Digestão enzimática do amido de milho pela ptialina da saliva

Objetivos:

Gelatinização de amido de milho

Digestão de amido de milho gelatinizado com amilase salivar

Digestão de amido de milho gelatinizado com ácido clorídrico

Considerações:

O amido é um polissacarídeo de reserva vegetal. A maioria das células vegetais possui a capacidade de sintetizar amido, e o seu armazenamento é abundante em tubérculos e em sementes. Este carboidrato ocorre intracelularmente, em grandes grânulos, e é formado por dois tipos de polímeros de glicose, amilose e amilopectina, que se associam por meio de pontes de hidrogênio. Em geral, os grânulos de amido são constituídos por 15 a 30 % de amilose e 70 a 85 % de amilopectina.

A amilose consiste de cadeias longas, não ramificadas, de resíduos de D-glicose, conectados por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$. O peso molecular de tais cadeias varia entre alguns milhares até mais de um milhão. A amilopectina também possui um peso molecular elevado (até 200 milhões), mas, ao contrário da amilose, é altamente ramificada. As ligações glicosídicas que unem os resíduos de glicose sucessivos nas cadeias de amilopectina são $\alpha(1\rightarrow4)$; nos pontos de ramificação, que ocorrem a cada 24 a 30 resíduos de glicose, são ligações $\alpha(1\rightarrow6)$.

O amido é um dos principais elementos da dieta em muitas partes do mundo. A digestão inicia na boca, onde a α -amilase salivar hidrolisa as ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ internas, produzindo fragmentos polissacarídicos ou oligossacarídeos. No estômago, a α -amilase salivar é inativada pelo pH baixo, mas uma segunda α -amilase, secretada pelo pâncreas no intestino delgado, continua o processo de degradação. A α -amilase pancreática gera principalmente maltose e maltotriose, e também oligossacarídeos chamados de dextrinas-limite, fragmentos de amilopectina contendo pontos de ramificação $\alpha(1\rightarrow6)$. A maltose, a

maltotriose e as dextrinas são então finalmente degradadas até glicose, por enzimas do epitélio intestinal.

Industrialmente, a liquefação e a sacarificação do amido são processadas por meio da utilização de enzimas, devido à melhor qualidade do produto final e à economia de energia. Utilizam-se enzimas de origem bacteriana e fúngica.

Para o acompanhamento qualitativo da hidrólise do amido, pode-se utilizar o teste com solução de Lugol ($I_2 + KI$), que evidencia a presença deste polissacarídeo (formação de complexo de inclusão de coloração azul entre amilose e iodo) e/ou algum teste para detecção de açúcares redutores, como o teste com reagente de Benedict ($CuSO_4 + Na_3C_6H_5O_7 + Na_2CO_3$), que evidencia a presença destes sacarídeos (formação de Cu_2O , precipitado vermelho).

Materiais

Amido de milho a 2 %

Glicose a 2 %

Saliva bucal

Ácido clorídrico PA

Solução de Lugol

Reagente de Benedict

Banho-maria a 40 °C

Banho-maria a 100 °C

Vidrarias

Procedimento

Obtenção da solução de amido gelatinizado

Pesar 2 g de amido de milho (Maizena) em um béquer, adicionar 100 mL de H_2O destilada e, em seguida, promover a gelatinização do amido em banho-maria a 100 °C sob agitação.

Determinar o tempo de escoamento da solução de amido (a temperatura ambiente), antes e após a gelatinização, utilizando uma pipeta volumétrica de 10 mL.

Obtenção da amilase salivar

Lavar a boca previamente. Coletar a saliva em um béquer, antes do início do experimento de digestão do amido gelatinizado.

Digestão do amido gelatinizado

Preparar 4 tubos: 1) controle de amido (CA), 2) controle de glicose (CG), 3) digestão do amido com amilase salivar (DE), e 4) digestão do amido com HCl (DA).

Ao tubo 1, adicionar: 10 mL de solução de amido e 1 mL de água.

Ao tubo 2, adicionar: 10 mL de solução de glicose e 1 mL de água.

Ao tubo 3, adicionar: 10 mL de solução de amido e 1 mL de saliva.

Ao tubo 4, adicionar: 10 mL de solução de amido e 1 mL de HCl.

Acondicionar os tubos em banho-maria a 40 °C, homogeneizando-os periodicamente durante todo o experimento.

Após 15 min (e a cada 15 min subsequentes), transferir uma alíquota de 1 mL da mistura reacional em cada tubo para um novo tubo e, a ela, adicionar 2 gotas de solução de Lugol.

Nos tempos de 15, 30, 45 e 60 min, após a retirada das amostras para a realização do teste de Lugol, adicionar 1 mL de saliva ao tubo 3, e 1 mL de HCl ao tubo 4.

Obs1: Quando a ação da saliva é rápida demais, pode-se diminuir o tempo entre amostragens ou trabalhar com menos enzima (adicionar menos saliva à mistura reacional). Quando a ação da saliva é lenta demais, pode-se aumentar o tempo entre amostragens ou trabalhar com mais enzima (adicionar mais saliva à mistura reacional).

Obs2: Ídem para a digestão com HCl.

Ao final do experimento (tempo de 75 min), retirar os tubos do banho-maria e efetuar os testes para detecção da presença amido (Lugol), conforme descrito anteriormente, e de açúcares redutores (Benedict), conforme segue:

- Transferir 0,2 mL da mistura reacional em cada tubo para um novo tubo e, a ela, adicionar 1 mL de reagente de Benedict. Em seguida, aquecer os tubos a 100 °C por 5 min.

Determinar, com o auxílio de papel indicador universal, o pH da mistura reacional em cada tubo.

Resultados

Tempo de escoamento da solução de amido

Solução	Tempo
Não gelatinizada	
Gelatinizada	

Acompanhamento da digestão da solução de amido (teste de Lugol)

Tempo (min)	CA	CG	DE	DA
15				
30				
45				
60				
75				

Acompanhamento da digestão da solução de amido (teste de Benedict)

Tempo (min)	CA	CG	DE	DA
75				

Determinação do pH

Tempo (min)	CA	CG	DE	DA
75				

Discussão

1. Quais os princípios dos testes utilizados para detecção da presença de amido (Lugol) e açúcares redutores (Benedict)?
2. Os testes supramencionados podem ser utilizados para fins de quantificação (análise quantitativa) da digestão do amido? Faça a sugestão de técnicas

experimentais que podem ser utilizadas para avaliação quantitativa da gelatinização, liquefação e sacarificação do amido?

3. Ilustre os resultados obtidos no experimento, interpretando-os com base nos princípios dos testes utilizados para o acompanhamento da reação.

4. Compare os resultados obtidos (digestão enzimática x digestão ácida), em relação aos controles (amido e glicose).