

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**COORDENAÇÃO DE QUÍMICA**  
**CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

**NATAN DA SILVA MIRANDA SECHI**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO  
POR RETICULAÇÃO: EMPREGO DE ISOTERMAS DE  
ADSORÇÃO DE AZUL DE METILENO**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PATO BRANCO**

**2014**

NATAN DA SILVA MIRANDA SECHI

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO POR  
RETICULAÇÃO: Emprego de isotermas de adsorção de Azul de  
Metileno**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Curso Bacharelado em Química da UTFPR do Departamento de Química – DAQUI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Câmpus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Teixeira Marques.

PATO BRANCO, 2014

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

O trabalho de diplomação intitulado **OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO POR RETICULAÇÃO: EMPREGO DE ISOTERMAS DE ADSORÇÃO DE AZUL DE METILENO** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° **10.2.2014-B**.

Fizeram parte da banca os professores:

Patrícia Teixeira Marques

Leandro Zatta

Raquel Dalla Costa da Rocha

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao corpo docente do curso de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Pato Branco, que em vários momentos se dispuseram a auxiliar e contribuir com este trabalho.

Aos Estagiários e técnicos dos Laboratórios de Química que estiveram sempre de prontidão auxiliando a execução dos trabalhos práticos.

A minha orientadora, professora Patrícia, pela paciência, profissionalismo e condução neste trabalho.

Ao professor Fauze da Universidade do Centro-Oeste - UNICENTRO – Guarapuava pela disponibilidade na realização das análises de Difractometria de Raios-X.

Aos familiares e amigos que sempre me apoiaram no trajeto acadêmico.

Especialmente à minha companheira, Mari Simone, que passou todo este tempo de graduação ao meu lado e compartilhou cada momento desta conquista.

E todos que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho.

## RESUMO

SECHI, Natan da S. M. Obtenção e caracterização de amido modificado por reticulação: Emprego de isoterma de adsorção de Azul de Metileno. 2013. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

Amidos modificados por reticulação são amplamente utilizados no processamento de alimentos e vêm sendo cada vez mais aplicados na formulação de fármacos, compondo matrizes de liberação controlada, por se tratar de materiais biodegradáveis e biocompatíveis e na maior parte dos casos, atuam como ótimos substituintes de matrizes de custos mais altos. A reticulação de amidos por meio do emprego de trimetafosfato de sódio (TMFS) e tripolifosfato de sódio (TPFS) tem resultado em materiais de propriedades bem apreciadas para aplicação em adsorções de moléculas catiônicas em solução. O processo de reticulação promove a inserção dos grupamentos fosfatos nas entre-cadeias dos grânulos de amido, o que lhes confere um caráter aniônico, altera seus padrões de cristalinidade, morfologia e funcionalidades. Neste trabalho foi realizada a preparação de amidos reticulados por TMFS e TPFS, foi realizado estudo de sua composição química, morfologia, difração de raios-x, espectroscopia na região do infravermelho e adsorção de azul de metileno. As amostras reticuladas apresentaram significativas diferenças estruturais em relação ao amido puro, evidenciadas nos padrões de raios-x principalmente nos picos entre 25 e 37° (2 $\theta$ ) e nas imagens obtidas por MEV com suas superfícies apresentadas mais disformes. As bandas dos espectros de infravermelho das amostras permitiram observar similaridades com bandas específicas de espectros de fosfatos, o que pode determinar a presença dos fosfatos nas cadeias de amido. A análise de fósforo permitiu então determinar com maior clareza a presença de fósforo nas amostras reticuladas permitindo sua quantificação. O estudo de isotermas de adsorção de azul de metileno por sua vez permitiu determinar que as adsorções utilizando as amostras de amido reticulado com trimetafosfato de sódio (A. R. TMFS) e amido reticulado com tripolifosfato de sódio (A. R. TPFS) se adequam melhor ao modelo de Freundlich, caracterizada por superfícies de adsorção não uniformes, e possivelmente multicamadas. Foi possível observar-se que amidos reticulados com agentes polifosfatados tem potencial para adsorção de moléculas catiônicas o que pode indicar funcionalidades para novos materiais.

**Palavras-chave:** Amido modificado. Trimetafosfato de Sódio. Tripolifosfato de Sódio. Azul de Metileno.

## ABSTRACT

SECHI, Natan da S. M. Preparation and Characterization of modified starch by crosslinking: Employment adsorption isotherms of Methylene Blue. 2013. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

Starches modified by crosslinking are widely used in food processing and have been increasingly applied in the formulation of drugs, composing a controlled release matrix, as it is biodegradable and biocompatible materials in most cases, act as substituents great matrices higher costs. Crosslinking of starches by the use of sodium trimetaphosphate (STMP) and sodium tripolyphosphate (STPP) has resulted in well appreciated material properties for application in adsorption of cationic molecules in solution. The crosslinking process promotes the inclusion of the phosphate groups between chains of the starch granules, which gives them an anionic character patterns alter its crystallinity, morphology and functionality. This work describes the preparation of cross-linked starches for STMP and STPP was conducted of its chemical composition, morphology, x-rays diffraction, spectroscopy in the infrared region and adsorption of methylene blue. The crosslinked samples show significant structural differences from the pure starch, evidenced in patterns of x-rays mainly in peaks between 25 and 37° (2 $\theta$ ) and the images obtained by SEM with their surfaces presented more misshapen. The bands of the infrared spectra of the samples allowed to note similarities with specific spectral bands phosphates, which can determine the presence of phosphate in the starch chains. Phosphorus analysis allowed then determine more clearly the presence of phosphorus in the crosslinked samples allowing its quantification. The study of methylene blue adsorption isotherms in turn allowed the determination of the adsorption using the crosslinked starch with sodium trimetaphosphate (A. R. STMP) and crosslinked starch with sodium tripolyphosphate (A. R. STPP) best fit the Freundlich model, characterized by surfaces of non-uniform adsorption, and possibly multilayer. It can be observed that crosslinked starches polyphosphate agents have potential for adsorbing cationic molecules which may indicate functionality for new materials.

**Keywords:** Modified Starch. Sodium Trimetaphosphate. Sodium Tripolyphosphate. Methylene Blue.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas Químicas de Amilose e Amilopectina.....	12
Figura 2 – Padrões de Difração de amidos tipo A, B e C. ....	18
Figura 3 – Espectros de amido puro, A.R. TMFS e A.R. TPFS na região do Infravermelho entre 4000 e 400 $\text{cm}^{-1}$ .....	28
Figura 4 – Espectros de amido puro, A.R. TMFS e A.R. TPFS na região do Infravermelho entre 1380 e 400 $\text{cm}^{-1}$ .....	29
Figura 5 – Difratogramas das amostras de Amido Puro, A. R. TMFS e A. R. TPFS.	31
Figura 6 – Micrografia de micropartículas de Amido puro obtida por MEV (400x). ...	33
Figura 7 – Micrografia de micropartículas de amido puro obtida por MEV (3000x)...	33
Figura 8 – Micrografia de micropartículas de A. R. TMFS obtida por MEV (400x). ...	34
Figura 9 – Micrografia de micropartículas de A. R. TMFS obtida por MEV (3000x). .	34
Figura 10 – Micrografia de micropartículas de A. R. TPFS obtida por MEV (400x)...	34
Figura 11 – Micrografia de micropartículas de A. R. TPFS obtida por MEV (3000x).	34
Figura 12 – Curva de Calibração de Fósforo (0,05 à 0,1 $\text{g.L}^{-1}$ ). .....	35
Figura 13 – Isotermas de Adsorção de Azul de Metileno linearizadas no modelo de Langmuir. ....	38
Figura 14 – Isotermas de Adsorção de Azul de Metileno linearizadas no modelo de Freundlich.....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diluições do Azul de Metileno para construção de Isoterma de Adsorção .....	27
Tabela 2 – Resultados das leituras espectrofotométricas das soluções amostrais à 420 nm .....	36
Tabela 3 – Teores de fósforo determinados nas amostras .....	36
Tabela 4 – Linearização dos dados das Isotermas de Adsorção para Langmuir e Freundlich.....	39



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	9
2	OBJETIVOS .....	11
2.1	Objetivo Geral .....	11
2.2	Objetivos Específicos .....	11
3	REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
3.1	Amido .....	12
3.2	Amidos Modificados.....	13
3.3	Reticulação.....	14
3.4	Caracterização de Amostras de Amido .....	17
3.5	Caracterização Morfológica.....	17
3.6	Caracterização por Espectroscopia na Região do Infravermelho.....	17
3.7	Difratometria de Raios-X.....	18
3.8	Determinação de Fósforo .....	19
3.9	Isotermas de Adsorção .....	19
3.10	Azul de Metileno .....	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	22
4.1	Preparação dos Amidos Reticulados com os Agentes Fosfatados.....	22
4.2	Caracterização das Amostras.....	23
4.3	Espectroscopia na Região do Infravermelho .....	23
4.4	Difração de Raios – X.....	24
4.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	24
4.6	Teores de Fósforo Residual.....	24
4.7	Isotermas de Adsorção dos Amidos Modificados.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
5.1	Espectroscopia na Região do Infravermelho .....	28
5.2	Difração de Raios-X.....	30
5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	33
5.4	Teores de Fósforo .....	35
5.5	Isotermas de Adsorção .....	37
6	CONCLUSÃO.....	41

## 1 INTRODUÇÃO

O amido é um polissacarídeo encontrado nos vegetais como fonte de energia de reserva. Composto por duas frações, denominadas amilopectina e amilose, ambas constituídas de moléculas de D-Glucose e distinguindo-se pelo tamanho de molécula e conseqüentemente massa. A amilose consiste de uma cadeia linear das unidades glucosídicas enquanto a amilopectina tem ramificações o que permite a ela projetar-se em maior numero de unidades glucosídicas.

O amido é uma substância de enorme importância comercial, é um material de baixo custo, sendo muito utilizado em vários ramos da indústria, como produção de fármacos, tintas, adesivos, filmes, papéis, entre outros, tendo maior destaque na produção de alimentos. É um polímero biodegradável e biocompatível, portanto, não agride o organismo humano.

As modificações realizadas no amido, como exemplo a reticulação, foram implementadas e vem sendo largamente estudadas principalmente com a finalidade de melhorar as condições de processamento do amido, pois industrialmente sua manipulação na forma nativa, ainda apresenta características indesejáveis, tais como, viscosidade elevada, solubilidade razoável em água, baixa resistência ao calor e alto grau de intumescimento, que algumas vezes pode levar a inviabilização dos processos.

No Brasil a comercialização de amido reticulado se iniciou próximo ao ano de 1982 segundo Rosenthal e Espindola (1982), enquanto no exterior já se comercializava há muito mais tempo.

Em muitos tratamentos de doenças humanas, são utilizados fármacos convencionais, de liberação imediata, e muitas vezes em várias doses. O número de doses elevadas geralmente está associado à manutenção do princípio ativo no organismo, pois nestes casos quando ingerido o medicamento, a liberação do princípio ativo no organismo se dá de forma rápida, assim há uma alta concentração dele em um período pequeno de tempo. O organismo metaboliza o necessário para sanar o problema em uma faixa pequena de tempo, mas em muitas vezes o problema persiste após este período necessitando de uma nova ingestão. Para

problemas como este, a alternativa da utilização de matrizes que possam liberar continuamente e por um longo tempo os princípios ativos pode reduzir bastante o número de doses, o que leva a uma diminuição na quantidade total ingerida durante o tratamento, além de possibilitar o controle mais eficiente da atividade sobre as enfermidades.

Uma característica importante sobre as matrizes que carregam os princípios ativos é sua ação no organismo, pois a matriz deve ser metabolizada ou minimamente expelida.

A utilização de amido reticulado com agentes fosfatados na obtenção de fórmulas farmacêuticas de liberação controlada vêm sendo estudada no Brasil, mas sua aplicação ainda se concentra majoritariamente na indústria de alimentos.

Partindo da necessidade de expandir a utilização de matrizes biodegradáveis na liberação controlada de fármacos, este trabalho é realizado, com o objetivo de preparar e caracterizar um material com propriedades tais como, biodegradabilidade, biocompatibilidade, insolubilidade em água, resistência a pH's baixos e temperaturas altas, adsorvidade e difusibilidade de grupos catiônicos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo deste trabalho é realizar a preparação e caracterização de amido modificado quimicamente com Trimetafosfato de sódio e Tripolifosfato de Sódio de maneira que os materiais reticulados possam ser utilizados na elaboração de matrizes de liberação controlada de fármacos.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Preparar amido modificado aniônico via reticulação por agentes fosfatados, Trimetafosfato de Sódio (TMFS) e Tripolifosfato de Sódio (TPFS), utilizando-se amido solúvel comercial;
- Caracterizar o amido modificado física e quimicamente, por meio de técnicas de análises instrumentais, como microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia na região do infravermelho e difração de raios – x;
- Construir isotermas de adsorção da substância catiônica Azul de Metileno;
- Realizar análise de índices de fósforo residual final nos amidos reticulados.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Amido

O amido é um polissacarídeo encontrado em diversas fontes vegetais, em tubérculos, cereais, raízes, frutos e folhas, e serve a eles como reserva de energia. Constituído basicamente de duas frações amido e amilopectina. Ambas as frações são constituídas de unidades D-Glucose, de modo que a amilose corresponde a uma cadeia linear com ligações D-Glucose do tipo  $\alpha$ -1,4, enquanto a amilopectina tem cadeia ramificada, pois além de ligações  $\alpha$ -1,4 contém ligações  $\alpha$ -1,6 (LU; XIAO; XU, 2009), como pode ser observado na figura 1.

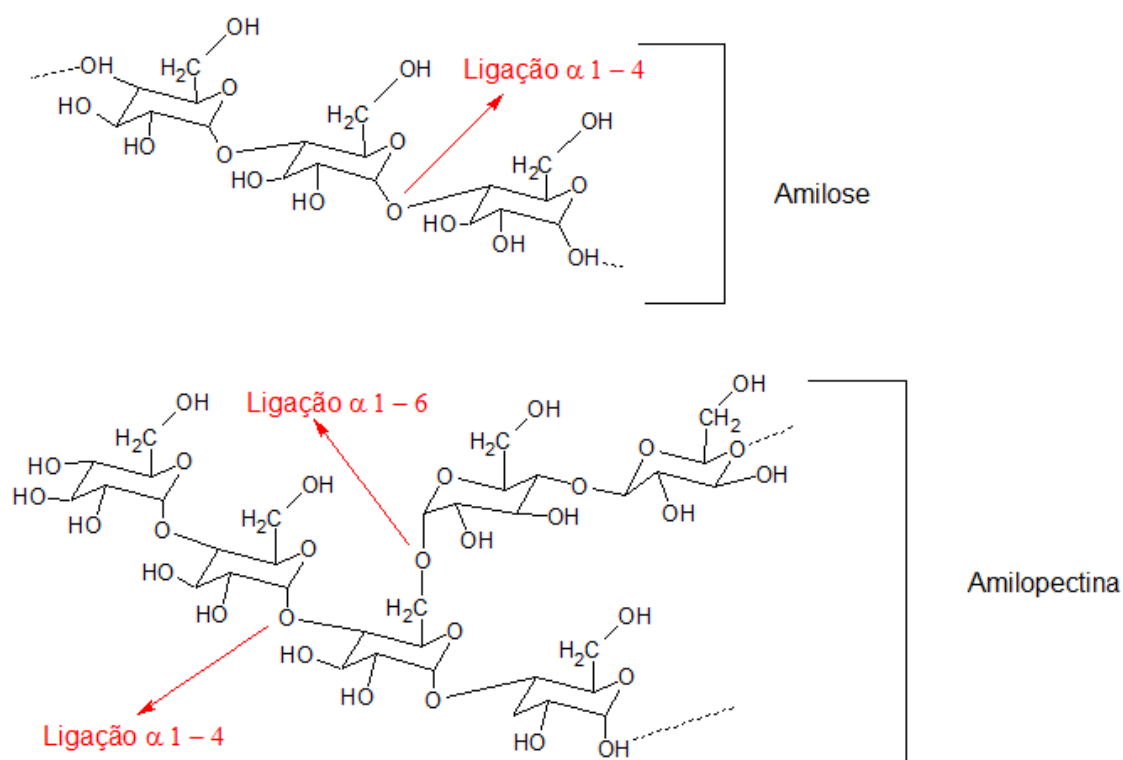


Figura 1 - Estruturas Químicas de Amilose e Amilopectina.

O amido possui certa cristalinidade, pois as ligações  $\alpha$  1 - 6 se repetem em intervalos bem definidos ao longo das estruturas de D-Glucose. Sendo que a

cristalinidade está diretamente relacionada com a composição, ou proporção entre as duas frações (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). A amilopectina é a responsável pela cristalinidade atribuída aos grânulos de amido, visto que em amidos com pequena quantidade de amilopectina não se observa nenhuma cristalinidade, esta região cristalina consiste de formações de duplas hélices (RÓZ, 2004).

Os amidos podem ser classificados de acordo com sua estrutura cristalina de acordo com diferenças nos difratogramas de raios-x em três categorias “A, B e C”, os amidos de cereais são chamados de tipo “A”, amidos de tubérculos, frutas e milho com alto teor de amilose são chamados de tipo “B” e amidos de vagens e leguminosas de tipo “C” (MOTA, 2009).

Em presença de água o amido pode apresentar diversos comportamentos. A água fria pode penetrar no amido sem interferir nas regiões cristalinas. Quando há excesso de água em aquecimento, rompem-se as ligações de hidrogênio do amido presentes nas regiões amorfas, levando ao intumescimento do grânulo, situação que se mantém até certo ponto, onde ocorre o rompimento do grânulo e desaparecimento da estrutura natural do amido, sendo impossível a regeneração estrutural por conta das interações ocorridas nas hidroxilas, mais especificamente ligações de hidrogênio (RIBEIRO, 2001).

### **3.2 Amidos Modificados**

A utilização do amido nativo é limitada devido a suas propriedades mecânicas que dificultam seu processamento na indústria, sua principal aplicação está na produção de alimentos (RIBEIRO, 2001).

Para que se possa aumentar sua aplicabilidade a diversos processos, são realizadas modificações no amido, podendo ser elas de natureza física, enzimática ou química. As modificações físicas agridem bastante as propriedades intrínsecas do amido por serem bastante enérgicas, as enzimáticas por sua vez demandam alto custo, assim as modificações químicas se sobressaem como mais utilizadas. Estas

últimas são mais brandas e não afetam significativamente as propriedades intrínsecas (ROSENTHAL; ESPINDOLA 1982).

Existem diversos tipos de modificações químicas aplicáveis ao amido, uso de radiação de microondas com lipases, esterificação com lipase, formação de hidrogéis por fotopolimerização em radiação UV, esterificação com ácido ferúlico, oxidação por ozônio, entre outros (KARIM et al., 2012).

Entre as modificações químicas, uma das mais utilizadas é a reticulação por agentes fosfatados. Esta é muito empregada na indústria de alimentos, portanto precede de controle por meio de legislações que norteiam os processos, e que respeitadas conferem produtos sem toxicidade para o organismo humano.

### **3.3 Reticulação**

Além dos agentes reticulantes fosfatados existem alguns outros menos utilizados como, Epicloridrina, Oxícloreto de Fósforo e Ácido Adípico. A Epicloridrina passou a ser menos utilizada, pois assim como o Oxícloreto de Fósforo apresenta toxicidade (RIZVI; MANOI, 2010).

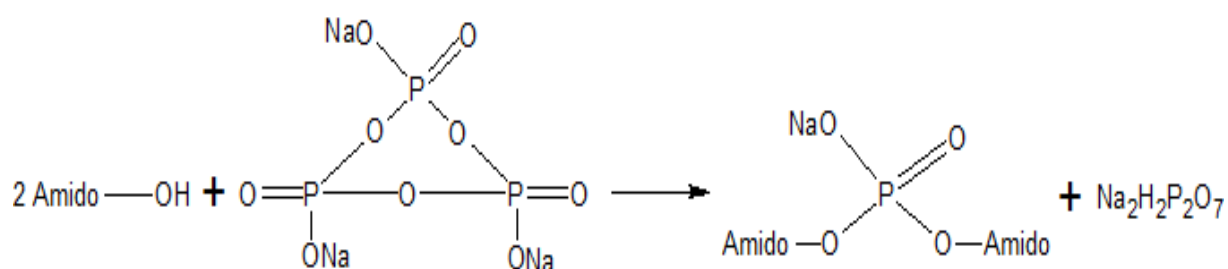
Agentes como Tripolifosfato de Sódio e Trimetafosfato de Sódio estão entre os mais utilizados para inserção de ligações cruzadas, sendo que os mesmos conferem ao amido caráter aniônico proveniente dos grupamentos fosfatos (BELLO-PÉREZ et al., 2009; RIZVI; MANOI, 2010).

A reticulação realizada por agentes fosfatados ocorre com a ligação dos grupamentos fosfatos em hidroxilas das moléculas de amido, podendo resultar em moléculas de amido mono, di e triesterificadas por grupamentos fosfato, estas distinções tem relação direta com o pH de meio reacional (SEIB; LIM, 1993).

De acordo com Passauer, Bender e Fischer (2010), um alto grau de grupamentos fosfato no amido pode acarretar em material muito intumescível, tal característica favorece seu emprego na adsorção de água e armazenamento de materiais com água.

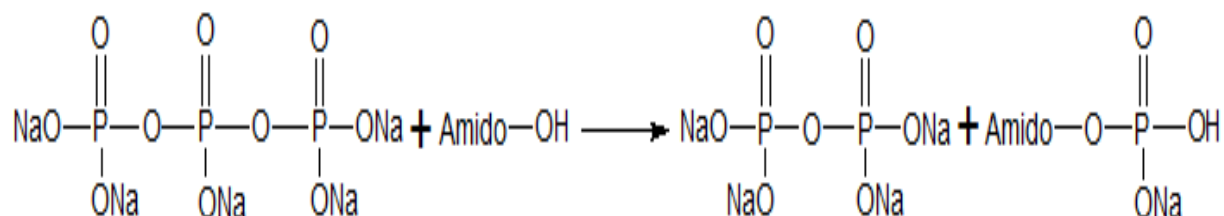
A reticulação de amido com trimetafosfato de sódio foi estudada e demonstrada por Rosenthal e Espindola (1982) que concluiu que os produtos são

predominantemente diesterificados podendo haver em menores quantidades mono e triésteres. Na Reação 1 observa-se a formação de produtos diesterificados da reticulação de amido com trimetafosfato de sódio.



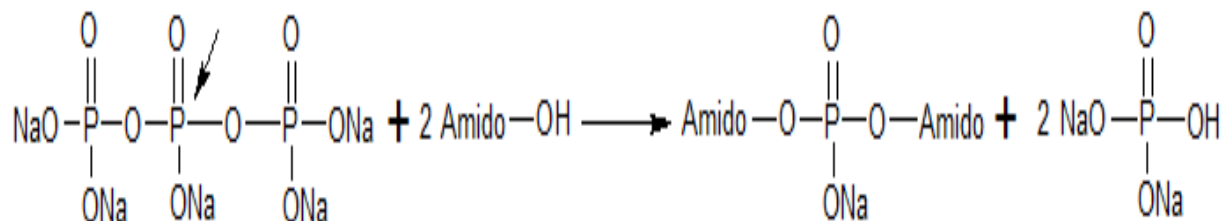
#### Reação 1 – Reticulação do amido com trimetafosfato de sódio

A reticulação de amido com utilização de tripolifosfato de sódio depende fundamentalmente do pH em que se processa a reação. Segundo Seib e Lim (1993) na reação do amido com tripolifosfato à pH abaixo de 9 pode ocorrer a formação de produtos monoesterificados, enquanto a pH mais próximo de 10 ou mesmo acima a formação de diésteres é predominante. A reticulação com os agentes fosfatados processa-se somente em meio básico. Os pH's altos promovem o relaxamento das cadeias de amido o que influencia na disponibilidade das hidroxilas do amido para reação. Abaixo podem ser observadas as reações 2 e 3 correspondentes a reticulação de amido com tripolifosfato de sódio à pH's abaixo de 9 e acima de 10.



#### Reação 2 – Reticulação do amido com tripolifosfato de sódio à pH abaixo de 9.





**Reação 3 – Reticulação do amido com tripolifosfato de sódio à pH acima de 10. A seta indica qual fosfato sofre ataque da hidroxila do amido.**

No Brasil existe a portaria nº 540 de 27 de outubro de 1997 (Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária, Brasil) que prescreve teores máximos de fósforo residual de 0,04% para amidos reticulados com Trimetafosfato de Sódio e 0,4% para utilização de Tripolifosfato de Sódio (PEREIRA; ASCHERI, 2011).

Materiais biodegradáveis e biocompatíveis, como o amido, utilizados em fórmulas farmacêuticas têm acarretado um grande progresso nos produtos farmacêuticos, proporcionando melhoramento no tratamento de doenças através da liberação controlada dos princípios ativos, assim, pois, oferecem muitas vantagens sobre produtos com liberação imediata (MANSOUR et al., 2010). As fórmulas farmacêuticas de liberação controlada, na qual a liberação é prolongada diminuem o tempo necessário entre as administrações do fármaco em relação às convencionais (LYRA et al., 2007).

Dois métodos de reticulação com agentes fosfatados são muito estudados, o de reticulação por mistura simples e o de reticulação em emulsão água em água (A/A) e óleo em água (O/A). O método de reticulação por mistura simples tem se destacado possivelmente devido a maior facilidade de preparo e controle de processo de reação, além de demandar menos reagentes. Na reticulação por emulsão O/A são utilizados solventes orgânicos tóxicos, desta forma o estudo de emulsões A/A isentos de reagentes tóxicos também têm sido estudado (LI et al., 2009).

### **3.4 Caracterização de Amostras de Amido**

A caracterização físico-química dos amidos pode ser realizada por meio de técnicas analíticas convencionais ou instrumentais. A comparação entre os estados do amido nativo e reticulado é normalmente realizada, a fim de orientar a intensidade das modificações e possibilitar melhor estudo das variáveis envolvidas no processo de reticulação.

### **3.5 Caracterização Morfológica**

Análises morfológicas de amido nativo e amido reticulado foram realizadas com Microscopia Eletrônica de Varredura por Cury et al. (2008), que puderam relacionar tempo de reação com intensidade de modificações morfológicas.

Conforme Freitas e Tavares (2005) assinalaram, a morfologia conjuntamente com as propriedades físicas pode diferir significativamente entre amidos de espécies vegetais distintas.

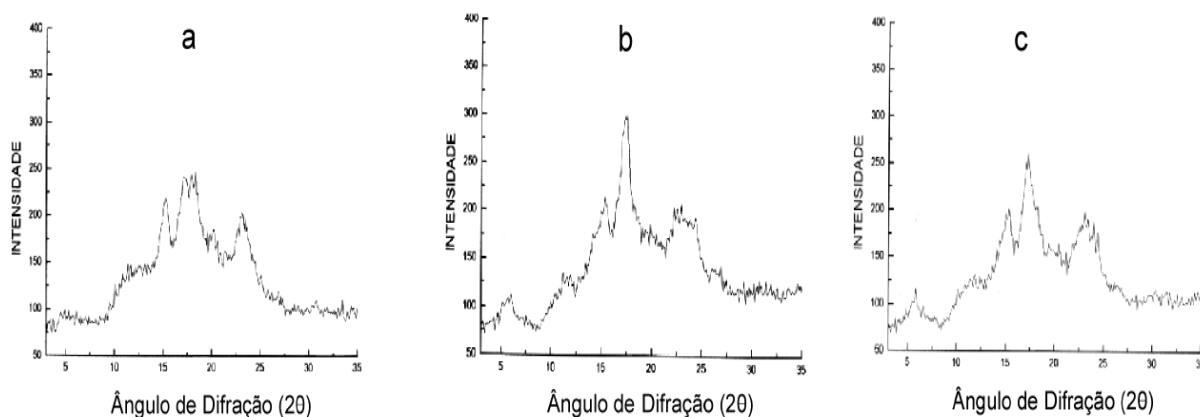
### **3.6 Caracterização por Espectroscopia na Região do Infravermelho**

A Espectroscopia na Região do Infravermelho é uma análise comumente utilizada para descrever as modificações químicas do amido após reticulação. A mesma aponta os grupos funcionais fosfatos possivelmente adicionados ao amido, mas em alguns casos conforme descrito por Matos (2008) os resultados não são conclusivos, pois os espectros gerados de ambos, amido nativo e amido reticulado possuem ainda bandas muito parecidas.

### 3.7 Difractometria de Raios-X

Os grânulos de amido de acordo com seu caráter semicristalino podem proporcionar padrões de difração de raios-x específicos. A intensidade relativa das linhas de difração dos raios-x juntamente com os espaços interplanares é que definem os padrões de cristalinidade (CALLISTER, 2012).

Amidos nativos de cereais os quais são classificados de tipo A, constituem de duplas hélices de amilose e amilopectina compactadas e com arranjo monocíclico; amidos de raízes e tubérculos classificados como tipo B possuem estrutura aberta e altamente hidratada com duplas hélices dispostas em arranjo hexagonal; já o tipo C pode ser considerado uma mistura dos tipos A e B, pois possui uma forma polimórfica, este pode ser encontrado em variedades com teor elevado de amilose e amidos retrogradados de tubérculos e tropicais e legumes (MORAIS, 2013). Os padrões de difração dos tipos A, B e C de amidos são apresentados na figura 2.



**Figura 2 – Padrões de Difração de amidos tipo A, B e C.**

**Fonte: Freitas e Tavares (2005)**

A técnica de Difração de Raios – X foi empregada por Evangelista et al. (2013) para confirmar a interação entre uma blenda amido/pectina reticulada com Trimetafosfato de Sódio e o Diclofenaco, uma droga de caráter catiônico, esta análise precedeu de modificações nos espectros correspondentes às modificações na estrutura cristalina. Assim a caracterização de amido reticulado com agentes

fosfatados pode ser realizada por Difractometria de Raios-X, uma vez que sua estrutura cristalina deve diferir da encontrada no amido nativo.

### **3.8 Determinação de Fósforo**

Análises Elementares podem ser realizadas convencional ou instrumentalmente, e são utilizadas para definir teores de elementos químicos presentes nas amostras.

Para além da adição por meio de fosfatos, sinteticamente, o fósforo pode aparecer também em amidos naturais, onde por meio de ligação covalente pode integrá-los e atribuir maior claridade aos grânulos, alterações na viscosidade e na consistência de pasta (SPIER, 2010).

O fósforo é responsável por aproximadamente 1% do peso corpóreo dos seres humanos, sendo 90% encontrado nos ossos e predominantemente na forma de fosfato (OLIVEIRA, 2007).

Fisk e Subbarow (1925) elaboraram um método de determinação de fósforo total por meio de técnica colorimétrica, quando estudava quantificação de fósforo na urina e no sangue humano. A determinação do teor de fósforo em alimentos foi descrita por Szlyk et al. (2003) por meio dos métodos de espectrometria de fluorescência de raios-X. Outros métodos especialmente utilizando espectrofotometria são muito utilizados na determinação de fósforo em águas, solos e também em alimentos (GONÇALVES et al., 2007; MORAES et al., 2009).

### **3.9 Isotermas de Adsorção**

Isotermas de adsorção são equações matemáticas que descrevem as relações entre a quantidade de um elemento ou substância adsorvida e a quantidade remanescente em solução de equilíbrio (DIAS et al., 2001).

Ainda que existam vários modelos de isotermas, as mais utilizadas são as de Langmuir e de Freundlich (GÓES, 2013).

As equações de Langmuir e Freundlich podem ser linearizadas e assim determinadas as suas constantes. A equação linearizada de Langmuir é apresentada a seguir:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K N_m} + \frac{C_e}{N_m} \quad (1)$$

Onde:

$C_e$  = Concentração de Azul de Metileno no equilíbrio ( $\text{mg.L}^{-1}$ );

$q_e$  = Quantidade de Azul de Metileno adsorvida por unidade massica de Adsorvente ( $\text{mg.g}^{-1}$ );

$K$  = Parâmetro constante que determina capacidade máxima de adsorção;

$N_m$  = Constante relacionada a entalpia de adsorção.

O modelo de Langmuir baseia-se na hipótese do processo em que à medida que moléculas de adsorbato vão sendo adsorvidas na superfície do adsorvente há uma distribuição uniforme com formação de uma monocamada de adsorção que recobre toda sua superfície. (AMUDA; GIWA; BELLO, 2007).

O modelo de Freundlich descreve a adsorção em superfícies heterogêneas, de forma que não assume uma adsorção em monocamada. Sugere que há uma relação de proporção direta entre a concentração de adsorbato na superfície do adsorvente e a concentração de adsorbato na solução. Considera a quantidade adsorvida como sendo a somatória da adsorção em todos os sítio cada qual com uma energia de ligação (NG; CHEUNG; MCKAY, 2003; ROSA, 2009).

A equação de Freundlich linearizada é apresentada abaixo:

$$\text{Log } q_e = \text{Log } K_f + \frac{1}{n} \text{Log } C_e \quad (2)$$

Onde:

$C_e$  = Concentração de Azul de Metileno no Equilíbrio ( $\text{mg.L}^{-1}$ );

$q_e$  = Quantidade de Azul de Metileno Adsorvida por unidade massica de Adsorvente ( $\text{mg.g}^{-1}$ );

$K_f$  = Constante de Freundlich que relaciona-se com a capacidade de adsorção

Concentração de Azul de Metileno no Equilíbrio ( $\text{mg.L}^{-1}$ );

( $\text{L.g}^{-1}$ );

$1/n$  = Parâmetro que relaciona intensidade da adsorção.

### **3.10 Azul de Metileno**

O azul de metileno é um corante orgânico catiônico, e amplamente utilizado como desinfetante, antisséptico, fotossintetizador, em análises detergentes, ácido ascórbico, perclorados e peróxidos além de ser empregado também na verificação do nível de bactérias no leite (FÁVERE et al., 1996).

A adsorção de azul de metileno em amido solúvel aniônico modificado por meio de reação com ácido cloroacético foi realizada por Yang et al. (2010), comparou-se o potencial de adsorção da amostra aniônica frente a uma amostra de amido modificado neutro, onde a amostra aniônica se mostrou com capacidade máxima de adsorção superior à de amido neutro.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Preparação dos Amidos Reticulados com os Agentes Fosfatados

Os processos de preparação de amostras modificadas de amido foram realizados nos Laboratórios de Química da UTFPR – Câmpus Pato Branco. Foi utilizado como matéria-prima o Amido Solúvel P.A. comercial – (Dinâmica). Os agentes reticulantes, Trimetafosfato de Sódio e Tripolifosfato de Sódio foram gentilmente cedidos pela empresa ICL Brasil Ltda.

A preparação do amido modificado aniônico foi realizada com base nos métodos empregados por Cury, Klein e Evangelista (2008) e Evangelista et al. (2013), com modificações. Foram pesados 10 g de Amido e dissolvidos em 200 mL de água destilada, em seguida foram adicionados 5% de Sulfato de Sódio em relação à massa de amido e Hidróxido de Sódio de modo que o pH seja ajustado à 9,0. A solução foi pré-aquecida à aproximadamente 70 °C sob constante agitação. São adicionados vagarosamente 1,5% m/v do agente reticulante, e logo após reajustado o pH para 9,0 com Hidróxido de Sódio 1 mol.L<sup>-1</sup>. Deixa-se a mistura 2 horas, sob agitação e à temperatura ambiente. A reação de reticulação é cessada com abaixamento do pH para 6 utilizando-se Ácido Clorídrico 3 mol.L<sup>-1</sup>. Realiza-se uma lavagem com aproximadamente 130 mL de Etanol P.A. e em seguida uma filtração à vácuo e recolhimento do material retido na filtração, o qual é levado para secagem em estufa a 60 °C por 48 horas. Realizaram-se algumas modificações em relação aos trabalhos supracitados com intuito de melhor controlar o processo, sobretudo no impedimento da gelificação do amido em suspensão no aquecido em meio básico por meio da adição de Sulfato de Sódio sugerido por Rosenthal e Espíndola (1982).

Os agentes reticulantes são utilizados separadamente, sendo eles, Trimetafosfato de Sódio e Tripolifosfato de Sódio, reagentes atóxicos para o organismo humano se ingeridos em pequenas quantidades.

Foram atribuídos os nomes de A. R. TMFS ao amido reticulado com trimetafosfato de sódio, A. R. Tripolifosfato de Sódio ao reticulado com tripolifosfato de sódio e o amido utilizado foi chamado de Amido Puro.

#### **4.2 Caracterização das Amostras**

A caracterização do material foi realizada por meio de técnicas instrumentais, tais como, espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios – x e microscopia eletrônica de varredura, além de análise elementar padronizada para fósforo residual.

A caracterização por difração de raios-x foi realizada em Laboratório de Materiais da UNICENTRO – Guarapuava.

A Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectroscopia na Região do Infravermelho e Leituras Espectrofotométricas foram realizadas nos laboratórios de química da UTFPR-PB e na Central de Análises – Pato Branco, esta última vinculada a UTFPR-PB.

#### **4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho**

As análises espectroscópicas na região do infravermelho foram realizadas empregando-se equipamento VARIAN 640 MIDRI. As amostras foram previamente secas em estufa à 60 °C por 24 horas, transferidas para dessecador onde esfriaram até atingir temperatura ambiente, foram maceradas separadamente com auxílio de grau e pistilo de ágata. Foi realizada secagem do KBr em mufla à 650 °C por mesmo período de tempo, permaneceu em repouso na mufla desligada por período de aproximadamente 2 horas para abaixamento de temperatura e foi transferido para dessecador até que atingisse equilíbrio térmico, em seguida foi macerado também com grau e pistilo de ágata. Amostras e KBr permaneceram no dessecador após maceração até momento da análise espectroscópica.



Foram elaboradas pastilhas para análise contendo massas aproximadas de 20 mg de amostra misturada à 300 mg de KBr, que foram prensados com prensa hidráulica à 80 Kgfm-2. As leituras das pastilhas com amostras foram realizadas no intervalo de 400 à 4000  $\text{cm}^{-1}$  e registradas no software de resposta do equipamento.

#### **4.4 Difração de Raios – X**

Primeiramente foram realizadas macerações das amostras com utilização de grau e pistilo de ágata, logo após as amostras foram levadas para secagem em estufa à 60 °C por 24 horas e passado este período foram transferidas para dessecador. As amostras foram submetidas à análise de difração de raios-X em difratômetro modelo D2 PHASER: Bunker, utilizando radiação,  $\text{Cu K}\alpha$  ( $\lambda=1,5418 \text{ \AA}$ ), com o tubo de raios X alimentado com voltagem de 30 kV, corrente elétrica de 10 mA.

#### **4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As análises morfológicas por microscopia eletrônica de varredura foram realizadas em equipamento Tabletop Microscope TM3000: Hitachi. As imagens foram geradas com intervalos de aproximação entre 400 e 3000 vezes. As amostras previamente secas em estufa à 60 °C por 24 horas, foram posicionadas sobre fitas de carbono dupla face e levadas ao equipamento ajustado para aceleração de feixe de elétrons de 15 kV.

#### **4.6 Teores de Fósforo Residual**

Os teores de fósforo nas amostras foram atribuídos de acordo com à quantidade de fósforo nos grupamentos fosfatos conhecidos nas amostras, e foram

determinados pela técnica de espectrofotometria na região UV/VIS. Para realização da análise foi utilizado espectrofotômetro UV/VIS Biomate 3S: Thermo Scientific. As leituras foram realizadas em 420 nm.

O método empregado baseou-se nas normas do Instituto Adolfo Lutz (2005), com modificações.

Foi realizada a digestão das amostras de amido puro A. R. TMFS e A. R. TPFS por meio de calcinação à 575 °C por 4 horas em cadinhos de porcelana. Posterior à calcinação as amostras foram diluídas em HCl 2mol.L<sup>-1</sup>, transferidas para balões volumétricos de 100 mL com filtragem em papel filtro qualitativo e aferidos com água destilada.

Foram preparados padrões para curva de calibração de fósforo com as concentrações de 0,005 à 0,1 g de P.L<sup>-1</sup> com reagente Fosfato de Potássio Monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).

Foi preparado o Reagente Específico através da mistura de volumes iguais das soluções de Molibdato de Amônio 5% e Vanadato de Amônio 0,25% acidificados com Ácido Nítrico concentrado.

Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL das amostras e padrões, 5 mL de água destilada e 1 mL do reagente específico. Os tubos de misturas foram agitados para homogeneização, deixados em repouso por 10 min e as misturas levadas para leitura em espectrofotômetro à 420 nm. Foi utilizado como branco uma mistura de 6 mL de água destilada e 1 mL de reagente específico.

Foram utilizadas a curva de calibração de fósforo e as equações 3 e 4 para determinação de teor de fósforo.

$$m \text{ de } P_{na \text{ solução}} = \text{Concentração de } P \frac{g}{L} \times \text{Volume de solução } L \quad (3)$$

$$\% P = \frac{m \text{ de } P_{na \text{ solução}}}{m \text{ de Amostra utilizada}} \times 100 \quad (4)$$

De acordo com a preparação das amostras, na adição de trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio são inseridos valores bem aproximados de 0,91 e 0,75 g de fósforo respectivamente. Desta forma a quantidade de fósforo nas amostras é

previamente sugerida como sendo muito menor que 0,91 g, pois do amido puro também é esperado um teor de fósforo muito baixo, pois se trata de amido comercializado como “Para Análise” (P.A.). Ainda na preparação de amostras ocorre a lavagem após reticulação, nesta etapa espera-se que as moléculas de reticulantes não reagidas e em solução sejam carregadas junto com a mistura Etanol-Água, o que por sua vez assegura que estas moléculas não estejam presentes no interior das amostras ao final do processo e auxilia na determinação das concentrações de fósforo utilizadas para confecção da curva de calibração utilizada.

A determinação do fósforo pelo método do molibdato-vanadato de amônio (reagente específico) é bastante utilizada em análises de alimentos, mas para amidos e outras substâncias, sobretudo com cristalinidade, são utilizadas também técnicas instrumentais mais precisas, por exemplo, a absorção atômica em forno de grafite, fluorescência de energia dispersiva de raios-x e espectroscopia de ressonância magnética nuclear utilizadas em amidos de batata e modificados com fosfatos por Hogen (1983), Noda et al. (2006) e Kasemsuwan e Jane (1996) respectivamente.

#### **4.7 Isotermas de Adsorção dos Amidos Modificados**

Foram realizadas as isotermas de adsorção somente das amostras de amidos já modificados quimicamente. As isotermas de adsorção do Azul de Metileno utilizando as amostras como adsorvente foram realizadas por meio da técnica espectrofotométrica, empregando-se leituras em 600 nm.

Primeiramente realizou-se a construção de curva de calibração espectrofotométrica de Azul de Metileno com leituras à 600 nm. Foram preparadas 6 soluções de concentrações conhecidas no intervalo entre 0,1 mg.L<sup>-1</sup> e 5 mg.L<sup>-1</sup>.

Preparou-se uma solução-padrão de Azul de Metileno de concentração 4 mg.L<sup>-1</sup>, realizada pela pesagem de 2 mg de Azul de Metileno em copo béquer de 100 mL no qual foi posteriormente adicionado aproximadamente 80 mL de água destilada, transferiu-se a solução para balão volumétrico de 500 mL resultando na concentração desejada.

Desta solução transferiu-se alíquotas de diferentes volumes para balões volumétricos de 100 mL os quais foram aferidos, os volumes e concentrações finais correspondentes estão demonstrados na tabela 1.

**Tabela 1 – Diluições do Azul de Metileno para construção de Isoterma de Adsorção**

<b>Volume de Solução Padrão Azul de Metileno 4 mg.L<sup>-1</sup> (mL)</b>	<b>Volume de Solução Final de Azul de Metileno (mL)</b>	<b>Concentração Final (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
100	100	4
50	100	2
25	100	1
12,5	100	0,5
6,25	100	0,25

Em tubos plásticos foram adicionados 10 mL das soluções diluídas e aproximadamente 20 mg de amostra. Os tubos foram envoltos por papel alumínio para impedir a entrada de luz e tampados. Foram colocados sob agitação à aproximadamente 155 RPM, à temperatura de 30 °C , o tempo de adsorção fixado foi de 24 horas. Após este período foi realizada centrifugação dos tubos por 10 min à 3000 RPM, o material sólido se depositou no fundo dos tubos, então foram retiradas alíquotas das soluções dos tubos e realizadas suas leituras em espectrofotômetro em 600 nm.

As isotermas de adsorção e as leituras espectrofotométricas da curva de calibração foram realizadas em duplicata, sendo utilizadas para todos os cálculos as respectivas médias.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho

A análise por espectroscopia na região do infravermelho permite que se identifiquem alguns grupos funcionais presentes nas amostras, estes grupos podem ser apontados em algumas bandas demonstradas nos espectros gerados. A identificação se dá ocasionalmente por meio de comparação entre as bandas amostrais e bandas específicas de materiais ou substâncias já conhecidas. Nas figuras 3 e 4 são apresentados os espectros correspondentes às amostras de amido puro, amido reticulado com trimetafosfato de sódio (A.R. TMFS) e amido reticulado com tripolifosfato de sódio (A.R. TPFS), na primeira é exibido o espectro completo na faixa escolhida para análise e na segunda é exibida uma parte de maior importância desse espectro.

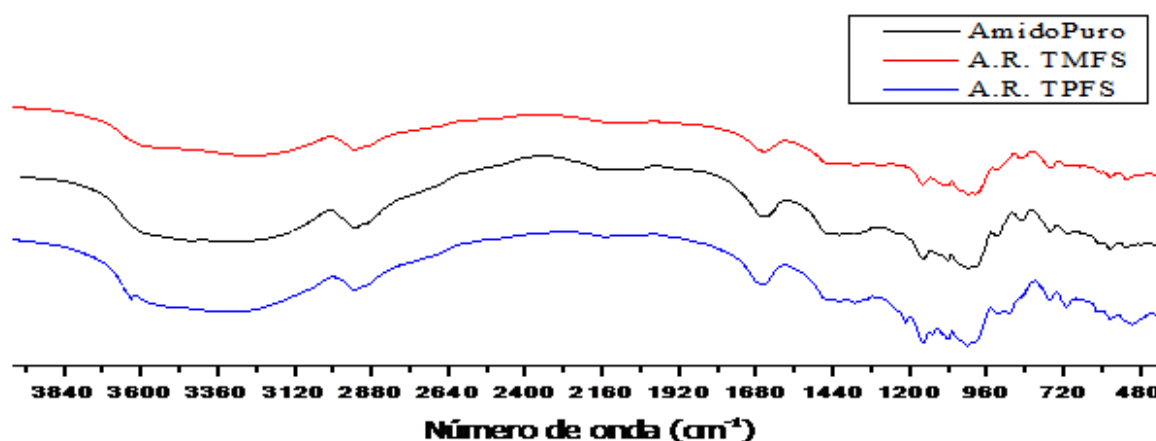


Figura 3 – Espectros de amido puro, A.R. TMFS e A.R. TPFS na região do Infravermelho entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ .

Como pode ser observado na figura 3, nos espectros de todas as amostras encontram-se bandas bem próximas entre 2880 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ , estas são atribuídas à estiramentos nos grupos C-H bem comuns às estruturas glicosídicas, estas bandas foram também visualizadas por Lima et al. (2012).

Uma banda bem específica exclusiva da amostra A.R. TPFS próxima à  $3628\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à estiramento O-H proveniente da hidratação do reticulante tripolifosfato de sódio conforme resultados encontrados para este reagente por (MOURA, 2009), o que pode sugerir que grupamentos fosfatos estão presentes na amostra e possivelmente ligados de modo a formar a reticulação.

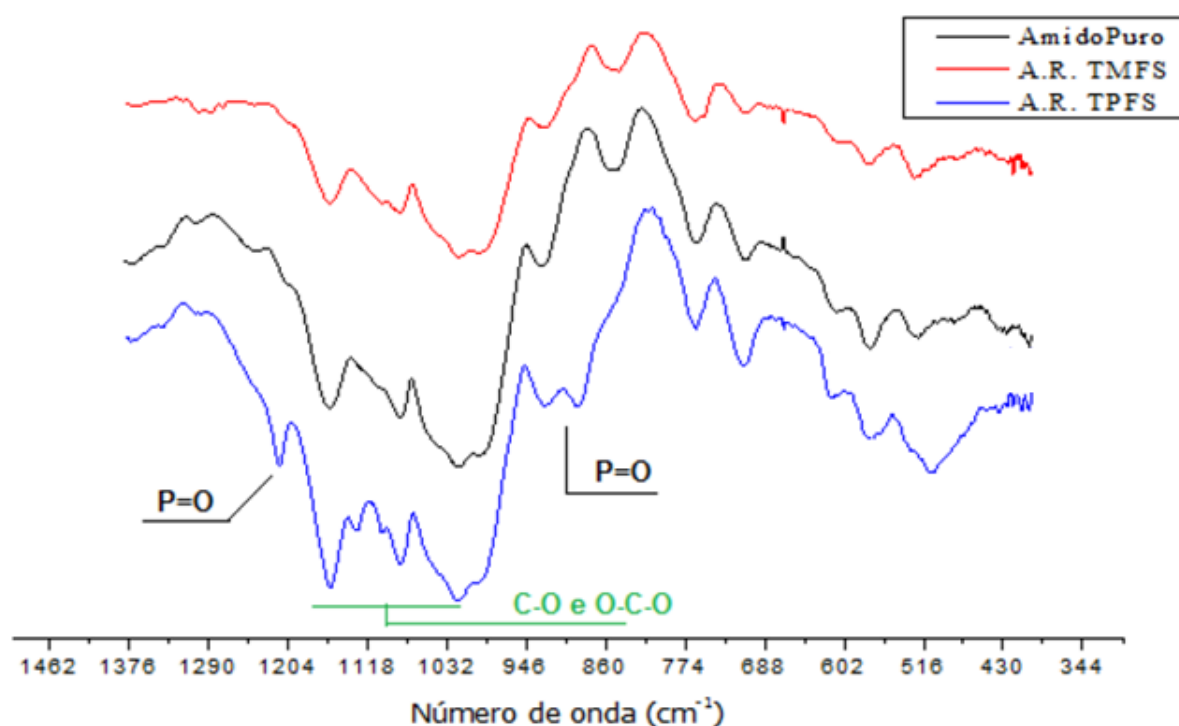


Figura 4 – Espectros de amido puro, A.R. TMFS e A.R. TPFS na região do Infravermelho entre  $1380$  e  $400\text{ cm}^{-1}$ .

Na figura 4 pode ser observada uma banda bem acentuada em  $1226\text{ cm}^{-1}$  somente no espectro da amostra A.R. TPFS que corresponde a estiramento P=O proveniente do Tripolifosfato de Sódio, esta banda foi observada por Fávère et al. (1996) em estudos com utilização do mesmo reticulante. Fávère, et al. (1996) constataram ainda em seus estudos bandas bem próximas à  $890\text{ cm}^{-1}$  para o tripolifosfato de sódio provenientes de estiramento P=O, o deslocamento nas bandas nesta mesma região do espectro da amostra A.R. TPFS apresentado na figura 4 pode estar relacionado também a estes modos de vibração. As bandas presentes na região compreendida entre  $1000$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  para as três amostras são características das moléculas de amido segundo Lima et al. (2012), e correspondem

a vibrações de deformação axial de ligações C-O em grupamentos álcoois e a vibrações de deformação axial O-C-O. Todavia pode ser observada uma banda de maior intensidade em  $1220\text{ cm}^{-1}$  para a amostra A.R. TPFS, a qual pode ser relacionada a modificações nas ligações C-O ocasionadas pela ação da reticulação pelo tripolifosfato de sódio.

## **5.2 Difração de Raios-X**

Os grânulos de amido possuem regiões que apresentam cristalinidade, as cadeias laterais de amilopectina são as responsáveis por esta característica enquanto as regiões de estado amorfo correspondem a amilose e algumas ramificações de amilopectina segundo MORAIS (2013).

Nas figuras 5 são demonstrados os difratogramas padrão das amostras de amido puro, amido reticulado com trimetafosfato de sódio e amido reticulado com tripolifosfato de sódio respectivamente.

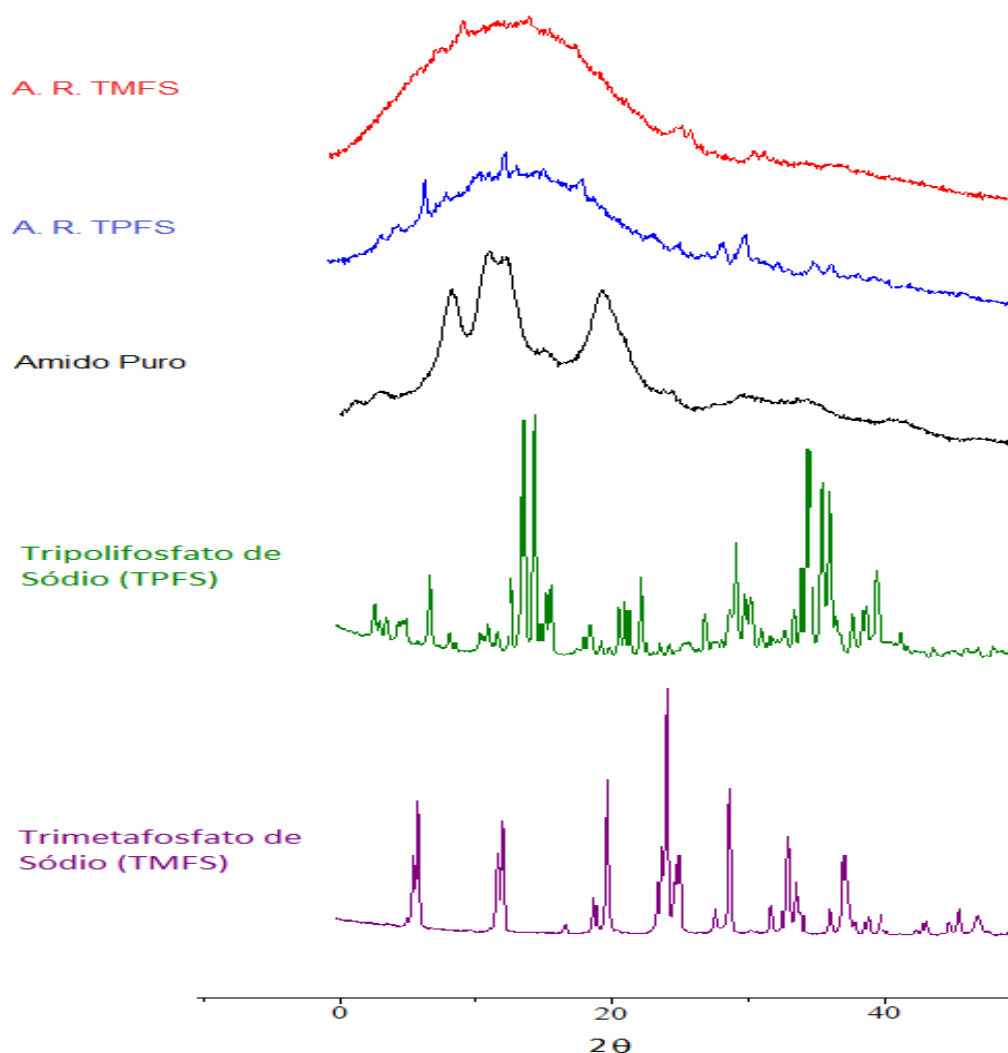


Figura 5 – Difractogramas das amostras de Amido Puro, A. R. TMFS e A. R. TPFS.

O amido puro apresentou padrão de cristalinidade do tipo A, de acordo com sua maior similaridade com tal classificação obtida por Freitas e Tavares (2005), o que é evidenciado principalmente na disposição dos picos entre  $10,8$  e  $12,5^\circ$  ( $2\theta$ ). O amido puro apresentou ainda picos bem definidos em  $8,2^\circ$  ( $2\theta$ ) e  $19,2^\circ$  ( $2\theta$ ) demonstrados na figura 5.

A amostra A. R. TMFS apresentou padrão de difração com um pico de grande largura de máximo em  $14,5^\circ$  ( $2\theta$ ), mas em relação ao amido puro é observado que alguns picos característicos desaparecem, o padrão de difração com menos regiões



com picos definidos pode significar diminuição do grau de cristalinidade segundo Rioux et al. (2002). Ou seja, a amostra tende a menor organização estrutural, como materiais pouco cristalinos ou amorfos. De acordo com Evangelista et al. (2012), a diminuição de cristalinidade apontada pela ausência dos picos característicos do amido na amostra reticulada por trimetafosfato de sódio pode decorrer de um rearranjo na estrutura cristalina do amido durante o processo de alcalinização, anterior a reticulação, no qual presume-se que ocorra deterioração do grau de cristalinidade. Nas regiões de  $25,7$  e  $26,4^\circ$  ( $2\theta$ ) podem ser observados picos de baixa intensidade, com padrão que não ocorre no difratograma do amido puro mas que se repete para o difratograma do A. R. TPFS, embora um pouco deslocado com maior ângulo de difração e maior intensidade. Na mesma região, o difratograma do Trimetafosfato de Sódio apresenta picos bem definidos, o que pode indicar que grupamentos fosfato do reticulante estão presentes na amostra A. R. TMFS baseando-se nesta semelhança.

A amostra A. R. TPFS apresentou padrão de difração com caráter mais cristalino do que a amostra A. R. TMFS, evidenciado por picos mais definidos, porém com menor intensidade. Um pico na região de  $7,0^\circ$  ( $2\theta$ ) aparentemente é de mesma natureza que picos encontrados no amido puro, porém com pequeno deslocamento para ângulos menores, o que pode estar relacionado a um aumento na distância interplanar em alguma região cristalina da estrutura do amido. Outro deslocamento de pico no difratograma do A. R. TPFS em relação ao do amido puro é encontrado na região compreendida entre  $18$  e  $19,2^\circ$  ( $2\theta$ ).

Na figura 5 é possível observar ainda quatro picos localizados no difratograma do A. R. TPFS em  $28,6$ ,  $30,2$ ,  $35,1$  e  $36,4^\circ$  ( $2\theta$ ) respectivamente, os quais não aparecem no difratograma do amido puro. Tanto na região de  $30^\circ$  ( $2\theta$ ), quanto em  $35$  a  $37^\circ$  ( $2\theta$ ) podem ser observados picos bem definidos também para o Tripolifosfato de Sódio puro, tal semelhança pode indicar a presença de grupamentos fosfato na amostra A. R. TPFS.

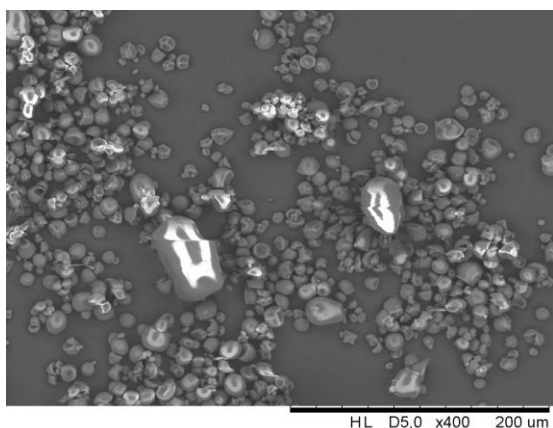
As diferenças nos difratogramas das amostras reticuladas A. R. TMFS e A. R. TPFS em relação ao amido puro podem segundo Evangelista et al. (2012) ser atribuídas a ocorrência de modificações físicas e químicas, que indicam alterações na rede tridimensional atribuída ao processo de reticulação.

### 5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

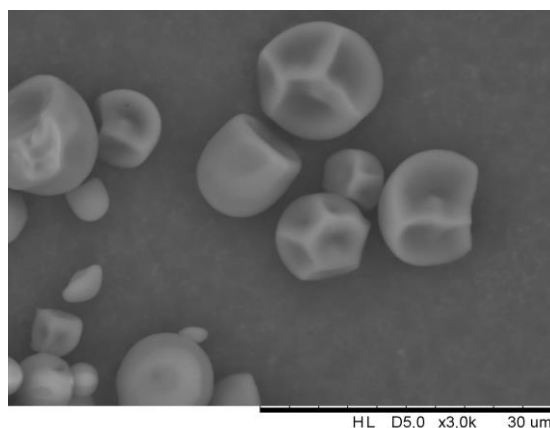
Os grânulos de amido puro se apresentaram na forma próxima à esférica, conforme apresentado nas figuras 6 e 7. Já as amostras de amidos reticulados tanto com trimetafosfato de sódio quanto com o tripolifosfato de sódio se apresentaram de forma bastante irregular como pode ser observado nas figuras 8 e 10. Em estudo realizado por Zhang (2009) foi demonstrada a morfologia de amido de batata, cujos grânulos apresentaram formas elípticas e elipsoidais.

Com ampliação de 3000x observada na figura 7, para o amido puro pode-se verificar a presença de hachuras bem características na superfície, estas podem estar relacionadas às regiões cristalinas dos grânulos visto que apresentam formas bem definidas e certa simetria, pode se notar ainda uma disposição de formas muito parecida entre eles, assim como uma distribuição de tamanho regular.

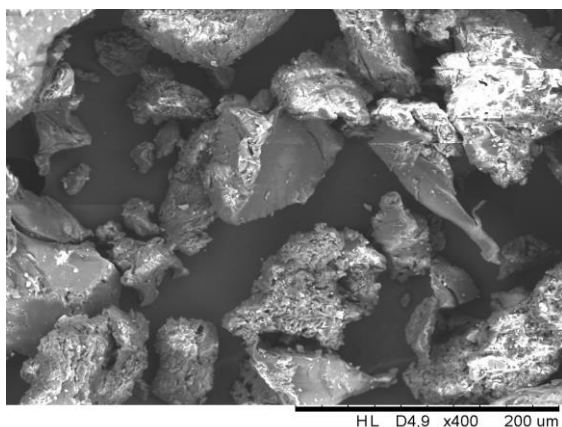
Nas figuras 8 à 11 são apresentadas as imagens das amostras A. R. TMFS e A. R. TPFS com aproximação de 400x e 3000x respectivamente.



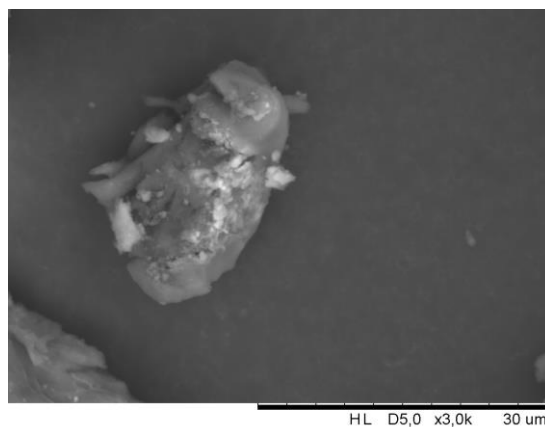
**Figura 6 – Micrografia de micropartículas de Amido puro obtida por MEV (400x).**



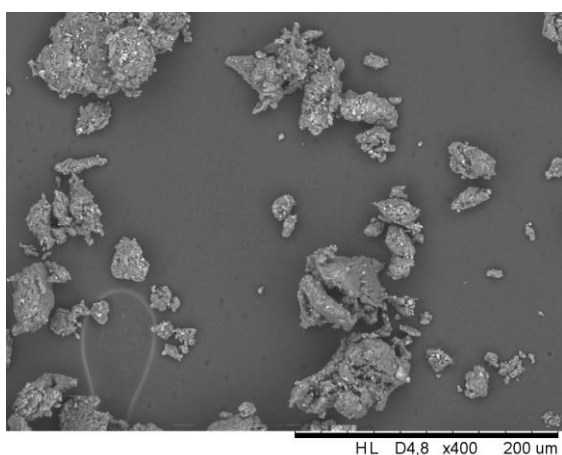
**Figura 7 – Micrografia de micropartículas de amido puro obtida por MEV (3000x).**



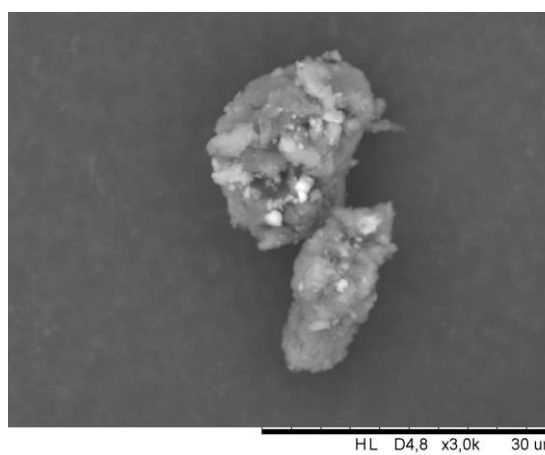
**Figura 8 – Micrografia de micropartículas de A. R. TMFS obtida por MEV (400x).**



**Figura 9 – Micrografia de micropartículas de A. R. TMFS obtida por MEV (3000x).**



**Figura 10 – Micrografia de micropartículas de A. R. TPFS obtida por MEV (400x).**



**Figura 11 – Micrografia de micropartículas de A. R. TPFS obtida por MEV (3000x).**

As superfícies das amostras A.R. TMFS e A.R. TPFS se mostraram pouco uniformes e seus grânulos também se apresentaram em formas bem variadas, conforme observado nas figuras 8 à 11. A desuniformidade das superfícies das duas amostras pode estar relacionada com a formação das reticulações, observada a grande diferenciação em relação às superfícies dos grânulos de amido puro.

Outro aspecto verificado nas amostras A.R. TMFS e A.R. TPFS foi a aglomeração de partículas de diferentes tamanhos, o que como Zhang (2009) descreveu para amostras de amido reticulado com trimetafosfato de sódio, deve estar relacionado a interações de Van der Waals e atrações eletrostáticas.

## 5.4 Teores de Fósforo

A curva de calibração de fósforo é demonstrada no gráfico da figura 12, com inclusão de equação de reta e do coeficiente de correlação ( $R^2$ ).

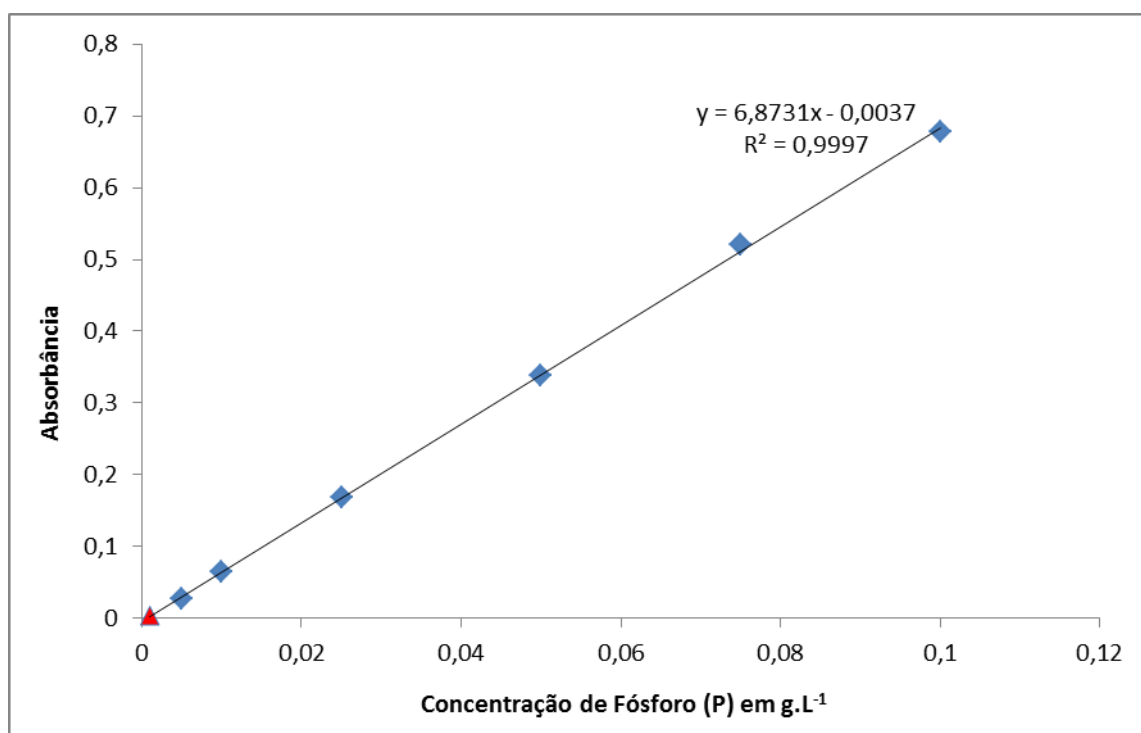


Figura 12 – Curva de Calibração de Fósforo (0,05 à 0,1 g.L<sup>-1</sup>).

Através da equação de reta foram determinadas as concentrações de fósforo nas amostras. O coeficiente de correlação bastante próximo de 1,0 caracteriza o intervalo de leitura/concentração utilizado na análise como sendo válido e de confiabilidade.

Os resultados das leituras de absorvância das amostras e suas respectivas concentrações são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2 – Resultados das leituras espectrofotométricas das soluções amostrais à 420 nm**

<b>Amostra</b>	<b>Absorbância</b>	<b>Concentração de P (g.L<sup>-1</sup>)</b>
Amido Puro	0,004	-
A. R. TMFS	0,124	0,018
A. R. TPFS	0,397	0,058

Como podem ser observados na tabela 2, os intervalos de concentração de fósforo das amostras reticuladas se adequam perfeitamente a curva de calibração, porém o amido puro exibiu absorvância menor do que a mínima encontrada nesta curva, o que demonstra que o mesmo não pode ser calculado com base na mesma. Também pode ser verificado que o teor de fósforo no amido puro é muito baixo. Na figura 12 é indicado com triângulo em vermelho o ponto que corresponderia ao fósforo na amostra de amido puro caso empregada sua absorvância à equação de reta da curva de calibração, que então resultaria em 0,001 g de fósforo por Litro.

Através dos dados de concentração de fósforo apresentados na tabela 2 e das equações 3 e 4 foram determinados os teores de fósforo das amostras.

Cury, Klein e Evangelista (2008) determinaram em amido de alta amilose reticulado com trimetafosfato de sódio, teor máximo de 0,45 % de fósforo por meio de análise elementar, o que pode evidenciar que a quantidade de fósforo nas amostras deve ser muito inferior a quantidade adicionada em seu preparo.

Os teores, dados em porcentagem de fósforo nas amostras estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 3 – Teores de fósforo determinados nas amostras**

<b>Amostra</b>	<b>Teor de Fósforo (%) m/m</b>
Amido Puro	-
A. R. TMFS	0,067
A. R. TPFS	0,22

A presença de fósforo nas amostras A. R. TMFS e A. R. TPFS pode confirmar o processo de reticulação e auxiliar na escolha do agente reticulante de acordo com os teores de fósforo e finalidades desejadas em um produto modificado. Entretanto,

os produtos reticulados devem atender aos parâmetros estipulados pelas normas reguladoras, por exemplo, no caso do Brasil à portaria nº 540 de 27 de outubro de 1997 (Brasil, 1997).

A amostra A. R. TMFS apresenta teor de fósforo superior ao preconizado pela portaria supracitada (0,04%), já a amostra A. R. TPFS apresentou teor de fósforo aceitável à margem das determinações da mesma portaria.

Portanto cabe salientar que de acordo com os seus teores de fósforo, a amostra A. R. TMFS não poderia ser utilizada na elaboração de produtos consumíveis, sobretudo em alimentos e outros ingeríveis.

Os resultados de teores de fósforo demonstrados na tabela 3, principalmente da amostra A. R. TPFS podem ser relacionados com a eficiência da reticulação, pois nota-se que o teor de fósforo para esta última se mostra superior, e relacionando este parâmetro com os dados de espectroscopia na região do infravermelho e de difração de raios-x tem-se ainda mais nítida a percepção de que as modificações estruturais e funcionais ocorreram de forma mais acentuada na amostra A. R. TPFS.

### **5.5 Isotermas de Adsorção**

As isotermas de adsorção são fundamentais para que se possam descrever as interações entre adsorbato e adsorvente, e compreendendo essas interações se possa utilizar o adsorvente da melhor forma (RODRIGUES et al., 2011).

A equação de reta e o coeficiente de correlação ( $R^2$ ) correspondentes à curva de calibração do Azul de Metileno são apresentados abaixo, tendo como variável  $y$  a absorbância e  $x$  a concentração de Azul de Metileno.

$$y = 0,1486 x - 0,008 \quad (5)$$

$$R^2 = 0,9949$$

Através da utilização da equação de reta e, e das absorbâncias das soluções em equilíbrio de adsorção é possível determinar as concentrações de equilíbrio

necessárias para a construção das isotermas. O coeficiente de correlação superior a 0,99 indica que a equação de reta pode ser utilizada com grande confiabilidade.

Na figura 13 são apresentadas as isotermas de adsorção do Azul de Metileno em A.R. TMFS e A. R. TPFS, aplicadas ao modelo de Langmuir na forma linearizada.

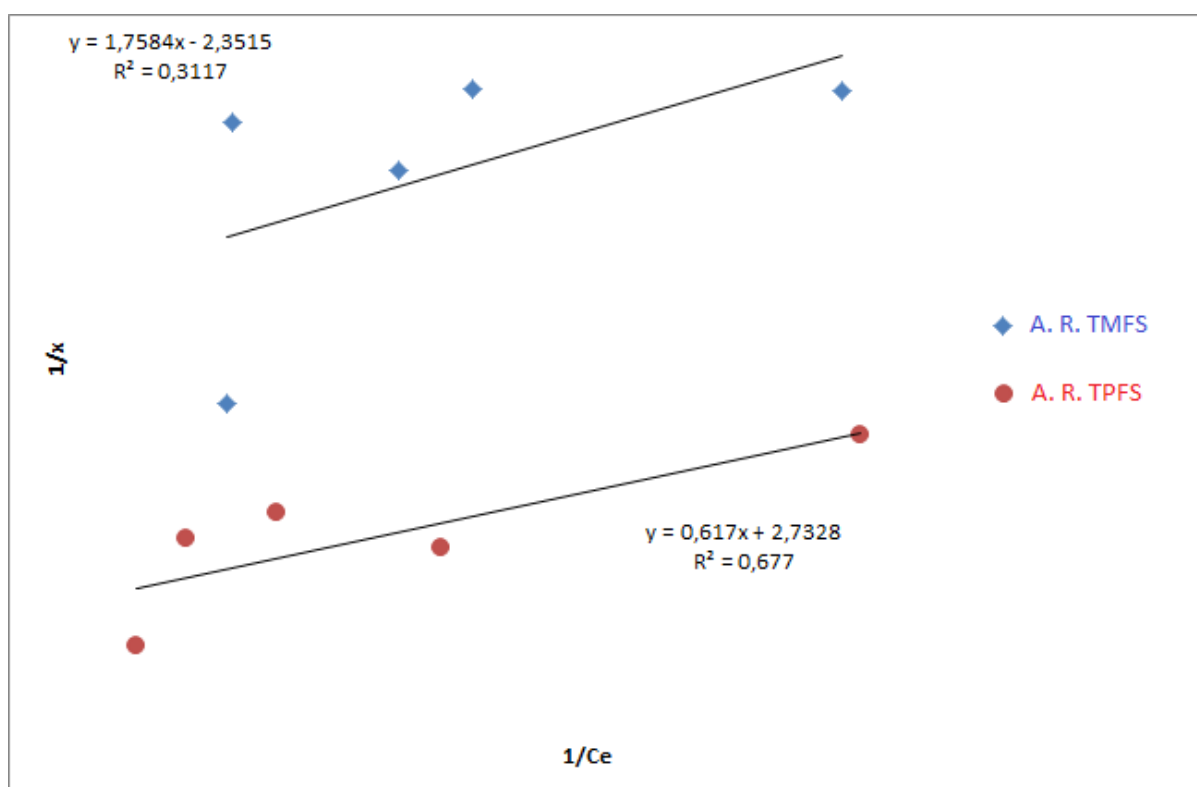


Figura 13 – Isotermas de Adsorção de Azul de Metileno linearizadas no modelo de Langmuir.

Na figura 14 são apresentadas as isotermas de adsorção do Azul de Metileno em A.R. TMFS e A. R. TPFS, aplicadas ao modelo de Freundlich na forma linearizada.

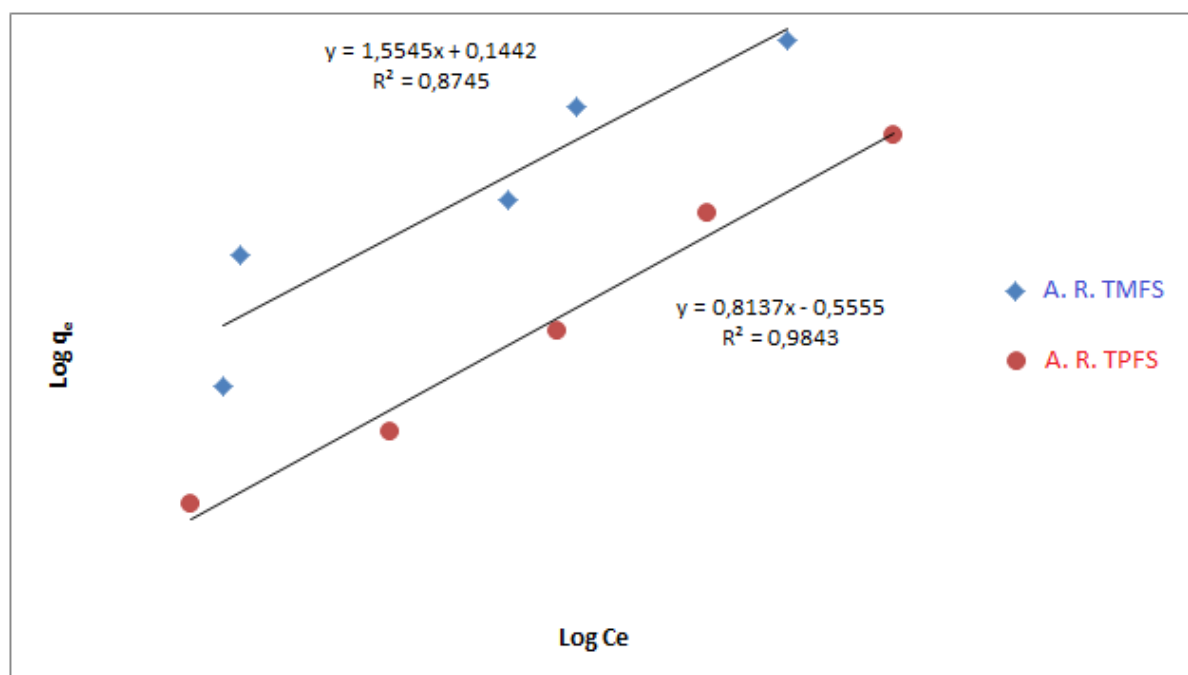


Figura 14 – Isotermas de Adsorção de Azul de Metileno linearizadas no modelo de Freundlich.

Com o ajuste dos dados experimentais aos modelos de isotermas de Freundlich e Langmuir e aplicação de suas equações linearizadas foram determinadas as constantes envolvidas, ainda foi possível se fazer a comparação entre a adequação dos dados experimentais aos modelos, possibilitando a realização de distinção do modelo de melhor ajuste. Os resultados da linearização das isotermas de adsorção de azul de metileno nas amostras A. R. TMFS e A. R. TPFS são apresentadas na tabela 4.

Tabela 4 – Linearização dos dados das Isotermas de Adsorção para Langmuir e Freundlich

	Langmuir			Freundlich		
	Nm (mg.g <sup>-1</sup> )	K (L.mg <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	Kf (L.g <sup>-1</sup> )	n	R <sup>2</sup>
A. R. TMFS	0,568	0,748	0,311	1,39	0,64	0,875
A. R. TPFS	1,620	0,226	0,677	0,278	1,228	0,9843



O modelo em que os dados experimentais melhor se adequaram para as duas amostras, A. R. TMFS e A. R. TPFS foi o de Freundlich de acordo com os valores dos coeficientes de correlação  $R^2$  encontrados e demonstrados na tabela 3, os quais foram superiores aos do modelo de Langmuir. Vale ressaltar que no terceiro ponto da isoterma de adsorção da amostra A. R. TMFS demonstrada na figura 13 pode ser observada uma fuga da tendência apresentada para os demais pontos, o que pode ser atribuído a algum erro experimental, mas que mesmo ajustando-se este ponto, o  $R^2$  continuaria menor para modelagem por Langmuir.

Conforme o resultado explicitado, no qual as adsorções se comportam muito próximas ao modelo de Freundlich e então com base neste, pode-se indicar que os sítios de adsorção das amostras não possuem uniformidade e ainda que seja possível que o processo ocorra com formação de multicamadas de adsorção.

Na tabela 4 pode-se notar que os coeficientes de correlação da amostra A. R. TPFS são bastante superiores aos da A. R. TMFS. A formação de sítios mais disformes - característica do modelo de adsorção multicamadas proposto por Freundlich - nas amostras de amidos modificados podem ser relacionados com a intensidade das modificações sofridas na estrutura dos grânulos do amido e consequentemente com a intensidade de reticulações, desta forma a amostra A. R. TPFS pode ser apresentada como mais modificada e, portanto, mais reticulada. Se confrontados os resultados das isotermas com os teores de fósforo, pode ser também estabelecida uma relação que aponta para reticulação mais eficiente para a amostra A. R. TPFS. Bem como as bandas correspondentes à vibrações nas ligações P=O demonstradas nos espectros gerados na região do infravermelho potencializam as indicações de que a amostra reticulada com tripolifosfato de sódio ocasiona modificações mais significativas no amido.

## 6 CONCLUSÃO

As amostras A.R TMFS e A. R. TPFS demonstraram que o processo de reticulação pode proporcionar materiais com atributos diferenciados dos amidos puros ou nativos, a exemplo da cristalinidade dos grânulos como foi demonstrado nos difratogramas de raios-x.

Entre os materiais reticulados o que mais demonstrou diferenças em relação ao amido puro foi o A. R. TPFS, o que ficou evidenciado por bandas bem específicas atribuídas a vibrações de estiramento P=O no espectro na região do infravermelho, pela presença de picos mais definidos no difratograma de raios-x principalmente na região entre 25 e 37° (2 $\theta$ ), pelo teor mais acentuado de fósforo e possivelmente pela maior relação de moléculas de azul de metileno adsorvidas conforme os dados da isoterma de adsorção.

A morfologia dos amidos modificados foi bastante diferenciada do amido puro, porém entre si não diferiram muito. As superfícies disformes evidenciadas nas imagens geradas por MEV demonstraram que a organização granular foi modificada e que ocorreram atrações entre as partículas.

Portanto, os amidos reticulados se apresentaram evidentemente diferenciados, química e estruturalmente, e adquiriram características que podem lhes proporcionar funcionalidades para aplicações em novos materiais e ou produtos, bem como na elaboração de matriz de fármacos catiônicos semelhantes ao azul de metileno.

## REFERÊNCIAS

AMUDA, O. S.; GIWA, A. A. & BELLO, I. A, **Removal of heavy metal from industrial wastewater using modified activated coconut shell carbon**. Biochemical Engineering Journal, v. 36, n. 2, p. 174-181, 2007.

BELLO-PÉREZ, L. A. et al. **Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (*Musa paradisiaca*)**. Carbohydrate polymers, v. 76, p. 117-122, 2009.

CALLISTER Jr., William D. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

CURY, B.S. F.; EVANGELISTA, R. C. & KLEIN, S. I. **Modeling a system of phosphated cross-linked high amylose for controlled drug release. Part 1: Synthesis and polymer characterization**. Reactive & functional polymers, v. 68, p. 1200-1206, 2008.

DIAS, Nívea M.P. et al. **Isotermas de adsorção de cádmio em solos ácidos**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 5, n. 2, p. 229-234, mai./agost., 2001.

EVANGELISTA, Raul C. et al. **Blends of cross-linked high amylose starch/pectin loaded with diclofenac**. Carbohydrate polymers, v. 91, p. 135-142, 2013.

EVANGELISTA, Raul C. et al. **Physical properties of pectin–high amylose starch mixtures cross-linked with sodium trimetaphosphate**. International Journal of Pharmaceutics, v. 423, p. 281-288, 2012.

FÁVERE, Valfredo T. de et al. **Adsorção de azul de metileno e croconato amarelo pelo biopolímero quitina**. Química nova, v. 19, n. 3, p. 221-224, 1996.

FISK, Cyrus H. & SUBBAROW, Y. **The colorimetric determination of phosphorus**. Journal of Biological Chemistry, V. 66, n. 2, p. 375-400, 1925.

FREITAS, M. C. J. & TAVARES, D. de Q. **Caracterização do grânulo de amido de bananas (*musa aaa-nanicão e musa aab-terra*)**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, n. 2, p. 217-222, abr.-jun, 2005.

GÓES, Mauro C. de C. **Palha da carnaúba (*copernicia cerifera*) como removedor dos corantes azul de metileno e cristal violeta**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2013.

GONÇALVES, G. S. et al. **Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-nilo**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 5, p. 1473-1480, 2007.

HOGEN, M. L. **Detection of phosphorus on starch by atomic absorption and graphite furnace.** Cereal Chemistry, v. 60, n. 5, p. 403-405, 1983.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** 4ª ed. V. 1, p. 115-116, São Paulo, 2005.

KARIM, Alias A. et al. **Progress in starch modification in the last decade.** Food hydrocolloids, v. 26, p. 398-404, 2012.

KASEMSUAM, Tunyawat. & Jane, Jay-Lin. **Quantitative method for the survey of starch phosphate derivatives and starch phospholipids by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy.** Cereal Chemistry, v. 73, n. 3, p. 702-707, 1996.

LI, Dong et al. **Fabrication of starch-based microparticles by an emulsification-crosslinking method.** Journal of food engineering, v. 92, p. 250-254, 2009.

LIMA, B. N. B. et al. **Estudo do amido de farinhas comerciais comestíveis.** Polímeros, v. 22, n. 5, p. 486-490, 2012.

LU, D. R.; XIAO, C. M. & XU, S. J. **Starch-based completely biodegradable polymer materials.** eXPRESS Polymer Letters v.3, n.6, p. 366–375, 2009.

LYRA, Magaly A. M. de et al. **Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos.** Latin american journal of pharmacy, v. 26, n. 5, p. 784-793, 2007.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. & YAMASHITA, F. **Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização.** Semina: Ciências agrárias, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, jan./mar, 2010.

MANSOUR, Heidi M. et al. **Materials for pharmaceutical dosage forms: Molecular pharmaceuticals and controlled release drug delivery aspects.** International journal of molecular sciences, v. 11, p. 3298-3322, 2010.

MATOS, Fabrício C. **Caracterização físico-química de galactomananas de adenanthera pavonina (carolina) e delonix regia (flambuoyant) reticuladas com trimetafosfato de sódio.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Araraquara, 2008.

MORAES, P. M. et al. **Determinação de fósforo biodisponível em rações de peixes utilizando extração assistida por ultra-som e espectrofotometria no visível.** Química. Nova, v. 32, n. 4, p. 923-927, 2009.

MORAIS, Cleiber Cintra. **Caracterização do amido das raízes da parreira do mato (*Cissus simsiana*)**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual de Goiás. Anápolis, 2013.

MOTA, Rejane D. P. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido de fruta-do-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hill)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) – Universidade Estadual de Goiás. Anápolis, 2009.

MOURA, M. R. et al. **Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles**. Journal of food engineering, v. 92, p. 448-453, 2009.

NG, J. C. Y.; CHEUNG, W. H. & MCKAY, G. **Equilibrium studies for the sorption of lead from effluents using chitosan**. Chemosphere, v. 52, n. 6, p. 1021-1030, 2003.

NODA, Takahiro et al. **Determination of the phosphorus content in potato starch using an energy-dispersive X-ray fluorescence method**. Food Chemistry, v. 95, p. 632–637, 2006.

OLIVEIRA, Tatiana C. **Fósforo: função, metabolismo e recomendações**. Nutrir Gerais, Ipatinga, v. 1, n. 1, p. 1-24, 2007.

PASSAUER, L.; BENDER, H & FISCHER, S. **Synthesis and characterization of starch phosphates**. Carbohydrate Polymers, v. 82, p. 809-814, 2010.

PEREIRA, L. D. & ASCHERI, D. P. R. **Efeitos do tempo de reação em função da concentração de tripolifosfato de sódio sobre as propriedades físicas e químicas do amido da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum*)**. Revista agrotecnologia, Anápolis, v. 2, n. 2, p. 82-97, 2011.

RIBEIRO, A. P. L. **Estudo dos amidos de mandioca nativo, modificados e modificados combinados por via química para utilização na indústria alimentícia**. 2001. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2001.

RIOUX, Bernard et al. **Structure-properties relationship in cross-linked high amylose starch cast films**. Carbohydrate polymers, v. 50, p. 371-378, 2002.

RIZVI, S. & MANOI, K. **Physicochemical characteristics of phosphorylated cross-linked starch produced by reactive supercritical fluid extrusion**. Carbohydrate polymers, v. 81, p. 687-694, 2010.

RODRIGUES, C. A. et al. **Adsorção do corante vermelho congo por derivados da o-carboximetilquitosana Hidrofobicamente modificados**. Química Nova, v. 34, n. 5, p. 764-770, 2011.

ROSA, Sirlei. **Adsorção de corantes reativos utilizando sal quaternário de quitosana como adsorvente**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

ROSENTHAL, F. R. T & ESPINDOLA, A. M. C. **Notas sobre amidos de ligação cruzada**. Inf.INT., v. 15, n. 30, p. 11-16. Set/Dez 1982.

RÓZ, Alessandra L. da. **Preparação e caracterização de amidos termoplásticos**. 2004. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) – Universidade de São Paulo. São Carlos, 2004.

SEIB, P. A. & LIM, S. **Preparation and Pasting Properties of Wheat and Corn Starch Phosphates**. Cereal chemistry, v. 70, n. 2, p. 137-144, 1993.

SPIER, Franciela. **Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

SZŁYK, E. et al. **Determination of phosphorus in food samples by X-ray fluorescence spectrometry and standard spectrophotometric method**. Food Chemistry, V. 83, n. 3, p. 463–467, 2003.

YANG, Yati et al. **Preparation, Characterization and Adsorption Performance of a Novel Anionic Starch Microsphere**. Molecules 2010, v. 2, n, 15, p. 2872-2885, 2010.

ZHANG, Z-J. et al. **Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with trisodium trimetaphosphate**. Journal of food engineering 92, p. 255-260, 2009.