

Efeitos do Tempo de Reação e da Concentração de Tripolifosfato de Sódio sobre a Fosfatação do Amido da Fruta-de-Lobo

Luciane D. Pereira & Diego P. R. Ascheri

O estudo avaliou a modificação química (fosfatação) do amido da fruta-de-lobo com a variação da concentração de tripolifosfato de sódio em diferentes tempos de reação. Os resultados demonstraram um aumento do teor de fósforo obtendo-se o máximo de acordo com a legislação no tempo de 40 min com 7% de tripolifosfato de sódio, o modelo matemático de segunda ordem indicou que ambos os fatores estudados influenciam na fosfatação do amido devido a interação destas variáveis independentes.

Palavras-chave: *amido, modificação química, fosfatação.*

The study evaluated the chemical modification (phosphorylation) of the starch in the fruit-of-wolf with the variation of concentration of sodium tripolyphosphate at different reaction times. The results showed an increased level of phosphorus getting the maximum under the law in time of 40 min with 7% of sodium tripolyphosphate, the second-order mathematical model indicated that both studied factors influencing the phosphorylation of starch due the interaction of these two independent variables.

Keywords: *starch, chemical modification, phosphorylation.*

Introdução

Quimicamente os amidos modificados são importantes em muitas aplicações industriais. Estas modificações podem ser realizadas através de processos físicos (extrusão)¹, enzimáticos e químicos (oxidação, fosfatação)². Qualquer que seja o processo, a modificação altera as características estruturais do amido afetando as pontes de hidrogênio, porém, de forma controlada, produzindo amidos com características funcionais melhoradas utilizadas na produção de colas, tintas, produtos químicos, farmacêuticos, alimentícios, etc³.

De acordo com YIU *et al.*⁴, alguns métodos químicos foram utilizados para hidrolisar carboidratos e produzir açúcares de menor massa molecular, formar ligações cruzadas ou produzir amidos oxidados. A hidrólise ácida tem sido usada para modificar amidos por mais de 150 anos. Este processo consiste na suspensão do amido em uma solução aquosa de ácidos mineral ou orgânico em determinadas temperaturas. Na presença de um ácido forte e calor, as ligações glicosídicas são clivadas modificando o amido. Amidos fosfatados são caracterizados pela introdução de um grupamento iônico fosfato em sua estrutura⁵. É considerado um aditivo químico em alimentos e a legislação preconiza níveis de fósforo não superiores há 0,4 %⁶.

Como qualquer outra reação química, a fosfatação do amido depende de fatores tais como a concentração do reagente⁷, do tempo de reação, pH do meio⁸ e outros, que, finalmente, determinam o número de grupos fosfato incorporados na molécula de amido. Ainda, BELLO-PÉREZ *et al.*⁹ referem que a modificação também depende da natureza do amido, estrutura, tamanho, proporção amilose/amilopectina, métodos de extração e outras propriedades do grânulo. A modificação dos amidos de milho, batata, trigo e mandioca foram amplamente citados na literatura^{10,11,12}, porém, na natureza ocorrem amido não convencionais que podem ser aproveitados industrialmente e precisam ser estudados quanto a sua modificação química. O fruto da *Solanum lycocarpum* (fruta-de-lobo), por exemplo, possui um amido com características peculiares¹³ e ocorre em abundância no Cerrado brasileiro. Não tem informações sobre a sua modificação química e, pelo exposto acima, no presente trabalho tem-se estudado a modificação química deste

amido variando a concentração de tripolifosfato de sódio e o tempo da reação com intuito de obter um amido fosfatado com máximo teor de fósforo permitido pela legislação brasileira.

Material e Métodos

O amido foi extraído de frutos verde da fruta-de-lobo. Os frutos foram colhidos no perímetro rural da Cidade de Anápolis (GO). Durante a extração foi necessário a utilização de solução de metabissulfito de sódio (Synth) em concentração de 5 g L⁻¹ para prevenir o escurecimento do amido. Os frutos descascados e picados foram moídos em macro moinho de rotor circular (MA-580, São Paulo). O amido contido na polpa moída foi separado com peneiras (Bertel, São Paulo) de diâmetro de furos entre 75 a 250 µm, em abundante água. Deixou-se decantar a face leitosa por aproximadamente 12 h e o amido decantado foi filtrado a vácuo com lavagens sucessivas de álcool etílico absoluto (Synth) para remoção do excesso de água e, posteriormente, foi desidratado em estufa de secagem e esterilização com circulação e renovação de ar (MA-035, São Paulo) a 45 °C por 6 h. O nível inicial de adição de tripolifosfato de sódio 5% foi escolhido usando-se como referência o valor recomendado pelo próprio método de Paschall¹⁴ e tendo como limite o nível de adição de 11,0% em função da dificuldade da filtração do amido após as lavagens realizadas para a redução do teor de sódio no produto.

A modificação para a produção do amido fosforilado foi feita por esterificação do amido in natura com tripolifosfato de sódio (TPS) usando-se o método de Paschall¹⁴, com algumas modificações. Com o intuito de alcançar níveis máximos de fosforilação, o tempo de reação (t: 20, 30, 40 e 50 min) e a concentração de tripolifosfato de sódio (TPS: 5, 7, 9 e 11 dag kg⁻¹) foram combinados em um planejamento fatorial completo inteiramente casualizado 4², com três repetições. A proporção da solução de TPS por amido nativo foi de 3:5 (p/v). As misturas foram agitadas usando o agitador mecânico Fisaton (713D, São Paulo) e centrifugada em centrifuga 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 fosforilado adicionou-se 99 mm³ de etanol a 50% (v/v), e centrifugou 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 (± 6 °C), trocando-se a água diariamente. Após a diálise, o amido fosfatado foi seco a 45 °C e pulverizado até passar pelos furos de uma peneira de 150 μ m. O teor de fósforo (P) foi determinado de acordo com a técnica descrita por Instituto Adolfo Lutz¹⁵ por espectrofotometria usando um espectrofotômetro UV/visível (SP-2000UV) a 420 nm. O grau de substituição (GS) dos amidos foi calculado segundo a Equação 1¹⁶.

$$GS = \frac{162P}{(3100-124P)} \quad (1)$$

Onde P corresponde ao teor de fósforo (%). As médias das respostas obtidas foram expressas em valor \pm desvio padrão¹⁷:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} X_i}{n} \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (2)$$

Fazendo uso da análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade, um modelo matemático polinomial até segunda ordem (Eq 3) foi aplicada para estabelecer uma equação preditiva do teor de fósforo (Y) em função dos fatores t (x_1) e TPS (x_2)¹⁷:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} b_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3)$$

Onde Y é a função resposta (GS), x é a variável codificada, b representa os coeficientes 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 ξ é o erro experimental. A adequação dos modelos propostos foi avaliada empregando o método de seleção para a frente (*forward selection*) e pela análise do resíduo, classificado como “falta de ajuste”, 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

3 foram obtidos do melhor modelo polinomial ajustado às respostas do desenho experimental.

Uma vez obtido o modelo polinomial preditivo, sua otimização foi feita pela técnica proposta para variáveis dependentes¹⁸. Esta se baseia na definição de uma função de deseabilidade restrita no intervalo de [0,1], para a qual se adotou como limites inferior, médio e superior nos valores de 0, 0,5 e 1,0, respectivamente, para a variável GS. Os cálculos e gráficos foram elaborados utilizando-se o programa Statistica 8¹⁹. 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 representando as variáveis independentes.

Resultados e Discussões

Nas condições do presente trabalho, a modificação do amido nativo de fruta-de-lobo ficou limitada em nível máximo de adição de 11,0% de TPS, uma vez que acima desse valor ocorria a gelatinização instantânea do amido. Pela Tabela 1 se observou que o amido nativo possui baixo teor de fósforo (0,003%), entretanto, os teores de fósforos para as amostras modificadas foram superiores à da amostra nativa, indicando que o processo foi efetivo para promover a ligação do fósforo com o amido. O teor de fósforo aumentou com o aumento de TPS em cada um dos tempos de esterificação estudados, atingindo o máximo permitido²⁰ em um tempo de 40 min com 7% de TPS. Teores de fósforo acima do valor permitido (4%) foram encontrados quando o amido nativo foi esterificado em tempos de 50 min e porcentagens de TPS de 7 e 9%, correspondentes aos tratamentos T₈ (0,536) e T₁₂ (0,435%) da Tabela 1.

Os resultados da análise de variância para o modelo matemático de segunda ordem aplicado estão descritos na Tabela 2. Houve interação entre os fatores TPS x T indicando que a fosfatação do amido nativo de fruta-de-lobo se deu devido ao efeito sinérgico causado por essas variáveis independentes.

Por meio do coeficiente de determinação ajustado ($R_{aj}^2 = 0,8609$) se constatou que mais de 86% da variação total do processo de fosfatação do amido nativo encontra-se em torno da média e menos do 14% do erro experimental foi atribuído à falta de ajuste do modelo. Esses valores indicam uma boa adequação do modelo matemático aos

dados experimentais e confirma-se através do valor do teste F da regressão (Tabela 2). Segundo BOX *et al.*²¹ para que uma regressão seja não apenas estatisticamente significativa, mas também útil com fins de predição de resultados, o valor do teste F calculado devido à regressão deve ser no mínimo de quatro a cinco vezes o valor do F teórico (neste caso igual a 2,438, calculado usando o valor alfa de 0,05 e graus de liberdades de 5 e 42 para a regressão e erro, respectivamente). Pela Tabela 2 se observa que a razão entre o F calculado é o F teórico é aproximadamente 25, valor que satisfaz as condições anteriormente estabelecidas por BOX *et al.*²¹, portanto, se aceita o modelo matemático de segunda ordem como o sendo o modelo preditivo do valor do teor de fósforo do amido modificado de fruta-de-lobo em função ao tempo de reação e concentração de tripolifosfato de sódio. A Equação 4 descreve bem essa variação. Seus coeficientes foram selecionados em base ao teste t e valor-p significativos ao nível 5% de probabilidade (Tabela 2).

Tabela 1. Teor de fósforo e desvio padrão do amido nativo de fruta-de-lobo e de amidos modificados com tripolifosfato de sódio em diferentes tempos de reação.

Tratamentos	Tripolifosfato de sódio (%)	Tempo (min)	Teor de fósforo (%)	Grau de substituição
Amido nativo	-	-	0,003±0,001	0,0002
T ₁	5	20	0,015±0,000	0,0008
T ₂	5	30	0,025±0,004	0,0013
T ₃	5	40	0,080±0,001	0,0042
T ₄	5	50	0,325±0,005	0,0172
T ₅	7	20	0,109±0,001	0,0057
T ₆	7	30	0,284±0,009	0,0150
T ₇	7	40	0,397±0,001	0,0211
T ₈	7	50	0,536±0,006	0,0286
T ₉	9	20	0,065±0,003	0,0034
T ₁₀	9	30	0,167±0,002	0,0088
T ₁₁	9	40	0,243±0,006	0,0128
T ₁₂	9	50	0,455±0,006	0,0242
T ₁₃	11	20	0,048±0,002	0,0025
T ₁₄	11	30	0,092±0,001	0,0048
T ₁₅	11	40	0,186±0,001	0,0098
T ₁₆	11	50	0,259±0,010	0,0137

$$P(\%) = -1,231 + 0,327TPS - 0,019TPS^2 + 1,97 \times 10^{-4}T^2 - 4,58 \times 10^{-4}TPS \cdot T \quad (4)$$

Na Figura 1 se mostra a superfície de resposta da variação do teor de fósforo em função do tempo de reação e concentração de tripolifosfato de sódio. O teor de fósforo aumentou com o aumento do tempo da reação em todos os níveis de TPS, chegando-se a atingir um valor máximo de 0,486% em tempos de reação de 50 min e concentrações de TPS de 7%. Valores mínimos de fosfatação podem ser obtidos no tempo de 20 min e concentrações de 5 ou 11% de TPS.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para o modelo matemático de segunda ordem aplicado à variação do teor de fósforo do amido modificado da fruta-de-lobo com tripolifosfato de sódio (TPS) em diferentes tempos de esterificação (t) e coeficientes da regressão e respectivos testes t e valor-p.

Causas da Variação	Teste F	Coefficientes	Teste t	Valor-p
Regressão	59,19**	-	-	-
Intercepto	-	-1,231**	-75,63	<0,001
TPS	0,36 ^{n.s.}	0,327**	104,14	<0,001
TPS ²	11117,20**	-0,019**	-105,44	<0,001
T	26947,19**	0,001 ^{n.s.}	1,23	0,228
T ²	713,98**	1,97x10 ^{-04**}	26,72	<0,001
TPS x T	241,62**	-4,58 x 10 ^{-04**}	-15,54	<0,001
Falta de ajuste	550,58**	-	-	-

** Altamente significativo ao nível de 5% de probabilidade

De acordo com a legislação brasileira, o amido modificado com tripolifosfato poderá ter no máximo 0,4% de fósforo na sua constituição química. No caso do presente estudo a otimização do processo de fosfatação do amido nativo de fruta-de-lobo se deu quando a função de desejabilidade adotou os limites inferior, médio e superior os valores de 0, 0,5 e 1,0, para teores de fósforo e 0, 0,276 e 0,4%, respectivamente. Na Figura 2 se mostra o gráfico da otimização da fosfatação do amido nativo da fruta-de-lobo. Nesta figura observa-se que o valor máximo de fósforo permitido pode ser obtido quando o amido nativo de fruta-de-lobo é esterificado com uma porcentagem de 9,9% de tripolifosfato de sódio num tempo de 50 min de reação.

Limberger²² estudando a modificação química do

amido de arroz utilizou quatro tempos de reação e quatro concentrações de tripolifosfato de sódio e selecionou o tempo intermediário de 40 min com 7% de TPS, pois com o tempo de reação de 60 min o teor de fósforo ultrapassou o limite da legislação (0,4%) e o de 30 min incorporou um teor baixo de fósforo, respectivamente 0,410 e 0,246%.

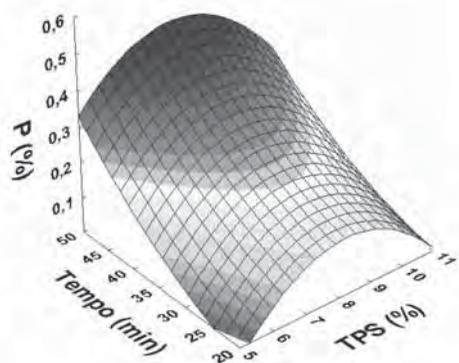


Figura 1. Teor de fósforo em amidos modificados de fruta-de-lobo em função do tempo de reação e concentração de tripolifosfato de sódio.

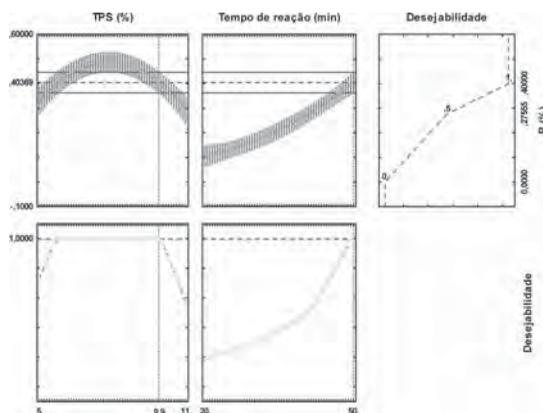


Figura 2. Otimização da fosfatação do amido nativo da fruta-de-lobo

Portanto o amido da fruta-de-lobo fosfatado com em 40 min com 7% de TPS apresentou teor de fósforo e grau de substituição respectivamente 0,397% e 0,021 semelhante ao relatado por Paschall (1964) para o amido de arroz por meio desta técnica 0,38% e 0,02, ficando dentro do limite recomendado para o uso em alimentos.

Os teores de fósforos dos amidos da fruta-de-

lobo modificados apresentaram valores crescentes com os níveis de adição de TPS adicionado até 7% de concentração. É possível que esse comportamento possa ser explicado pela diferença no teor de amilose e pela distribuição dos grupos fosfato entre a amilose e amilopectina²³ entre os amidos modificados, limitados a um nível máximo de adição de 11,0% de TPS, pois, para ensaios com concentrações acima deste valor, ocorre a gelatinização quase instantânea nas condições de ensaio.

Conclusão

Tanto a concentração de tripolifosfato de sódio e tempo de reação influenciou no teor de fósforo e grau de substituição dos amidos modificados. No entanto, a modificação mais indicada depende da legislação que estabelece o máximo de 0,4% de fósforo na constituição química do amido, portanto o amido modificado em 40 min com 7% de tripolifosfato de sódio foi o que se obteve o máximo de teor de fósforo e grau de substituição aceito pela legislação.

Referências Bibliográficas

1. Mali, S.; Grossmann, M. V. E.; Yamashita, F. *Ciências Agrárias*, **2010**, 31 (1), 137-156.
2. Silva, G.O.; Takizawa, F.F.; Pedrosa, R.A.; Franco, C.M.L.; Leonel, M.; Sarmiento, S.B.S.; Demiate, I.M. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2006**, 26, 188.
3. Guilbot, A.; Mercier, C. Starch. In: Aspinall, G. O. (ed.) The polysaccharides. London: *Academic Press*. **1985**, 210-244.
4. Yiu, P. H.; Loh, S. L.; Rajan, A.; Wong, S. C.; Bong, C. F. J. *American Journal of Applied Sciences*. **2008**, 5 (4), 307.
5. Cereda, M. P.; Vilpoux, O. F.; Demiate, I. M. São Paulo: *Fundação Cargill*. **2003**, 246-332.
6. FAO – Faostat database. www.fao.org, acessado em de janeiro de **2009**.
7. Pereira, L. H. G.; *Dissertação de Mestrado*. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, **2008**.
8. Lim, S.; Seib, P. A. *Cereal Chemistry*. **1993**, 70 (2), 137-144.
9. Bello-Pérez, L. A.; Contreras-Ramos, S. M.; Jimenez-Aparicio, A.; Paredes-López, O. *Acta Científica Venezolana*. **2000**, 51, 143-149.
10. Lee, S.; Kang, Y.; Han, S.H. Rhee, C. *Food Research Technology*. **2009**, 228, 449.
11. Absar, N.; Zaidul, I.S.M.; Takigawa, S.; Hashimoto, N.; Matsuura C.; Yamauchi H.; Noda T. *Food Chemistry*. **2009**, 112, 57-62.

12. Chung, Y.; Lai, H. *Carbohydrate Polymers*. **2006**, 63 (4), 527-534.
13. Santos, A. *Tese de Mestrado*. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, **2009**.
14. Paschall, E. F. New York: *Academic Press*. **1964**, 4, 294-296.
15. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. **1985**, 1.
16. Tedesco, M.J.; Gianello, C.; Bohnen, H. *Departamento de Solos da UFRSG*, Porto Alegre, **1996**, 174.
17. Khuri, A. I.; Cornell, J. A. *Response Surfaces*, New York, NY. **1987**.
18. Derringer, G.; Suich, R. *Journal of Quality Technology*. **1980**, 12 (4), 214-219.
19. Statsoft Inc., *Statistica for Windows*, Version 6.0, 2300 East 14th Street, Tulsa, 74104, USA, **1998**.
20. BRASIL. *Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil*: Brasília, 15 de abr. de **2005**.
21. Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S., New York: *Wiley and Sons*. **1978**, 653.
22. Limberger, V. M. *Tese de Mestrado*. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2006**.
23. Liu, H.; Ramsden, L.; Corke, H. *Cereal Chemistry*. **1999**, 76 (6), 938-943.

Luciane D. Pereira* & Diego P. R. Ascheri

Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Estadual de Goiás, CEP: 75001-970, Anápolis/GO, Brasil.

*e-mail: luciane_dpereira@hotmail.com