

EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E HIDRÓLISE DO AMIDO PRESENTE EM TUBÉRCULOS NAS AULAS PRÁTICAS DE BIOQUÍMICA

Carina Carneiro de Melo Moura¹, Priscila Aleksandra de Aguiar Freitas², Helena Simões Duarte³ e Janaína de Albuquerque Couto⁴

Introdução

Principal tipo de reserva vegetal, e além de ser considerado importante carboidrato da dieta humana, o amido é composto de amilose e amilopectina, sendo encontrado na forma de grânulos nos cloroplastos das folhas, em grãos, tubérculos e nas frutas [1,2]. Sua síntese está localizada em estruturas vegetais denominadas plastídeos, e resulta de reações de polimerização da glicose através da fotossíntese [3].

Entre as peculiaridades deste polissacarídeo, está a diferença entre as moléculas que o compõe, a amilose além de apresentar estrutura linear, é mais hidrossolúvel que a amilopectina, a qual apresenta altamente ramificada. Deste modo torna-se possível a separação destes componentes após aquecimento [1].

O amido pode ser caracterizado por alguns testes que indiquem a presença de carboidratos, entre eles a reação de Molisch e reação com iodo, que respectivamente identifica a presença de carboidrato, e a presença de amido [4]. A hidrólise enzimática do amido ocorre naturalmente no início da digestão, durante a mastigação, onde é liberada a enzima alfa-amilase salivar que atua catalisando a hidrólise de algumas ligações do amido na boca, resultando em moléculas menores, comumente conhecidas por oligossacarídeos [2]. Para a identificação destas moléculas resultantes da hidrólise enzimática do amido, utiliza-se o iodo, que ao entrar em contato com a amilose e a amilopectina, é caracterizado pela formação de complexos, evidenciado respectivamente pelas colorações azul-escura e vermelho-violácea [1]. O acompanhamento da hidrólise também pode ser feito pelo teste de Benedict, o qual baseia-se na identificação de substâncias redutoras [4].

Comumente, as práticas de bioquímica demandam de reagentes e equipamentos de alto custo, dificultando sua realização nas Instituições de Ensino. Tendo em vista a realização de uma aula prática acessível e de baixo custo, o presente trabalho tem como objetivo a realização da extração e caracterização do amido e sua posterior hidrólise enzimática, a partir de tubérculos.

Material e métodos

A. Local da Aula

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Biofísica, pertencente ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

B. Tubérculos utilizados

Foram utilizados como fonte de amido três espécies de tubérculos: *Solanum tuberosum* (batata inglesa), *Ipomoea batatas* (batata doce) e *Colocasia esculenta* (inhame).

C. Planejamento da aula prática

No início da aula foi entregue a cada aluno um protocolo contendo todos os procedimentos a serem seguidos, bem como uma breve explanação teórica a respeito do experimento a ser realizado. A realização dos experimentos pelos alunos foi acompanhada durante toda a aula, a qual foi finalizada com as discussões a respeito dos resultados observados.

D. Extração do amido

A extração do amido de tubérculos foi iniciada pelo fracionamento dos tubérculos, seguida da adição de 50 mL de água destilada, e posterior agitação durante 5 minutos. Após a agitação, cada mistura foi filtrada, e a cada filtrado, foi adicionado mais 50 mL de água destilada fervente, em constante agitação com auxílio de bastão de vidro, até que houvesse a formação de uma solução opalescente, sendo então obtido o extrato de amido de cada tubérculo.

E. Caracterização dos extratos

Após a extração, foi iniciado o processo de caracterização das amostras preparadas. Em três tubos de ensaio previamente identificados em A, B e C, foram colocados respectivamente 1,0 mL do extrato de batata inglesa, 1,0 mL do de batata doce e 1,0 mL de inhame. Em seguida, foi realizada uma caracterização de carboidratos através do teste de Molisch, que consistiu na adição de 3 gotas de alfa-naftol e 2,0 mL de ácido sulfúrico em cada tubo. A caracterização do amido foi feita pelo teste do

1. Aluna do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas e Monitora de Bioquímica do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife/PE, E-mail: carinacarneiro@yahoo.com.br

2. Aluna do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas e Monitora de Bioquímica do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife/PE

3. Professora Titular do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Área de Bioquímica e Biofísica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife, PE

4. Professor Assistente do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Área de Bioquímica e Biofísica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n-Dois Irmãos- CEP: 52171-900- Recife/PE

iodo, onde coletamos 2,0 mL de cada extrato, e adicionamos de 3 gotas de lugol (solução de iodo com iodeto de potássio) em cada amostra.

F. Hidrólise enzimática

Para hidrólise enzimática das soluções de amido utilizou-se como enzima a amilase salivar diluída em tampão fosfato (pH 7,0). Para o preparo da solução de amilase salivar, diluída à 10%, utilizou-se 0,1 mL de saliva em 4,9 mL do tampão fosfato, sendo então adicionado a três tubos de ensaio identificados 2,0 mL de cada solução de amido, 1,0 mL da solução de amilase salivar, seguida de aquecimento em Banho Maria por 15 minutos. A hidrólise enzimática foi acompanhada por reações específicas, por meio do teste do Iodo e de Benedict. No primeiro, observamos as alterações na coloração num intervalo de tempo que variou de 15 a 45 minutos. No segundo, a presença de carboidratos redutores foi indicada pela modificação na cor do reativo de Benedict.

Resultados e Discussões

Nas três amostras de extratos preparados a partir dos tubérculos estudados, observamos a formação do anel de coloração violeta na zona de separação dos dois líquidos (figura 1-A), por meio do teste de Molisch, caracterizando a possível presença de carboidratos na solução. Esta reação é ocasionada pela formação de furfural ou derivado, resultante da desidratação da molécula de amido pelo ácido sulfúrico e posterior formação de um complexo de furfural com o alfa-naftol [5].

A caracterização do amido na solução a partir do teste do iodo evidenciou a presença deste polissacarídeo, visto que em todas as soluções houve a formação de um complexo de coloração azul escuro. Esta coloração é resultado da interação do iodo com o amido [5]. (Figura 1- B, C e D)

A hidrólise enzimática do amido foi acompanhada pelo teste de iodo, no qual observamos que cada coloração apresentada nos tubos de ensaio fazia referência a uma etapa da hidrólise, variando desde a observação da amilodextrina (coloração roxa) até a identificação da acrodextrina (coloração amarelada), mais evidente quando no extrato de *Colocasia esculenta* (Figura 1-B). Com a realização do teste de Benedict, observamos a presença de açúcar redutor nos três extratos a partir da mudança na coloração, a qual passou de azul para vermelho-tijolo, devido à hidrólise promovida pela amilase salivar (Figura 1- B, C e D) [5].

A partir desta aula prática, foi possível trabalhar conteúdos abordados nas aulas teóricas sobre os carboidratos, o que torna o assunto mais atrativo, como também proporciona ao aluno a oportunidade de formular hipóteses e interpretar os resultados obtidos. A vantagem desta prática pode ser atribuída à baixa complexidade metodológica, a qual não requer habilidades específicas, associada a um baixo custo nos seus materiais.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal Rural de Pernambuco, em especial ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.

Referências

- [1] PETKOWICS, C.L.O. 2007. *Bioquímica: Aulas Práticas/ Universidade Federal do Paraná*. 7 ed. Curitiba: Editora UFPR, 188 p.
- [2] CHAMPE, A.L.; HARVEY, R. A.; COX, M.M. 2006. *Bioquímica Ilustrada*. 3ªEd. Porto Alegre: Editora Artmed, 533 p.
- [3] VOET, D.; VOET, J. G. 2006. *Bioquímica*. 3 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 716 p.
- [4] SILVA, L.M.A.; 1988. *Bioquímica: aulas práticas*, 2.ed. Curitiba: Editora Scientia et Labor, 116 p.
- [5] REMIÃO, J.O.R; SIQUEIRA, A.J.S; AZEVEDO, A.M.P. 2003. *Bioquímica; guia de aula práticas*. Porto Alegre: Editora EDIPUCRS.

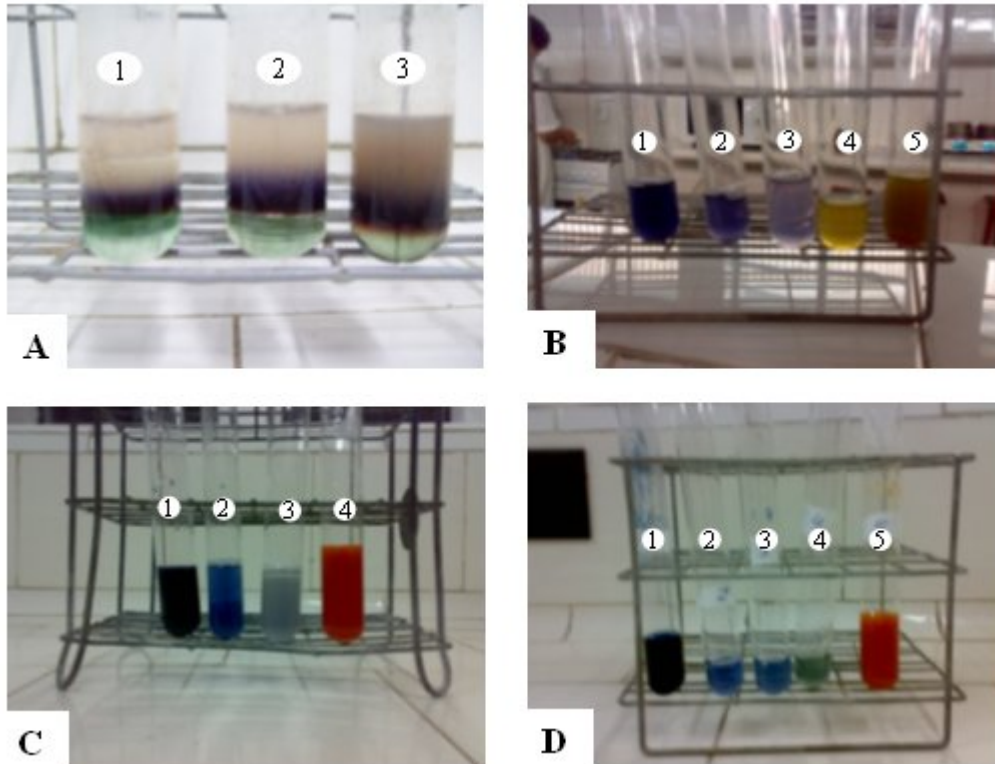


Figura 1. (A) Teste de Molisch: tubo 1, extrato de *Ipomoea batatas* (batata doce); tubo 2, extrato de *Colocasia esculenta* (inhame); tubo 3, extrato de *Solanum tuberosum* (batata inglesa). (B) Teste de Iodo usando extrato de *Colocasia esculenta* (inhame): tubo 1, coloração característica do teste de iodo; tubos 2, 3 e 4, hidrólise enzimática com variação de tempo em Banho Maria, respectivamente 15, 30 e 45 minutos; tubo 4, coloração amarelada característica da acrodextrina; tubo 5, teste de Benedict. (C) Teste de Iodo usando extrato de *Ipomoea batatas* (batata doce): tubo 1, coloração característica do teste de iodo; tubo 2 e 3, hidrólise enzimática com variação de temperatura de 15 a 45 minutos; tubo 4, teste de Benedict. (D) Teste de Iodo usando extrato de *Solanum tuberosum* (batata inglesa): tubo 1, coloração característica do teste de iodo; tubos 2, 3 e 4, hidrólise enzimática com variação de tempo em Banho Maria, respectivamente 15, 30 e 45 minutos; tubo 5, teste de Benedict.