *in natura* gerou picos mais largos e menores se comparado às amostras modificadas, o que infere que o grau de cristalinidade aumentou à medida que foram inseridos grupamentos fosfato na cadeia de amido.

## 5.5. Caracterização por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Pela Tabela 6 é possível observar a temperatura onde ocorre a fusão dos primeiros grânulos de amido ( $T_0$ ), a temperatura inicial de formação de pasta, e também pode ser vista a temperatura de fusão da maioria dos grânulos de amido ( $T_p$ ), a temperatura de formação de pasta, e  $T_c$  que é a fusão completa dos grânulos, a temperatura final de formação de pasta (onde a estrutura granular é totalmente rompida).

**Tabela 6:** Propriedades térmicas dos amidos de lírio-do-brejo *in natura* e modificados com tripolifosfato de sódio.

Amido	T0 (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	$\Delta H$ (J/g)
In natura	72,1	81,7	97,5	15,16
3 % TPS	72,3	82,1	97,7	16,4
5 % TPS	73,9	83,1	98,03	16,9
7 % TPS	75,8	85,3	99,04	17,2

To = temperatura inicial, Tp = temperatura de pico, Tc= temperatura de conclusão e  $\Delta H$  = variação de entalpia.

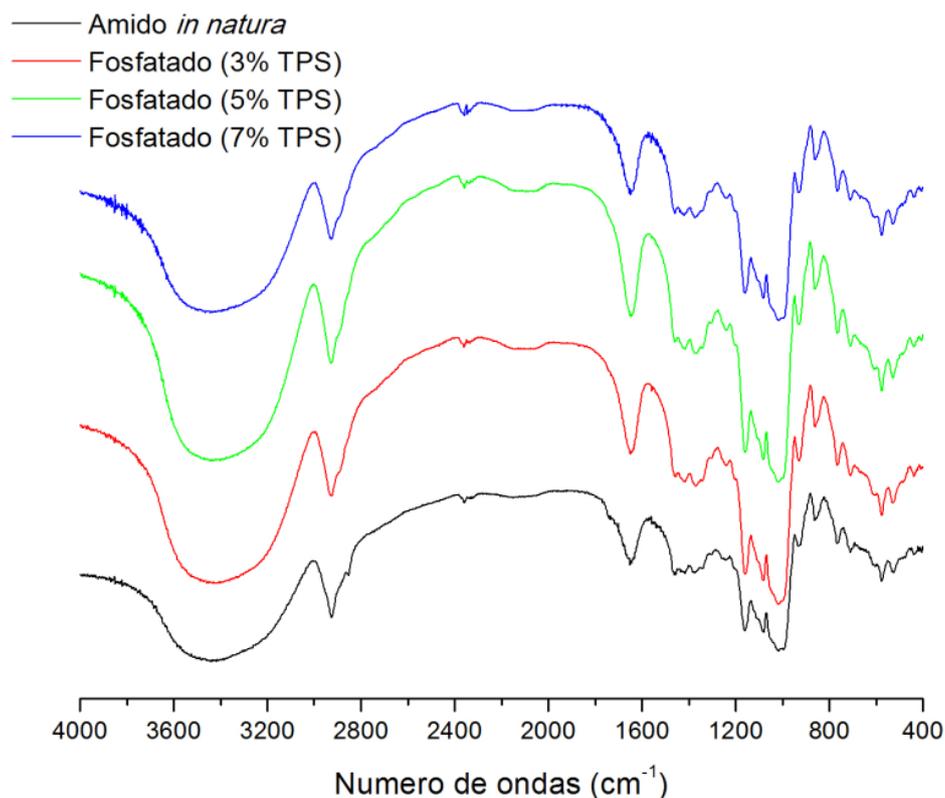
Com pode ser visto na Tabela 6, as propriedades térmicas aumentam de valor com o aumento da concentração de TPS utilizada para a fosfatação do amido *in natura*, indicando que a estrutura dos grânulos de amido torna-se mais firme, provavelmente pelo aumento da proporção cristalina dos seus grânulos.

Os valores de  $T_0$ ,  $T_p$ ,  $T_c$  e entalpia do amido *in natura* aproximam-se dos obtidos por MOURA, (2008) para amidos extraídos de rizomas de lírio-do-brejo nas mesmas condições do presente estudo, que foram de 73,1, 79,2 e 99,9 °C e 16,16 J g<sup>-1</sup>, respectivamente.

Segundo SINGH *et al.*, (2003), altas temperaturas de transição são o resultado de um alto grau de cristalização, que indica elevada estabilidade estrutural e maior resistência a gelatinização.

## 5.6. Caracterização por espectroscopia na região do Infravermelho

A Figura 9 apresenta os resultados obtidos para os amidos *in natura* e com diferentes porcentagens de fosfatação.



**Figura 9:** Espectro de FTIR dos amidos *in natura* e fosfatados.

Comparando os espectros de FTIR dos amidos *in natura* e fosfatados (Figura 9), observa-se que não há diferenças significativas nas bandas de absorção, houve apenas pequenas mudanças em suas intensidades. Nestes espectros verificam-se sinais de -OH entre 3600 a 3200  $\text{cm}^{-1}$ , de C-H em aproximadamente 2900  $\text{cm}^{-1}$ , de ligações C-H e CH<sub>2</sub> em torno de 1220  $\text{cm}^{-1}$ , de ligações C-C (plano) entre 1147-1150  $\text{cm}^{-1}$  e ligações C-O-C em 1105-1150  $\text{cm}^{-1}$ .

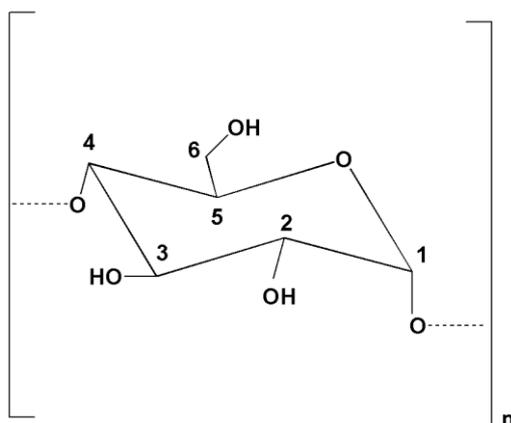
As observações de alterações nos espectros FT-IR de amidos fosfatados foi dificultada devido à sobreposição de amplas bandas de backbone de amido, fato também verificado por PASSAUER *et al.*, (2006).

Os compostos alifáticos de fósforo contendo ligação P-O-C mostram uma banda forte entre 1050 e 950  $\text{cm}^{-1}$ , já a presença de grupos P=O é

evidenciada por sinais em  $1260-1240\text{ cm}^{-1}$  (STUART, 2004). PASSAUER *et al.*, (2010), mostraram que a espectroscopia Raman é uma técnica mais adequada para revelar grupos fosfato no amido modificado. Dessa maneira, informações muito pouco conclusivas podem ser extraídas dos espectros de infravermelho.

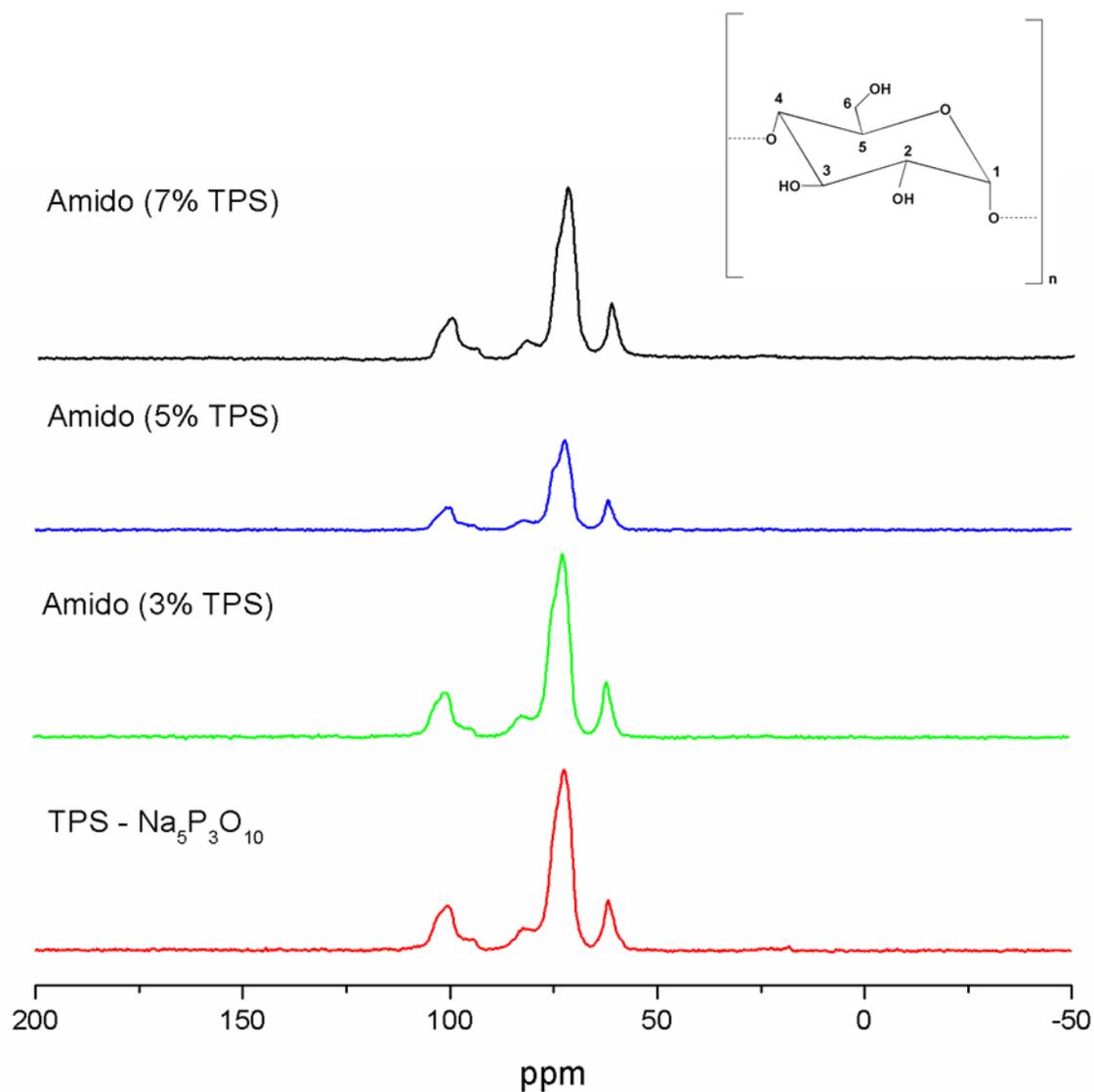
### 5.7. Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear RMN no estado sólido

Para discutir as análises de RMN realizadas montou-se a Figura 10 para ilustrar as respectivas posições dos carbonos e hidrogênios que serão referenciadas ao longo da discussão.



**Figura 10:** Posições dos carbonos e respectivos hidrogênios.

Inicialmente foi decidido utilizar a técnica de RMN no estado sólido para estudo dos grânulos de amido *in natura* e fosfatados, os sinais obtidos foram mais alargados que em solução devido ao alto peso molecular e sua pequena movimentação molecular, como mostra os espectros apresentados na Figura 11.



**Figura 11:** Espectros de RMN no estado sólido do  $^{13}\text{C}$  dos amidos de lírio-do-brejo *in natura* e fosfatados

A atribuição dos sinais é apresentada na Tabela 7.

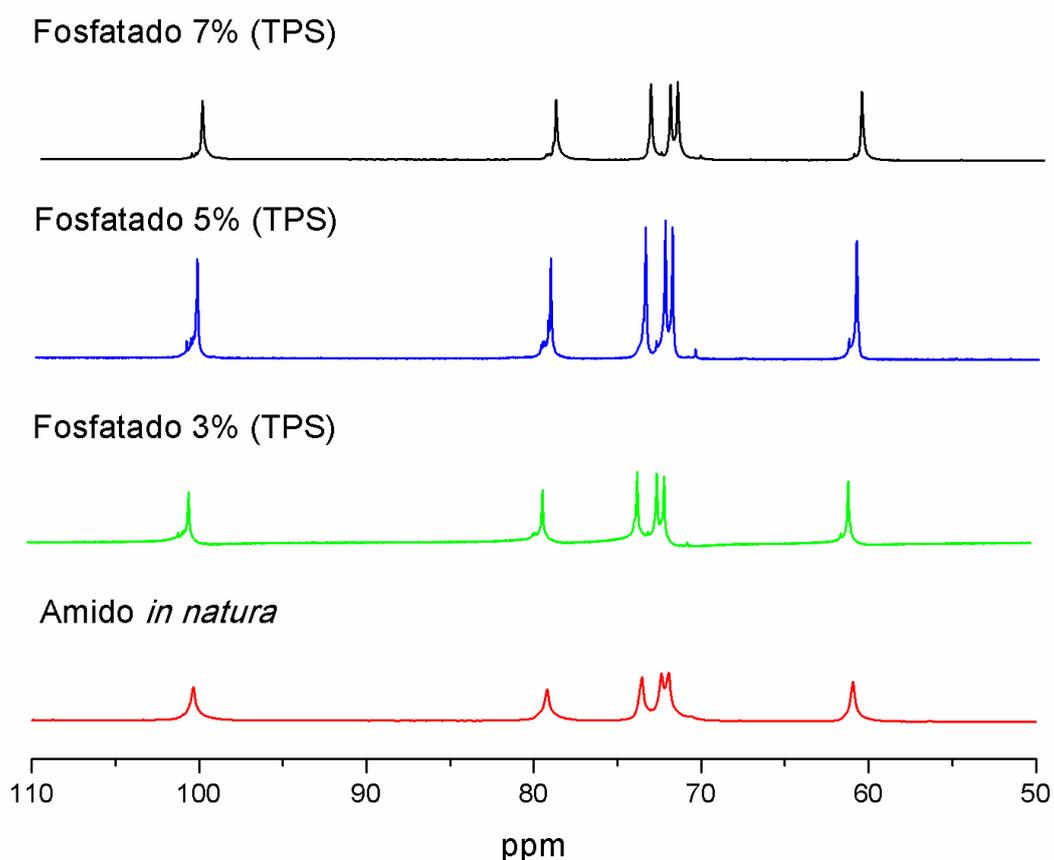
**Tabela 7:** Deslocamentos químicos no estado sólido do  $^{13}\text{C}$  para o amido de lírio-do-brejo.

Deslocamento químico (ppm)	Tipo de carbono/Grupos
100,5	C-1/ $\text{CH}(\text{OR})_2$
81,4	C-4/ $\text{CH-OR}$
72,4	C-2, C-3 e C-5/ $\text{CH-OH}$
61	C-6

O espectro de CPTOSS RMN  $^{13}\text{C}$  para o amido de lírio-do-brejo apresentou um sinal em 100,5 ppm referente ao C-1 (carbono anômérico). O sinal em 81,4 ppm é atribuído ao C-4 da molécula de glicose. O sinal de maior intensidade no espectro, em 72,4 ppm, é relacionado aos carbonos C-2, C-3 e C-5. O sinal em 61 ppm é atribuído ao C-6.

### 5.8. Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear RMN em solução

Após um rápido estudo sobre a solubilidade dos diferentes amidos em diferentes solvente optou-se por obter os espectros de RMN em estado líquido, por apresentarem uma maior resolução, sendo que o melhor solvente foi o dimetilsulfóxido. Estes espectros são apresentados na Figura 12 a seguir.



**Figura 12:** Espectros de RMN no estado líquido do  $^{13}\text{C}$  dos amidos de lírio-do-brejo *in natura* e fosfatado.

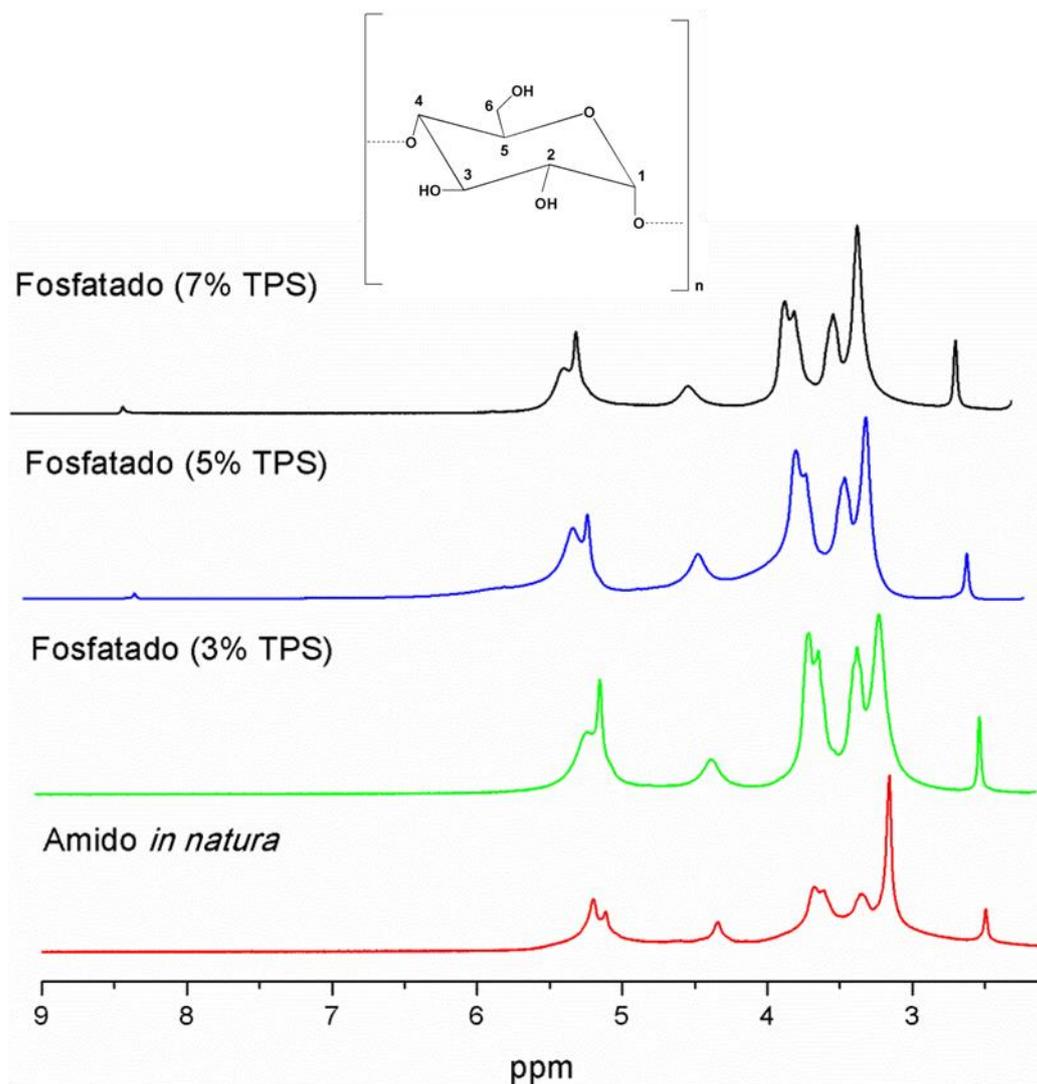
A atribuição dos sinais é apresentada na Tabela 8.

**Tabela 8:** Deslocamentos químicos no estado líquido do  $^{13}\text{C}$  para o amido de lírio-do-brejo.

Deslocamento químico (ppm)	Tipo de carbono/Grupos
100	C-1/ CH(OR) <sub>2</sub>
79	C-4/ CH-OR
74	C-2/ CH-OH
72	C-3 e C-5/ CH-OH
61	C-6

No espectro de RMN do  $^{13}\text{C}$  verifica-se um sinal em 100 ppm que é relacionado ao C-1 anomérico, que está ligado a dois átomos de oxigênio, formando ligações glicosídicas do tipo  $\alpha(1\rightarrow4)$ . Não foram observados sinais entre 103,3 e 102,9 ppm (BARBOSA *et al.*, 2003), característicos de  $\beta$ -configuração do C-1 anomérico.

O sinal em 79 ppm é atribuído ao C-4 da molécula de glicose e o sinal em 61 ppm é relacionado ao C-6. Sinais presentes entre 72 e 74 ppm são associados aos carbonos C-2, C-3 e C-5.



**Figura 13:** Espectros de RMN no estado líquido do  $^1\text{H}$  dos amidos de lírio-do-brejo *in natura* e fosfatados.

A atribuição dos sinais é apresentada na Tabela 9.

**Tabela 9:** Deslocamentos químicos no estado líquido do  $^1\text{H}$  para o amido de lírio-do-brejo.

Deslocamento químico (ppm)	Tipo de hidrogênio/Grupos
5,2	H1 e H1'
3,6	H3, H5 e H6
3,3	H4 e H2
4,3	-OH

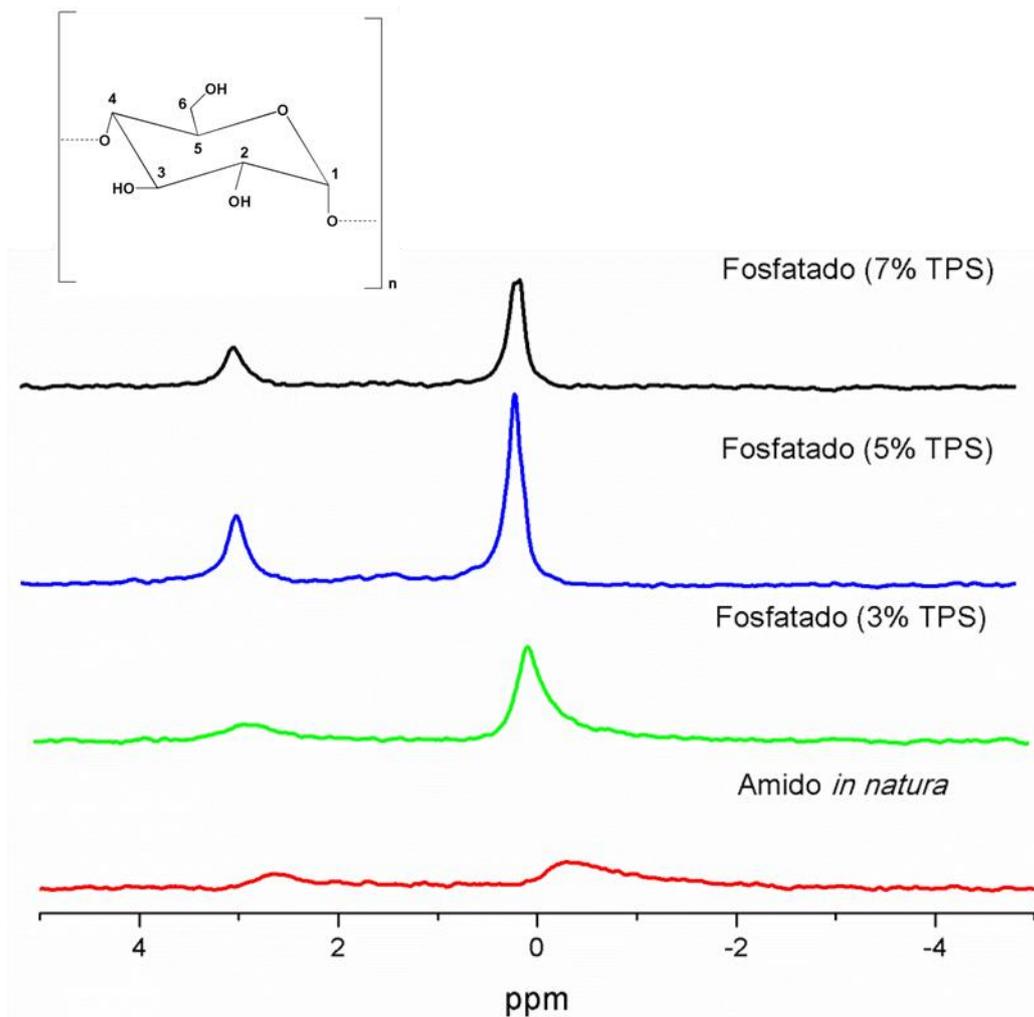
No espectro de RMN do  $^1\text{H}$  (Figura 13) verifica-se um deslocamento químico de 5,2 ppm que é atribuído ao H anomérico (H-1 e H1') da  $\alpha$ -glicose. O sinal em 3,6 ppm é relacionado aos hidrogênios H-3, H-5 e H-6. Em 3,3 ppm obteve-se um sinal que é atribuído aos hidrogênios H-4 e H-2. Em 4,3 ppm verifica-se um sinal que é devido aos grupos hidroxila presentes na molécula de amido.

O sinal em 3,16 ppm está presente devido à natureza higroscópica do DMSO-d<sub>6</sub> e do amido. Somente os amidos fosfatados a 5% e 7% de tripolifosfato de sódio (TPS- $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) apresentaram um sinal em 8,24 ppm indicando a possível presença do composto  $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$  (pirofosfato ácido trissódico/ mono-hidrogenodifosfato trissódico).

A presença desse subproduto pode ter ocorrido devido o processo de diálise na remoção residual de fosfato não ter sido efetivo nestes níveis de concentração de TPS, porém é preciso enfatizar que o  $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$  pode ser utilizado como um aditivo alimentar, pois seu uso como emulsificante, estabilizante, realçador de sabor, estabilizante de cor, dentre outras funções, estão autorizadas pela Lista Geral Harmonizada de Aditivos Alimentares e suas Classes Funcionais (MERCOSUL, Resolução GMC nº. 11/2006).

TIZZOTTI *et al.*, 2011, aplicando a RMN de  $^1\text{H}$  para a quantificação do número de pontos de ramificação (DB) e do número médio de unidades substituídas por monômero de glicose (DS) em amidos nativos e modificados utilizando DMSO como solvente, encontraram dificuldades na interpretação destes espectros devido a presença de vários grupos hidroxila que estão na mesma região de alguns dos prótons em análise.

Nos espectros de RMN do  $^{31}\text{P}$  (Figura 14), sob as condições reacionais utilizadas, foram obtidos sinais de deslocamento químico entre 0 e 5 ppm, indicando a presença de amidos monofosfatados. PASSAUER *et al.*, (2010) verificaram a presença de amidos difosfatados em menores quantidades em -5 ppm e sinais em 3,6 e 4,7 ppm atribuídos ao grupo fosfato nas posições C-6 e C-2/C-3 respectivamente.



**Figura 14:** Espectros de RMN no estado líquido do  $^{31}\text{P}$  dos amidos de lírio-do-brejo *in natura* e fosfatados.

SANTACRUZ *et al.*, (2005) encontraram sinais de  $^{31}\text{P}$  para o amido de tubérculo de batata em 1,76 e 1,98 ppm atribuído a monoésteres de fosfato ligados à glicose em C-6 e outro sinal em 2,21 ppm que foi relacionado a fosfatação em C-3.

KASEMSUWAN *et al.*, (1994) verificaram sinais de deslocamentos químicos para a fécula de batata em 4,1 e 5,2 ppm, tendo atribuído a estes como indicativo da presença monoéster fosfato, e um pico menor em 3,0 ppm, que indicou como sendo fosfato inorgânico. Nas análises do amido de trigo, estes mesmos autores obtiveram sinais de deslocamentos químicos entre 0,0 e 1,5 ppm, que atribuiu a presença de fosfolípidios.

Ao analisar os espectros de RMN do  $^{31}\text{P}$  (Figura 14) podem ser observados dois sinais de fósforo, sendo o primeiro (2,74 ppm) um indicativo

de fosfato na forma livre (fosfato inorgânico) ou amido monoéster fosfato. O segundo sinal (0,16 ppm) pode ser atribuído a presença de ligação fosfodiéster.

Em estudos de farinhas de arroz pré-gelatinizadas fosfatadas CLERICI, (1997) encontrou sinais em 2,78 ppm e -0,5 ppm, atribuindo estes à presença de amido monoéster fosfato e/ou fosfato livre e fosfodiéster, respectivamente.

## 6. CONCLUSÕES

O amido *in natura* apresentou baixos teores de cinzas (0,31%) e fósforo (0,003%), e os teores de fibra, lipídios e proteínas não foram influenciados pelo processo de fosfatação. Estas constatações indicam, respectivamente, que o processo de fosfatação foi efetivo e que no decorrer do processo de extração não houve contaminação.

Os teores de fósforo e cinzas foram crescentes com o aumento da concentração de TPS e tempo de agitação. Pelo método utilizado foi possível a obtenção de amidos de lírio-do-brejo com teores de fósforo aceitáveis nos níveis de 3% e 5% de TPS para fins alimentos. O teor no nível de 7% de TPS foi superior ao valor de 0,4% que é estabelecido pela legislação para uso em alimentos, um indicativo de possíveis aplicações funcionais deste em outros ramos tecnológicos.

Não foram verificadas diferenças significativas na densidade dos amidos fosfatados. Os grânulos de amido de lírio-do-brejo apresentaram comprimento e largura médios entre 44,7-57,1 e 29,9-36,4  $\mu\text{m}$ , sendo observado um relativo aumento nas dimensões dos amidos modificados.

O índice de solubilidade e o poder de inchamento dos amidos fosfatados mostraram-se superiores ao *in natura*. Através dos difratogramas de raio-x e da calorimetria diferencial de varredura foi verificado que as amostras fosfatadas apresentaram um grau de cristalinidade maior.

Nas análises dos espectros de FTIR dos amidos *in natura* e fosfatados não foram observadas diferenças significativas nas bandas de absorção. Porém, por meio dos espectros de RMN do  $^{31}\text{P}$  em estado líquido, foi possível observar as diferentes formas como está ocorrendo a reação de fosfatação no amido de lírio-do-brejo, sendo verificada a presença de amido monoéster fosfato, ligação fosfodiéster e fosfato inorgânico.

## 7. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 42, de 14 de janeiro de 1998a. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/42\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/42_98.htm)>, acesso em 08/01/2011.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 234, de 19 de agosto de 2002b. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/234\\_02rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/234_02rdc.htm)>, acesso em 13/03/2010.

ASCHERI, D. P. R.; MOURA, W. S.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. Caracterização física e físico-química dos rizomas e do amido do lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*). Pesquisa Agropecuária Tropical (UFG), v. 4, p. 159-166, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agriculture Chemists. 17th ed. Washington: AOAC, 2000.

BARBOSA, A. M.; STELUTI, R. M.; DEKKER, R. F.H.; CARDOSO M. S.; SILVA, M.L.C. Structural characterization of Botryosphaeran: a (1→3;1→6)-β-d-glucan produced by the ascomyceteous fungus, Botryosphaeria sp. Carbohydrate Research, 338, 1691-1698, 2003.

BATISTA, W.P.; SILVA, C.E.M.; LIBERATO, M.C.. Propriedades químicas e de pasta dos amidos de trigo e milho fosforilados. Ciência Tecnologia de Alimentos. v.30, n.1, 88-93, 2010.

BEMILLER, J.N. Starch modification: challenges and prospects. Starch/Stärke, v. 49, n. 4, p 31-127, 1997.

BERMUDEZ, J. N. Valorización de las amiláceas “no-cereales” cultivadas en los países andinos: estudio de las propiedades físico químicas y funcionales de sus almidones y la resistencia a diferentes tratamientos estressantes. Trabajo de Grado, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Universidad de Bogotá, Colombia, 1999. 150p.

CEREDA MP. (Coord.). Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas: propriedades gerais do amido. Campinas: Fundação Cargill; 2001. 221p.

CEREDA, M.P.; DAIÚTO, E.R.; LEONEL, M.; SILVEIRA, S.R.S. Avaliação da qualidade da fécula de inhame (*Dioscorea* sp) obtida por diferentes processos de extração. In: Simpósio em ciência de alimentos, 2003, Florianópolis. Anais. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 866-870, 2003.

CLERICI, M. T. P. S. Efeito de modificações fosfatada, intercruzada e ácida durante a gelatinização por extrusão da farinha de arroz e sua influência na produção de pão sem glúten. 1997. 253 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

COUPLAND, J. N.; SHAW, N. B.; MONAHAN, F. J.; O’RIORDAN, D.; O’SULLIVAN, M. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. *Journal of Food Engineering*, Oxford, v.43, n.1, p.25-30, 2000.

FAO – Codex Alimentarius. Faostat database. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acessado em 19/04/2010

FOCUS on modified starches. *Food Ingredients*, n.1/2, p.60-63, 1993.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. Food starch modified: code of federal regulation. Washington, v. 3, 2007.

GUTKOSKI, L. C.; PAGNUSSATTI, F. A.; SPIER, F.; PEDÓ, I. Efeito do teor de amido danificado na produção de biscoitos tipo semi-duros. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 1, p. 119-124, 2007.

HIRSCH AND KOKINI, • J. B. Hirsch and J. L. Kokini, Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl<sub>3</sub>, STMP and EPI) through swelling behaviour and pasting properties of cross-linked waxy maize starches, *Cereal Chemistry* v.79, n.1 , p. 102–107, 2002.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, Oxford, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2007.

HURTADO BJJ. Valorización de las Amiláceas “No-Cereales” Cultivadas en los Países Andinos: Estudio de las Propiedades Físicoquímicas y Funcionales de SUS Almidones y de la Resistencia a Diferentes Tratamientos Estresantes. [Trabajo de Grado] Bogotá: Facultad de Ingeniería de Alimentos, Universidad de Bogotá; 1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas: Métodos químicos e físicos para análisis de alimentos. 3.ed. São Paulo, v.1, 533p., 1985.

KARIM, A. A. et al. Effects of phosphorus contents on the gelatinization and retrogradation of potato starch. *Journal of Food Science*, v. 72, n. 2, 132-138, 2007.

KASEMSUWAN, T. & JANE, J. Location of amylose in normal starch granules. II. Locations of phosphodiester cross-linking revealed by phosphorus-31 NMR. *Cereal Chemistry*, v.72, p. 169–176, 1994.

KHURI, A. I., CORNELL, J. A., *Response Surfaces*, Marcel Dekker, New York, NY, 1987.

KRIEGER, K. M. Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: micro blender and homogeneizer. *Cereal Chemistry*, Saint Paul, v. 74, n. 5, p. 553-555, 1997.

KULIK A., HAVERKAMP J. Molecular mobility of polysaccharide chains in starch investigated by two-dimensional solid – state NMR spectroscopy. *Carbohydr. Polym.* 34, 49-54, 1997.

LAWAL, O. S. Succinyl and acetyl starch derivatives of a hybrid maize: Physicochemical characteristics and retrogradation properties monitored by differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Research*, 339, 2673–2682, 2004.

LIBERATO, M. C.; BATISTA, W. P.; SILVA, C. E.i M. Propriedades químicas e de pasta dos amidos de trigo e milho fosforilados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, ahead of print Epub Feb 26, 2010.

LIM, S.; SEIB, P. A. Preparation and pasting properties of wheat and waxy corn starch phosphates. *Cereal Chemistry*, v. 70, n. 2, p. 137-144, 1993.

LIM, S.-T., KASEMSUWAN, T., and JANE, J.-L Characterization of phosphorus in starch by <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cereal Chem.* v. 71, p. 488-493, 1994.

LIMBERGER, V. M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T.; COMARELA, C. G.; PATIAS, L. D. Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos. *Química Nova*, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 84-88, 2008.

LIU, H.; RAMSDEN, L.; CORKE, H. Physical properties and enzymatic digestibility of phosphorylated ae, wx, and normal maize starch prepared at different pH levers. *Cereal Chemistry*, v. 76, n. 6, p. 938-943, 1999.

LOPEZ-RUBIO, A; FLANAGAN, B.M; GILBERT, E.P; GIDLEY, M.J. A novel approach for calculating starch crystallinity and its correlation with double helix content: a combined XRD and NMR study. *Biopolymers* 89:761–768, 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. Plantas ornamentais no Brasil. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2001. 1118p.

LU, T.J., CHEN, J.C., LIN, C.L., and Y.H. CHANG. Properties of starches from cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) tubers planted in different seasons. *Food Chemistry*, 91: 69-77, 2005.

LUCAS, E. F.; SOARES, B.G.; MONTEIRO, E.E.C.; Caracterização de Polímeros, Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica, 1º ed., E-papers: Rio de Janeiro, 2001.

MERCOSUL. Resolução do Grupo Mercado Comum (GMC) n. 11/2006 - Regulamento Técnico Mercosul sobre “Lista Geral Harmonizada de Aditivos Alimentares e suas Classes Funcionais”. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/eacf2e004745977ea06cf43fbc4c6735/Tabela\\_Aditivo\\_GMC11-2006\\_LGH.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/eacf2e004745977ea06cf43fbc4c6735/Tabela_Aditivo_GMC11-2006_LGH.pdf?MOD=AJPERES), acesso em 29/11/2011.

MESTRES, C. Los estados físicos del almidon. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE ALMIDON, Quito; Anais Quito, p.2. 1996.

MONTEIRO, M.R.; AMBROZIN, A.R.P.; LIÃO, L.M.; BOFFO, E.F.; TAVARES, L.A.; FERREIRA, M.M.C.; FERREIRA, A.G., Study of Brazilian Gasoline Quality Using Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance (<sup>1</sup>H NMR) Spectroscopy and Chemometrics, *Energy & Fuels*, v. 23. p. 272-279, 2009.

MOURA, W. S. Extração e caracterização do amido do *Hedychium coronarium* e elaboração de filmes biodegradáveis. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2008.

NABESHIMA, H. A.; EL-DASH, A. Modificação química da farinha de arroz como alternativa para o aproveitamento dos subprodutos do beneficiamento do arroz. Boletim do CEPPA, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 107-120, 2004.

NETO, R.B. Raio-X In. CANEVAROLO JR., S.V., ed. Técnicas de Caracterização de polímeros. São Paulo: Artiber Editora, p.41-60, 2003.

PASCHALL, E. F. Phosphation with organic phosphate salts. In: R.E.L. Whistler (ed). Methods in carbohydrate chemistry. New York: Academic Press, v. 4, p. 294-296, 1964.

PASSAUER L.; BENDER H.; FISCHER S. Synthesis and characterisation of starch phosphates. Carbohydrate Polymers, 82, 809-814, 2010.

PASSAUER, L.; LIEBNER, F.; FISCHER, K. Synthesis and properties of novel hydrogels from cross-linked starch phosphates. Macromolecular Symposia, 244, 180–193, 2006.

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª ed. Norte-Americana. Ed. Cengage Learning, 2011.

PEREIRA, L. D. Caracterização do amido nativo e modificação química do amido da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum*) com tripolifosfato de sódio. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2011.

SANG, Y., PRAKASH, O., & SEIB, P. A. Characterisation of cross-linked resistant starch by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance (<sup>31</sup>PNMR) spectroscopy. Carbohydrate Polymers, 67, 201–212, 2007.

SANTACRUZ, S., ANDERSSON, R., & ÅMAN, P. On the presence of starch bound phosphate in potato leaf starch. Carbohydrate Polymers, 59, 537–539, 2005.

SANTOS, S.B.; PEDRALLI, G.; MEYER, S.T. Aspectos da fenologia e ecologia de *Hedychium coronarium* (Zingiberaceae) na estação ecológica do Tripuí, Ouro Preto-MG, Planta Daninha, v.23, n.2, p.175-80, 2005.

SASAKI, T., AND J. MATSUKI. Effect of wheat starch structure on swelling power. *Cereal Chemistry*, 75: 525-529, 1998.

SCHELEMMER, D. Preparação, degradação e caracterização de blendas de poliestireno e amido termoplástico usando glicerol e óleo de buriti (*Mauritia flexuosa*) como plastificantes, Universidade de Brasília, Dissertação de Mestrado, 2007.

SCOCH, T. J.; LEACH, H. W. Determination of absolute density-liquid displacement. In: WHISTLER, R. L. (Ed). *Methods in carbohydrate chemistry*. New York: Academic Press, v. 4, p. 101-103, 1964.

SILVA, L. P. et al. Uso de diferentes metodologias para a determinação de amido resistente em arroz: um estudo preliminar. 3rd International Temperate Rice Conference, Uruguay, 2003.

SILVA, G.O.; TAKIZAWA, F.F.; PEDROSO, R.A.; FRANCO, C.M.L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S.B.S.; DEMIATE, I.M. Caracterização físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. *Ciência Tecnologia Alimentos*, Campinas, v. 26, 188-197, 2006.

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

SINGH, J., KAUR, L., McCARTHY, O.J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids* 21, 1–22. 2007.

SITOHY, M. Z.; EL-SAADANY, S. S.; LABIB, S. M.; RAMADAN, M. F.;  
Starch/Staerke 2000, 52, 101.

SMITH, C. W. Impacts of alien plants on Hawaii's native biota. In: STONE, C. P.; SCOTT, J. M. (Eds.) Hawaii's terrestrial ecosystems: preservation and management. Honolulu: University of Hawaii Cooperative National Park Resources Study Unit, p.180-250, 1985.

STUART, B. H. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Inglaterra: John Wiley & Sons, 224 p. 2004.

TAPARELLI, J. R. Modificação química do amido de mandioca e estudo de sua aplicação em revestimento couché. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas - Campinas, SP, 2005.

TIZZOTTI M. J.; SWEEDMAN M.C.; TANG D.; SCHAEFER C.; GILBERT R.G. New <sup>1</sup>H NMR procedure for the characterization of native and modified food-grade starches. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 6913–6919, 2011.

VIGNEAU, E.; LOISEL, C.; DEVAUX, M.F.; CANTONI, P. Number of particles for the determination of size distribution from microscopic images. Powder Technology, v.107, n.3, p.243-250, 2000.

WATTANCHANT, S.; MUHAMMAD, K.; HASHIM, D.; RAHMAN, R.A. Effect of cross-linking reagents and hydroxypropylation levels on dualmodified sago starch properties. Food Chemistry, 80, p. 463-471, 2003.

ZOBEL, H.F.; YOUNG, S.N.; ROCCA, L.A. Starch gelatinization: An X-ray diffraction study. Cereal Chemistry, St. Paul, v.65, n.6, p.443-446, 1988.

## APÊNDICE

**Apêndice 1:** Dados do Poder de inchamento (PI) dos grânulos de amido de *Hedychium coronarium in natura* e fosfatados.

Temperatura (°C)	PI (Kg/Kg)									
	<i>In natura</i>	3%			5%			7%		
	-	20'	30'	40'	20'	30'	40'	20'	30'	40'
50	2,28	2,44	2,49	2,49	2,49	2,54	2,56	2,52	2,55	2,57
50	2,27	2,46	2,49	2,53	2,51	2,50	2,51	2,55	2,54	2,56
50	2,22	2,49	2,52	2,54	2,48	2,52	2,55	2,49	2,57	2,59
Média	2,26	2,47	2,50	2,52	2,49	2,52	2,54	2,52	2,55	2,57
Desvio Padrão	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02
60	2,35	2,52	2,61	2,65	2,61	2,61	2,71	2,61	2,65	2,71
60	2,32	2,56	2,57	2,60	2,55	2,67	2,69	2,57	2,67	2,68
60	2,30	2,56	2,59	2,62	2,58	2,63	2,67	2,59	2,64	2,73
Média	2,32	2,55	2,59	2,63	2,58	2,63	2,69	2,59	2,65	2,71
Desvio Padrão	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03
70	2,32	2,55	2,59	2,61	3,01	3,09	3,18	3,08	3,13	3,19
70	2,38	2,60	2,65	2,68	3,09	3,12	3,23	3,09	3,14	3,20
70	2,34	2,58	2,63	2,67	3,08	3,13	3,19	3,07	3,09	3,25
Média	2,35	2,57	2,62	2,65	3,06	3,11	3,20	3,08	3,12	3,21
Desvio Padrão	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,02	0,03	0,01	0,03	0,03
80	3,24	5,15	5,25	5,28	5,65	5,66	5,71	5,62	5,65	5,70
80	3,31	5,19	5,20	5,22	5,57	5,60	5,64	5,65	5,66	5,67
80	3,26	5,18	5,24	5,26	5,58	5,62	5,67	5,67	5,62	5,69
Média	3,27	5,17	5,23	5,25	5,60	5,63	5,67	5,65	5,64	5,69
Desvio Padrão	0,04	0,02	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02
90	5,15	6,20	6,29	6,33	6,56	6,63	6,85	6,80	6,93	6,98
90	5,20	6,21	6,24	6,74	6,50	6,77	6,80	6,83	6,89	6,87
90	5,21	6,21	6,25	6,50	6,58	6,82	6,81	6,81	6,97	6,95
Média	5,19	6,21	6,26	6,52	6,54	6,74	6,82	6,81	6,93	6,93
Desvio Padrão	0,03	0,01	0,03	0,21	0,04	0,10	0,03	0,02	0,04	0,06
100	7,11	6,33	6,46	6,58	6,34	6,50	6,65	6,85	6,76	6,88
100	7,12	6,31	6,43	6,55	6,31	6,50	6,71	6,71	6,84	6,83
100	7,16	6,30	6,42	6,54	6,63	6,55	6,54	6,64	6,88	6,72
Média	7,13	6,32	6,44	6,55	6,43	6,51	6,63	6,73	6,83	6,81
Desvio Padrão	0,03	0,02	0,02	0,02	0,17	0,03	0,09	0,11	0,06	0,08

**Apêndice 2:** Dados do Índice de solubilidades (IS) dos grânulos de amido de *Hedychium coronarium in natura* e fosfatados.

Temperatura (°C)	IS (%)									
	<i>In natura</i>	3%			5%			7%		
	-	20'	30'	40'	20'	30'	40'	20'	30'	40'
50	0,46	1,41	1,44	1,48	1,45	1,46	1,46	1,47	1,48	1,51
50	0,45	1,40	1,44	1,49	1,43	1,46	1,51	1,46	1,46	1,53
50	0,45	1,42	1,46	1,47	1,49	1,48	1,50	1,47	1,50	1,50
Média	0,46	1,41	1,44	1,48	1,45	1,46	1,49	1,47	1,48	1,51
Desvio Padrão	0,00	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,01	0,02	0,02
60	1,67	2,12	2,23	2,23	2,20	2,20	2,27	2,21	2,22	2,26
60	1,65	2,17	2,19	2,21	2,18	2,20	2,21	2,23	2,25	2,27
60	1,65	2,16	2,21	2,26	2,26	2,24	2,27	2,24	2,25	2,29
Média	1,65	2,15	2,21	2,23	2,21	2,22	2,25	2,23	2,24	2,27
Desvio Padrão	0,01	0,03	0,02	0,03	0,04	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02
70	2,09	2,59	2,57	2,62	2,63	2,60	2,66	2,62	2,65	2,69
70	2,11	2,58	2,63	2,66	2,59	2,65	2,70	2,64	2,67	2,68
70	2,08	2,55	2,60	2,65	2,61	2,66	2,68	2,63	2,63	2,72
Média	2,09	2,58	2,60	2,64	2,61	2,64	2,68	2,63	2,65	2,70
Desvio Padrão	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,01	0,02	0,02
80	2,50	2,59	2,65	2,64	2,91	2,90	2,97	2,90	2,93	2,98
80	2,47	2,60	2,60	2,65	2,86	2,94	2,92	2,91	2,91	2,95
80	2,46	2,56	2,60	2,61	2,85	2,89	2,93	2,90	2,95	2,94
Média	2,48	2,59	2,62	2,64	2,89	2,91	2,94	2,90	2,93	2,96
Desvio Padrão	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02
90	2,74	2,75	2,76	2,81	3,07	3,24	3,30	3,08	3,23	3,33
90	2,78	2,79	2,78	2,76	3,08	3,18	3,31	3,10	3,24	3,37
90	2,76	2,80	2,79	2,79	3,11	3,20	3,36	3,13	3,19	3,32
Média	2,76	2,78	2,78	2,79	3,09	3,21	3,32	3,10	3,22	3,34
Desvio Padrão	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
100	3,79	3,97	4,05	4,13	4,01	4,20	4,23	4,08	4,17	4,24
100	3,80	3,97	3,93	4,10	4,03	4,16	4,19	4,09	4,19	4,23
100	3,84	4,00	4,03	4,13	4,00	4,15	4,19	4,10	4,20	4,22
Média	3,81	3,98	4,00	4,12	4,01	4,17	4,20	4,09	4,19	4,23
Desvio Padrão	0,03	0,02	0,06	0,02	0,01	0,03	0,02	0,01	0,02	0,01

