

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ- REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

JULIANO MARTINI PEDROSO DE ANDRADE

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO AMIDO DA RAIZ DE *Mirabilis jalapa*

PONTA GROSSA

2019

JULIANO MARTINI PEDROSO DE ANDRADE

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO AMIDO DA RAIZ DE *Mirabilis jalapa*

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de mestre no Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. **Egon Schnitzler**

PONTA GROSSA

2019

A553 Andrade, Juliano Martini Pedroso de
 Extração e purificação do amido da raiz de *Mirabilis jalapa* / Juliano Martini
 Pedroso de Andrade. Ponta Grossa, 2019.
 52 f.

 Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de
 Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de
 Ponta Grossa.

 Orientador: Prof. Dr. Egon Schnitzler.

 1. Amido de *Mirabilis jalapa*. 2. Análise térmica. 3. Purificação do amido. I.
 Schnitzler, Egon. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e
 Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664.2

TERMO DE APROVAÇÃO

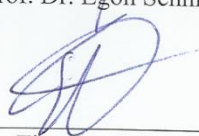
JULIANO MARTINI PEDROSO DE ANDRADE

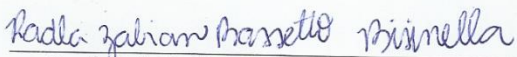
EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO AMIDO DA RAIZ DE *Mirabilis jalapa*

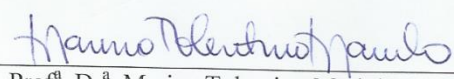
Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:


Prof. Dr. Egon Schnitzler - UEPG - PR


Prof. Dr. Tiago André Denk Colman - UFGD - MS


Prof.ª Dr.ª Radla Zabian Bassetto Bisinella - UEPG - PR


Prof.ª Dr.ª Marina Tolentino Marinho - UEPG - PR

Ponta Grossa, 25 de julho de 2019.

Dedico esta dissertação a minha avó
Enei Martini Pedroso (*in memoriam*).
E aos meus filhos Pedro Henrique e Vicente.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por sempre guiar meus passos pelos caminhos da paz e da justiça.

Aos meus pais por sempre me apoiarem nos momentos de dificuldade.

Aos professores Dr Elias Yuki Ionashiro e Dr Gilbert Bannach por durante a graduação serem os primeiros incentivadores da pesquisa e do meu crescimento acadêmico.

Ao Professor Egon Schnitzler pois além de orientador nos direcionando e sanando nossas dúvidas e aflições, é um grande exemplo de pessoa e profissional que sempre irei almejar.

A todos os colegas do grupo de pesquisa GETAFPQ ,não vou citar todos pois posso me esquecer de alguém, por todo auxílio em todos os momentos deste trabalho.

Ao LABMU – UEPG por todas as análises realizadas.

Ao meu amigo Prof Dr Tiago André Denck Colman por toda incentivo e auxílio sempre que precisei.

A minha esposa Ana Paula por sempre estar ao meu lado acreditando sempre em mim. Com certeza foi de fundamental importância para a realização deste trabalho, sem seu apoio tenho certeza que isto não seria possível. Segurou a barra mesmo nos momentos de ausência durante todo o processo produtivo do mesmo.

Aos meus filhos Pedro Henrique e Vicente por serem a luz que guia meus dias, muito obrigado por cada abraço e beijo de bom dia são eles que me dão forças a sempre continuar.

Enfim a todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

RESUMO

A planta popular e ornamental *Mirabilis jalapa* (da Família *Nyctaginaceae*) é originária da América Latina e plantada em vários países ao redor do mundo. Tem sido caracterizada por um importante número de propriedades devido a seus compostos químicos que foram isolados e usados na medicina. As principais propriedades descritas são: folhas (atividades hipoglicêmica, antiviral, antinociceptiva e antiinflamatória), de flores (atividade antiespasmódica), de tubérculos e raízes (anti-oxidante, antibacteriana, antifúngica, anti-histamínica, antihiperlipidêmica e atividades hipoglicêmicas). As raízes contêm, além dos compostos mencionados, uma grande quantidade de amido, que também tem um tamanho pequeno de partícula, bem como aqueles obtidos a partir das sementes. Assim, o objetivo principal desta investigação foi purificar o amido, com pequeno tamanho de grânulo, obtido no processo de extração das raízes de *Mirabilis jalapa*. Posteriormente, o amido foi caracterizado pelas técnicas: termogravimetria, termogravimetria derivada (TG/DTG), calorimetria exploratória diferencial por termogravimetria simultânea (TG-DSC), microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo com espectroscopia de dispersão-dispersão (MEV-EDS) e por Difractometria de Raios-X pelo método do pó (XRD). Os resultados de EDS mostraram que, antes da purificação, este amido possui grande quantidade de raphides (oxalato de cálcio), confirmado por análise qualitativa e quantificado por TG/DTG e TG-DSC (45,12%). Após a purificação com 2,0 mol.L⁻¹ de HCl, o oxalato de cálcio não estava presente e a forma e tamanho dos grânulos de amido foram mantidos (diâmetro médio de 1 a 5 μ m), como observado por SEM.

Palavras-Chave: amido de *Mirabilis Jalapa*, Análise térmica, purificação do amido

ABSTRACT

The popular and ornamental plant *Mirabilis jalapa* (from *Nyctaginaceae* Family) is originary from Latin America and planted in several countries around the world. It has been characterised by a number of important properties due its chemical compounds which have been isolated and used in medicine. The main properties described are: from leaves (hypoglycemic, anti-viral, antinociceptive and anti-inflammatory activities), from flowers (antispasmodic activity), from tubers and roots (anti-oxidative, antibacterial, antifungal, anti-histaminic, anti-hyperlipidemic and hypoglycemic activities). The roots contain, in addition to the mentioned compounds, a large amount of starch, which also has small particle size as well as those obtained from the seeds. So, the main objective of this investigation was to purify the starch, with small granule size, obtained in the extraction process of *Mirabilis jalapa* roots. After, the starch was characterised by the techniques: thermogravimetry, derivative thermogravimetry (TG/DTG), simultaneous thermogravimetry-differential scanning calorimetry (TG-DSC), Field-emission-gun Scanning Electron Microscopy with energy-dispersive spectroscopy (FEG-SEM-EDS) and by X-ray Diffractometry by powder method (XRD). The EDS results shown that before purification, this starch has large amount of raphides (calcium oxalate) confirmed by qualitative analysis and quantified by TG/DTG and TG-DSC (45,12%). After purification with 2.0 mol l⁻¹ of HCl the calcium oxalate was not present and the shape and size of starch granules were maintained (average diameter 1-5 mm) as observed by SEM.

Keywords: *Mirabilis jalapa* starch, thermal analysis, starch purification

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura molecular da amilose.....	13
Figura 2 -	Estrutura molecular da amilopectina.....	14
Figura 3 -	Esquema de organização da cadeia de amilopectina.....	15
Figura 4 -	Colorações das flores de <i>Mirabilis jalapa</i>	18
Figura 5 -	Sinais gerados pela emissão do feixe de elétrons na amostra..	20
Figura 6 -	Parâmetros gerados por meio de curvas RVA.....	21
Figura 7 -	Exemplo de uma curva TG/DTG.....	23
Figura 8 -	Representação de curva DSC.....	24
Figura 9 -	Fluxograma do processo de extração do amido da Raiz de <i>Mirabilis Jalapa</i>	27
Figura 10 -	Formação de cloreto de prata durante o teste de verificação de íons cloreto.....	29
Figura 11 -	Curva TG Oxalato de cálcio.....	31
Figura 12 -	MEV amostras de amido de raiz de <i>Mirabilis jalapa</i> após a extração aquosa.....	33
Figura 13 -	MEV amido da semente de <i>mirabilis jalapa</i>	33
Figura 14 -	Ráfides formadas pelo oxalato de cálcio.....	34
Figura 15 -	Espectro EDS qualitativo da amostra nativa de amido da raiz de <i>mirabilis jalapa</i>	35
Figura 16 -	MEV do amido de <i>Mirabilis jalapa</i> após tratamento ácido.....	36
Figura 17 -	TG/DSC Amostra (a).....	38
Figura 18 -	TG/DSC Amostra (b).....	38
Figura 19 -	DSC Amostras (a) e (b).....	40
Figura 20 -	Viscoamilogramas das amostras (a) e (b).....	42
Figura 21 -	Difratometria de raios X amostras (a) e (b).....	43
Figura 22 -	Carta cristalográfica do oxalato de cálcio.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados TG-DSC das amostras (a) amido da raiz de <i>Mirabilis jalapa</i> nativo e (b) amido da raiz de <i>Mirabilis jalapa</i> purificado.....	39
Tabela 2	Resultados de DSC das amostras (a) e (b).....	41
Tabela 3	Resultados de RVA das amostras (a) e (b).....	42
Tabela 4	Correlação entre os picos de DRX da amostra (a) e a carta cristalográfica do oxalato de cálcio.....	45
Tabela 5	Cristalinidade relativa das amostras (a) e (b).....	46

LISTA DE ABREVIACÕES

DRX - DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

MEV-FEG - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA COM EMISSÃO DE CAMPO

RVA - RÁPIDO VISCO ANALISADOR

TG - TERMOGRAVIMETRIA

DTG - TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA

DSC - CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

EDS- ESPECTROSCOPIA POR DISPERSÃO DE ENERGIA DE RAIOS X

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1	AMIDO.....	13
2.2	GELATINIZAÇÃO DO AMIDO.....	16
2.3	RETROGRADAÇÃO DO AMIDO.....	16
2.4	MODIFICAÇÕES DO AMIDO.....	16
2.5	<i>MIRABILIS JALAPA</i>	18
2.6	TÉCNICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS.....	19
2.6.1	Análises Estruturais.....	19
2.6.1.1	Difratometria de raios X (DRX)	19
2.6.1.2	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG).....	20
2.6.2	Propriedades de Pasta.....	21
2.6.2.1	Rápido visco- analisador (RVA).....	21
2.6.3	Análise Térmica.....	22
2.6.3.1	Termogravimetria (TG).....	22
2.6.3.2	Termogravimetria derivada (DTG).....	23
2.6.3.3	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	23
3.	OBJETIVOS	25
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1	MATERIAIS.....	26
4.2	MÉTODOS.....	26
4.2.1	Extração do Amido.....	26
4.2.2	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG).....	27
4.2.3	Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios – x (EDS).....	27
4.2.4	Purificação do Amido.....	28
4.2.4.1	Tratamento ácido.....	28
4.2.5	Análise Térmica	30

4.2.6	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	31
4.2.7	Difratometria de Raios- X.....	32
4.2.8	Propriedades de Pasta/ Rápido Visco – Analisador (RVA).....	32
4.2.9	Análise Estatística.....	32
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA COM EMISSÃO DE CAMPO (MEV-FEG).....	33
5.2	TRATAMENTO ÁCIDO.....	35
5.3	TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS.....	36
5.3.1	TG.....	36
5.3.2	DSC.....	40
5.4	PROPRIEDADES DE PASTA.....	42
5.5	DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	43
6.	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

Após a celulose, o amido é o segundo polissacarídeo mais abundante da natureza, amplamente utilizado pela indústria de alimentos por apresentar características de extrema importância para a elaboração de diversos produtos.

A planta denominada de “maravilha” (*Mirabilis jalapa*) da família *Nyctaginaceae* é muito utilizada como ornamental, devido a suas flores de cores vibrantes. Vários trabalhos demonstram que a mesma possui substâncias de caráter funcional, tornando viável sua utilização para fins medicinais e nutracêuticos. Estudos apontam resultados como antiinflamatório, antifúngico, laxante, antibacteriano. Outro fator importante sobre a planta é que ela apresenta grânulos de amido muito pequenos (nas sementes e tubérculos) semelhantes aos encontrados no arroz e outros de pequena granulometria. Assim sendo, esse tipo de grânulo é muito interessante para a indústria farmacêutica, bem como para a produção de cosméticos.

Neste trabalho realizou-se a extração do amido das raízes de *Mirabilis jalapa* bem como sua purificação utilizando um tratamento ácido e sua caracterização através de técnicas termoanalíticas, de propriedades estruturais e morfológicas.

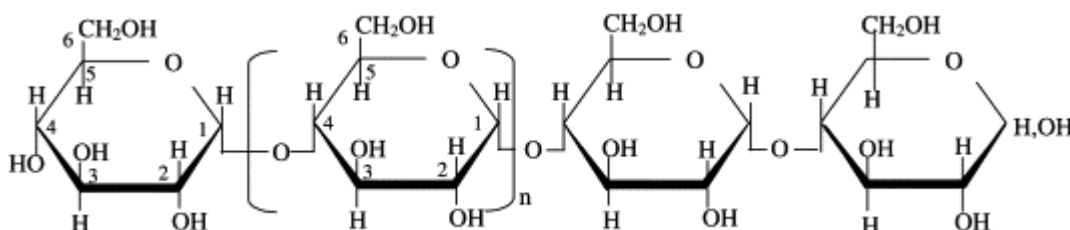
2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AMIDO

O amido é a principal fonte de reserva energética das plantas e sua estrutura constitui-se principalmente de dois polímeros: a amilopectina e a amilose. O amido pode ter origem em diversas fontes vegetais com quantidades variáveis de amilose e amilopectina. Quimicamente o amido é formado por unidades de glicose com ligações $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$. A amilopectina apresenta ligações do tipo $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$. Enquanto a amilose é formada por ligações $\alpha(1-4)$, isso faz com que a amilose apresente essencialmente estruturas lineares e a amilopectina estruturas altamente ramificadas (WURZBURG et al., 1989).

O amido é um polímero com massa molecular elevada, formado de unidades de D-glucopirranose unidas por ligações glicosídicas, organizadas em duas frações de homopolímeros, a amilose e a amilopectina. A amilose, Figura 1, apresenta uma cadeia pouco ramificada, quase linear, composta de unidades ligadas de α -D-glucopirranose por ligações glicosídicas $\alpha 1-4$. A amilose apresenta tamanho médio com cadeia de aproximadamente 10^3 unidades de glicose e sua forma predominantemente linear resulta na formação de hélices com interior hidrofóbico, que pode acomodar moléculas pequenas como ácidos graxos, álcool e iodo. Além de formar um complexo com iodo, resultando em uma coloração azul, a amilose é instável em soluções aquosas diluídas (BILIADERIS et al., 1991; BULÉON et al., 1998).

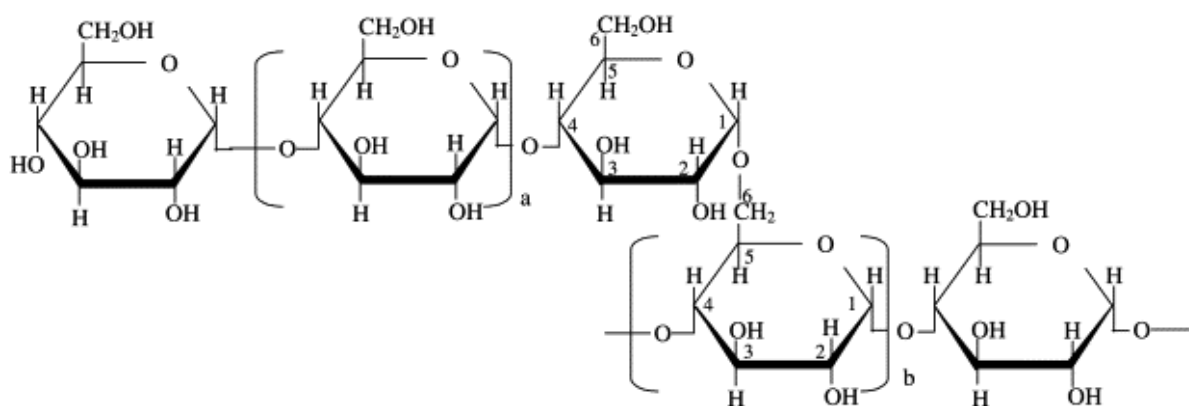
Figura 1. Estrutura molecular da amilose.



Fonte: Tester, Karkalas e Qi. 2004

A amilopectina apresenta cadeia ramificada composta de unidades de α -D-glucopiranosose unidas por ligações α 1-4, mas contendo 5 a 6% de ligações α 1-6 entre um grupo hidroxila de uma cadeia de glicose e o carbono 6 da glicose de outra cadeia, Figura 2. A amilopectina apresenta um tamanho médio das ramificações de aproximadamente 20 ou 30 unidades de glicose (DP), que em presença de iodo resulta em uma coloração avermelhada e é estável em soluções aquosas diluídas (BILIADERIS et al., 1991; BULÉON et al., 1998).

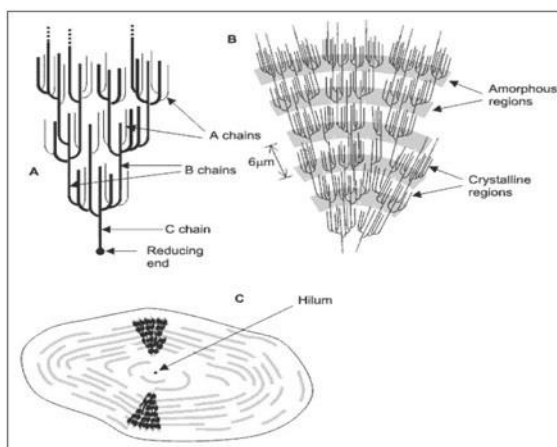
Figura 2. Estrutura molecular da amilopectina



Fonte: Tester, Karkalas e Qi. 2004

As cadeias de amilopectina dentro dos grânulos estão radialmente arranjadas com seus grupos terminais não redutores em direção à superfície e estas são organizadas alternando áreas amorfas e cristalinas. A molécula de amilopectina consiste de uma cadeia principal C, que carrega o grupo redutor e várias cadeias ramificadas A e B, Figura 3. As cadeias de uma ou mais moléculas interligam-se, formando duplas hélices (CEREDA et al., 2002).

Figura 3. Esquema de organização da cadeia de amilopectina. A) Classificação das cadeias da amilopectina em cadeias tipo A, B e C; B) Formação das regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido; C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilum



Fonte: Parker e Ring, 2001

2.2 GELATINIZAÇÃO DO AMIDO

Na indústria de alimentos o amido é bastante utilizado como agente espessante em molhos e sopas. Tal propriedade funcional do amido é geralmente obtida através da gelatinização (MARQUES, 2005). De acordo com Kawai et al., 2012 e Schirmer et al., 2013, na presença de água e aquecimento, ocorrem várias alterações a nível molecular e estrutural. As regiões amorfas dos grânulos de amido são desestabilizadas pela absorção de água e incham, chegando a dobrar de tamanho. Já nas regiões cristalinas, constituídas principalmente por duplas hélices de amilopectina, interrompem-se as ligações de hidrogênio e desdobram-se as duplas hélices, e o nível de hidratação aumenta. Estas alterações estruturais são acompanhadas pela separação da amilose e da amilopectina (FUNAMI et al., 2005).

O processo de gelatinização ocorre quando o amido é colocado em presença de água e aquecimento. Está relacionado com uma série de características como: composição dos grânulos, granulometria, arquitetura molecular dos grânulos e peso molecular. Além de fatores externos, tais como: temperatura de aquecimento, umidade, tempo e taxa de aquecimento, presença de outros ingredientes no alimento, entre outros (SCHIRMER et al., 2013).

2.3 RETROGRADAÇÃO DO AMIDO

O resfriamento da pasta de amido proporciona a reassociação das cadeias de amilose e amilopectina, restabelecendo ligações α -1,4, reordenando sua estrutura, tornando-se progressivamente menos solúvel e adquirindo uma viscosidade final, a qual poderá ser maior ou menor que a viscosidade de pico. Este fenômeno recebe o nome de retrogradação (KAUR; SINGH; RANA, 2010; FU et al., 2014). Este processo tem importância, pois afeta significativamente a qualidade, aceitabilidade e vida de prateleira de alimentos que contêm amido. Atribui-se à amilose o processo de retrogradação em curto prazo, e à amilopectina ao processo em longo prazo. A retrogradação está ligada à origem botânica do amido (CHANG e LIN, 2007). A susceptibilidade à retrogradação pode ser controlada levando-se em conta a estrutura molecular do amido, concentração, conteúdo de umidade durante a gelatinização, temperatura e condições de armazenamento e presença de outros componentes (KHANNA e TESTER, 2006; XU et al., 2013).

Os amidos de cereais tendem a retrogradar mais rápido que os amidos de tubérculos e raízes, devido ao alto teor de amilose. Já os amidos que contêm menor quantidade de proteínas e lipídeos tendem a ter uma maior capacidade de inchamento, geralmente os amidos de cereais contêm um maior nível de lipídeos se comparado aos de tubérculos e raízes (THENG, CHIN e YUSOF, 2013).

2.4 MODIFICAÇÕES DO AMIDO

Os amidos nativos apresentam muitas restrições para uso em alimentos ou mercadorias industriais. Assim, são modificados estruturalmente por meios de métodos físicos, químicos e biológicos a fim de obter amidos com propriedades desejáveis de utilização. Recentemente, modificações físicas são as preferidas às modificações químicas porque os métodos são mais simples, mais seguros e geralmente mais econômicos (PARK et al., 2009).

A modificação física, por meio de tratamentos hidrotérmicos, é considerada como tendência social na utilização em produtos naturais. Oferece potencial para se alterar a funcionalidade do amido com um baixo custo e de forma ambientalmente correta (ZAVARESE e DIAS, 2011). As modificações visam aumentar a estabilidade

frente ao congelamento e descongelamento, diminuir a tendência de retrogradação, melhoria da claridade de pasta, solubilidade, entre outros. Isto é, alteram propriedades físicas e químicas do amido com vista à aplicação industrial específica (SINGH; NATH; SINGH, 2010).

O tratamento com calor em baixa umidade (do inglês Heat–Moisture Treatment -HMT) é uma modificação física que embora altere as propriedades físico químicas do amido não destrói a estrutura do grânulo. Isso ocorre aquecendo-se o amido a temperaturas entre 90-120 °C, acima de sua temperatura de gelatinização e em baixas quantidades de água (<30%), a qual é insuficiente para o amido gelatinizar. Em comparação com as outras modificações, é considerado uma técnica natural, de baixo custo, podendo o amido ser utilizado em vários produtos alimentares com segurança (ANDRADE et al., 2014; SUN et al., 2013).

O tratamento com calor e baixa umidade, ocorre com baixos valores de umidade (<30%) e temperaturas acima da temperatura de transição vítrea e de gelatinização. O tempo de modificação pode durar de 15 min a 16 h, sendo que nessas condições podem ocorrer alterações no padrão de difração de raios X, na cristalinidade, interações entre cadeias, intumescimento dos grânulos, viscosidade e também na susceptibilidade à hidrólise enzimática e ácida. Mas não ocorrem alterações morfológicas passíveis de serem observadas por microscopia eletrônica de varredura (GUNARATNE; HOOVER, 2002; ZAVAREZE; DIAS, 2011). Segundo Gunaratne e Hoover (2002), o tratamento com calor e baixa umidade proporciona a interação das cadeias do polímero pelo rompimento da estrutura cristalina e dissociação da estrutura de dupla hélice na região amorfa, seguida de rearranjo dos cristais rompidos.

Modificações químicas, tais como a hidrólise ácida também são utilizadas para alterar alguns parâmetros estruturais e morfológicos dos amidos. Hidrólises com ácido clorídrico, por exemplo reduziram o pico de viscosidade de amidos de tapioca e de inhame chinês (OKUNLOLA; AKINGBALA, 2013; ATICHOKUDOMCHAI; VARAVINIT, 2003)

Ambos autores avaliam a modificação do amido para uma possível utilização como excipiente em medicamentos e para isso realizam a hidrólise em um tempo de 192 horas para que seja realmente efetiva a modificação da amostra.

2.5 MIRABILIS JALAPA

A *Mirabilis jalapa* conhecida no Brasil como “maravilha”, isto por que *mirabilis* significa maravilha em latim, é originária da América Latina, e muito utilizada como planta de ornamentação. Apresenta colorações vermelha, rosa, branca e amarela, Figura 4.

Figura 4. Colorações da flor maravilha (*Mirabilis jalapa*)



Fonte: Google/Imagens

Conforme Sharmila Shaik et al. (2012), as flores são usadas como coloração alimentar. As folhas também podem ser consumidas cozidas, mas apenas como alimento de emergência. Um corante comestível é obtido das flores para colorir bolos e geléias. A raiz é tida como um afrodisíaco, bem como diurético e laxante. É usado no tratamento da hidropisia. As folhas são usadas como anti-inflamatório. O suco de folhas pode ser usado para tratar feridas. A semente de algumas variedades, em pó é usada como um cosmético e um corante. A haste é usada para atividade antimicrobiana. Toda a planta é utilizada como anti-inflamatória, antiviral, anti-bacteriana, anti fúngica e antiespasmódica. As sementes são vermífugas.

Estudos mostraram a eficiência em diversos parâmetros, Zachariah et al. (2012(b)) avaliaram a capacidade anti-bacteriana da *Mirabilis jalapa*, bem como sua atuação frente aos radicais livres. Zachariah et al. (2012(a)), avaliaram a atividade antioxidantes e determinaram os flavonóides totais presentes na planta. Aoki et al. (2008), analisaram o caráter antiespasmódico dos componentes da mesma.

Por outro lado trabalhos evidenciaram a presença de amido nas estruturas da planta. Pumacahua-Ramos et al. (2015) avaliaram as características morfológicas, térmicas e físico-químicas do amido de semente de *Mirabilis jalapa*. Os autores verificaram que este amido de *Mirabilis jalapa* apresenta grânulos pequenos, semelhante à do amido de arroz, e que tem utilidade na indústria de cosméticos e alimentícia.

2.6 TÉCNICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS

Os métodos analíticos fornecem dados sobre os constituintes moleculares, bem como sua organização nos grânulos de amido (COPELAND et al., 2009).

2.6.1 Análises Estruturais

2.6.1.1 Difratometria de raios X (DRX)

Em geral, amidos de cereais exibem padrões de raio X do tipo A, tubérculos como batata e inhame, bem como raízes com amidos com elevado teor de amilose exibem padrões do tipo B. O tipo C é característico de amido de leguminosas (PÉREZ; BERTOFT, 2010).

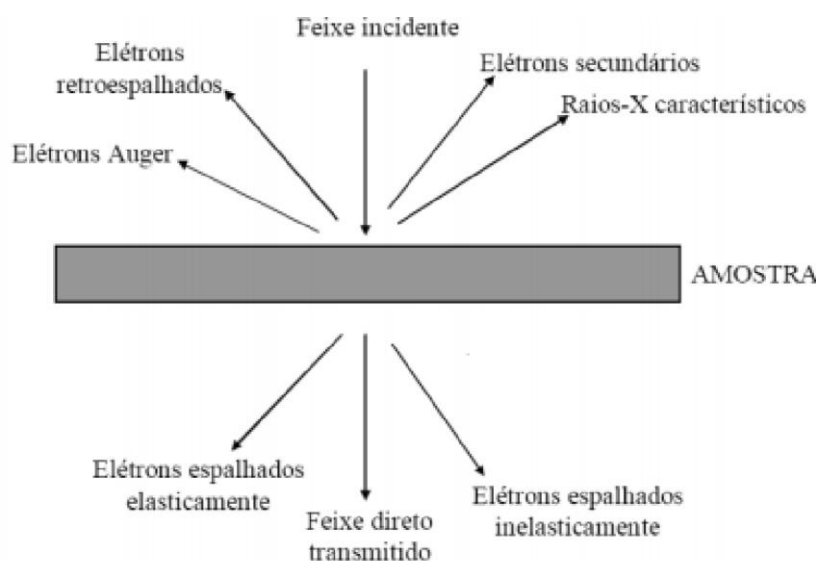
De acordo com Marcon et al. (2009) o padrão do tipo A apresenta picos intensos nos espaços interplanares 15, 17, 18 e 23° em 2θ . O tipo B revela picos em 5.6, 15, 17, 18 e 23° em 2θ , e o tipo C mostra picos em 5.5, 15, 17, 22 e 23° em 2θ . Na análise de difratometria, quando os raios X incidem em um material cristalino, é gerado um padrão de difração peculiar a cada substância. Os picos de difração emitidos serão mais intensos, pontiagudos e estreitos quanto maior for o número de cristais encontrado na substância. Já, as regiões amorfas geram picos mais largos e menores (DANIS et al., 2015; SINGH et al., 2003).

2.6.1.2 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG)

Os grânulos de amido podem ser visualizados por meio de microscopia eletrônica, obtendo-se imagens da superfície com alta profundidade de foco e resolução de uma amostra. A partir da obtenção de imagens tridimensionais pode-se avaliar a estrutura da substância (COPELAND et al., 2006).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV), do inglês *Scanning electron microscopy* (SEM), consiste na emissão de um feixe fino de elétrons (<1 nm) de alta energia, em linhas paralelas, focalizado na superfície da amostra. À medida que o feixe primário varre a amostra, são produzidos feixes secundários e espalhados, os quais são amplificados fornecendo um sinal elétrico, responsáveis pela formação da imagem da superfície da amostra e sua composição, respectivamente (REIMER, 1997). A Figura 5 ilustra os sinais gerados quando um feixe incide sobre a amostra analisada.

Figura 5. Sinais gerados pela emissão do feixe de elétrons na amostra



Fonte:Reimer (1997)

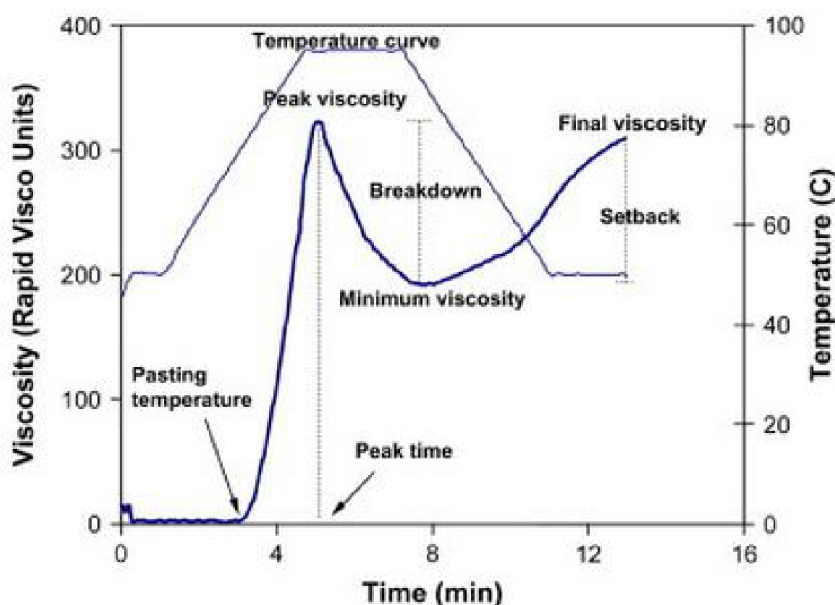
2.6.2 Propriedades de Pasta

2.6.2.1 Rápido visco-analisador (RVA)

Pode-se estudar o comportamento de gelatinização de uma suspensão de amido por meio de um equipamento denominado Rápido Visco-Analisador (RVA) que consiste de um viscosímetro de aquecimento e resfriamento capaz de medir a resistência da amostra ao cisalhamento. Com ele é simulado o processamento térmico e relacionado as propriedades estruturais do amido. Por meio da curva RVA, pode ser observado que, à medida que a temperatura vai sendo elevada, ocorre um aumento da viscosidade, que atinge um máximo, ou seja, a viscosidade de pico (*peak viscosity*), como ilustrado na Figura 6 (COPELAND et al., 2009).

O tempo de pico e a viscosidade de pico estão estritamente relacionados com a capacidade que o amido tem em se ligar com a água e a facilidade de desintegração dos seus grânulos (COPELAND et al., 2009).

Figura 6: Parâmetros gerados por meios de curvas RVA



Fonte: Copeland et al. (2009)

2.6.3 Análise Térmica

Segundo Ionashiro (2005) trata-se de um grupo de técnicas analíticas que são utilizadas com o objetivo de monitorar o comportamento de um determinado material em função do tempo ou temperatura. A análise térmica foi introduzida no Brasil por volta dos anos 60, e atualmente alcançou sofisticação, e ganhou notoriedade por sua variada aplicação tanto na pesquisa como no desenvolvimento de produtos e seu controle de qualidade.

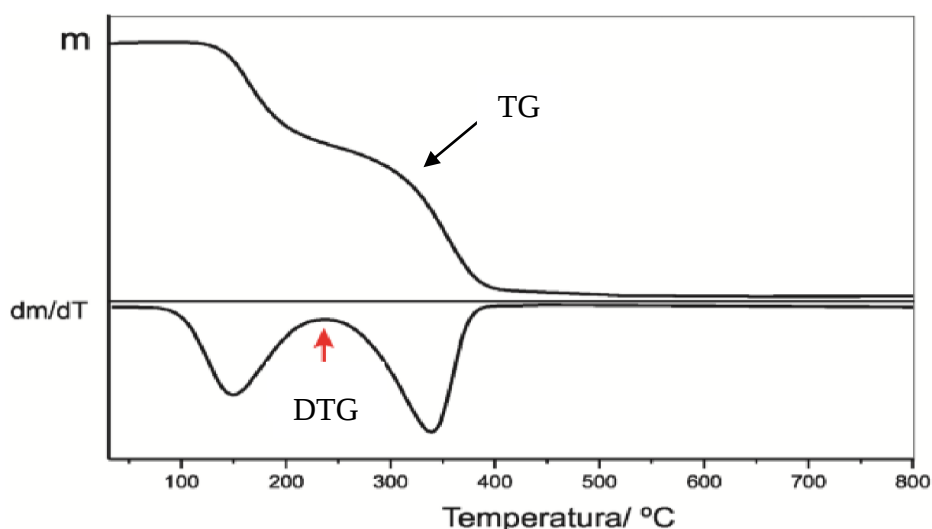
As análises térmicas mais utilizadas e citadas são: Termogravimetria (TG), Termogravimetria Derivada (DTG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Através destas técnicas é possível se obter informações sobre a variação de massa, estabilidade térmica, água livre e ligada, pureza, ponto de fusão e ebulição, transições vítreas, etc. Podendo ser utilizadas em várias áreas da pesquisa, como em tecnologia de alimentos, química, metalúrgica geológica, botânica, agrônômica e criminalística (ALMEIDA et al. 2011).

2.6.3.1 Termogravimetria (TG)

É uma técnica analítica que mede a variação da massa de uma amostra em função da variação de temperatura ou tempo, quando uma amostra é submetida a uma variação controlada de temperatura. Durante este processo de variação de massa em função da variação da temperatura é gerada uma curva termogravimétrica também conhecida como curva TG. As curvas TG fornecem dados necessários para prever a estequiometria, estabilidade térmica, composição, estabilidade dos compostos intermediários e a composição final da amostra (WENDLANDT, 1986).

Segundo Ionashiro (2005), em uma curva de TG, os desníveis em relação ao eixo das ordenadas correspondem às variações de massa sofridas pela amostra e isto permite a análise quantitativa dos dados. Na Figura 7, é possível observar uma representação da curva TG, e do recurso matemático DTG.

Figura 7: Exemplo de uma curva TG/DTG



Fonte: Ionashiro (2005)

2.6.3.2 Termogravimetria derivada (DTG)

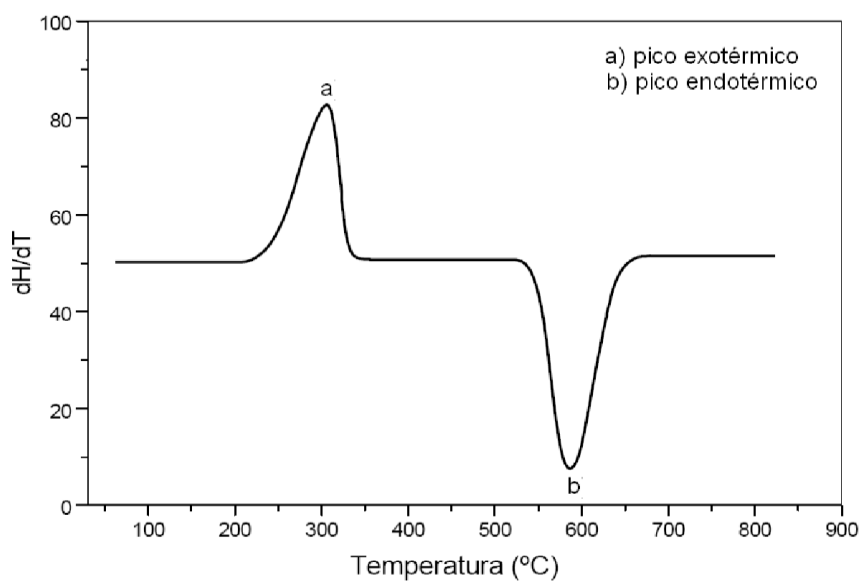
A termogravimetria derivada (DTG) é um recurso matemático obtido através da derivada primeira da curva TG em função do tempo ou da temperatura. Na curva DTG, os degraus da curva TG são correspondidos por picos que delimitam áreas proporcionais a perda de massa naquele evento térmico (Figura 7) (WENDLANT, 1986). As curvas obtidas através deste recurso se assemelham às curvas térmicas diferenciais, permitindo a obtenção de informações adicionais. Várias são as vantagens da utilização deste recurso, como: exatidão das temperaturas correspondentes ao início e ao instante em que a velocidade de reação é máxima, utilização das áreas dos picos para determinações quantitativas, clara distinção de sucessão de reações que muitas vezes não são observadas nas curvas TG (IONASHIRO, 2005).

2.6.3.3 Calorimetria exploratória diferencial(DSC)

Calorimetria exploratória diferencial (DSC) é a técnica na qual a diferença de energia fornecida à amostra e a um material referência é registrada, em função da temperatura enquanto a substância e o material referência são submetidos a uma

programação controlada de temperatura (IONASHIRO, 2005). A Figura 8 mostra uma curva DSC.

Figura 8. Representação de curva DSC



Fonte: Adaptado Ionashiro, (2005)

Segundo Ionashiro (2005), esta técnica possibilita estudos que envolvem as variações de entalpia (ΔH), e também as transições vítreas, cristalinas, em reações exotérmicas ou endotérmicas.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Isolar, caracterizar e avaliar as propriedades térmicas, de pasta, estruturais e morfológicas do amido da raíz de *Mirabilis jalapa* nativo.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o amido da raíz de *Mirabilis-jalapa*;
- Purificar o amido com um tratamento ácido;
- Caracterizar o amido por meio das técnicas termoanalíticas, propriedades de pasta, estruturais e morfológicas;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

A raiz das plantas de *Mirabilis jalapa* aproximadamente 1,5 Kg, foram coletadas em Ponta Grossa-PR, com um produtor local na região 25°05'27.4"S 50°08'17.4"W. Foram usados: liquidificador, peneira mesh 150 e 270, estufa com circulação de ar TE-394/1 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), balança analítica AUW220D (Shimadzu, Quioto, Japan), dessecador, TG-DSC 449F (NETZSCH STA 449F), DSC Q-200 (TA Instruments, New Castle, DE, USA), Viscosímetro RVA-4 (Newport Scientific, Jessup, MA, USA), Difratômetro de raios-X Ultima 4 (Rigaku, Tokyo, Japan), Softwares: Universal Analysis-2000, TA-60-Shimadzu, SPM Manager for Windows (3.03), Thermocline for Windows e SASM-Agri (8.2). Equipamentos fornecidos pelo LABMU (UEPG) e Laboratórios do CTA.

Ácido Clorídrico, Nitrato de Prata, Ácido Sulfúrico, Carbonato de Amônia, Água Destilada. Os reagentes utilizados foram de grau analítico.

4.2 MÉTODOS

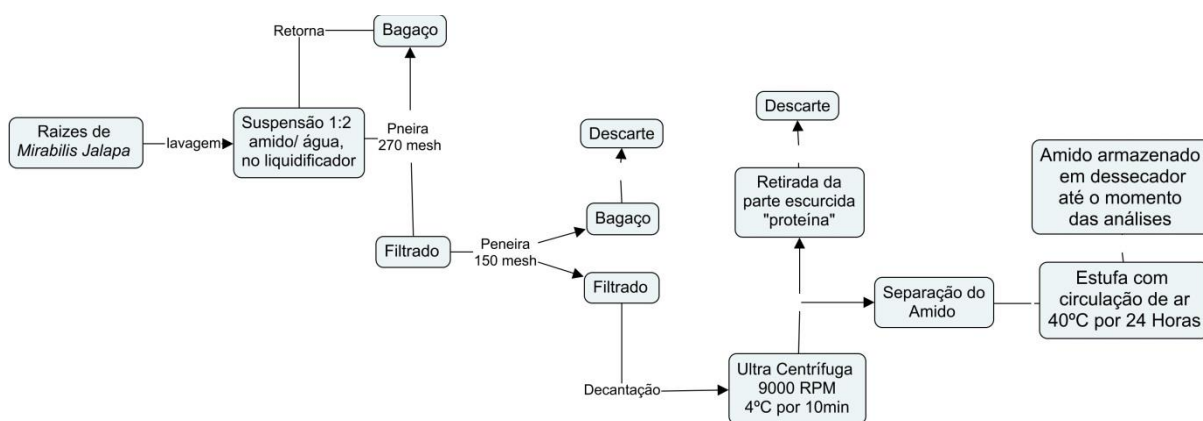
4.2.1 Extração do Amido

Primeiramente as raízes da *Mirabilis-jalapa* foram lavadas com água a fim de eliminar as principais impurezas presentes na mesma, como terra, por exemplo, após isso as mesmas foram moídas em liquidificador em uma suspensão aquosa (1:2) para extração do amido. A suspensão na sequência, foi passada por duas peneiras (150 e 270 mesh), consecutivamente. O bagaço retirado na primeira peneira foi ressuspenso em água, este processo foi feito, até que a coloração do material sendo filtrado não estivesse branca, no caso foram feitas por mais duas vezes o processo. O material foi mantido em repouso sob refrigeração por aproximadamente duas horas para que o amido fosse decantado. O sobrenadante foi descartado até uma altura próxima a camada branca de amido, no fundo do recipiente. O material então foi centrifugado por 5 minutos a 9000 rpm, em uma temperatura de 4 °C.

O sobrenadante foi descartado e foi retirado uma fina camada de coloração marrom, correspondente a parte proteica da amostra, que se depositou sobre o amido após a centrifugação. O amido então foi colocado em estufa de circulação forçada entre 35 °C a 40 °C, para evitar o processo de gelatinização do amido, por 24 horas para secagem e então, mantido em dessecador até o momento das análises.

O fluxograma apresentado na Figura 9 demonstra o processo de extração citado acima.

Figura 9: Fluxograma do processo de extração do amido da Raiz de *Mirabilis Jalapa*.



Fonte: O autor

4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG)

O tamanho, a forma, o comprimento e a largura média dos grânulos de amido foram observados por microscópio eletrônico de emissão de campo (FEG-SEM) MIRA 3 (Tescan, República Tcheca). A tensão de 15 kV no canhão de emissão de campo foi gerada por uma lâmpada com filamento de tungstênio. As amostras foram pulverizadas sobre uma fita de carbono, e já que o amido é uma substância não-condutora, foi necessário a metalização de todas as amostras com ouro e paládio, para promover a passagem de elétrons. (MALUCELLI et al.,2015).

4.2.3 Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios X (EDS)

Acoplado ao microscópio eletrônico de varredura de alta resolução, há um canhão de emissão de campo elétrico. Este permite obter imagens de alta resolução e espectros de comprimento de onda de raios X por difração dos elétrons

retroespalhados. Esta varredura por linhas de mapeamento permite identificar qualitativamente muitos elementos químicos.

4.2.4 Purificação do Amido

4.2.4.1 Tratamento ácido

As amostras de amido foram extraídas em meio aquoso e por apresentarem a presença de cálcio foram submetidas a um tratamento ácido de curta duração com objetivo de eliminar substâncias indesejadas na amostra.

Primeiramente submeteu-se as amostras a um teste qualitativo, visando identificar se o cálcio o qual poderia estar nas formas de oxalato ou carbonato. Para isso adicionou-se ácido clorídrico concentrado a uma pequena parcela da amostra e verificou-se que a mesma não apresentou efervescência, fato este que estaria ligado a presença de carbonato de cálcio na amostra. Desta forma acredita-se que o conteúdo de cálcio do material esta na forma de oxalato.

Desta forma as amostras de amido contendo oxalato de cálcio, foram tratadas com ácido clorídrico utilizando um método semelhante ao citado por S. Mehboob et al (2015). As amostras foram colocadas em 50 mL de soluções de ácido clorídrico 1 e 2 mol L⁻¹ e mantidas sob agitação, em agitador magnético, por um período de 30 minutos visando uma maior homogeneização da amostra. Após a amostra foi filtrada. No filtrado fez-se o teste com ácido sulfúrico e carbonato de amônia, os quais em presença de íons cálcio apresentam um precipitado branco, demonstrando assim que o cálcio foi retirado da amostra de amido. O conteúdo retido no filtro foi lavado com água destilada em abundância para remover-se o excesso de íons cloreto presentes na mesma. No trabalho citado o autor neutraliza a solução com NaOH porém após as lavagens verificou-se um pH próximo ao neutro o que não justificou tal procedimento, bastando apenas a utilização de água destilada. Para assegurar que esta remoção foi efetiva a água de lavagem foi submetida ao teste de identificação de íon cloreto, que consiste da adição de Nitrato de prata (AgNO₃) verificando a presença de precipitado branco (Figura 10) que indica a formação de cloreto de prata, conforme a reação abaixo .



Figura 10: Formação do cloreto de prata durante o teste de verificação de íons cloreto



Fonte: <https://imagens.tabelaperiodica.org/nitrato-de-prata-em-acido-cloridrico/> acesso em 06/2019

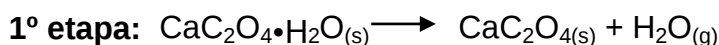
Após várias lavagens a amostra não apresentou mais a presença de íon cloreto, sendo então secada em estufa de circulação de ar a 40 °C por 24 horas, para evitar a gelatinização da amostra e posteriormente armazenada em dessecador aguardando o momento das análises posteriores.

Este procedimento foi feito baseando-se no aumento de solubilidade do oxalato de cálcio em meio ácido, isto ocorre pois quando adicionamos ácidos a solução ocorre consequentemente a liberação de íons H_3O^+ , este íon acaba realizando reações paralelas com o oxalato resultando em um aumento de 4 a 5 vezes em sua solubilidade em água. O Oxalato de cálcio (CaC_2O_4) apresenta um coeficiente de solubilidade k_{ps} de $2,6 \times 10^{-9}$, esta solubilidade que é extremamente baixa para hidróxidos de metais de transição e sais derivados de ácidos fracos como o oxalato de cálcio, por exemplo, tem a seu valor aumentado significativamente, quando diminuimos o valor do pH, logo durante a reação com ácido clorídrico temos uma formação de Cloreto de cálcio (CaCl_2) que é um sal extremamente solúvel em água.

4.2.5 Análise Térmica

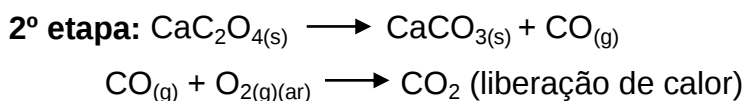
As curvas TG-DSC foram obtidas a partir do instrumento NETZSCH STA 449F3 (número de série STA449F3A-1345-M) em atmosfera ar seco, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, entre 30 °C e 1000 °C. O equipamento foi calibrado seguindo as instruções do fabricante e a calibração foi aferida com oxalato de cálcio seguindo as instruções da The American Society for Testing and Materials (ASTM E1582 - 93).

A Curva do oxalato de cálcio é utilizada como padronização do equipamento por apresentar valores e características bem determinadas, através dela Ionashiro (2005) relata as etapas de reações de decomposição da amostra que será de fundamental importância para as discussões que seguem. Segundo o autor, a primeira etapa é uma reação reversível de desidratação do oxalato de cálcio.



Na segunda etapa ocorre a decomposição do oxalato de cálcio anidro, formando carbonato de cálcio e monóxido de carbono por meio de uma reação irreversível. A decomposição se inicia e termina em temperaturas menores em atmosfera de ar; isto ocorre porque o oxigênio presente no ar reage com o monóxido de carbono desprendido da amostra liberando calor, o qual é responsável pelo aumento da temperatura do sólido que não reagiu. Isto provoca uma marcada aceleração na velocidade de decomposição, pois parte da amostra já está em uma temperatura maior que a temperatura do forno.

Este fato explica o motivo para este evento apresentar uma característica exotérmica na curva DTA apresentada na Figura 16, esta formação de CO₂ por apresentar uma característica exotérmica com entalpia de formação que se sobressai à entalpia da etapa endotérmica da decomposição do oxalato de cálcio anidro, quando na presença de ar ou oxigênio.



Finalmente na terceira etapa ocorre por meio de uma reação reversível a formação do óxido de cálcio, composto insolúvel em água que permanece como

resíduo (cinzas) , ao final da reação. Todas as etapas são representadas na Figura 11 abaixo:

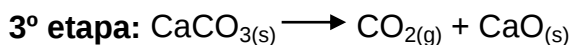
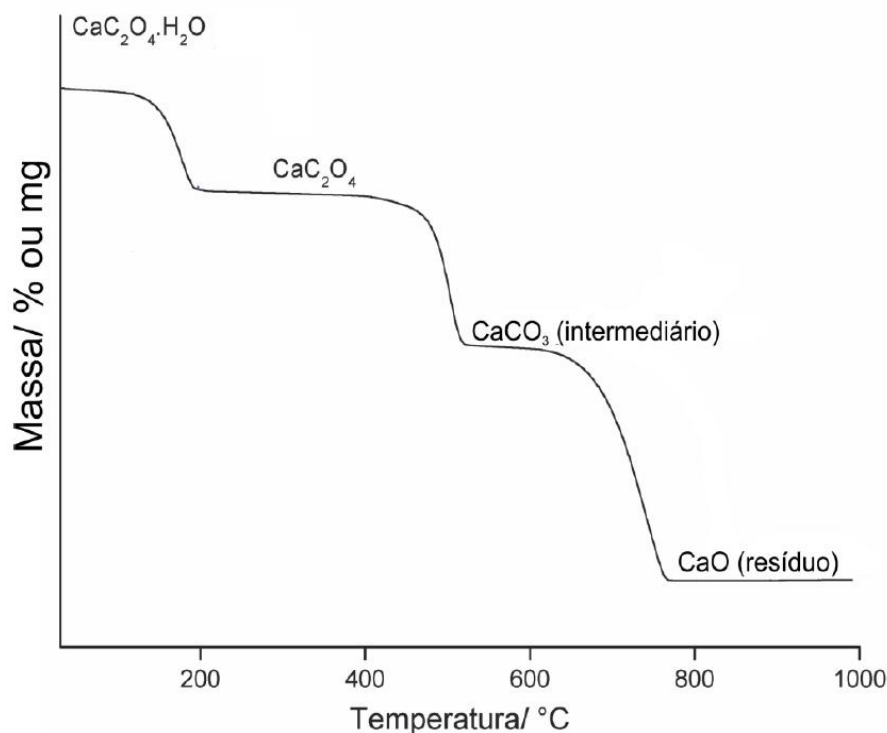


Figura11 : Curva TG do oxalato de cálcio.



Fonte: Ionashiro (2005)

4.2.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O equipamento DSC-Q200 (*TA-Instruments, EUA*), previamente calibrado com índio de alto grau de pureza de 99,99 %, $\text{pf.} = 156,6^\circ\text{C}$ e $\Delta H = 28,56 \text{ Jg}^{-1}$, foi utilizado para obtenção das curvas DSC. As condições utilizadas foram: fluxo de ar de 50 mL min^{-1} , faixa de aquecimento de 20 a 100°C e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$. Foram pesados aproximadamente 2,5 mg de cada amostra, homogeneizados em 10 μL de água deionizada (1:4) em cadinhos de alumínio posteriormente selados, e se manteve em repouso por 60 minutos, visando-se equilibrar o teor de umidade e inchamento do grânulo (COLMAN, DEMIATE e SCHNITZLER, 2014).

Foi adicionado ao equipamento um cadinho vazio, idêntico ao da amostra, que serviu de referência para a análise.

4.2.7 Difractometria de Raios X

Os difratogramas foram obtidos por meio da técnica de difratometria de raios X método pó, utilizando-se um difratômetro de raios X Ultima IV (*Rigaku, Japão*), e empregando-se radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,541 \text{ \AA}$) configurada a 40 kV e 20 mA. A radiação dispersa foi detectada em um intervalo angular de 3° a 35° (2θ), com velocidade de escaneamento de 8° min^{-1} , e um passo de $0,06^\circ$. Assim foi possível analisar os grânulos de amido quanto a sua cristalinidade. (COLMAN, DEMIATE e SCHNITZLER, 2014)

4.2.8 Propriedades de Pasta (RVA)

Utilizou-se o equipamento RVA-4 (*Newport Scientific, Australia*) para avaliação das propriedades de pasta dos amidos nativo e modificados por tratamento ácido. Para isso, uma dispersão a 8% (m/m) de amido em base seca em 28 g de massa total foi preparada e submetida a um ciclo de aquecimento até 95°C e resfriamento controlado sob agitação circular constante. Os parâmetros utilizados foram: temperatura mantida a 50°C por 2 minutos, seguido de aquecimento até 95°C a uma razão de aquecimento de 6°C min^{-1} , a temperatura foi mantida a 95°C durante cinco minutos, seguido de arrefecimento a 50°C a 6°C min^{-1} . Ao fim do ciclo a temperatura foi mantida por 2 minutos a 50°C . (BET et al,2016)

4.2.9 Análise Estatística

A análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey foram utilizados para a comparação das médias entre as amostras com 95% de confiança ($p < 0,05$), com o auxílio de software SASM-Agri (8.2). Para tanto, as análises foram realizadas em triplicata.

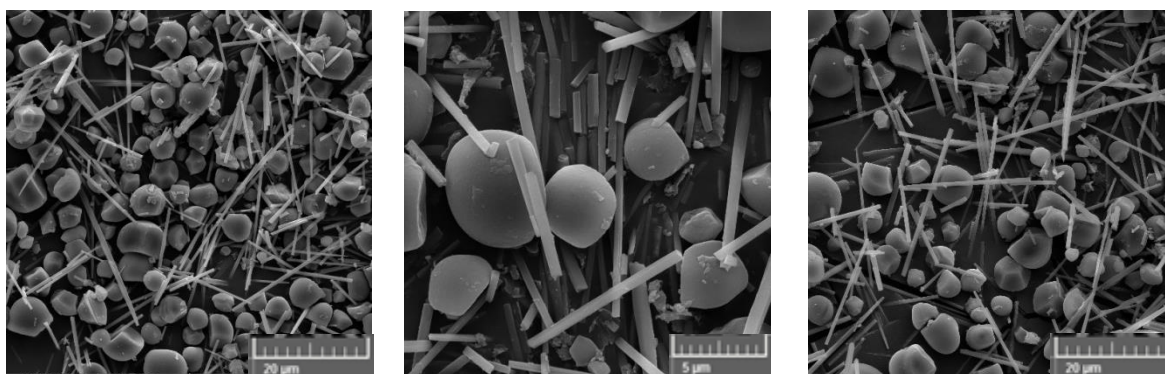
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Após realizada a extração as amostras foram submetidas a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Conforme demonstra a Figura 12 as amostras apresentaram além de amostras irregulares do amido esperado um outro composto de característica muito diferente ao que normalmente se encontra em amostras deste tipo.

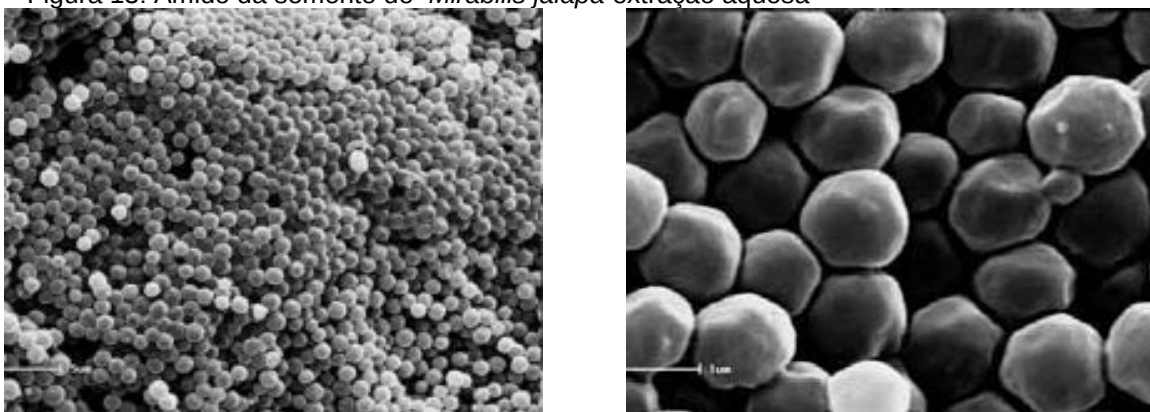
Isto fica evidente ao compararmos a imagem da extração apresentada em Pumacahua-Ramos et al. (2015), a qual mostra a característica regular da amostra demonstrada na Figura 13 .

Figura 12: MEV amostras de amido da raiz de *Mirabilis Jalapa* após a extração aquosa.



Fonte: O autor

Figura 13: Amido da semente de *Mirabilis jalapa* extração aquosa

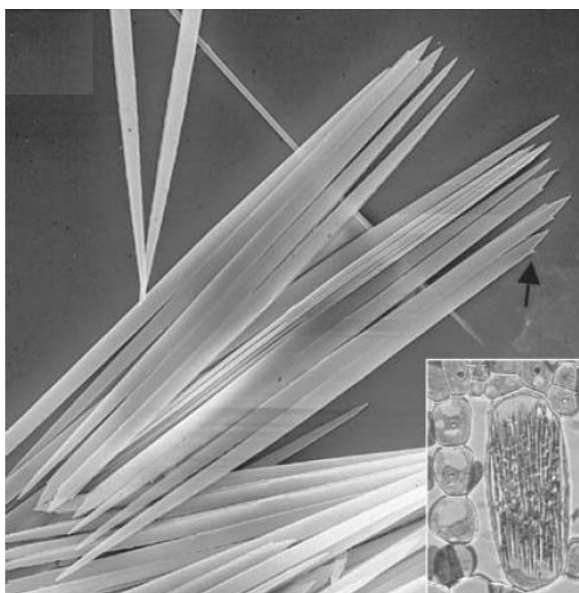


Fonte: Pumacahua-Ramos et. al.(2015).

Segundo Franceschi e Nakata(2005) as plantas tendem a apresentar cálcio em suas raízes, este cálcio em sua maioria absorvido do solo em sua forma iônica Ca^{2+} normalmente em moléculas de Oxalato de cálcio. Tal elemento tem uma função

importante de transporte intracelular das plantas e também de caráter estrutural. De acordo com os autores o cálcio na forma de oxalato ou carbonato tem função de realizar um controle sobre a taxa de cálcio na planta. O autor ainda demonstra como apresentado na Figura 14 que a estrutura deste oxalato é o que os autores chamam de ráfide que deriva da palavra grega *rhaphides* que significa agulha o que justifica a forma da estrutura encontrada nas extrações do amido da raiz de *Mirabilis jalapa* do presente trabalho. Em outro trabalho Miguel, Moraes e Cunha (2009) também citam as mesmas estruturas apresentadas pelo oxalato de cálcio em formas de agulhas encontradas nas raízes de diversas famílias de angiospermas.

Figura 14: Imagen das “ráfides” formadas pelo oxalato de calcio.

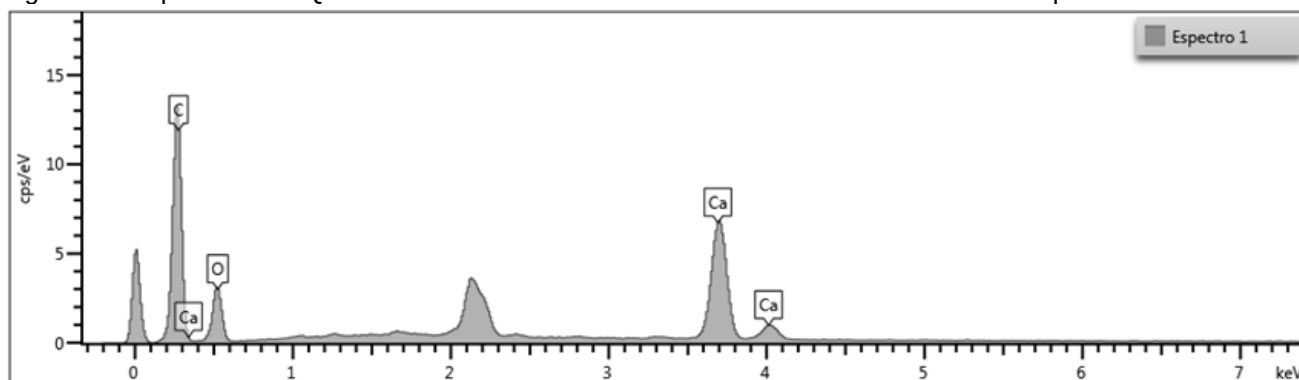


Fonte: Franceschi e Nakata(2005)

Desta forma juntamente com a análise da imagem submeteram-se as amostras ao teste de EDS com intuito de avaliar a composição aproximada da amostra.

De acordo com espectro representado na Figura 15 pode-se verificar que além dos compostos normalmente encontrados em amostras de amido, temos a presença de uma quantidade de cálcio na amostra, o que justifica a presença desse elemento em sua forma de oxalato, conforme citado pelos autores. Esta análise tem caráter qualitativo, ou seja, apenas para realizar a identificação do material, a análise quantitativa do mesmo foi realizada através da curva TG.

Figura 15: Espectro EDS Qualitativo da amostra nativa de amido da raiz de *Mirabilis Jalapa*



Fonte: O autor

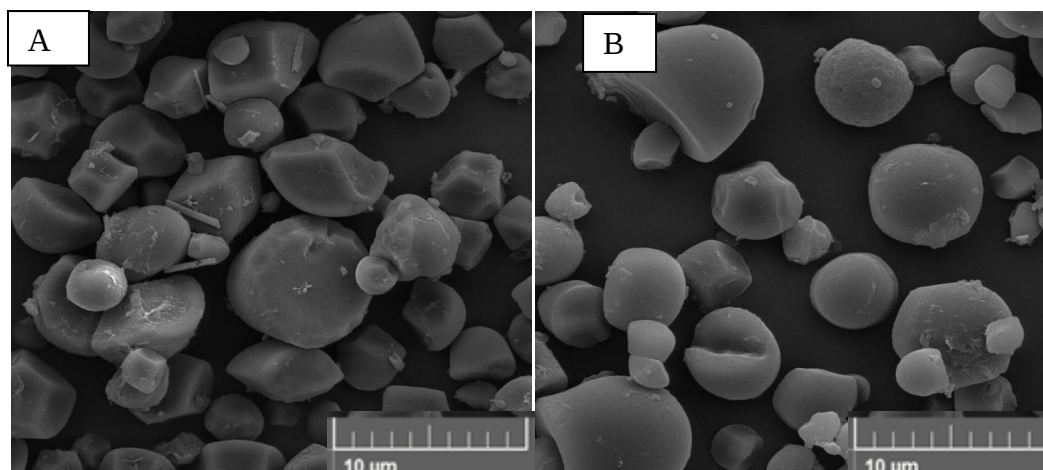
5.2 TRATAMENTO ÁCIDO

O tratamento ácido tem por objetivo eliminar as “impurezas” presentes na amostra de amido. Para isso utilizou-se o processo descrito anteriormente com a modificação principal do tempo de exposição das amostras ao ácido, que foi de apenas 30 min, fato este que foi pensado para não ocasionar uma hidrólise ácida, que poderia causar modificações químicas que não são o objetivo do presente trabalho.

As amostras foram então submetidas a novos testes de imagem e apresentaram um padrão diferente das apresentadas anteriormente não apresentando mais os cristais de oxalato de cálcio, configurando assim que os mesmos com a reação ácida conforme citado anteriormente formaram compostos solúveis em água que foram devidamente removidos através das lavagens na amostra.

Conforme pode-se verificar na Figura 16, a amostra tratada com solução de 1 mol L⁻¹ de ácido clorídrico ainda apresenta alguns grânulos com presença de oxalato de cálcio o que pode configurar que a concentração não foi suficiente para remover toda a quantidade que estava impregnada na amostra, pode-se verificar que tais partes que ficaram estão de certa forma agregadas aos grânulos de amido o que pode ter também dificultado na remoção das mesmas. Isto não ocorreu na solução de 2 mol L⁻¹ de ácido clorídrico, onde pode-se verificar uma limpeza total dos cristais de oxalato, o que demonstra uma maior efetividade da solução.

Figura 16:MEV amidos após tratamento ácido



Fonte: O autor

(A) $\text{HCl } 1\text{ mol L}^{-1}$; (B) $\text{HCl } 2\text{ mol L}^{-1}$.

Através das imagens pode-se perceber que o amido não sofreu danos em sua estrutura o que seria visível em caso de uma hidrólise ácida, que tende a diminuir gradativamente os grânulos de amido, sendo uma das maneiras utilizadas para a criação de nanoamidos.

A partir disto as análises seguintes foram feitas utilizando uma amostra do amido da raiz de *Mirabilis jalapa* nativo (A), e a outra com o amido de *Mirabilis jalapa* modificado pelo tratamento ácido de 2 mol L^{-1} por 30 minutos, (B), que demonstrou ser mais eficaz na retirada do cálcio da amostra.

5.3 TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS

5.3.1 TG

Ao analisarmos a terceira etapa da reação do oxalato de cálcio a formação de óxido de cálcio e CO_2 ocorre por meio de uma reação reversível.

O óxido de cálcio formado fica como um resíduo no material e é praticamente insolúvel em água ($K_{ps} 2,6 \times 10^{-9}$). Percebe-se que um índice elevado do mesmo ocasiona em uma maior formação de cinzas para a amostra, aproximadamente 40% (IONASHIRO, 2005).

Analisando as curvas de TG-DSC das amostras a podemos perceber um comportamento diferente para o que se espera para amostras de amido e com alguns pontos em comum com a curva apresentada pelo oxalato de cálcio puro. As

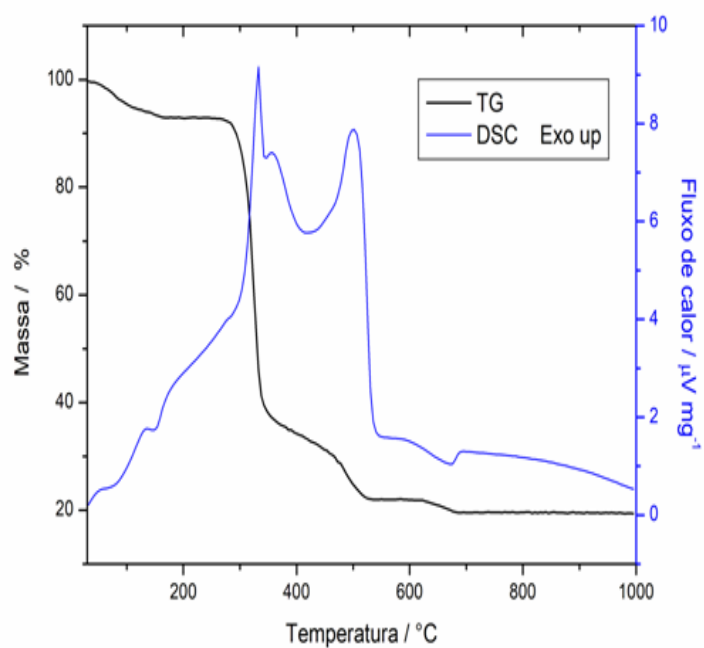
curvas de amidos nativos de *Mirabilis jalapa* apresentam normalmente 3 perdas de massa conforme apresentado por Pumacahua - Ramos (2015). Sendo uma primeira perda de 8,99% de massa entre 21,5 e 131,1 °C o que representa a desidratação da amostra, seguida de uma estabilidade térmica até 292 °C, que é mais elevada do que a do amido de mandioca que foi de aproximadamente 274 °C (COLMAN, T. A. D. et al., 2014). Depois disso, a perda de massa ocorre em duas fases, com 69,01% e 16,95%, respectivamente, em virtude da decomposição e oxidação da matéria orgânica (amilose e amilopectina). Este comportamento é característico de todos os amidos, ainda que ocorra com diferentes temperaturas.

Verificando-se as perdas de massas indicadas pode-se perceber que a amostra teve um total de 95,03% de perda associadas as 3 etapas mais o período de estabilidade, ficando desta forma com 4,97% de resíduos ao final da amostra, o que representa um comportamento característicos para amostras de amido.

Ao compararmos os valores do amido de *Mirabilis jalapa* extraído da semente apresentado por Pumacahua - Ramos (2015) com a da presente extração, Figura 17, vemos um padrão na primeira variação da massa apresentada por ambas, tal variação refere-se a desidratação da amostra, que ocorre entre 30 e 166°C, seguidas por uma estabilidade térmica entre 166 à 264 °C apresentando a segunda perda de massa correspondente a decomposição da matéria entre 264 - 349°C, e a terceira perda de massa representando a oxidação da mesma, representado 56,24% e 14,82% de perda de massa respectivamente. Além disso a amostra (a) apresenta uma quarta perda de massa que não é um comportamento comum para amidos.

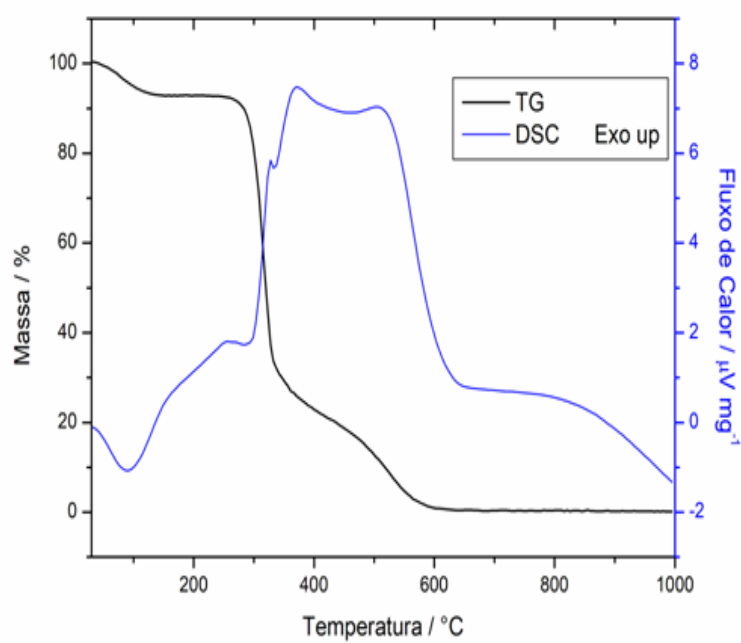
Isto se deve ao fato de esta amostra apresentar as ráphides de oxalato de cálcio e esta quarta perda representa a formação de óxido de cálcio ao final da reação. Desta forma analisando-se a Tabela 1 abaixo que apresenta os valores das duas amostras (a) e (b) do presente trabalho, pode-se perceber que a amostra (a) que não passou pelo tratamento ácido e conseqüentemente ainda possui o oxalato de cálcio, apresenta uma perda de massa que difere significativamente da amostra apresentada por Pumacahua – Ramos (2015) em seu trabalho no que se diz respeito a quantidade de resíduo final. A amostra (a), amido nativo, proveniente deste trabalho resultou em 19,37% de resíduo mesmo tendo uma variação de aquecimento maior (900 °C) em comparação ao trabalho citado.

Figura 17: Curva de TG - DSC da Amostra:(a)



Fonte: O autor

Figura 18: Curva TG – DSC da amostra (b)



Fonte: O autor

Tabela 1 : Resultados de TG-DSC das amostras (a) amido não purificado e (b) amido purificado.

Amostras	TG Resultados		DSC Resultados	
	Etapa	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
(a)	1 ^a	6,71	30-166	83 (endo)
	estabilidade	-	166-264	-
	2 ^a	56,24	264-349	331 (exo)
	3 ^a	14,82	349-515	497 (exo)
	4 ^a	2,42	515-685	674 (exo)
(b)	1 ^a	7,08	30-130	92 (endo)
	estabilidade	-	130-260	-
	2 ^a	66,83	260-340	327 (exo)
	3 ^a	26,02	340-606	562 (exo)

(*) Δm perda de massa (%), ΔT intervalo de temperatura, T_p temperatura de pico

Esta variação do índice de resíduos é proveniente da presença do oxalato de cálcio na amostra. Como pode-se verificar através da curva padrão utilizada na calibração do equipamento, bem como das reações envolvidas durante o processo apresentadas por Ionashiro (2015), verificou-se que o oxalato pode apresentar um índice de resíduos de aproximadamente 40% o que ao comparar-se as duas curvas percebe-se uma semelhança relativa entre as mesmas, pois ambas apresentam uma quarta perda de massa quando comparamos com as curvas dos amidos apresentados, esta relativa a reação de oxidação do oxalato de cálcio em virtude do oxigênio presente no meio reativo durante o processo conforme apresentado nas

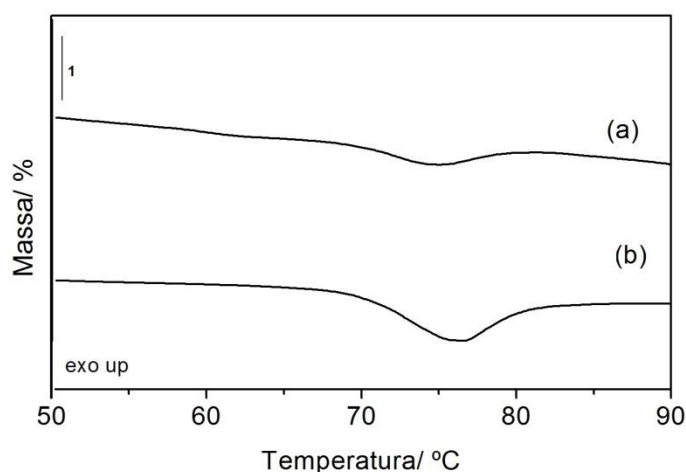
etapas da reação do oxalato de cálcio tendo como produto final o óxido de cálcio o que justifica a variação de massa residual apresentada pela amostra.

Através da estequiometria da reação da formação do óxido de cálcio pode-se calcular a quantidade de oxalato de cálcio presente na amostra, considerando a amostra anidra bem como as variações de massa encontradas nas curvas TG e descontando-se o amido encontrou-se uma porcentagem de 45,12% de oxalato de cálcio na amostra (a).

5.3.2 DSC

As curvas do DSC tem por objetivo demonstrar algumas propriedades do amido uma delas é o ponto de gelatinização apresentado pela amostra, pois este é um dos fatores de maior importância na indústria, visto que pode representar a resistência térmica do amido em questão. O que pode-se perceber é que as amostras apresentaram uma diferença significativa em suas propriedades conforme demonstrado na Tabela 2 apresentada abaixo que representa a curva apresentada na Figura 19.

Figura 19: curvas de DSC das amostras (a) (b)



Fonte: O autor

Analisando-se a Tabela 2 abaixo podemos verificar a diferença das temperaturas (inicial, de pico e conclusão) sendo as mesmas maiores para a amostra (b), esses valores são próximos aos encontrados por Ramos conforme

apresentado na tabela citada anteriormente que demonstra o comportamento mais condizente com uma amostra de amido. No que diz respeito ao valor da entalpia de gelatinização pode-se perceber que os valores encontrados na amostra (a) são menores em comparação com os da amostra (b) isso porque como na primeira amostra temos uma grande presença do oxalato de cálcio (45,12%) esse acaba interferindo diretamente na gelatinização do amido. Esta diminuição de entalpia aparentemente teria uma condição interessante para indústria, pois utilizaria uma menor quantidade energética para realizar a gelatinização, porém faz-se necessário avaliar a quantificação efetiva de cálcio na amostra bem como de sua necessidade para o consumidor em determinado produto.

Benevides (2011) demonstra em seu trabalho que cerca de 75% de todos os cálculos renais são compostos, principalmente, de oxalato de cálcio (CaC_2O_4), por isso a necessidade em purificar o amido para possível utilização.

Outro fato importante para a demonstração de que não ocorreu efetivamente uma hidrólise ácida na amostra é que em seu trabalho, Mehboob (2015) demonstra que os amidos de Sorgo quando sofrem o processo de hidrólise tendem a diminuir os seus valores de entalpia, fato que não ocorreu no presente trabalho.

Tabela 2: Resultados de DSC das amostras (a) (b)

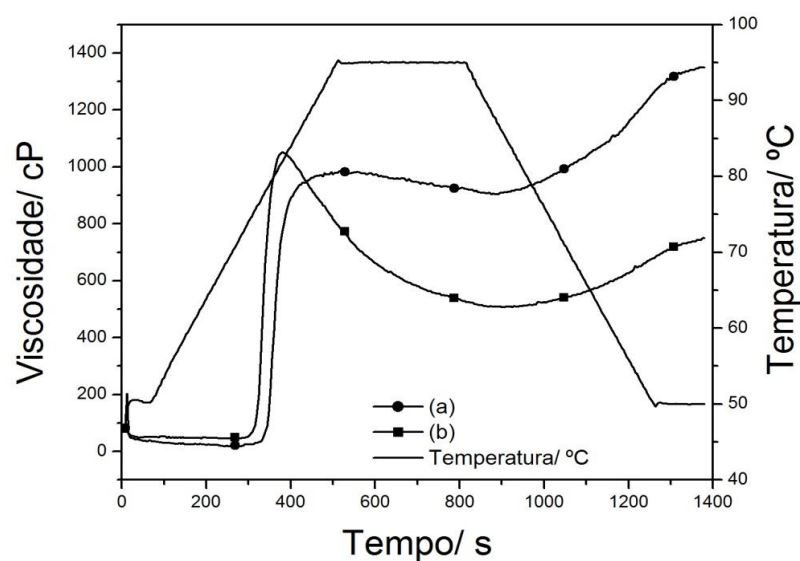
Amostras	DSC gelatinização			
	$T_o/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$	$T_c/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_{\text{gel}}/\text{J g}^{-1}$
(a)	69,29±0,29 ^b	74,08±0,36 ^b	78,56±0,29 ^b	3,08±0,03 ^b
(b)	70,16±0,02 ^a	75,7±0,3 ^a	81,61±0,12 ^a	10,23±0,21 ^a

(*) T_o "onset" temperatura de início, T_p temperatura de pico, T_c "endset" temperatura de conclusão, ΔH_{gel} entalpia de gelatinização /Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey.

5.4 PROPRIEDADES DE PASTA

A propriedade de pasta visa analisar a viscosidade da amostra, bem como sua tendência a retrogradação. Os viscoamilogramas das amostras (a) e (b) estão apresentados na Figura 20.

Figura 20: Viscoamilogramas das amostras (a) (b)



Fonte: O autor

Tabela 3: Resultados de RVA das amostras (a) (b)

Amostras	Temperatura de pasta/°C	Pico de viscosidade/cP	Tempo de pico/sec	Quebra/cP	Viscosidade final/cP
(a)	78,5±0,7 ^a	985±1,4 ^b	8,45±0,21 ^a	83,5±0,7 ^b	1352,5±3,5 ^a
(b)	75,11±0,6 ^b	1053,5±2,12 ^a	6,27±0,08 ^b	543±2,8 ^a	746±4,24 ^b

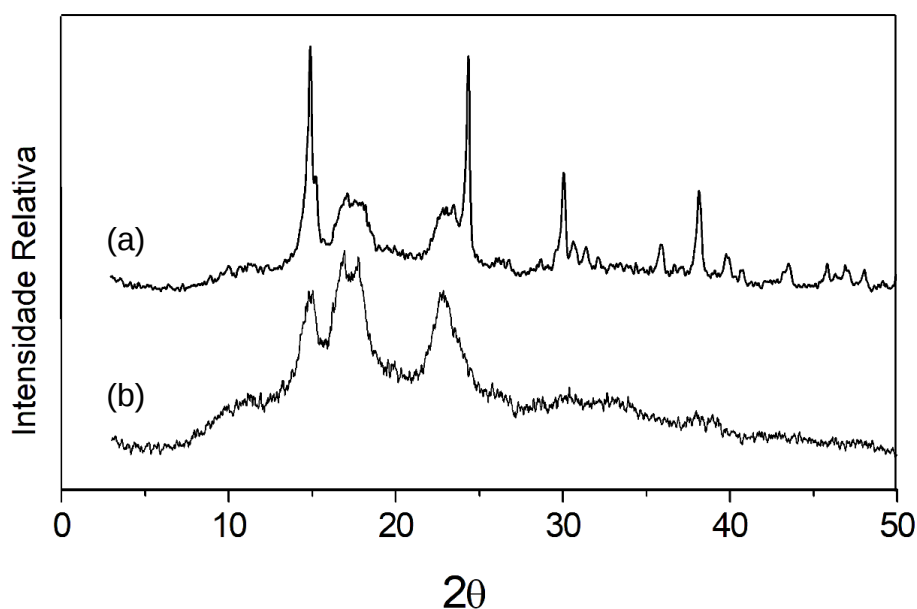
Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey

De acordo com valores encontrados na tabela acima podemos perceber que a amostra (a) apresentou valores diferentes dos encontrados para a amostra (b) isto novamente se deve ao fato de a amostra (a) ainda apresentar o oxalato de cálcio. Pode-se perceber uma grande variação no valor de quebra para as duas amostras, este valor representa a desorganização das moléculas de amido durante o processo de estabilidade térmica que será seguido por uma diminuição de temperatura que levará a demonstrar a tendência de retrogradação do amido, da mesma maneira como o oxalato de cálcio tem uma solubilidade muito baixa em água, mesmo com o aumento de temperatura pode-se considerar que ele influencia o processo de gelatinização da mesma maneira que demonstrado anteriormente através da curva de DSC da amostra.

5.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A difratometria de raios X pelo método do pó das amostras são mostradas na Figura 21.

Figura 21 :Difratometria de raios X amostras (a) e (b)

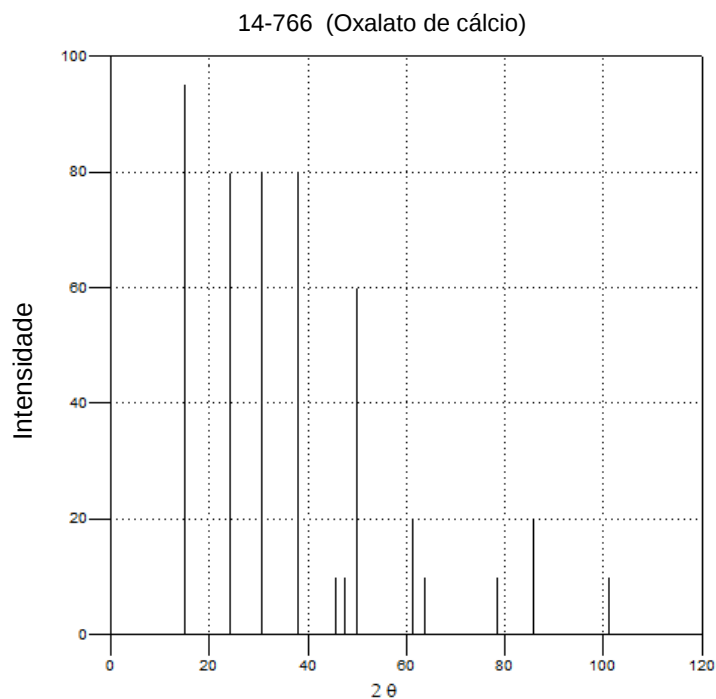


Fonte: O autor

Observa-se que a amostra (a) apresenta picos mais definidos e agudos, aumentando assim a área de seu difratograma correspondente a região cristalina,

isso se deve a presença de Oxalato de cálcio, A Figura 22 mostra a prospecção da carta cristalográfica do oxalato de cálcio (PDF-Number 14-766).

Figura 22: Carta cristalográfica do oxalato de cálcio.



Fonte: (PDF-Number 14-766)

Com auxílio dos dados cristalográficos do oxalato de cálcio foi possível determinar a correspondência entre os picos observados e o padrão de oxalato de cálcio os resultados são mostrados na tabela abaixo:

Tabela 4: Correlação entre os picos de DRx da amostra (a) e a carta cristalográfica do oxalato de cálcio.

2-Teta	Espaçamento -D	Intensidade	Largura	Confiança
14,904	5,9391	212	0,853	100%
17,757	4,9909	91	0,963	96,2%
23,447	3,7910	64	1,087	90,5%
30.000	2.9761	112	0.940	99.6%
38.007	2.3656	64	0.876	95.0%

É possível observar um alto grau de correspondências entre os picos apresentados pela amostra 1 e os picos do padrão de oxalato de cálcio evidenciando assim a presença do mesmo na amostra, os picos de menor intensidade apresentados nas duas amostras sugerem que o amido presente na amostra é do tipo V, isso pode ser sugerido devido a presença de picos próximos a 12, 13, 19 e 20 ° (2 θ). Amidos com esta característica cristalográfica são formados pela cristalização da amilose com lipídios CORRADINI et.al(2005)/ LIMA et. al (2012).

Através do cálculo da integral da área dos picos foi possível determinar a cristalinidades relativas da amostra (b) que é mostrada na Tabela 5.

Tabela 5: Cristalinidade relativa das amostras (a) e (b)

Amostra	Cristalinidade Relativa (%)
Amostra a	-
Amostra b	28,43 ± 0,21 ^b

O cálculo foi realizado apenas para a amostra (b) pois esta foi purificada com o ácido clorídrico deixando assim somente o conteúdo de amido, fato este que justifica a baixa cristalinidade da amostra.

Para a amostra (a) o cálculo de cristalinidade relativa não foi realizado pois como esta amostra ainda apresenta uma grande quantidade de oxalato de cálcio que foi comprovada através da carta cristalográfica bem como dos dados da TG apresentadas anteriormente, sendo assim a mesma apresenta picos de grande intensidade o que representa tratar-se de um cristal e desta forma não se aplica o cálculo de cristalinidade relativa.

6. CONCLUSÕES

Desta maneira pode-se verificar que o tratamento ácido, utilizando ácido clorídrico de concentração 2 mol L^{-1} , no amido da raiz de *Mirabilis jalapa* se mostrou uma maneira eficaz de retirar-se o oxalato de cálcio presente no mesmo visto que a solubilidade do oxalato de cálcio é extremamente baixa em meios básicos e tende a aumentar em meios ácidos, facilitando assim a limpeza das impurezas.

Evidencia-se que as amostras contendo o teor de oxalato de cálcio apresentaram valores distintos ao se comparar com a amostra tratada com o ácido o que realmente nos aponta a necessidade em realizar tal tratamento para obter-se as condições e características que são necessárias para os amidos, pois as amostras purificadas tiveram seus valores aproximados aos encontrados na literatura. As curvas do TG-DSC demonstraram um elevado teor de cinzas o que não ocorreu para a amostra que passou pelo tratamento, fato este que se repetiu para as demais análises reafirmando que o tratamento retirou por completo o oxalato da amostra conforme verificado através das imagens do MEV.

Conclui-se que as amostras não sofreram hidrólise ácida durante o processo de tratamento, visto que ficaram apenas 30 minutos em contato com o meio em questão, percebeu-se que não ocorreram danos aos grânulos de amido que apresentassem alterações significativas em aspectos visuais do grânulo.

Com o tratamento ácido de concentração 2 mol/L conseguiu-se eliminar todo o oxalato de cálcio presente na amostra, isto devido a sua seletividade pelo meio ácido ocasionando na formação de cloreto de cálcio que é extremamente solúvel em água, conseguindo desta forma purificar o amido da raiz de *Mirabilis Jalapa*.

Desta forma indica-se a possibilidade de continuidade do presente trabalho avaliando possíveis modificações físicas e/ou químicas para o amido da raiz de *Mirabilis Jalapa*, pensando-se em utilizações na indústria alimentícia bem como de sua utilização em fármacos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R.R.; LACERDA, L. G.; MURAKAMI, F. S.; BANNACH, G.; DEMIATE, I. M.; SOCCOL C. R.; CARVALHO-FILHO, M. A. S.; SCHNITZLER, E. Thermal analysis as a screening technique for the characterization of babassu flour and its solid fractions after acid and enzymatic hydrolysis. **Thermochimica Acta**. v.519 p. 50-54, 2011.
- ANDRADE, M.M.P.; OLIVEIRA, C.S.de; COLMAN, T.A.D.; COSTA, F.J.O.G.da; SCHNITZLER, E. Effects of heat-moisture treatment on organic cassava starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.115, p.2115-2122, 2014.
- AOKI, K.; CORTÉS, A. A. R.; RAMÍREZ.M.D.C.; HERNÁNDEZ, M.G.; MUÑOZ,F.J.L.; Pharmacological study of antispasmodic activity of *Mirabilis jalapa* Linn flowers. **Journal of Ethnopharmacology** v. 116, p. 96–101, 2008.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 17ed, Washington, 2000.
- ATICHOKUDOMCHAI, N.; VARAVINIT, S.; Characterization and utilization of acid-modified cross-linked Tapioca starch in pharmaceutical tablets. **Carbohydrate polymers**, v. 53, p263-270, 2003.
- BENEVIDES, C. M. de J.; SOUZA, M. V.; SOUZA, R. D. B.; LOPES, M. V.; Fatores Antinutricionais em Alimentos: Revisão. **Campinas: Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 2, 2011.
- BET, C.D., CORDOBA, L.P., RIBEIRO, L.S., SCHNITZLER, E. Common Vetch (*Vicia sativa*) as a New Starch Source: Its Thermal, Rheological and Structural Properties After Acid Hydrolysis. **Food Biophysics**, v. 11, n. 3, p. 275-82, 2016.
- BILLIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents, **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, n.1, p. 60-78, 1991.
- BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, n. 2, p. 85-112, 1998.
- CANEVAROLO, S.V. **Ciência dos polímeros**. Artliber Editora Ltda. 227p. 2006.

CEREDA, M. P. (org.). **Propriedades gerais de amido**. (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, v. 1), São Paulo, Fundação Cargill, 2001, v. 1. Cap. 8. 221p.

CHANG, Y.; LIN, J. Effects of molecular size and structure of amylopectin on the retrogradation thermal properties of waxy rice and waxy cornstarches. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 645-653, 2007.

COLMAN T.A.D., DEMIATE I.M., SCHNITZLER E. The effect of microwave radiation on some thermal, rheological and structural properties of cassava starch, **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 115, p. 2245-2252, 2014

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M.C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1527-1534, 2009.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S. & MATTOSO, L. H. C. - **Polímeros**, 15, p.268, 2005.

DANIS, S.; MATEJ, Z.; MATEJOVÁ, L.; KRUPKA, M. Determination of the thickness of polycrystalline thin films by using X-ray methods. **Thin Solid Films**, 2015.

FU, Z.; CHEN, J.; LUO, S.J.; LIU, C.M.; LIU, W. Effect of food additives on starch retrogradation: A review. **Starch/Stärke**, v. 67, p. 69-78, 2014.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 425-437, 2002.

IONASHIRO, M. **“Giolito” Fundamentos de Termogravimetria e Análise térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**, Giz, São Paulo, 80p, 2005.

KAWAI, K.; TAKATO, S.; TOMOKO, S.; KAZUHITO, K. Complex formation, thermal properties, and in-vitro digestibility of gelatinized potato starch-fatty acid mixtures. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 228-234, 2012.

KHANNA, S.; TESTER, R. F. Influence of purified konjacglucomannan on the gelatinisation and retrogradation properties of maize and potato starches. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 567-576, 2006.

LACERDA, L. G.; AZEVEDO, J. A. M.; FILHO, M. A. S. C.; DEMIATE, I. M.; SCHNITZLER, E.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCOOL, C. R. Thermal characterization of partially hydrolyzed cassava (*Manihot esculenta*) starch granules. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 51, n. 6, Dec. 2008.

LIMA, B. N. B.; Cabral, T. B.; Neto, C. R. P.; Tavares, M. I. B.; Pierucci, A. P.; Estudo do amido de farinhas comerciais comestíveis. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 486-490, 2012.

MALUCELLI, L.C., LACERDA, L.G., FILHO, M.A.S.C., RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, D.E., DEMIATE, I.M., OLIVEIRA, C.S., SCHNITZLER, E. Porous waxy maize starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, n. 1, p. 525-32, 2015

MARCON, M.J.A.; KURTZ, D.J.; RAGUZZONI, J.C.; DELGADILLO, I.; MARASCHIN, M.; SOLDI, V.; REGINATTO, V.; AMANTE, E.R. Expansion Properties of Sour Cassava Starch (Polvilho Azedo): Variables Related to its Practical Application in Bakery. **Starch/Stärke**, v. 61, p.716-726, 2009.

MARQUES, P. T.; Propriedades térmicas, mecânicas e reológicas de filmes de amido de mandioca: efeito da adição de plastificante e de agentes reticulantes, 2005. Dissertação (Programa de Pós- Graduação em Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

MAATHUIS FJM. Physiological functions of mineral macronutrients. **Curr Opin Plant Biol.** v. 12, p. 250–258, 2009. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

MEHBOOB, S.; ALI, T.M; ALAM, F.; HASNAIN, A. Dual modification of native White sorghum (*Sorghum bicolor*) starch via acid hydrolysis succinylation. **LWT – Food Science and Technology**, v .64, p.459-467, 2015.

OKUNLOLA, A.; AKINGBALA, O.; Characterization and evaluation of acid- modified starch of *Dioscorea oppositifolia* (Chinese Yam) as a binder in chloroquine phosphate tablets. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v .49, 2013.

OZEN, B.F.; MAUER, L.J. Detection of Hazelnut Oil Adulteration Using FT-IR Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3898-3901, 2002.

PARKER, R.; RING, S.G. Aspects of the Physical Chemistry on Starch. **Journal of Cereal Science**, v.34, p.1-17, 2001.

PARK, E. Y.; KIM, H.; KIM, J.; LIM, S. Pasting properties of potato starch and waxy maize starch mixtures. **Starch/Stärke**, v. 61, p. 352-357, 2009.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch/Stärke**, v.68, p. 389-420, 2010.

PUMACAHUA, A. R.; DEMIATE, I. M.; SCHNITZLER, E.; BEDIN, A.C.; ROMERO, J.T.; LOPES, J. F.; Morphological, thermal and physicochemical characteristics of small granules starch from *Mirabilis jalapa* L. **Thermochimica Acta**, v. 602, 2015.

REIMER, L. Transmission electron microscopy: physics of image formation and microanalysis. **Springer Series in Optical Science**, v.36, Hawkes PW: Springer, Berlin, 1997.

SCHIRMER, M.; HOCHSTOTTER, A.; JEKLE, M.; ARENDT, E.; T, B. Physicochemical and morphological characterization of different starches with variable amylose/amylopectin ratio. **Food Hydrocolloids**, v. 32, p. 52-63, 2013.

SHARMILA SHAIK.; RAJENDRA, Y.; JAYA, C.R.P. Phytochemical and pharmacological studies of mirabilis jalapa.linn. **International Journal Of Pharmacy&Technology**, 2012.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N.S.; GILL, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v.81, p.219-231, 2003.

SINGH, A.V.; NATH, L.K.; SINGH, A. Pharmaceutical, food and non-food applications of Modified starches: a critical review. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v.9, p.1214-1221, 2010.

SUN, Q.; WANG, T.; XIONG, L.; ZAO, Y. The effect of heat moisture treatment on physicochemical properties of early indica rice. **Food Chemistry**, v.141, p.853-857, 2013.

TENG, L. Y.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y. A. Rheological and textural studies of fresh and freeze-thawed native sago starch-sugar gels. Comparisons with other starch sources and reheating effects. **Food Hydrocolloids**, v. 31, p. 156-165, 2013

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch - Composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151–165, 2004.

WENDLANDT, W. WM. **Thermal Analysis**, Wiley Interscience publication, Ed.: 3, p.815, 1986.

WHITE PJ, BROADLEY MR. Calcium in plants. *Ann Bot (Lond)* v. 92, p. 487–511, 2003. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

WURZBURG, O.B.; Modified Starches: Properties and Uses. **Boca Raton: CRC Press**, p. 277, 1989.

XU, J.; FAN, X.; NING, Y.; WANG, P.; JIN, Z.; LV, H. Effect of spring dextrin on retrogradation of wheat and corn starch gels. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 361-367, 2013.

ZACHARIA, S.M.; ALEYKUTTY, N.A.; JAYKAR,B.; VISWANAD, V.; HALIMA,O.A. Evaluation of antioxidant and total flavanoid content of *Mirabilis jalapa* linn using in vitro models. **International Research Journal of Pharmacy**, 2012 (a).

ZACHARIA, S.M.; ALEYKUTTY, N.A.; JAYKAR,B.; VISWANAD, V.; HALIMA,O.A. Free radical scavenging and antibacterial activity of *Mirabilis jalapa* linn using *in vitro* models. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, 2012 (b).

ZAVAREZE, E. da R.; DIAS, A. R. G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, V. 83, p. 317-328, 2011.