

Aula 11 - Amido

Objetivos:

- Caracterizar solução de amido de milho quanto aos testes de Lugol, Molisch e Benedict, e precipitação com etanol;
- Hidrolisar o amido com α -amilase de *Aspergillus oryzae* e H_2SO_4 , avaliando a diminuição da viscosidade durante a hidrólise;
- Caracterizar o hidrolisado quanto aos testes supramencionados.

Materiais:

Solução de amido (7% m/v)

Solução de α -amilase de *A. oryzae* (0,1% m/v)

Ácido sulfúrico PA

Solução de Lugol (Dissolvem-se 2 g de iodeto de potássio (KI) em 100 mL de água destilada. Acrescentar 1 g de cristais de iodo. Completar a 300 mL de água destilada)

Reagente de Molisch (5 g α -naftol/100 mL álcool etílico)

Reagente de Benedict (Dissolvem-se 20,9 g de citrato de sódio e 10 g de carbonato de sódio em 80 mL de água quente, resfria-se, dissolve-se 1,73 g de sulfato de cobre, e avoluma-se para 100 mL)

Álcool etílico PA

Vidrarias: Bequeres de 250 mL, Tubos de ensaio, Pipeta graduada de 5 e 25 mL

Micropipeta de volume variável (5 mL)

Banho maria a 40 °C e a 100 °C

Procedimento

Transferir duas amostras de 100 mL da solução de amido para dois béqueres de 250 mL e equilibrar a temperatura para 40 °C no banho-maria. Um béquer será utilizado para hidrólise enzimática, e outro para hidrólise ácida.

Retirar amostras dos béqueres e efetuar a caracterização da solução conforme segue:

Lugol	Molisch	Álcool	Benedict
2 mL solução amido	2 mL solução amido	5 mL solução amido	1 mL solução amido
3 gotas R. Lugol	3 gotas R. Molisch	5 mL álcool	5 mL R. Benedict
	2 mL H_2SO_4 PA *		
Aquecer (100 °C / 5 min)		Agitar	Aquecer (100 °C / 5 min)
Resfriar			Resfriar
3 gotas R. Lugol			

* Adicionar o H_2SO_4 lentamente pelas paredes do tubo, sem misturar o conteúdo

Determinar o tempo de escoamento da solução, antes da adição de catalisador, com uma pipeta de 25 mL invertida, determinando o tempo necessário para o escoamento de 20 mL da solução.

Adicionar 5 mL de catalisador em cada um dos béqueres e iniciar a contagem do tempo de hidrólise (30 min); α -amilase no primeiro béquer, e H_2SO_4 no segundo béquer.

Acompanhar a hidrólise do amido em cada um dos béqueres, determinando o tempo de escoamento de 20 mL da solução a cada 1 min, até tempo constante. OBS.: Não misturar as pipetas, tomando o cuidado para não haver contaminação cruzada e nem contaminação com saliva.

Ao final do tempo de hidrólise, retirar os béqueres do banho-maria e caracterizar os hidrolisados obtidos conforme descrito na tabela.

OBS.: Espera-se pequena eficiência na hidrólise ácida, que também gera subprodutos, provenientes da decomposição de açúcares, evidenciados pela coloração amarelada da mistura reacional. Como o pH da hidrólise ácida é muito ácido, confirmar o resultado do teste de Benedict adicionando 0,4 mL de NaOH 5 M à um tubo adicional utilizado para a caracterização do hidrolisado quanto ao teste de Benedict.

Resultados e discussão

1. O que acontece com a solução coloidal após:

- a) adição de lugol?
- b) fervura?
- c) o resfriamento?

2. O que acontece com a solução coloidal após a adição do reativo de Molisch?

Em que fase está o amido?

3. Após adição de álcool etílico à solução coloidal, em que fração ficou o amido?