

JAQUELINE DE MORAES

**OBTENÇÃO DE AMIDO RESISTENTE POR TRATAMENTO
HIDROTÉRMICO E POR INTERCRUZAMENTO, E SUA
INCORPORAÇÃO EM BOLOS**

São José do Rio Preto - SP

2016

JAQUELINE DE MORAES

**OBTENÇÃO DE AMIDO RESISTENTE POR TRATAMENTO
HIDROTÉRMICO E POR INTERCRUZAMENTO, E SUA
INCORPORAÇÃO EM BOLOS**

Tese apresentada para obtenção do Título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos junto ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Célia Maria Landi Franco

São José do Rio Preto - SP

2016

Moraes, Jaqueline de.

Obtenção de amido resistente por inter cruzamento e por tratamento hidrotérmico, e sua incorporação em bolos / Jaqueline de Moraes. -- São José do Rio Preto, 2016

106 f. : il., tabs.

Orientador: Célia Maria Landi Franco

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Amido - Indústria. 3. Carboidratos. 4. Bolos. 5. Alimentos - Teor fibroso. 6. Digestão. I. Franco, Célia Maria Landi. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 664.2

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Campus de São José do Rio Preto

JAQUELINE DE MORAES

OBTENÇÃO DE AMIDO RESISTENTE POR TRATAMENTO
HIDROTÉRMICO E POR INTERCRUZAMENTO, E SUA INCORPORAÇÃO
EM BOLOS

Tese apresentada para obtenção do Título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos junto ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Célia Maria Landi Franco
UNESP – São José do Rio Preto
Orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Maria Teresa Pedrosa Silva
FEA- UNICAMP

Prof^ª. Dr^ª. Thais de Souza Rocha
UEL - Londrina

Prof. Dr. José Francisco Lopes Filho
UNESP – São José do Rio Preto

Prof^ª. Dr^ª. Ana Carolina Conti e Silva
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto, 15 de fevereiro de 2016

AGRADECIMENTOS

O tempo de um doutorado é, ao meu ver, muito grande e impossível de se transpor sozinho, por isso se chega ao final com uma lista muito grande de pessoas a agradecer sem as quais muitas coisas não seriam possíveis, ou se tornariam muito mais difíceis.

Agradeço grandemente à professora Dra. Célia Maria Landi Franco pela orientação durante o desenvolvimento desse projeto, pela confiança e pela compreensão.

À FAPESP pela concessão da bolsa de doutorado através do processo 2011/22413-0 e o apoio financeiro à pesquisa.

Às colegas do laboratório de cereais, Mariana, Flávia, Jéssica, Jeferson e Márcia pela convivência, pela ajuda nas análises e discussões e por todo apoio.

Aos professores e técnicos do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da UNESP – IBILCE por toda a ajuda.

Aos amigos que estiveram ao meu lado durante todo esse período e aqui a lista realmente é muito grande, cada um de vocês foi de uma importância sem igual para que eu pudesse concluir essa etapa, em cada reunião nos domingos à noite eu fui fortalecida para mais uma semana e realmente não sei como agradecer a vocês por isso.

Agradeço especialmente à Catherine, Caroline, Mirian, Larissa, Plínio, Tiago e Rafael, amigos muito especiais que me deixaram saber que sempre poderia contar com eles, por todos os conselhos, todas as conversas, todo o consolo, apoio, por todos os bons momentos e por fazerem esse período mais leve.

À minha família, meus pais Aurora e Alceu, meus irmãos Josiane, Jorge e Juliane, meus cunhados Marlon e André e meus sobrinhos Pedro, Lucas, João, Luís, Otávio e Vicente por todo apoio, pela segurança que me passam, por confiarem em mim e por todo amor que demonstram.

À Fabiana e Leonardo vocês sempre serão parte da minha família.

À todas as pessoas que no último ano me ajudaram, me incentivaram e me fizeram confiar em mim e ter a certeza para o próximo passo.

A Deus, por providenciar cada uma dessas experiências, por me dar exatamente o que eu precisava em cada momento, por colocar pessoas tão especiais em meu caminho, e por sempre me lembrar de Seu amor.

“Portanto, procurai com zelo os melhores dons, e eu
vos mostrarei um caminho ainda mais excelente.”

(I Coríntios 12:31)

RESUMO

Amido resistente (AR) é definido como o amido, ou fração de amido, que não é digerido no trato gastrointestinal e pode ser fermentado no cólon apresentando propriedades funcionais similares às das fibras alimentares. A aplicação de AR em produtos de panificação permite aumentar o teor de fibras desses alimentos sem provocar grandes alterações em suas características sensoriais demandando menores ajustes na formulação devido à menor absorção de água destes comparados às fibras tradicionais. Nesse trabalho amidos de banana, batata, mandioca e milho foram modificados por tratamento térmico a baixa umidade (TTBU), e por intercruzamento visando a obtenção de AR e sua aplicação em bolos. O TTBU foi aplicado aos amidos condicionados a 18, 20 e 35 % de umidade utilizando ciclos de aquecimento (130 °C), resfriamento (4 °C) e congelamento (-18 °C). O intercruzamento foi realizado utilizando uma mistura de trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio (99:1) a 45 °C durante diferentes tempos. As características estruturais dos amidos nativos e modificados foram estudadas usando difração de raios-X, ressonância magnética nuclear de ^{31}P (^{31}P RMN), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e calorimetria explanatória diferencial (DSC). As propriedades de pasta, o teor de fósforo e digestibilidade dos amidos foram também determinados. A modificação dos amidos por TTBU resultou em baixos teores de AR que não ultrapassou 2,57% nos amidos gelatinizados em todas as condições testadas. O intercruzamento aumentou o teor de AR que atingiu 88,66, 65,40, 60,08, e 43,56 % nos amidos de batata, mandioca, banana e milho, respectivamente, com teores máximos de fósforo permitidos para aplicação em produtos alimentícios. O aumento no tempo de tratamento resultou em maiores teores de fósforo, redução nos teores de amido rapidamente digerível e amido lentamente digerível e aumento no teor de AR em todos os amidos. Porém os amidos de diferentes fontes botânicas apresentaram diferentes velocidades de incorporação de fósforo e diferentes teores de AR de acordo com o teor de fósforo incorporado. As temperaturas de gelatinização dos amidos intercruzados apresentaram pequenas variações em comparação aos amidos nativos, porém nenhum dos amidos modificados por intercruzamento apresentou pico de viscosidade quando analisado em Rápido Visco Analisador, indicando a formação de ligações covalentes que resultaram em uma estrutura granular rígida. Os padrões de difração de raios-X não foram modificados com o intercruzamento, porém a cristalinidade relativa dos amidos foi alterada, com redução nos amidos de banana, batata e mandioca e aumento no amido de milho. A inclusão dos grupamentos fosfato durante o intercruzamento,

que acontece inicialmente na região amorfa dos grânulos, resulta no aumento do volume dessa região e consequente alteração na região cristalina. Os espectros obtidos por ^{31}P RMN permitiram observar a formação de diferentes formas de ésteres de fosfato que mostraram grande influência na digestibilidade dos amidos. Entre esses ésteres estão o monoamido monofosfato (MSMP), diamido monofosfato (DSMP), monoamido difosfato (MSDP) e o monoamido monofosfato cíclico (ciclíco MSMP), os quais alteram a digestibilidade por dificultar o acesso das enzimas devido ao volume das estruturas formadas (MSMP, MSDP e ciclíco MSMP) ou pelo inter cruzamento das cadeias (MSDP). O impedimento estérico promovido pela inclusão dos grupos fosfatos pode estar fortemente relacionado ao aumento no teor de AR dos amidos. O teor de fósforo incorporado mostrou ter menor influência do que a forma como esse fósforo se liga as moléculas de amido para a redução da digestibilidade enzimática. A adição de AR em bolo inglês resultou em produtos com maior volume, maior claridade no miolo, e menor retrogradação, mas o teor de fibras obtido foi inferior ao necessário para que os bolos possam ser considerados como fonte de fibras.

Palavras-chave: Amido resistente; amido inter cruzado; digestibilidade; estrutura.

ABSTRACT

Resistant starch (RS) is defined as starch, or starch fraction, which is not digested in the gastrointestinal tract and can be fermented in the colon performing similar functional properties to those of dietary fiber. The RS application in bakery products can increase the fiber content of these foods without causing major changes in their sensory characteristics, requiring minor adjustments in formulation due to lower water absorption of RS compared to traditional fibers. In this work banana, cassava, corn and potato starches have been modified by heat moisture treatment (HMT), and crosslinking to obtain RS and then apply it in cakes. The HMT was conducted in starch conditioned at 18, 20 and 35% moisture using heating (130 °C), cooling (4 °C) and freezing (-18 °C) cycles. The starches were cross-linked using a mixture of sodium trimetaphosphate and sodium tripolyphosphate (99:1) at 45 °C for different times. The structural characteristics of native and modified starches were studied using X-ray diffraction, ³¹P nuclear magnetic resonance (³¹P NMR), scanning electron microscopy (SEM) and differential scanning calorimetry (DSC). Pasting properties, phosphorus content and digestibility of starches were also determined. The modification of starches by HMT resulted in low RS content, which didn't exceed 2.57% in gelatinized starches for all conditions used. The RS content of cross-linked starches increased reaching 88.66, 65.40, 60.08 and 43.56% for potato starch, cassava, banana and corn, respectively, with acceptable phosphorous content. The higher treatment time resulted in higher levels of phosphorus, reduction in starch rapidly digestible starch (RDS) and slowly digestible starch (LDS) contents and increase the RS content of all starches. However, starches of different botanical sources show different behavior during phosphorylation and different RS contents. The gelatinization temperature of crosslinked starches had small changes compared to native starches, but the crosslinked starches no showed viscosity peak when analyzed by Rapid Visco Analyzer, indicating the formation of covalent bonds which result in a rigid granular structure. The X-ray diffraction patterns did not change with crosslinking, although the relative crystallinity decreased in banana, potato and cassava starches and increased in corn starch. The inclusion of phosphate groups during the crosslinking, which initially occurs in the amorphous region of the granule, promotes swelling in this region and results in change in the crystalline region. The formation of different phosphate esters was observed in ³¹P NMR spectras, that showed great influence on digestibility of starch. Among such esters are the monostarch monophosphate (MSMP) distarch monophosphate (DSMP), monostarch diphosphate (MSDP) and the cyclic

monostarch monophosphate (cyclic MSMP), which alter the digestibility by hindering access of enzymes due to the volume of the formed structures (MSMP, MSDP and cyclical MSMP) or by cross-link the chains (MSDP). The steric hindrance promoted by the inclusion of phosphate groups may be strongly related to the increase in the RS content of starches. The incorporated phosphorus content was found to have less influence than that the way the phosphorous is linked in the starch molecules to reduce enzymatic digestibility. The addition of RS in cakes resulted in products with higher volume, greater crumb clarity, and lower retrogradation, but the fiber content was lower than that for the cakes can be considered as a source of fiber.

Key-words: Resistant starch; crosslinked starch; digestibility; structure.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 AMIDO	17
3.2 FATORES QUE INFLENCIAM A DIGESTIBILIDADE DOS AMIDOS.....	18
3.3 CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A DISGESTIBILIDADE DOS AMIDOS	20
3.4 AMIDO RESISTENTE	21
3.5 EFEITOS FISIOLÓGICOS DO AMIDO RESISTENTE	24
3.6 FONTES DE AMIDO RESISTENTE	25
3.7 MÉTODOS DE MODIFICAÇÃO	26
3.7.1 Intercruzamento	27
3.7.2 Tratamento térmico a baixa umidade (TTBU).....	30
3.8 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE AR	31
3.9 APLICAÇÕES DO AR EM ALIMENTOS.....	36
3.10 TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE BOLOS.....	38
3.10.1 Ingredientes.....	39
4 MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1 OBTENÇÃO DOS AMIDOS NATIVOS E MODIFICADOS.....	44
4.1.1 Isolamento dos amidos.....	44
4.1.2 Tratamento térmico a baixa umidade	46
4.1.3 Intercruzamento	46
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS	46
4.2.1 Composição química dos amidos.....	46
4.2.2 Determinação do teor de amilose aparente	47
4.2.3 Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina.....	47
4.2.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear do ³¹ P (³¹ P RMN).	48
4.2.5 Espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	49
4.2.6 Microscopia eletrônica de varredura.....	49
4.2.7 Difração de Raios-X e cristalinidade relativa	50
4.2.8 Propriedades térmicas	50
4.2.9 Propriedades de pasta.....	50
4.2.10 Determinação dos teores de amido resistente (AR)	51
4.3 APLICAÇÃO DOS AMIDOS NA PRODUÇÃO DE BOLO INGLÊS	53
4.3.1 Caracterização da farinha de trigo.....	53

4.3.2	Formulação dos bolos.....	53
4.3.3	Densidade das massas.....	54
4.3.4	Volume específico dos bolos	54
4.3.5	Determinação instrumental da cor do miolo e crosta dos bolos.....	54
4.3.6	Umidade dos bolos.....	55
4.3.7	Textura instrumental dos bolos.....	55
4.3.8	Análise térmica dos bolos	55
4.3.9	Padrão de difração de raios-X.....	55
4.3.10	Determinação do teor de amido resistente dos bolos	56
4.4	ANÁLISE DOS RESULTADOS	56
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS NATIVOS.....	57
5.1.1	Composição química.....	57
5.1.2	Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina	59
5.1.3	Microscopia eletrônica de Varredura.....	60
5.1.4	Difração de Raios-X.....	61
5.1.5	Propriedades de pasta.....	62
5.1.6	Propriedades térmicas	64
5.1.7	Teor de amido resistente	65
5.2	MODIFICAÇÕES	68
5.2.1	Intercruzamento	68
5.2.2	Tratamento térmico a baixa umidade (TTBU).....	79
5.3	APLICAÇÃO DOS AMIDOS NA PRODUÇÃO DE BOLO	81
5.3.1	Características da farinha de trigo.....	81
5.3.1	Avaliação da qualidade dos bolos	81
5.3.2	Umidade dos bolos.....	83
5.3.3	Avaliação instrumental da textura dos bolos	84
5.3.4	Análise térmica	86
5.3.5	Difração de Raios-X.....	87
5.3.6	Teor de fibras	89
6	CONCLUSÕES	90
7	REFERÊNCIAS	91

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1: Protocolo para determinação de amido rapidamente digerível (ARD), lentamente digerível (ALD) e amido resistente (AR) segundo Englyst, Kingman e Cummings (1992).</i>	32
<i>Figura 2: Protocolo de determinação de amido resistente (AR) segundo Goñi, Garcia-Alonso e Saura-Calixto (1996).</i>	34
<i>Figura 3: Determinação de AR como fibra dietética pelo método 991.43 da AOAC.</i>	36
<i>Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura dos amidos nativos de banana (a), batata (b), mandioca (c) e milho (d).</i>	60
<i>Figura 5: Difractogramas de Raios-X dos amidos nativos de banana (a), batata (b), mandioca (c) e milho (d).</i> .	62
<i>Figura 6: Perfil viscoamilográfico dos amidos nativos de banana (■), batata (□), mandioca (○) e milho (●).</i> ...	63
<i>Figura 7: Perfil endotérmico dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho determinados por DSC</i> 65	
<i>Figura 8: Espectros de ³¹P-RMN das fosfodextrinas obtidas dos amidos nativos e inter cruzados de banana, batata, mandioca e milho.</i>	71
<i>Figura 9: Espectros de espectroscopia FT-IR dos amidos nativos e modificados de banana, batata, mandioca e milho.</i>	72
<i>Figura 10: Microscopias eletrônicas de varredura dos amidos de banana nativo (a), banana inter cruzado por 3h (b), batata nativo (c), batata inter cruzado por 2,5 h (d), mandioca nativo (e), mandioca inter cruzado por 2,5 h (f), milho nativo (g) e milho inter cruzado por 3 h (h).</i>	73
<i>Figura 11: Imagens internas e externas dos bolos padrão e adicionados de 15 e 20% de AR.</i>	82
<i>Figura 12: Teor de umidade dos bolos com e sem substituição de AR durante o tempo de armazenamento.</i>	84
<i>Figura 13: Difractogramas de Raios-X das amostras de bolo substituídas ou não de AR, durante o armazenamento.</i>	88

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1: Valores aproximados para amido total (AT), amido resistente (AR) e fibra dietética total (FDT), de alguns alimentos.</i>	<i>26</i>
<i>Tabela 2: Quantidade dos ingredientes utilizados nas formulações padrão e com substituição de AR.</i>	<i>54</i>
<i>Tabela 3: Composição química dos amidos nativos de diferentes fontes botânicas.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 4: Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho.</i>	<i>59</i>
<i>Tabela 5: Propriedades de pasta dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabela 6: Propriedades térmicas dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho.</i>	<i>64</i>
<i>Tabela 7: Teores de amido resistente dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho obtidos pelo método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) adaptado por Sang, Prakash e Seib (2007) e pelo método 991.43 da AOAC.</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 8: Teor de fósforo dos diferentes amidos nativos e intercruzados em diferentes tempos.</i>	<i>69</i>
<i>Tabela 9: Cristalinidade relativa dos amidos nativos e modificados por intercruzamento por diferentes tempos.</i>	<i>74</i>
<i>Tabela 10: Propriedades térmicas de gelatinização dos amidos de banana, batata, mandioca e milho nativos e intercruzados em diferentes tempos.</i>	<i>75</i>
<i>Tabela 11: Digestibilidade dos amidos nativos e modificados por intercruzamento em diferentes tempos, determinado pelo método modificado de Englyst, Kingman e Cummings (1992).....</i>	<i>77</i>
<i>Tabela 12: Teor de AR dos diferentes amidos nativos e intercruzados obtido pelo método 991.43 da AOAC.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabela 13: Teor de AR dos amidos modificados por TTBU, determinados pelo método de Englyst et al. (1992) sem prévia gelatinização dos amidos.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabela 14: Teor de AR dos amidos modificados por TTBU em diferentes teores de umidade utilizando o método 991.43 da AOAC.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabela 15: Parâmetros de avaliação da qualidade dos bolos com e sem adição de AR.</i>	<i>83</i>
<i>Tabela 16: Parâmetros de avaliação instrumental da textura dos bolos com e sem substituição de AR durante o armazenamento.</i>	<i>85</i>
<i>Tabela 17: Propriedades térmicas dos bolos com e sem substituição de AR durante o armazenamento.</i>	<i>87</i>
<i>Tabela 18: Cristalinidade relativa dos bolos de diferentes formulações durante o armazenamento.</i>	<i>89</i>
<i>Tabela 19: Teor de fibra das amostras de bolo com e sem substituição de AR.</i>	<i>89</i>

1 INTRODUÇÃO

O amido é um carboidrato encontrado em abundância na natureza competindo em quantidade com a celulose. É composto por dois tipos de macromoléculas, a amilose e amilopectina, que são organizadas em grânulos relativamente insolúveis em água.

A taxa e a extensão com que o amido é digerido no organismo são dependentes de uma série de fatores, como origem botânica, estrutura cristalina, forma e regularidade da superfície dos grânulos, forma como é consumido, interação com outros constituintes da matriz alimentar em que está inserido.

De acordo com a digestibilidade apresentada o amido pode ser classificado em três tipos, amido rapidamente digerível (ARD), amido lentamente digerível (ALD) e amido resistente (AR).

O ARD fornece energia de forma rápida, uma vez que é convertido em glicose em até 20 min após seu consumo. O ALD fornece glicose ao sangue durante períodos mais longos, por ser convertido em glicose em até 120 min. O ALD tem um apelo especial na produção de alimentos voltados a diabéticos, por reduzir os picos de hiper e hipoglicemia, e alimentos para praticantes de esporte, por fornecer energia durante períodos de tempos maiores.

O AR por sua vez tem sido fortemente investigado por apresentar uma série de benefícios à saúde, pois ele não é digerido no sistema digestivo chegando ao cólon, onde é fermentado. O AR é dividido em 5 grupos, sendo que desses os tipos 3 e 4 são de maior interesse, pois apresentam maior estabilidade às etapas de processamento dos alimentos, ou seja podem ser aplicados na produção de alimentos que manterão níveis consideráveis de AR.

O AR3 é formado principalmente pela retrogradação do amido, de forma que métodos que envolvem aquecimento e subsequente resfriamento, com ou sem aplicação de etapas de hidrólise, são utilizados para sua produção. O tratamento térmico a baixa umidade (TTBU) é um método de modificação física que tem sido amplamente estudado na produção de AR, por promover uma maior interação entre as cadeias de amido, fortalecendo a estrutura granular, o que pode reduzir sua taxa de digestibilidade.

O AR4 é composto de amidos quimicamente modificados. Esses amidos são submetidos a métodos de modificação que criam ligações intra e intermoleculares nas cadeias de amido, dificultando o processo de gelatinização. O intercruzamento é um método químico em que ligações covalentes são formadas pela presença de agentes bi ou polifuncionais

ligados às cadeias de amido. A presença de grupamentos fosfatos também reduz o acesso das enzimas reduzindo a digestibilidade dos amidos.

O AR apresenta características similares à de fibra dietética, podendo dessa forma ser usado em conjunto com as mesmas, ou substituindo-as no enriquecimento de produtos provocando alterações sensoriais mais sutis, comparado às fibras tradicionais. Este trabalho teve como objetivo a produção de AR de diferentes fontes, pelo emprego dos métodos de tratamento térmico a baixa umidade e intercruzamento, visando sua posterior aplicação na produção de bolos.

2 OBJETIVOS

Obter amidos resistentes a partir dos amidos de banana verde, mandioca, batata e milho normal, determinar suas características estruturais e físico-químicas e aplicá-los na produção de bolos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar estrutural e físico-quimicamente os amidos nativos de banana verde, batata, mandioca e milho.
- Investigar o efeito da modificação dos amidos por tratamento térmico a baixa umidade e por intercruzamento com trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio na produção de amidos resistentes.
- Investigar o efeito da adição do amido resistente na qualidade de bolos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AMIDO

O amido é formado por dois polímeros, a amilose e a amilopectina, formados por unidades de α -D-glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo α -(1→4) e α -(1→6). A amilose é uma molécula essencialmente linear, contendo aproximadamente 99% de ligações α -(1→4). A amilopectina, por sua vez, apresenta peso molecular superior ao da amilose e uma estrutura esférica formada por centenas de cadeias lineares compostas de 20 a 30 unidades de glicose unidas por ligações α -(1→4), que por sua vez são ligadas umas as outras por ligações α -(1→6). Esses polímeros são organizados na forma de grânulos, que apresentam uma estrutura semicristalina (SINGH *et al.*, 2003).

A qualidade nutricional do amido é diretamente relacionada ao processamento e estado físico do amido. A liberação de glicose como fonte de energia para o organismo e o tempo de digestão são as propriedades fisiológicas mais importantes do amido (LEHMANN; ROBIN, 2007).

O processo de digestão do amido e derivados acontece em etapas. Na boca, o amido entra em contato com a α -amilase presente na saliva que quebra as ligações poliméricas produzindo oligossacarídeos de cadeias curtas. No estômago, o amido é misturado à pepsina, lipase gástrica e ácido clorídrico. Nessa fase, não há digestão significativa do amido, porém a fragmentação dos alimentos é facilitada reduzindo a matriz em que o amido está inserido. No intestino, o amido, já parcialmente digerido, é hidrolisado pela α -amilase pancreática. A taxa inicial de reação nessa fase da hidrólise é menor quanto maior o grau de ramificação dos oligossacarídeos presentes, devido ao impedimento estérico que as ramificações apresentam, dificultando o acesso da enzima. Maltose e dextrinas ramificadas são obtidas, e convertidas em glicose pelas enzimas maltose-glucoamilase e sucrase-isomaltase (NUGENT, 2005; LEHMANN, ROBIN, 2007; PERERA; MEDA; TYLER, 2010). Contudo, a digestão do amido no intestino delgado de humanos é um processo contínuo, que para determinados amidos pode não ser concluído (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

A teoria de que o amido pode não ser hidrolisado no sistema digestivo foi proposta pela primeira vez por Englyst e Cummings (1985). Segundo esses autores, a extensão da

digestibilidade do amido no intestino delgado pode variar de acordo com as propriedades estruturais do amido e etapas de processamento a que ele é submetido, sendo que uma quantidade substancial de amido pode chegar ao cólon (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

3.2 FATORES QUE INFLUENCIAM A DIGESTIBILIDADE DOS AMIDOS

A resistência dos amidos ao ataque enzimático e as diferentes velocidades com que o processo de digestão acontece podem ser relacionadas a fatores intrínsecos e extrínsecos (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

Entre os fatores extrínsecos podemos citar a extensão da mastigação que irá determinar a suscetibilidade física do amido que está contido em estruturas rígidas; o tempo de transição do alimento da boca até o íleo terminal; a concentração de amilases no intestino; a quantidade de amido presente e a presença de outros constituintes que podem retardar a hidrólise enzimática (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

A taxa e velocidade de hidrólise enzimática dos amidos também são dependentes de fatores como fonte botânica, morfologia e organização cristalina (LEHMANN; ROBIN, 2007). A matriz do alimento em que os grânulos de amido estão inseridos pode funcionar como uma barreira física à amilase pancreática, ou impedir o inchamento e conseqüente rompimento dos grânulos de amido tornando o processo de digestão mais lento, como no caso de grãos, sementes e outras estruturas celulares rígidas (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992). Alimentos de partículas pequenas que apresentam área superficial grande em relação ao volume são digeridos mais rapidamente que partículas maiores (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008).

Um dos fatores mais importantes na digestibilidade dos amidos é a proporção amilose:amilopectina. As cadeias de amilose e amilopectina, por apresentarem características estruturais e fisiológicas diferentes, apresentam diferentes reações no organismo. O caráter linear da amilose dificulta o acesso da β -amilase às unidades de glicose terminal da cadeia, no intestino delgado. A cadeia de amilopectina, por outro lado apresenta uma estrutura fortemente ramificada, com grande quantidade de glicoses terminais disponíveis para a ação da β -amilase (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008). Amidos com maiores proporções de amilose apresentam menor digestibilidade e são comumente utilizados como fonte na produção de amido resistente, enquanto amidos com baixos teores de amilose são fonte de

ARD (NUGENT, 2005; LEHMANN; ROBIN, 2007; LI *et al.*, 2008). A amilose apresenta capacidade de formar complexos com lipídeos, que competem com as cadeias de amilose envolvidas na formação de AR (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008), e são relatados como a quinta forma de AR (JANE *et al.*, 2009).

A morfologia do grânulo do amido também reflete em sua digestibilidade. Amidos com tamanhos de grânulos maiores são mais resistentes à hidrólise enzimática, devido a menor área superficial relativa, como no caso do amido de batata (LEHMANN; ROBIN, 2007; SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008; SINGH; DARTOIS; KAUR, 2010). A presença de poros, fissuras e irregularidades na superfície dos grânulos, como no caso dos amidos de milho, arroz e trigo, também são responsáveis por aumentar a digestibilidade dos amidos, quando comparado a amidos que apresentam grânulos com superfícies lisas e uniformes, como, por exemplo, no amido de batata. A presença de poros nos grânulos facilita o acesso das enzimas ao interior dos grânulos (LEHMANN; ROBIN, 2007; SINGH; DARTOIS; KAUR, 2010).

Os grânulos de amido apresentam estruturas cristalinas com padrões de difração de raios- X específicos, sendo classificados como dos tipos A, B ou C. Sarko e Wu (1978) propuseram uma estrutura cristalina para amilose A e B, baseada em duplas hélices, de fios paralelos, voltada para o lado direito, com 6 unidades glicosídicas por volta. Na unidade celular estas duplas hélices encontram-se empacotadas. Para os dois tipos polimorfos, A e B, a conformação das duplas hélices é a mesma, contudo as diferenças estão no empacotamento cristalino e no teor de água. A amilose A apresenta uma unidade celular ortorrômbica, com 8 moléculas de água e a amilose B, uma unidade celular hexagonal com 36 moléculas de água ocupando um canal central e portanto apresenta uma estrutura mais aberta que o padrão cristalino do tipo A. O padrão do tipo C é uma mistura dos padrões A e B e apresenta uma estrutura é intermediária entre as formas A e B na densidade do empacotamento. Apesar da estrutura mais compacta, o padrão cristalino tipo A é menos resistente a hidrólise comparado ao tipo B devido aos canais que conectam a região central do hilo à superfície dos grânulos dos amidos (ZHANG *et al.*, 2016). Além disso, o padrão cristalino do tipo A apresenta maior quantidade de cadeias curtas que são mais suscetíveis do que as cadeias longas e podem resultar numa estrutura cristalina fragilizada, enquanto as cadeias longas, típicas do padrão tipo B, formam duplas hélices mais estáveis, estabilizadas por pontes de hidrogênio e

distribuídas por toda a região cristalina (LEHMANN; ROBIN, 2007; SINGH; DARTOIS; KAUR, 2010).

3.3 CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A DIGESTIBILIDADE DOS AMIDOS

A qualidade nutricional do amido é dependente do processamento a que o mesmo é submetido e ao estado em que se encontra. A liberação de glicose como fonte de energia e a velocidade da digestão são as principais propriedades fisiológicas do amido. A digestibilidade do amido no intestino delgado pode variar entre rápida, em produtos obtidos a partir de amidos hidrolisados, até não digeríveis, como no caso dos amidos resistentes (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992). E de acordo com essa velocidade o amido pode ser classificado em três tipos:

Amido rapidamente digerível (ARD): é constituído principalmente de amido amorfo disperso. Encontrado em altas quantidades em produtos cozidos com altos teores de umidade (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006). É quimicamente definido e quantificado como amido que é convertido em glicose em até 20 minutos quando incubado com amilase pancreática e amiloglicosidase a temperatura de 37 °C (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

Amido lentamente digerível (ALD): São classificadas como amidos lentamente digeríveis as frações de amido convertidas em glicose em até 120 minutos quando incubado a 37 °C com amilase pancreática e amiloglicosidase (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

Os ALD incluem principalmente amidos que perderam sua estrutura cristalina no processamento, mas estão fisicamente inacessíveis devido à proteção fornecida pela matriz, os amidos nativos que apresentam padrão cristalino do tipo A, e os amidos com tipo cristalino B que são consumidos na sua forma granular. O ALD, da mesma forma que o ARD, é completamente digerido no intestino delgado, porém de forma mais lenta (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006).

O ALD apresenta baixos níveis de glicose pós-prandial, e mantém os níveis de glicose no sangue por maiores períodos de tempo comparado ao ARD, que apresenta rápida resposta glicêmica com picos e quedas. Além disso, as respostas metabólicas e hormonais relativas à glicemia pós-prandial diferem comparadas aos amidos de rápida digestão. Esses fatores tem implicação no desempenho físico e mental, saciedade e controle de diabetes (HAN;

BeMILLER, 2007; LEHMANN; ROBIN, 2007). Outro benefício dos produtos ricos em ALD é o reduzido impacto no índice glicêmico (IG), que resulta em menores riscos de diabetes e doenças cardiovasculares (HAN; BeMILLER, 2007). Alimentos ricos em ALD podem ser utilizados por atletas por fornecer glicose por maiores períodos e de forma mais consistente (HAN; BeMILLER, 2007).

Amido resistente (AR): O conceito de amido resistente refere-se à soma do amido e produtos de degradação do amido que não são absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992). Comparando a definição de fibra (de acordo com a legislação, Resolução RDC 40/2001 da ANVISA/MS: "fibra é qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano, determinado segundo os métodos publicados pela AOAC em sua edição mais atual") e de amido resistente pode-se dizer que o AR nada mais é do que uma fibra dietética. Deste modo, esta fração do amido tem sido relacionada a efeitos benéficos locais e sistêmicos por meio de uma série de mecanismos, semelhantes ao da fibra alimentar.

3.4 AMIDO RESISTENTE

A inclusão do AR na dieta humana tem sido ampliada devido aos efeitos prebióticos e benefícios a ele associado relativos à saúde do colón (SANG; PRAKASH; SEIB, 2007). Segundo esses autores, o AR é fermentado pelas bactérias da flora do cólon liberando ácidos graxos de cadeias curtas como acetato, butirato, propionato e gases como CO₂, H₂ e CH₄ via piruvato, causando pequeno ou nenhum desconforto, e produzindo um leve efeito laxativo devido ao aumento da massa microbiana. Esses ácidos graxos, em especial o butirato, desempenham um importante papel na eliminação de células cancerígenas e na redução da proliferação de células da mucosa do cólon (ALSAFFAR, 2011).

Inúmeros estudos têm mostrado os efeitos positivos do amido resistente em casos de diabetes (WOLF; BAUER; FAHEY, 1999), obesidade (WARREN; HENRY; SIMONITE, 2003), doenças cardiovasculares (LUNN; BUTTRISS, 2007) e câncer de cólon (SANG; PRAKASH; SEIB, 2007; SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008). Há indícios de que o AR influencia na redução do colesterol sérico e de triglicerídeos, além de apresentar efeitos semelhantes ao das fibras dietéticas no trato gastrointestinal (BROUNS *et al.*, 2007). O amido resistente apresenta um reduzido valor calórico e diminui a liberação de insulina, quando comparado com amidos de rápida digestão (RANHOTRA; GELROTH; GLASER, 1996).

Os constituintes do AR são bastante heterogêneos e classificados a partir de sua origem e características físicas dos amidos na forma em que são consumidos, após serem submetidos aos processos tecnológicos que podem afetar o conteúdo de AR nos alimentos. Desta forma, tem-se a classificação do AR em cinco tipos.

Amido resistente do tipo 1, ou AR1 é o amido inacessível fisicamente. Esta resistência do amido à digestão pode ocorrer se o amido estiver contido em uma estrutura inteira ou parcialmente rompida da planta, como nos grãos, ou no caso da parede celular rígida inibir o intumescimento e dispersão, como no caso das leguminosas (NUGENT, 2005). Este tipo de amido é altamente afetado pela mastigação e pelas etapas de processamento (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006). A moagem, por exemplo, é um processo que envolve altas taxas de cisalhamento e por isso danifica as regiões cristalinas dos grânulos de amido, além de romper a estrutura dos grânulos aumentando a suscetibilidade enzimática. O processo de moagem também remove a proteção que a estrutura dos grãos oferece aos grânulos de amido, por esse motivo os teores de AR1 são baixos em farinhas (ALSAFFAR, 2011). O AR1, no entanto é estável ao aquecimento, nas condições normais de cozimento, o que permite sua aplicação em uma grande quantidade de alimentos (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011).

Amido resistente do tipo 2, ou AR2, refere-se aos grânulos de amido naturalmente resistentes às enzimas. O modo como as cadeias de amilose e amilopectina empacotam-se radialmente dentro do grânulo forma uma estrutura compacta que limita a acessibilidade das enzimas digestivas. O grau de resistência, nesse caso, depende da fonte botânica e do tipo polimórfico sendo que grânulos dos tipos B e C tendem a ser mais resistentes do que os do tipo A. O AR2 é encontrado em amido de banana verde, amido de batata e amidos de milho e ervilha rugosa com altos teores de amilose, mas podem ter seus teores reduzidos durante as etapas do processamento, como por exemplo, durante o cozimento (THEMEIER *et al.*, 2005; SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006). Há duas classificações de grânulos resistentes dentro da classe AR2, chamados de AR2_a e AR2_b. O AR2_a refere-se aos grânulos de amidos nativos que não apresentam elevado teor de amilose, ou seja amidos que apresentam até 30 % de amilose. Após o cozimento os níveis de AR caem drasticamente para esse tipo de AR. Os amidos nativos com altos teores de amilose, como por exemplo, o amido de milho com alto teor de amilose, são classificados como AR2_b e mantém algum nível de integridade granular após o processamento (ALSAFFAR, 2011)

O amido resistente do tipo 3, ou AR3 é formado após a retrogradação do amido. Consiste de polímeros de amido retrogradado, principalmente de amilose, produzidos quando o amido é resfriado após a gelatinização. O processamento de alimentos, que envolve aquecimento e umidade, pode destruir os AR1 e AR2, mas pode formar o AR3 (ESCARPA; GONZÁLES, 1997). Com o resfriamento do gel, a reorganização das moléculas provoca a formação de cristais que são resistentes à ação enzimática. Essa forma de amido retrogradado é encontrada em pequenas quantidades em produtos como crosta de pão e flocos de milho (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011). Embora a formação de AR3 encontre-se associada à gelatinização seguida da retrogradação, outros fatores como repetidos ciclos de aquecimento e resfriamento, origem botânica do amido, relação amilose/amilopectina e a quantidade de água utilizada durante a gelatinização podem aumentar o teor desse constituinte. Essa influência é mais rápida e pronunciada sobre a amilose em relação à amilopectina, que devido às ramificações de sua estrutura requer maior tempo de armazenamento para formá-lo (ESCARPA; GONZÁLES, 1997). O AR3 é particularmente interessante porque é também um amido termicamente estável (HARALAMPU, 2000) e, portanto, pode ser utilizado também por suas características tecnológicas. O AR3 abrange também a chamada maltodextrina retrogradada resistente, um polissacarídeo solúvel derivado do amido, processado com o objetivo de hidrolisar e reorganizar as moléculas do amido para que sejam posteriormente retrogradadas. Esse processo forma cristais não digeríveis, semelhantes ao AR3, porém com menor grau de polimerização e menor massa molecular (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011).

O amido resistente do tipo 4, ou AR4 consiste de amido modificado quimicamente. Com o advento de sistemas de processamento mais sofisticados, tem sido possível obter produtos derivados do amido que podem atender necessidades específicas da indústria de alimentos. Esses produtos incluem os amidos substituídos quimicamente com grupamentos ésteres, fosfatos e éteres, bem como amidos com ligações cruzadas, tratamentos que também tornam os amidos resistentes à digestão no intestino delgado (HAN; BeMILLER, 2007; RATNAYAKE; JACKSON, 2008; SANZ *et al.*, 2009; SUI; SHAH; BeMILLER, 2011).

O AR4 é considerado o tipo mais resistente à hidrólise enzimática (MUN; SHIN, 2006). A substituição química dos amidos reduz a digestibilidade enzimática devido ao volume dos grupos substituintes que dificulta a formação de complexos enzima-substrato e torna ligações α (1→4) e α (1→6) resistentes à hidrólise (KHONDKAR; TESTER;

KARKALAS, 2009). O AR4 pode ainda ser subclassificado em 4 tipos, de acordo com sua solubilidade em água e com o método experimental utilizado para a análise (NUGENT, 2005).

Amido resistente do tipo 5, ou AR5 pode ser definido como um polissacarídeo formado por cadeias de polímeros lineares, insolúveis em água e não suscetíveis a degradação por α -amilase. O AR5 é formado por complexos amilose-lipídeo e apresenta maiores temperaturas de gelatinização e tendência a retrogradação. A estrutura e quantidade dos complexos amilose-lipídeos formados são dependentes da origem botânica do amido (JANE et al., 2009; FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011).

3.5 EFEITOS FISIOLÓGICOS DO AMIDO RESISTENTE

O AR tem recebido muita atenção tanto pelos seus potenciais benefícios para a saúde como por suas propriedades funcionais (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006). O AR é uma fonte abundante de carboidratos não digeríveis na dieta (NUGENT, 2005) e pode ser tão importante quanto os polissacarídeos não amiláceos na promoção da saúde do intestino grosso e prevenção das doenças intestinais inflamatórias e câncer de colo retal (TOPPING, FUKUSHIMA; BIRD, 2003), mas tem um menor impacto no metabolismo lipídico e de glicose (NUGENT, 2005).

Uma série de efeitos fisiológicos tem sido atribuída ao AR, que tem provado ser benéficos para a saúde. As propriedades fisiológicas do amido resistente podem variar muito, dependendo da estrutura estudada e de diferenças na fonte, tipo e quantidade de amido resistente consumido (BUTTRISS; STOKES, 2008).

O amido resistente ao chegar ao cólon é utilizado como substrato de fermentação por diversas bactérias intestinais, especialmente as anaeróbicas estritas (bacteróides, eubactérias, bifidobactérias e Clostridium) que constituem 99% da flora intestinal humana, razão pela qual é considerado um agente prebiótico. Os produtos dessa fermentação são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), acético, propiônico e butírico e gases como hidrogênio, dióxido de carbono e metano dos quais cerca de 20% são excretados pela respiração (TOPPING, FUKUSHIMA; BIRD, 2003).

O AR pode também ser utilizado para melhorar o teor de fibras dos alimentos, acelerar o início da saciedade e diminuir a resposta glicêmica. O AR tem apresentado potencial para melhorar a saúde do cólon, e agir como um veículo para aumentar o teor de fibra alimentar

total dos alimentos, particularmente aqueles que são de baixo valor energético e/ou conteúdo de carboidratos totais (NUGENT, 2005).

Em termos quantitativos as indicações variam de 5 g (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011) a 20 g (ALSAFFAR, 2011) por dia para que os efeitos fisiológicos possam ser observados.

3.6 FONTES DE AMIDO RESISTENTE

O AR pode ser encontrado em basicamente todos os alimentos a base de amido, processados ou não, em diferentes quantidades. A fonte botânica do amido e as etapas do processamento e estocagem do produto exercem grande influência na proporção de amido resistente apresentada pelo alimento no momento do consumo. Cereais, grãos e legumes são importantes fontes naturais de AR (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011), como pode ser observado na Tabela 1.

A banana verde é considerada uma importante fonte não processada de AR, com teores entre 47 e 57% (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011). No entanto, o teor de amido resistente em frutas decresce com o amadurecimento. O amido nativo de batata apresenta a maior concentração de AR em relação ao teor de amido total (75%), e o amido nativo de milho normal a menor (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011).

Quanto mais alimentos processados são incluídos na dieta, com menores quantidades de frutas e vegetais, menores os níveis de consumo de AR, o que torna importante a inclusão de AR em alimentos processados (FUENTES-ZARAGOZA *et al.*, 2011).

Algumas fontes comerciais de AR já estão disponíveis no mercado, como por exemplo, o *Hi-maize* da National Starch and Chemical Co, um AR2 obtido a partir de um híbrido de milho de alto teor de amilose originário da Austrália, que apresenta aproximadamente 60% de fibra dietética. O *Novelose 330*, também produzido pela National Starch e o *CrystaLean* produzido pela Opta Food Ingredients, são formas comerciais de AR3 obtidos pela gelatinização e recristalização de amido de milho de alto teor de amilose (NUGENT, 2005).

O uso de fontes comerciais de AR em produtos alimentícios apresenta vantagens em relação às fontes naturais, uma vez que os amidos modificados com o objetivo de reduzir sua digestibilidade são menos afetados pelas etapas do processamento do que os amidos nativos (NUGENT, 2005).

Tabela 1: Valores aproximados para amido total (AT), amido resistente (AR) e fibra dietética total (FDT), de alguns alimentos (g/100 g na forma de consumo).

Fonte	AT	AR	FDT
Legumes			
Feijão vermelho	42,6	24,6	36,8
Lentilha	53,3	25,4	33,1
Feijão fradinho	53,9	17,7	32,8
Cereais em grãos			
Cevada	55,2	18,2	17,0
Milho	77,9	25,2	19,6
Arroz branco	95,1	14,1	1,5
Trigo	50,8	13,6	17,0
Aveia	43,3	7,2	37,7
Farinhas			
Milho	84,3	11,0	2,8
Trigo	68,8	1,7	12,1
Arroz	86,9	1,6	5,1
Batata	81,0	1,7	2,1
Produtos a base de cereais			
Spaghetti	73,0	3,3	5,6
Aveia em flocos	56,0	8,5	10,0
Derivados de cereais			
Pão torrado	67,4	1,4	n/a
Pão branco	46,7	1,9	n/a
Pão integral	44,1	6,0	n/a
Cereal extrusado de aveia	57,2	0,2	n/a
Cereal de trigo expandido	67,0	1,2	n/a
Mingau de aveia	9,0	0,3	n/a
Espaguete cozido	n/a	2,9	n/a
Arroz cozido	n/a	3,7	n/a
Derivados de batata			
Batata cozida	n/a	2,0	n/a
Chips	29,5	4,8	n/a
Purê de batatas	n/a	2,4	n/a

n/a: Não avaliado.

Fonte: (Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2011)

3.7 MÉTODOS DE MODIFICAÇÃO

As propriedades funcionais do AR podem ser melhoradas pela modificação dos amidos, alterando sua estrutura molecular (SHI *et al.*, 2013). Essas modificações utilizam métodos como ciclos de aquecimento e resfriamento que promovem a retrogradação, desramificação enzimática do amido gelatinizado, secagem, extrusão, cristalização, além de métodos químicos que reforcem a estrutura granular (APARICIO-SAGUILÁN *et al.*, 2008).

Os métodos químicos são os mais comuns, por resultarem em maiores conteúdos de AR (SHI *et al.*, 2013).

O tratamento térmico a baixa umidade (JACOBASCH *et al.*, 2006; SANG; SEIB, 2006; HAN; BeMILLER, 2007; LI; WARD; GAO, 2011; SATMALEE; MATSUKI, 2011; SUI; SHAH; BeMILLER, 2011; ZAVAREZE *et al.*, 2012), extrusão (FARAJ; VASANTHAN; HOOVER, 2004; GONZÁLEZ-SOTO *et al.*, 2006; HASJIM; JANE, 2009), hidrólise enzimática (GONZÁLEZ-SOTO *et al.*, 2004; CASARRUBIAS-CASTILLO *et al.*, 2012; LUCKETT; WANG, 2012) e ácida (HASJIM; JANE, 2009; ESPINOSA-SOLIS *et al.*, 2011; POLESÍ; SARMENTO; FRANCO, 2011), intercruzamento (SHIN; SONG; SEIB, 2004; JYOTHI; MOORTHY; RAJASEKHARAN, 2006; HAN; BeMILLER, 2007; APARICIO-SAGUILÁN *et al.*, 2008; KHONDKAR; TESTER; KARKALAS, 2009; KOO; LEE; LEE, 2010; CARLOS-AMAYA *et al.*, 2011; JUANSANG *et al.*, 2012), hidroxipropilação (HAN; BeMILLER, 2007; JUANSANG *et al.*, 2012), esterificação (HAN; BEMILLER, 2007; JUANSANG *et al.*, 2012), acetilação (HAN; BEMILLER, 2007; JUANSANG *et al.*, 2012), retrogradação de maltodextrinas (BROUNS *et al.*, 2007) e cozimento sob pressão (APARICIO-SAGUILÁN *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2010) são alguns métodos utilizados com o objetivo de obter amidos mais resistentes ao processo de digestão, a partir de diferentes fontes botânicas. Esses métodos são aplicados isolados ou combinados. O desafio, contudo, é que esses teores de AR se mantenham após o processamento do alimento em que esse amido será adicionado.

Os métodos químicos de modificação envolvem a inclusão de grupos funcionais entre as moléculas de amidos, resultando em alterações consideráveis nas propriedades físico-químicas desses amidos (SHI *et al.*, 2013), enquanto os métodos físicos envolvem a gelatinização, desramificação e a lenta recristalização dos componentes do amido por processo de resfriamento ou desidratação (APARICIO-SANGUILÁN *et al.*, 2008).

3.7.1 Intercruzamento

O intercruzamento é um método químico para a modificação de amidos em que ligações covalentes intra e intermoleculares são formadas entre as cadeias poliméricas em posições aleatórias no interior do grânulo de amido de forma a estabilizar e fortalecer a estrutura granular (KAUR; SINGH; SINGH, 2006).

As ligações químicas formadas reforçam a estrutura do grânulo, reduzindo a capacidade de expansão, aumentando as temperaturas de gelatinização e dessa forma, reduzindo o rompimento dos grânulos (PRIMO-MARTÍN, 2012). As ligações formadas também tornam os grânulos resistentes a pHs extremos e altas taxas de cisalhamento (YUSSOF; UTRA; ALIAS, 2013). O aquecimento de amidos inter cruzados pode destruir ou enfraquecer as pontes de hidrogênio no interior do grânulo, no entanto, a estrutura granular é mantida íntegra pelas ligações químicas produzidas (VARAVINIT *et al.*, 2007).

As alterações provocadas pelo inter cruzamento podem variar de acordo com a fonte botânica do amido e com a extensão da reação. Níveis muito baixos de inter cruzamento podem estabilizar a estrutura granular do amido e permitir maior grau de inchamento dos grânulos, resultando em maiores viscosidades em comparação aos amidos nativos. Por outro lado, quando altos níveis de inter cruzamento são atingidos é possível observar redução na capacidade de inchamento dos grânulos, solubilidade, lixiviação de amilose, claridade de pasta e viscosidade de pico (HUBER; BeMILLER, 2000). O inter cruzamento não altera apenas as propriedades físicas, como também as transições térmicas do amido, aumentando as temperaturas de gelatinização e provocando redução na tendência a retrogradação, fenômenos que são relacionados à menor mobilidade das cadeias no interior do grânulo, resultados das ligações intermoleculares adicionais (CHUNG; WOO; LIM, 2004).

A formação das ligações covalentes durante o inter cruzamento ocorre em posições aleatórias no interior dos grânulos de amido. Tanto as moléculas de amilopectina como as de amilose podem ser inter cruzadas, porém a amilose apresenta uma menor tendência ao inter cruzamento (WONGSAGONSUP *et al.*, 2014).

A introdução de grupos substituintes na estrutura do amido modifica a suscetibilidade do amido à hidrólise enzimática (APARICIO-SAGUILÁN *et al.*, 2008) devido à presença dos grupos substituintes nas cadeias de amido que restringem o acesso das enzimas aos grânulos não gelatinizados (BAO *et al.*, 2003; KHONDKAR; TESTER; KARKALAS, 2009).

A produção de amidos inter cruzados é geralmente realizada em amidos granulares com a adição de reagentes bi ou poli funcionais a suspensões alcalinas (pH 7,5-12,0) com temperaturas que podem variar de temperatura ambiente até 50 °C (VARAVINIT *et al.*, 2007; YUSSOF; UTRA; ALIAS, 2013). Trimetafosfato de sódio (TMPS), tripolifosfato de sódio (TPPS), epiclorigrina e cloreto de fosforila são reagentes comumente utilizados no inter cruzamento de amidos (KAUR; SINGH; SINGH, 2006; KOO; LEE; LEE, 2010). Esses

agentes são capazes de formar ligações intramoleculares do tipo éteres ou ésteres entre os grupos hidroxilas das moléculas de amido (WONGSAGONSUP *et al.*, 2005; KOO; LEE; LEE, 2010). A combinação do TMPS e TPPS apresenta melhores resultados do que o uso isolado do TMPS na formação de diamido fosfato (LIM; SEIB, 1993; WONGSAGONSUP *et al.*, 2005).

Diferentes níveis e formas químicas de ésteres de fosfato são formados durante o intercruzamento utilizando TMPS e TPPS e refletem na funcionalidade dos amidos fosforilados. A formação de monoamido fosfato melhora a aparência, higroscopicidade, transparência da solução, inchamento e viscosidade em concentrações de fósforo entre 0,1 e 0,4 %. A formação de diamido fosfato pode melhorar a capacidade espessante do amido, em concentrações muito baixas de fósforo (< 0,04%) além de conferir estabilidade as pastas frente ao aquecimento, cisalhamento e baixos pHs (SANG *et al.*, 2010).

Amidos modificados quimicamente por intercruzamento tem grande aplicação na produção de filmes por apresentarem maior resistência à água e estabilidade térmica (KAEWTATIP; THONGMEE, 2013).

De acordo com Juansang *et al.* (2012) a força fornecida pelas ligações covalentes adicionais nos amidos intercruzados permitem que os grânulos suportem a temperatura de gelatinização, mantendo a integridade granular.

O intercruzamento dos amidos é influenciado por diversos fatores como a fonte botânica do amido, a concentração e composição do agente de intercruzamento utilizado, o grau de substituição, pH, tempo de reação e temperatura (KAUR; SINGH; SINGH 2006).

No trabalho realizado por Aparicio-Sangilán *et al.* (2008), o intercruzamento foi realizado em amido de banana e 94,68% de amido resistente foi obtido. Carlos-Amaya *et al.* (2011), também utilizando intercruzamento em amido de banana obteve um teor de AR de 74,01%. Han e Bemiller (2007), investigaram o efeito de diferentes métodos químicos de modificação em amido de milho ceroso e aumentaram o teor de AR de 0% no nativo para 12,9% após o intercruzamento. Em amido de milho normal intercruzado o teor de AR encontrado por Koo, Lee e Lee (2010) foi de 56,68%. Um trabalho realizado em amido de cana por Juasang *et al.* (2012) obteve 94,1% de AR após o intercruzamento. Esses resultados mostram que o intercruzamento é um método químico eficiente no aumento da resistência de amidos de diferentes fontes.

3.7.2 Tratamento térmico a baixa umidade (TTBU)

O tratamento térmico a baixa umidade (TTBU) é um método físico de modificação, que envolve o condicionamento do amido a baixos níveis de umidade (menores que 35%) e seu aquecimento durante determinado período de tempo a temperaturas acima da temperatura de transição vítrea, mas abaixo da temperatura de gelatinização naquela umidade (JACOBS; DELCOUR, 1998).

O TTBU pode ser aplicado com o objetivo de aumentar o conteúdo de AR dos amidos sem romper a estrutura granular devido às mudanças estruturais que provocam uma reorganização molecular e às mudanças na cristalinidade do amido (ZAVAREZE *et al.*, 2012) devido ao rearranjo ou maior grau de associação das cadeias (JYOTHI; SAJEEV; SREEKUMAR, 2010). Esse processo pode resultar na redução da digestibilidade dos amidos, como relatado por Zhang e Hamaker (2012), Wongsagonsup *et al.* (2008), Han e BeMiller (2007) e Sui, Shah e BeMiller (2011) por converterem a estrutura do grânulo a uma forma mais compacta (SONG; PARK; SHIN, 2011)

O TTBU promove a interação das cadeias poliméricas através do rompimento da estrutura cristalina e dissociação das estruturas de duplas hélices na região amorfa e posterior rearranjo dos cristais rompidos durante o tratamento (GUNARATNE; HOOVER, 2002; VIEIRA; SARMENTO, 2008).

A extensão e o tipo de modificação ocorrida dependem da fonte de amido. Amidos de raízes e tubérculos são mais suscetíveis ao TTBU do que amidos de leguminosas e cereais (HOOVER; VASANTHAN, 1994), devido ao padrão cristalino do tipo B e C típico dos amidos de raízes e tubérculos. O padrão cristalino do tipo B apresenta menor estabilidade termodinâmica do que o padrão do tipo A, resultado da presença de maior quantidade de moléculas de água no canal central da unidade celular, que está suscetível a evaporação durante o aquecimento e permite assim maior mobilidade das duplas hélices, alterando o padrão cristalino do amido (ZAVAREZE; DIAS, 2011). As características de diferentes fontes botânicas submetidas a várias condições de tratamento hidrotérmico permitiram concluir que o tratamento induz a mudanças não apenas nas regiões cristalinas, mas também nas regiões amorfas dos grânulos. O conteúdo e o comprimento das cadeias de amilose são dois fatores importantes na determinação das propriedades físicas dos produtos finais. A formação de complexos amilose-lipídeos durante o tratamento foi verificada, em amidos de

cereais, resultando na maior estabilidade térmica dos amidos tratados (LAWAL, 2005; CHUNG; LIU; HOOVER, 2009).

No trabalho realizado por Zavereze *et al.* (2012) utilizando TTBU em diferentes níveis de umidade em amido de arroz com variados teores de amilose foi observado um aumento no teor de AR de 1,06% para 2,20% no amido de arroz com alto teor de amilose tratado com 25% de umidade. Li *et al.* (2011) aumentaram o teor de AR de 11,2% para 45,2% em amido de feijão aplicando o TTBU a 20% de umidade. Satmalle e Matsuki (2011) modificaram a farinha de arroz com TTBU a 20% de umidade e alteraram o teor de AR de 10,86% para 18,31%. Esses resultados mostram que o TTBU pode provocar o aumento dos teores de AR, contudo, os valores obtidos são mais modestos do que aqueles obtidos por métodos químicos.

3.8 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE AMIDO RESISTENTE

O processo de quantificação de AR pode ser visto como um problema, uma vez que ele não apresenta uma estrutura química diferenciada, sendo composto por um conjunto de estados físicos que alteram a taxa de digestão do amido convencional (HARALAMPU, 2000). A determinação do teor de AR consiste na remoção da fração de amido potencialmente disponível e quantificação da fração resistente (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008)

Os métodos *in vitro* para a determinação do conteúdo de AR em alimentos são baseados na recriação das condições gastrointestinais da digestão do amido. A hidrólise enzimática é uma etapa comum a todos os métodos, sendo combinada a hidrólise química ou separação gravimétrica. Os diferentes métodos existentes descrevem diferentes preparos de amostra, que podem incluir moagem, trituração, homogeneização com intuito de simular a mastigação (PERERA; MEDA; TYLER, 2010).

A quantificação de AR pode ser feita por meio de métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos quantificam os resíduos obtidos após a remoção do amido digerível, enquanto os métodos indiretos quantificam o AR pela diferença entre o amido total e o amido digerível (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008).

O tipo de AR determinado é dependente do método aplicado, alguns métodos determinam o teor de AR total, porém outros métodos permitem a separação das frações de ARD, ALD e AR (PERERA; MEDA; TYLER, 2010).

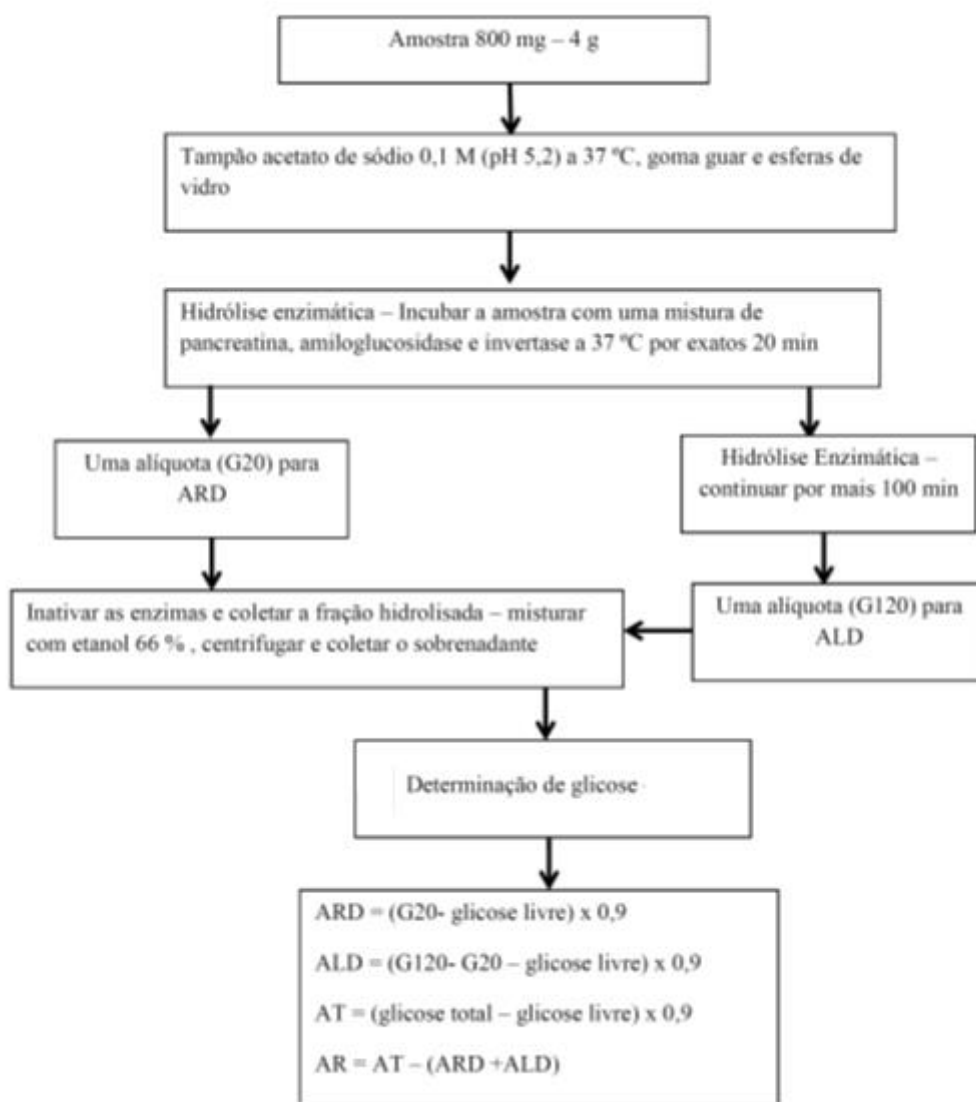


Figura 1: Protocolo para determinação de amido rapidamente digerível (ARD), lentamente digerível (ALD) e amido resistente (AR) segundo Englyst, Kingman e Cummings (1992). AT: amido total. Adaptado de (PERERA; MEDA; TYLER 2010).

No método proposto por Englyst, Kingman e Cummings (1992), resumido na Figura 1 a separação das frações é possível. Nesse método o AR e outras frações de polissacarídeos não-amiláceos são separadas por meio de hidrólise enzimática. Esse material é então solubilizado em meio alcalino e o AR subsequentemente separado.

No método de Englyst, Kingman e Cummings (1992), as diferentes frações do amido são determinadas por meio de uma hidrólise enzimática controlada e pela determinação da quantidade de glicose liberada. O amido total é determinado pela hidrólise enzimática seguida

pela gelatinização em banho de água fervente e tratamento com hidróxido de potássio para dispersão da amilose retrogradada com posterior hidrólise usando amiloglucosidase e quantificação de glicose. O amido rapidamente digerível (ARD) e o amido lentamente digerível (ALD) são medidos após a incubação com α -amilase pancreática e amiloglucosidase a 37 °C por 20 min e 120 min, respectivamente. O amido resistente (AR) é o amido não hidrolisado após 120 min de incubação.

É importante enfatizar que o método proposto por Englyst utiliza temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização dos amidos e, portanto se o amido utilizado para a análise se encontrar em sua forma nativa, a gelatinização não irá acontecer durante o processo da determinação. Desta maneira é preciso considerar que o teor de AR obtido por esse método será diferente no amido submetido ao processamento para ser posteriormente consumido. Esse fator pode ser corrigido ao se utilizar amidos previamente gelatinizados nas determinações. No trabalho de Utrilla-Coello *et al.* (2014), a digestibilidade dos amidos de quatro variedades de bananas verdes foram analisados pelo método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) na sua forma nativa e os valores obtidos para AR foram de 42,4%, 27,4%, 45,0% e 67,6%. Os mesmos amidos foram então analisados pelo mesmo método após serem aquecidos em banho de fervura por 20 min e os valores de AR reduziram para 3,6%, 0,76%, 3,6% e 13,4%.

O método de Goñi, *et al.* (1996), resumido na Figura 2, é um método direto de quantificação de AR baseado na metodologia proposta por Berry (1986) e é focado na quantificação de AR e não das frações ARD e ALD. O procedimento prevê a remoção do amido digerível, solubilização e hidrólise enzimática do AR e posterior quantificação do AR como glicose liberada. Nessa metodologia as etapas de preparação da amostra como secagem, resfriamento e condições de estocagem são levadas em consideração, uma vez que podem alterar os níveis de AR (PERERA; MEDA; TYLER, 2010). A etapa inicial de moagem e homogeneização da amostra é responsável pela eliminação do AR1. As condições fisiológicas do estômago e intestino, como pH e tempo de transição, são reproduzidas de forma aproximada durante o experimento.

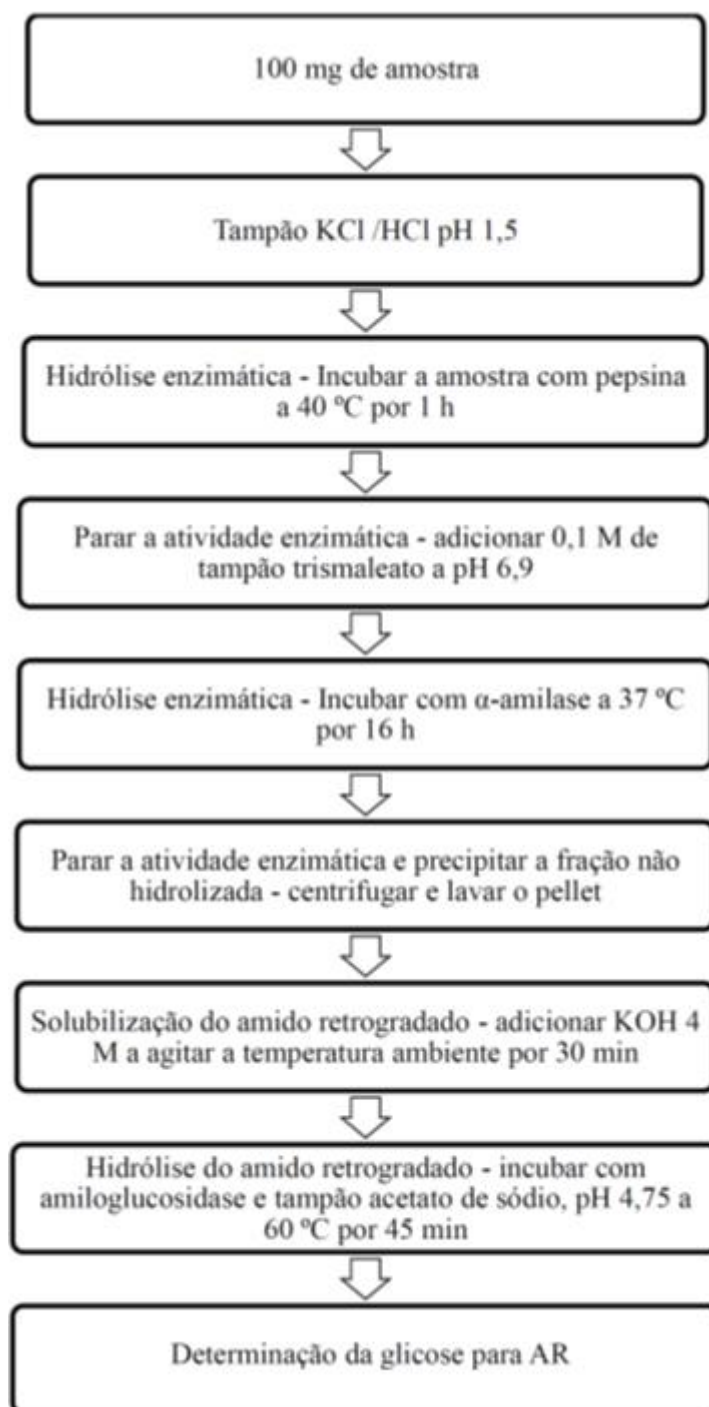


Figura 2: Protocolo de determinação de amido resistente (AR) segundo Goñi et al. (1996). Adaptado de (PERERA; MEDA; TYLER, 2010)

A principal diferença deste método com o proposto por Englyst, Kingman e Cummings (1992) é a etapa de hidrólise utilizando pepsina a 40 °C durante 1 h. Essa etapa para a remoção da proteína tem como objetivo melhorar a acessibilidade das amilases

evitando associações amido-proteína ou encapsulamento do amido em matriz proteica (GOÑI; *et al.*, 1996). Por esse motivo, esse método é o mais indicado para a quantificação de AR em produtos alimentícios.

Neste método, a temperatura máxima empregada, 40 °C, também é inferior às temperaturas de gelatinização dos amidos, porém é ligeiramente superior à temperatura utilizada no método de Englyst. Além disso, o tempo de incubação com α -amilase é de 16 h, muito superior aos 120 min descritos por Englyst dificultando dessa forma a comparação direta entre os dois métodos e superestimando os valores de AR em amidos analisados na forma nativa.

Zhou *et al.* (2013) analisaram diferentes géis retrogradados de amidos pelos métodos de Englyst e de Goñi, e observaram diferenças consideráveis nos valores obtidos para as mesmas amostras. Os géis analisados pelo método de Englyst apresentaram teor de AR de 10,1%, 31,0%, 26,9% e 36,2% e quando avaliados pelo método de Goñi mostraram teor de AR de 15,0%, 36,1%, 29,5% e 40,1%, respectivamente.

Os métodos 991.43 e 985.29 da Association of Official Analytical Chemists (AOAC) têm sido utilizados recentemente como métodos padrões para determinação de fibra dietética (ENGLYST *et al.*, 2013). Como citado anteriormente, se compararmos as definições de amido resistente e fibra dietética podemos dizer que o AR nada mais é do que uma fibra dietética, e dessa forma pode ser quantificado pelos mesmos métodos. Contudo esse método é aplicável quando se trata do amido em sua forma isolada, pois se aplicado em matrizes alimentares complexas, frutanos de alto peso molecular, cinzas, proteínas, polissacarídeos não-amiláceos e vários componentes não carboidratos podem ser quantificados (ENGLYST *et al.*, 2013).

O método da AOAC para quantificação de AR é um método direto, e a quantificação é gravimétrica e não pelo conteúdo de glicose liberada, como nos métodos de Englyst e de Goñi. Os teores de AR obtidos por meio desse método são mais baixos comparados aos encontrados pela aplicação das metodologias de Englyst e de Goñi, pois a primeira etapa da hidrólise enzimática é conduzida a 100 °C durante 15 min, de forma que os amidos são gelatinizados durante o procedimento. O fluxograma do método 991.43 está apresentado na Figura 3.

As diferenças existentes entre os métodos, as condições utilizadas e o preparo das amostras tem grande influência sobre os resultados, exigindo cautela na comparação dos resultados obtidos.

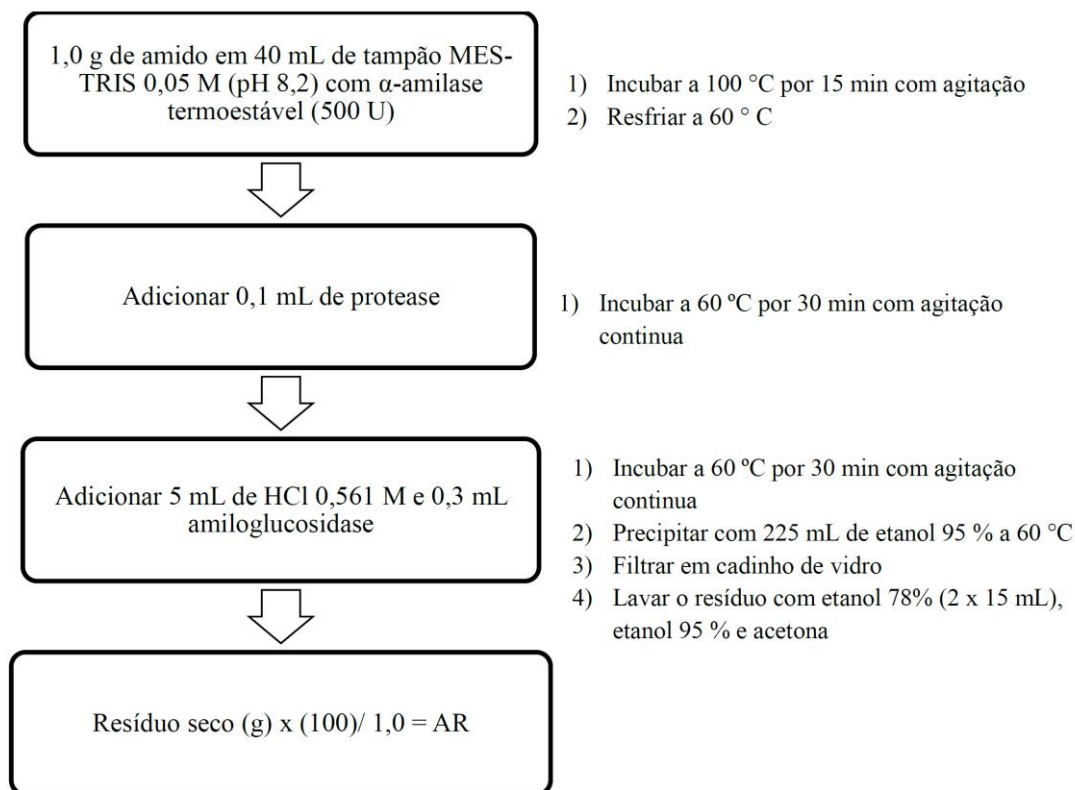


Figura 3: Determinação de AR como fibra dietética pelo método 991.43 da AOAC.

3.9 APLICAÇÕES DO AMIDO RESISTENTE EM ALIMENTOS

Por apresentar características fisiológicas similares às das fibras, o AR pode ser utilizado em substituição a elas, com vantagens. O uso de AR comercial em produtos alimentícios permite aumentar o teor de fibra dietética total do produto sem grandes alterações nas características sensoriais, principalmente no que diz respeito ao sabor, cor e textura. Esses amidos podem ser adicionados isolados ou combinados a fibras convencionais (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008).

O amido resistente pode estar presente naturalmente nos alimentos (AR1 e AR2), e processamentos como esterilização, forneamento e secagem a altas temperaturas provocam elevação no teor de AR (AR3). Por outro lado, processos como o cozimento resultam na

perda da resistência do amido. A aplicação de amidos resistentes comerciais permite obter formulação com maior nível de fibra dietética total sem grandes alterações nas características sensoriais. Esses compostos podem ser adicionados isolados ou combinados a fibras convencionais (YUE; WARING, 1998).

Fibras alimentares tradicionais têm um efeito nocivo sobre a textura de muitos produtos, como produtos de panificação e produtos extrusados. As fibras fortalecem a estrutura física do alimento e limitam sua capacidade de expansão, propriedade importante no desenvolvimento da textura durante o cozimento e extrusão. A substituição das fibras tradicionais por AR permite adicionar maiores quantidades do produto sem interferir na estrutura dos produtos extrusados (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006).

A menor capacidade de absorção de água dos amidos resistentes torna menores os ajustes na formulação e no processamento. A adição de fibras convencionais na produção de pães provoca alteração na reologia da massa devido à maior absorção de água pela fibra, resultando em maior dificuldade de moldagem e fatiabilidade e maior tempo de forneamento. A adição das fibras convencionais também altera características sensoriais, tornando os pães mais escuros, de textura arenosa, com sabor característico e pequeno volume de expansão. Já os pães adicionados de amido resistente como fonte de fibras tem massas mais facilmente manuseáveis, de sabor neutro, sensação bucal e textura suave e lisa, melhor volume, miolo mais uniforme e estrutura celular mais fina (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008).

O amido resistente como ingrediente tem sido usado comercialmente desde 1994, quando um pão branco com adição de amido de milho de alto teor de amilose foi lançado na Austrália. Esta adição aumentou o conteúdo de fibra alimentar do pão de 2,9% para 5,6%, o que permitiu este pão ter a alegação de “conter mais fibra alimentar do que um pão multigrãos”. Depois de 20 semanas do lançamento, ele obteve 12% do mercado do pão branco e aumentou em 8% o mercado desta categoria (BROWN; MCNAUGHT; MOLONEY, 1995).

As características do AR permitem sua adição na formulação de bolos, *muffins* e *brownies*, produtos que tradicionalmente não são fortificados. O AR também confere crocância em biscoitos e devido a sua baixa capacidade de expansão propicia melhor textura em cereais matinais. Seu baixo valor calórico permite sua utilização em produtos com apelos diet e light (BROWN, 2004; SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008).

Dentre os produtos de panificação, a produção de bolo industrial tem apresentado aumento na produção e no consumo nos últimos anos. Segundo dados da Associação

Brasileira das Indústrias de Massas Alimentícias (ABIMA, 2014) as vendas de bolos industrializados no mercado nacional, em milhões de unidades, passaram de 230,7 em 2009 para 377,8 em 2013.

Bolos convencionais contêm alto índice glicêmico, devido aos carboidratos neles contidos. Este fato pode acarretar problemas de saúde pública, especialmente obesidade. O uso de amido resistente, atuando como fibra, pode agir de maneira positiva, na redução destes índices glicêmicos em bolos (GOÑI; GARCIA-ALONSO; SAURA-CALIXTO, 1997).

3.10 TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE BOLOS

A massa do bolo é uma emulsão complexa de gordura em água, composta de bolhas como fase descontínua e de uma mistura de ovo, açúcar, água e gordura como fase contínua, na qual partículas de farinha estão dispersas. (SHELKE; FAUBION; HOSENEY, 1990).

A definição da qualidade de um bolo envolve diversos atributos, como por exemplo, volume elevado, estrutura uniforme do miolo com alvéolos abundantes, finos e distribuídos de maneira uniforme, maciez, durabilidade e tolerância ao envelhecimento. Além disso, as características de cor, brilho, sabor e aparência geral devem ser atraentes (BENNION; BAMFORD, 1997). A produção de bolos que apresentem essas características é um processo dependente do balanceamento da formulação, da aeração da massa, da estabilidade dos fluídos na massa (GÓMEZ *et al.*, 2007).

A definição e classificação de bolos são complexas devido a grande variedade de formulações. De uma maneira geral os bolos devem apresentar gosto doce, textura macia, e sabor e aroma agradáveis.

A partir de alguns parâmetros isolados é possível descrever algumas classificações para as diferentes formulações de bolo. De acordo com a forma com que o ar é incorporado na massa os bolos podem ser classificados por Hosene, Wade e Finley (1988) em:

- (a) Bolos elaborados por mistura em múltiplas etapas: o ar é incorporado na gordura, formando um creme inicial, onde posteriormente os demais ingredientes secos e líquidos são adicionados de forma intercalada.
- (b) Bolos elaborados por mistura em uma única etapa: utiliza-se uma pré-mistura em pó, adicionada de emulsificantes ou surfactantes que auxiliam a incorporação de ar.

- (c) Bolos com incorporação de ar diretamente na fase aquosa: o ar é incorporado principalmente por meios mecânicos, com a utilização de batedeiras de alta velocidade e não pela adição de surfactantes.

A forma como a incorporação de ar é feita na massa interfere diretamente na estabilidade das massas. Massas em que o ar é incorporado na gordura tem a estabilidade mantida por maiores tempos, porque as partículas de gordura aprisionam o ar que permanece imobilizado. Por outro lado, quando a incorporação de ar é incorporado na fase aquosa, por uso de surfactantes ou por ação mecânica, se obtém bolos com estrutura bastante delicada (HOSENEY; WADE; FINLEY, 1988).

Outra classificação dos tipos de bolo pode ser realizada com base no teor de gordura adicionada. Os bolos com alto nível de gordura, como por exemplo, os *pound, layer, cup* e *sheet cakes*, tem a estrutura do miolo formada durante o batimento da massa por uma emulsão óleo em água (O/A). Nos bolos com baixo teor de gordura, como o *angel, chiffon* e *sponge cake*, o volume e a estrutura são dependentes principalmente das propriedades que os ovos tem para aerar e formar espuma (SAHI, 2008).

Independente do tipo de bolo a ser produzido a escolha e o balanceamento adequado dos ingredientes é de extrema importância para que se obtenham produtos de qualidade que atendam as características desejadas. Durante o processamento de bolos ocorrem a formação de emulsões, espumas e géis, e a estabilidade de cada uma desses estados coloidais durante a mistura e o forneamento são diretamente relacionados à qualidade final do bolo (BENNION; BAMFORD, 1997).

Na formulação cada ingrediente apresenta uma função específica e o equilíbrio entre eles é essencial. Bennion e Bamford (1997) agruparam os ingredientes da seguinte forma: ovos e farinha são responsáveis por proporcionar força e estrutura ao bolo; açúcar, gordura e fermento abrem a estrutura; os líquidos como água ou leite fecham a estrutura e reduzem a leveza.

3.10.1 Ingredientes

3.10.1.1 Farinha de trigo

A farinha de trigo constitui o principal componente das formulações e fornece a matriz onde os demais ingredientes são misturados para formar a massa (GUTKOSKI *et al.*, 2011).

A qualidade tecnológica da farinha é diretamente relacionada à qualidade do trigo, sendo afetada por fatores como condições de manejo, cultura no campo, operações de colheita, secagem e armazenamento do grão (GUTKOSKI *et al.*, 2007). A finalidade à que a farinha será destinada é definida em função da qualidade do grão determinada por ensaios físicos, químicos e funcionais (GUTKOSKI *et al.*, 2008). Para a produção de bolos são empregadas farinhas obtidas a partir de trigo mole, que contém baixo teor de glúten, baixa capacidade de absorção de água e granulometria fina (SAHIN, 2008).

O glúten é a fração da farinha que se refere às proteínas gliadina e glutenina que apresentam propriedades de absorção de água, coesividade, viscosidade e elasticidade. A gliadina é viscosa quando hidratada, e apresenta pouca ou nenhuma resistência à extensão, sendo responsável pela coesividade da massa. A glutenina por sua vez é responsável por conferir resistência à extensão às massas (HOSENEY; WADE; FINLEY, 1998). Para a produção de pães é necessário a presença de glúten elástico, com maior proporção de glutenina, enquanto para a produção bolos e biscoitos é desejado o glúten extensivo, (GUTKOSKI *et al.*, 2011).

Para a utilização em bolos a farinha deve ainda apresentar baixa absorção de água, com teor de proteínas entre 7 e 10%, massa extensível, baixa força de glúten, teor de amido danificado inferior a 4 % e baixa estabilidade (GUTKOSKI *et al.*, 2011).

A quantidade de proteínas em uma farinha está associada à força do glúten. Em formulações de bolo, diferentemente do que em misturas para pães, se realiza a mistura uniforme dos ingredientes, que resulta na hidratação das partículas de farinha. Nas formulações para bolo o teor de proteína bruta da farinha é baixo, o açúcar compete pela água e o pH é básico, motivos esses que fazem com que o glúten não se desenvolva dentro de uma massa coesa. O que se espera em uma massa de bolo é uma dispersão homogênea, com máxima incorporação de ar e mínimo desenvolvimento do glúten (GUTKOSKI *et al.*, 2011). Apesar do desenvolvimento do glúten ser limitado ele não pode ser considerado inerte, durante o forneamento a interação das proteínas é importante para a estrutura dos bolos (WILDERJANS *et al.*, 2008).

A cloração é um método químico de modificação de farinhas, geralmente obtidas de trigo mole, para a utilização na produção de bolos. O processo utiliza gás cloro e provoca a

redução do pH da farinha de 5,8 a 6,1 para 4,6 a 5,1, o que melhora consideravelmente as propriedades de panificação, características sensoriais, volume, textura do miolo e palatabilidade dos bolos (PYLER, 1988). A utilização de farinha clorada permite a elaboração de formulações mais ricas, com altas quantidades de açúcar e líquidos. O cloro afeta todos os componentes da farinha, porém a oxidação do amido pelo cloro é o principal responsável pelo desempenho da farinha. O amido oxidado tem maior capacidade de inchamento e por isso proporciona maior viscosidade às massas quando comparado às farinhas não cloradas. O valor do pH pode ser utilizado como uma medida analítica da extensão da cloração da farinha, que para a produção de bolo deve ser de 4,7 – 4,9. A cloração também é responsável por destruir a pigmentação da farinha, tornando a farinha mais branca (ATWELL, 2001). Os lipídeos da farinha também são alterados pela ação do cloro e passam a permitir maior expansão da massa durante o forneamento (CLEMENTS; DONELSON, 1982).

3.10.1.2 Açúcar

O açúcar desenvolve diferentes funções na produção de bolos, como proporcionar gosto

doce, facilitar a incorporação de ar durante o batimento, atuar como amaciador, aumentar as temperaturas de gelatinização do amido e de desnaturação das proteínas do ovo e da farinha. O aumento da temperatura de gelatinização resulta no aumento do volume por permitir a expansão adequada das bolhas de ar antes do aumento da viscosidade da massa e fixação da estrutura do bolo (KIM; WALKER, 1992; ATWELL, 2001).

O aumento da temperatura de gelatinização é resultado de dois efeitos combinados, primeiro a redução da atividade de água da solução e a interação do açúcar com as cadeias de amido que estabiliza as regiões amorfas dos grânulos (SPIES; HOSENEY, 1982).

Outra função do açúcar é dissolver parcialmente a rede do glúten, tornando-a mais delicada, e com menor firmeza e aderência. O excesso de açúcar na formulação resulta em bolos de textura grossa e pode provocar a formação de crosta côncava e aparência lustrosa e açucarada (CRAWFORD, 1985).

O açúcar finamente granulado é o mais adequado à produção de bolos por proporcionar uma melhor combinação com a gordura, produzindo menores núcleos de

aeração (CRAWFORD, 1985). A granulação mais fina do açúcar também confere maior volume aos bolos (GRISWOLD, 1972).

3.10.1.3 Gordura

A função da gordura em bolos é aprisionar o ar na massa durante a mistura. A maior parte dos cristais de gordura se encontra na fase aquosa da massa (KOCER *et al.*, 2007). Quando o ar expande ocorre a absorção de cristais de gordura para a interface ar-água formando assim a interface gordura-água, essas duas fases se unem possibilitando maior expansão das bolhas de ar (KOCER *et al.*, 2007). Se não forem estabilizadas, as bolhas de ar se rompem e migram para a superfície da massa. A fração cristalina da gordura é responsável pela estabilização das bolhas de ar. A gordura também desempenha um importante papel na interrupção da continuidade da rede do glúten por se encontrar dispersa de forma irregular na farinha, resultando em produtos com melhor mastigabilidade (CAUVAIN, 1987).

De uma forma geral, quanto maior o teor de gordura empregada menos compacta a massa se torna, até uma quantidade limite, em que o excesso de gordura passa a atuar como compactante, reduzindo o volume final do bolo (GUTKOSKI *et al.*, 2009).

3.10.1.4 Fermento químico

A fermentação química é também um dos fatores que distingue a produção de bolos e pães, uma vez que nos pães a etapa de fermentação afeta tanto a textura quanto o sabor (ATWELL, 2001).

Existem diferentes fermentos químicos que podem ser empregados na produção de bolos, e as principais diferenças entre eles são a velocidade de reação para liberação de dióxido de carbono e os sais residuais liberados pela reação (ATWELL, 2001).

A maior parte dos fermentos contém bicarbonato de sódio como fonte primária para a liberação de dióxido de carbono, porém o bicarbonato de potássio pode ser utilizado, principalmente quando a quantidade de sódio precisa ser controlada. Juntamente a fonte de bicarbonato pode ser adicionado um acidulante para reduzir o pH do sistema e facilitar a dispersão do CO₂. Quando o bicarbonato de amônia é utilizado não se faz necessário a aplicação do acidulante, a liberação do CO₂ acontece quando a amônia e água são aquecidas, sem a presença de acidulante. O bicarbonato de amônia não forma sais residuais que afetam o

sabor, porém ele deve ser utilizado em produtos com baixa umidade final (2-3%) para que se garanta que toda o gás de amônia seja eliminado do produto, o que poderia causar *off-flavor* no produto (ATWELL, 2001). Nesse caso, o bicarbonato de amônia não é indicado para bolos.

O aumento da temperatura da massa aumenta no forno e com isso ocorre a expansão das bolhas de gás retidas na massa. No final do processo, quando a massa está assentada, essas bolhas estouram e formam a estrutura porosa do miolo do bolo. Nas massas de bolo o dióxido de carbono será gerado pelo fermento adicionado e se soma ao aumento de volume das bolhas de ar iniciais (CAUVAIN, 2009).

A maior parte do CO₂ deve ser liberada durante o batimento, e na etapa de forneamento antes que a temperatura para fixação da massa seja atingida. Se a liberação de gás for muito rápida, de forma que se encerre antes da fixação do sistema, se obtém uma estrutura grosseira que pode colapsar. Contudo, se a liberação de gás for muito lenta, o volume final será menor e pode ocorrer a ruptura da estrutura pela liberação de gases após a fixação (GUY; PITHAWALA, 1981).

Além da seleção adequada das matérias primas para a produção de bolos, a combinação dos ingredientes com o emprego da formulação balanceada e procedimentos de mistura e cozimento de acordo com o tipo de produto que se quer produzir é essencial para a obtenção do produto com qualidade (GUTKOSKI *et al.*, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os amidos utilizados neste trabalho foram isolados de raízes frescas de mandioca (*Manihot esculenta*), de tubérculos de batata (*Solanum tuberosum*) da variedade Monalisa, de grãos de milho normal (*Zea mays*) da variedade BR 106 e de frutos de banana verde da variedade nanica (*Musa cavendish*). As enzimas utilizadas foram as seguintes: α -amilase termoestável (A3306 Sigma-Aldrich de 20 a 60 KU.mL⁻¹); amiloglucosidade de *Aspergillus niger* (A7095 Sigma-Aldrich ≥ 300 U. mL⁻¹); Pepsina da mucosa gástrica de suíno (P7012 Sigma-Aldrich, 500 U/mg de proteína); Invertase de *S. cerevisiae* (I4504 Sigma-Aldrich, Grau VII ≥ 300 U/mg de sólido); Pancreatina do pâncreas de suíno (P1750 Sigma-Aldrich 4x USP specifications). Os reagentes empregados foram de grau analítico. Para a produção dos bolos utilizou-se farinha de trigo da marca Belarina, produzida pelo Moinho de Trigo Santo André S/A. Os demais ingredientes utilizados na produção dos bolos foram adquiridos em mercado local.

4.1 OBTENÇÃO DOS AMIDOS NATIVOS E MODIFICADOS

4.1.1 Isolamento dos amidos

O método descrito por Peroni, Rocha e Franco (2006) foi empregado para o isolamento dos amidos de batata e mandioca. As raízes foram lavadas em água corrente em seguida descascadas, picadas e então trituradas com água destilada (aproximadamente 10 °C) em liquidificador industrial durante 1 min em uma proporção de 1:1 (v/v).

A massa obtida foi filtrada utilizando peneiras com malhas de 80 mesh (0,177 mm) e 200 mesh (0,74 mm) para o amido de mandioca e malhas de 80 mesh (0,177 mm) e 100 mesh (0,149 mm) para o amido de batata. A fibra retida na primeira peneira foi triturada novamente com água destilada (proporção 1:1 v/v), por 15 s e filtrada. O filtrado foi levado à câmara de refrigeração a 4 °C por 12 h para a decantação do amido. Após esse período o amido foi recuperado por sifonação e novamente suspenso em água, decantado por 12 h a 4 °C, recuperado e então seco em estufa com circulação de ar a 38 °C. O amido foi moído em almofariz, para desintegração de grumos e peneirado em peneira com malha de 70 mesh (0,210 mm).

O amido de banana verde foi obtido de bananas no estágio 2 de maturação, determinado pelos critérios de coloração da casca e forma, segundo Aurore, Parfait e Fahrasmane (2009). O método descrito por Whistler (1998) foi utilizado com algumas modificações. As bananas foram descascadas, picadas e mantidas por 30 min em solução de metabissulfito de sódio (1% m/v) com pH ajustado entre 4,5 e 5,2, a temperatura ambiente. As bananas foram então trituradas durante 2 min com a mesma solução de metabissulfito de sódio em uma proporção banana:solução de 1:2. A massa obtida foi filtrada utilizando peneiras com malhas de 150 mesh (0,106 mm). A fibra retida na peneira foi lavada com água destilada. O filtrado foi levado à câmara de refrigeração a 4 °C por 12 h para a decantação do amido. Após esse período o amido foi recuperado por sifonação e novamente suspenso em água, novamente peneirado em malha de 150 mesh para remoção da mucilagem e então centrifugado a 1500 g durante 10 min. A camada mais escura foi removida e o amido novamente lavado com água destilada. O processo foi repetido até a remoção de toda a mucilagem. O amido foi então seco em estufa com circulação de ar a 38 °C e posteriormente moído em almofariz, para desintegração de grumos e peneirado em peneira com malha de 70 mesh (0,210 mm).

O amido de milho foi extraído pelo método de moagem úmida descrito por Eckhoff *et al.* (1993). Os grãos de milho normal, fornecidos pela empresa Cargill, foram macerados em solução de metabissulfito de sódio (0,1% p/v) e ácido láctico (0,55% p/v), em tanques com capacidade para 1 kg de grãos, a 43 °C (± 1 °C) por 36 h, com circulação forçada da água de maceração (300 mL/min). Ao final deste período, os grãos foram drenados e triturados com água destilada na proporção de 1:1 (v:v) em liquidificador industrial de aço inox para separação do germe que foi removido com auxílio de telas de 14 e 16 mesh (1,41 e 1,19 mm). O restante da amostra foi enviado para um moinho de discos para redução das partículas e obtenção de uma massa fina e homogênea, que foi peneirada em peneira vibratória com malha de 250 mesh (0,056 mm) para separação da fibra. Para separar o amido da proteína, a densidade da suspensão obtida foi ajustada para 6 °Bé, com auxílio de um aerômetro de Baumé. A suspensão foi mantida sob agitação e transferida para mesa de separação, que consistia de calhas no formato de “U” com declividade de 2° e comprimento de 6 metros, num fluxo constante de 300 mL/min. O amido foi retirado da mesa de separação com o auxílio de espátulas plásticas e seco em estufa com circulação de ar a 38 °C moído em almofariz, para desintegração de grumos e peneirado em peneira com malha de 70 mesh (0,210 mm).

4.1.2 Tratamento térmico a baixa umidade

O tratamento térmico a baixa umidade dos amidos foi realizado utilizando o método descrito por Chung, Liu e Hoover (2009), com modificações nas condições de umidade, temperatura e tempo de tratamento. A umidade dos amidos foi elevada a 18, 20 e 35 % com adição de água destilada. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração por 24 h para equilíbrio da umidade e então colocadas em frascos de vidro com tampa com anel de borracha para vedação. As amostras foram aquecidas em estufa a 130 °C por 2 h, resfriadas a temperatura ambiente e congeladas a – 18 °C durante 2 h e então mantidas a 20 °C.

Após os tratamentos o amido foi retirado dos frascos e seco em estufa a 38 °C.

4.1.3 Intercruzamento

O intercruzamento foi realizado como descrito por Seib e Woo (1999). Os amidos (50 g, b.s) e água destilada (70 mL) foram adicionados em erlenmeyers de 250 mL. Trimetafosfato de sódio (5,94 g, 11,88% baseado no peso do amido) e tripolifosfato de sódio (0,06 g, 0,12%) foram usados como agentes funcionais. Sulfato de sódio (5 g, 10%) foi utilizado para evitar a gelatinização do amido durante o processo. Os reagentes foram adicionados à mistura de amido e água e homogeneizados com agitação magnética. O pH da mistura foi então ajustado em 11,5 pela adição de hidróxido de sódio 1,0 M. Os frascos foram incubados em *shaker* a temperatura de 45 °C durante 60, 90, 120, 150 e 180 min, com agitação contínua. Após esse tempo o pH da mistura foi ajustado para 6,5 utilizando HCl 1,0 M. O amido foi então recuperado por centrifugação e lavado com água destilada por 6 vezes para a remoção do excesso de sais.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS

4.2.1 Composição química dos amidos

Os teores de umidade, lipídeos, proteínas e cinzas dos amidos foram determinados de acordo com os *Approved Methods of Cereal Chemists* (AACC, 2000). O teor de carboidratos totais foi determinado por diferença.

O teor de fósforo, dos amidos nativos e modificados quimicamente, foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de Smith e Caruso (1964). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

4.2.2 Determinação do teor de amilose aparente

Os amidos nativos foram desengordurados conforme descrito por Song e Jane (2000). As amostras de amido (0,5 g) foram dispersas em solução de DMSO 90% e mantidas sob agitação constante em banho de fervura durante 1 h e em seguida agitadas durante 16 horas a temperatura ambiente. Os amidos foram precipitados com álcool etílico anidro, centrifugados a 4000 x g durante 10 min, recuperados por filtração a vácuo, e secos em estufa a 40 °C por 24 h.

A afinidade por iodo dos amidos foi determinada em titulador potenciométrico automático (716 SM Titrino, Metrohm, Herisau, Switzerland). Os teores de amilose aparente foram obtidos conforme descrito Kasemsuwan *et al.* (1995). O teor de amilose aparente foi obtido pela equação 1.

$$AM_{ap} = 100 \times AI_A / 20\% \quad (1)$$

Onde:

AM_{ap} = teor de amilose aparente

AI_A = afinidade por iodo do amido integral

20 % = afinidade por iodo da amilose pura (Takeda *et al.*, 1987).

4.2.3 Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina

4.2.3.1 Desramificação dos amidos

Os amidos nativos e modificados foram inicialmente desengordurados segundo procedimento descrito por Jane e Chen (1992), com modificações. Amostras de 50 mg de amido foram dispersas em 5 mL de solução de DMSO 90 %. A suspensão foi mantida em banho de água fervente durante 1 h com agitação, e por mais 16 h à temperatura ambiente. Uma alíquota de 0,5 mL da dispersão de amido foi misturada a 2 mL de etanol absoluto e o amido precipitado foi recuperado por centrifugação a 12000 x g por 10 min. As amostras

desengorduradas foram desramificadas seguindo o procedimento descrito por Wong e Jane (1995). A 5 mg de amido desengordurado foram adicionados 1,8 mL de água ultra pura (18 MΩ.cm) e as amostras foram mantidas em banho de água fervente por 30 min com agitação. Após resfriamento, 0,2 mL de tampão acetato 0,1 M pH 3,5, 6 µL de solução de azida 10% (m/v) e 3 µL de isoamilase (E-ISAMY, 1000 U/mL, Megazyme International, Irlanda), foram adicionados e a suspensão foi incubada a 40 °C por 16 h sob agitação de 100 rpm. Após este período, o pH foi ajustado para 6,5 - 7,0 com NaOH 1M e a suspensão foi colocada em banho de água fervente por 15 min, para inativação da enzima. Após atingirem a temperatura ambiente as amostras foram filtradas em membranas de teflon de 0,22 µm.

4.2.3.2 Cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detecção de pulso amperométrico (HPAEC-PAD)

A distribuição do comprimento de cadeias ramificadas das amilopectinas dos amidos desramificados com isoamilase foi analisada usando o HPAEC-PAD (ICS 3000, Dionex Corporation, EUA) equipado com amostrador automático AS40. Alíquotas de 20 µL das amostras preparadas e filtradas anteriormente foram automaticamente injetadas no sistema HPAEC-PAD. O fluxo utilizado foi de 0,5 mL/min a 35 °C. A forma de onda empregada foi a *standard quadruple* com os seguintes potenciais de pulso e durações: E1 = 0,10 V ($t_1 = 0,40$ s); E2 = -2,00 V ($t_2 = 0,02$ s); E3 = 0,60 V ($t_3 = 0,01$ s); E4 = -0,10 V ($t_4 = 0,06$ s). Todos os eluentes foram preparados utilizando água ultrapura (18 MΩ.cm) e degaseificados com N₂. A fase móvel utilizada para separação foi constituída pelo eluente A (200 mM NaOH) e eluente B (1.0 M acetato de sódio e 100 mM NaOH). As cadeias ramificadas da amilopectina foram separadas usando uma guarda-coluna Dionex Carbopac™ PA 200 (3 mm X 50 mm) e uma coluna Dionex Carbopac™ PA 200 (3 mm X 250 mm). O gradiente de eluição foi: 0-10 min, gradiente linear de 0 a 70 mM de acetato de sódio; 10-80 min, gradiente linear de 70 a 350 mM de acetato de sódio; 80-100 min, a concentração de 350 mM de acetato de sódio foi mantida. A concentração de hidróxido de sódio foi mantida em 100 mM durante toda a análise. Os dados foram coletados e analisados utilizando-se o software Chromeleon, versão 6.8 (Dionex Corporation, EUA).

4.2.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear do ³¹P (³¹P RMN).

Os amidos nativos e modificados por intercruzamento foram convertidos em fosfodextrinas para serem posteriormente analisados por ^{31}P RMN, conforme procedimento descrito por (SANG *et al.*, 2010).

Os amidos (1 g) foram adicionados a 50 mL de solução de cloreto de cálcio 2.0 mM e o pH ajustado a 8,2. As amostras foram então digeridas com 100 μL de α -amilase termoestável, a 95 °C durante 30 min, com agitação constante. O hidrolisado foi então resfriado e o pH reajustado para 8,2, 100 μL de α -amilase termoestável foram adicionados e a etapa de digestão repetida. As amostras foram resfriadas, o pH foi ajustado para 4,5, 200 μL de amiloglucosidase foi adicionado e as mesmas foram incubadas a 60 °C durante 1 h. O hidrolisado foi então resfriado, centrifugado e o sobrenadante liofilizado.

O hidrolisado liofilizado (aproximadamente 1 g) foi dissolvido em 1.5 mL de óxido de deutério contendo 0.002% de azida sódica. O pH foi ajustado em 8,0 utilizando solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Os espectros foram adquiridos utilizando um espectrômetro Avance III (Bruker, Alemanha) operando a 400 MHz para ^1H e 162 MHz para ^{31}P , equipado com a sonda *BBFO-Z plus broadband Observe*. Os experimentos foram realizados a 26 °C com *delay* de 6 s entre os pulsos (pulsos de 12,2 μs). Para cada amostra foram realizados 512 varreduras com tempo de aquisição de 2,03 s. Os espectros foram processados e analisados utilizando o software TopSpin versão 3.2 (Bruker, Alemanha). Os picos foram registrados em δ (ppm) centrados em 0.0 ppm.

4.2.5 Espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando um espectrômetro UATR-Two (Perkin Elmer). Os espectros foram registrados no modo de transmissão de 4000 a 400 cm^{-1} . Cada amostra foi escaneada 32 vezes.

4.2.6 Microscopia eletrônica de varredura

Os amidos nativos e intercruzados, previamente desidratados em etanol, foram colocados em fita adesiva dupla face de carbono aderida a um disco metálico, uma camada de 14 mm de ouro foi aplicada utilizando um pulverizador *Balzers Sputter Coater* (SCD 004, Holanda), e observados em microscópio eletrônico de varredura (Philips XL-30 FEG, Holanda). A aceleração de voltagem utilizada foi de 5 kV.

4.2.7 Difração de Raios-X e cristalinidade relativa

Os amidos nativos e tratados foram equilibrados em dessecador contendo solução de BaCl₂ saturada (25 °C, aw = 0,9) e 1% de azida sódica durante 10 dias. Os padrões de difração de raios-X dos amidos nativos e modificados foram determinados, utilizando-se um difratômetro de raios-X de bancada MiniFlex 300 (Rigaku, Japão), com radiação monocromática de Cu K α ($\lambda=1,542$ Å). A velocidade de varredura foi de 1° por min e as condições de uso foram 30 kV e 10 mA. A cristalinidade relativa foi quantitativamente estimada baseada na relação entre a área dos picos e a área total segundo método de Nara e Komiya (1983).

4.2.8 Propriedades térmicas

Temperaturas de gelatinização e mudanças de entalpia dos amidos nativos e modificados foram determinados utilizando-se um calorímetro explanatório diferencial (DSC) Pyris 1 (Perkin Elmer, EUA) de acordo com Franco *et al.* (2002). Amostras de amido (2 mg, base seca) foram pesadas em porta amostras de alumínio, misturadas com água destilada (6 μ L) e seladas. Os porta-amostras selados foram mantidos a temperatura ambiente por 24 h para equilíbrio e aquecidas a uma razão de 10 °C/ min de 25 a 100 °C. Um porta-amostra vazio foi usado como referência. As análises foram realizadas em triplicata. As temperaturas de gelatinização (inicial, de pico e final) e a variação de entalpia dos amidos foram determinadas utilizando-se o software Pyris 1 (PerKin Elmer, EUA).

4.2.9 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta dos amidos nativos e modificados foram determinadas usando um rápido viscoanalisador RVA-4 (*Newport Scientific*, Austrália) segundo metodologia descrita por Franco *et al.* (2002).

Suspensões de amido a 10 e 14 % (m/m) em um total de 27,5 g foram colocadas em recipientes próprios do equipamento, e acopladas ao RVA. A análise foi realizada mantendo-se as amostras a 50 °C por 1 min, após isso a temperatura foi elevada a 95 °C a uma taxa de 6 °C/ min, mantida a 95 °C por 5 min e então resfriada a 50 °C a taxa de 6 °C/min. O tempo total da análise foi de 23 min. A agitação foi mantida constante a 160 rpm. Os dados foram

processados utilizando o programa *Termocline for Windows*, versão 2.2 (*Newport Scientific*, Austrália). Todas as determinações foram realizadas em duplicata.

4.2.10 Determinação dos teores de amido resistente (AR)

4.2.10.1 Amidos Nativos e inter cruzados

Os teores de AR dos amidos nativos e modificados por inter cruzamento foram determinados pelo método 991.43 da Association of Official Analytical Chemists (AOAC) e pelo método de Englyst *et al.* (1992), com adaptação de Sang, Prakash e Seib (2007).

O método 991.43 da AOAC foi realizado sem correção para proteínas e cinzas. Amostras de amido foram pesadas em duplicata (1,000 g) e adicionadas de 40 mL de tampão MES-TRIS, pH 8,2, em *erlemayers* de 250 mL. Aliquotas de 50 µL de solução de α -amilase termoestável foram adicionadas às amostras, que foram incubadas a 100 °C durante 15 min com agitação contínua. Após esse período, os frascos foram resfriados a 60 °C e 100 µL de solução de protease (50 mg/mL) foram adicionados. As amostras foram então incubadas a 60 °C durante 30 min, com agitação contínua. Posteriormente, 5 mL de HCl 0,516 N foram adicionados e o pH das amostras ajustado entre 4,0 e 4,7 utilizando NaOH 1M ou HCl 1M. Finalmente, as amostras foram incubadas com 300 µL de solução de amiloglucosidase por 30 min a 60 °C, com agitação contínua. Após a digestão, as amostras foram filtradas em cadinhos filtrantes de vidro recobertos com uma camada de celite, previamente tarados. O resíduo foi lavado com etanol 78% (2 x 15 mL), etanol 95% e acetona. Os cadinhos foram secos em estufa a 105 °C por uma noite e posteriormente pesados. O teor de amido resistente foi calculado como a seguir:

$$\text{AR \%} = \text{resíduo seco (g)} \times 100 / \text{massa inicial (b.s)}$$

O método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) foi utilizado com modificações, como descrito por Sang, Prakash e Seib (2007). As amostras (0,6 g) foram digeridas durante 30 min a 37 °C com 50 mg de pepsina em 10 mL de ácido clorídrico 0,05 M. Após essa digestão, 10 mL de solução de acetato de sódio 0,25 M foram adicionados, e as amostras mantidas durante 30 min em banho de fervura para gelatinização, e posteriormente foram resfriadas a temperatura ambiente. A digestão foi então realizada utilizando pancreatina, amiloglucosidase e invertase a 37 °C. Aliquotas de 0,5 mL do material digerido foram

coletadas em tubos contendo 4 mL de álcool etílico anidro nos tempos 0, 20 e 120 min. Os tubos foram centrifugados a 1500 g durante 5 min. Alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram retiradas e diluídas em 9 mL de água destilada. A glicose foi quantificada utilizando kit para determinação de Glicose (Glicose Liquiform – Labtest). O fator de 0,9 foi utilizado para a conversão de μg de glicose em μg de amido. A % de amido resistente foi calculada como: $100 - \% \text{ amido rapidamente digerível (20 min)} - \% \text{ amido lentamente digerível (120 min)}$.

4.2.10.2 Tratamento Térmico a Baixa Umidade (TTBU)

O teor de AR dos amidos modificados por TTBU foi determinado pelo método Englyst, Kingman e Cummings (1982) com modificações, porém sem a etapa de fervura para gelatinização dos amidos, aplicada para os amidos inter cruzados. Os amidos nativos e modificados (1,0 g) foram transferidos para béquer de 100 mL e 20 mL de tampão acetato (0,1 M, pH 5,2) contendo 4 mM de CaCl_2 foram adicionados. As amostras foram colocadas em banho térmico a 37 °C durante 5 min e 5 mL de solução enzimática (preparada como descrito a baixo) foram adicionados. Após 120 min uma alíquotas de 0,5 mL foram retiradas e colocadas em tubos de centrifuga contendo 4 mL de álcool etílico anidro. Os tubos foram centrifugados a 1500 g durante 5 min. Alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram retiradas e diluídas em 9 mL de água destilada. A glicose foi quantificada utilizando kit para determinação de Glicose (Glicose Liquiform – Labtest).

Para determinação do amido total, a amostra previamente hidrolisada (após 120 min) foi colocada em banho de fervura durante 30 min. Após o resfriamento até temperatura ambiente foram adicionados 10 mL de solução de KOH 7 M e as amostras foram colocadas em banho de gelo durante 30 min. Uma alíquota de 1 mL foi retirada e colocada em um béquer contendo 10 mL de ácido acético 0,5 M e 1 mL de solução de amiloglicosidase (50 U/mL) foi adicionada. As amostras foram incubadas por 30 min a 70 °C. A enzima foi inativada em banho de fervura durante 10 min e 40 mL de água destilada foram adicionados. As amostras foram centrifugadas a 1500 g durante 10 min e então uma alíquota de 1 mL foi diluída em 9 mL de água destilada. A glicose foi quantificada utilizando kit para determinação Glicose.

O fator de 0,9 foi utilizado para a conversão de μg de glicose em μg de amido. As determinações foram realizadas em triplicata. O teor de AR foi calculado como a diferença entre o teor de amido total e o amido digerido em 120 min.

4.3 APLICAÇÃO DOS AMIDOS NA PRODUÇÃO DE BOLO INGLÊS

4.3.1 Caracterização da farinha de trigo

As características farinográficas da farinha de trigo foram determinadas, em farinógrafo (modelo 810101, *Brabender*, Alemanha) de acordo com o método 54-21 da “*Approved Methods of American Association of Cereal Chemists*” (2000). Os parâmetros obtidos a partir do farinógrafo foram: absorção de água (%), tempo de chegada (min), tempo de desenvolvimento (min), estabilidade (min) e índice de tolerância à mistura (UF, unidades farinográficas). O teor de proteína da farinha foi determinado pelo método 46-12 da AACC (2000).

4.3.2 Formulação dos bolos

Para a produção dos bolos foi utilizado o método nº 10-90 da AACC com algumas modificações como proposto por Gutkoski *et al.* (2011). O amido de batata intercruzado durante 150 min, que apresentou maior teor de AR, foi utilizado na substituição parcial da farinha em proporção de 15 e 20%. A quantidade dos ingredientes está apresentada na Tabela 2. Para as formulações com substituição da farinha por amido modificado a quantidade de água foi reduzida para que a densidade da massa fosse semelhante a da formulação padrão.

Os ingredientes foram pesados em balança semianalítica e misturados utilizando batedeira planetária (Lieme, BP-12SL, Brasil). Inicialmente a gordura e o açúcar foram misturados em velocidade lenta durante 1 min e por 5 min em velocidade alta. Os ovos foram adicionados e misturados em velocidade alta por mais 5 min. Em seguida os ingredientes secos, farinha, leite em pó, cloreto de cálcio e amido modificado foram adicionados e misturados por 1 min em velocidade média. A água foi então adicionada e misturada por 2 min em velocidade alta. O fermento foi então adicionado com a batedeira desligada e suavemente incorporado à massa. A massa obtida foi dividida em porções de 150 g que foram colocadas em formas de 15,0 x 4,0 x 7,5 cm e assadas em forno turbo (240 classic, Pasiani, Brasil) pré-aquecido a 180°C durante 23 minutos.

Tabela 2: Quantidade dos ingredientes utilizados nas formulações padrão e com substituição de AR.

	Padrão	15%	20%
Farinha de trigo	100 g	85 g	80 g
Açúcar refinado	90,9 g	90,9 g	90,9 g
Margarina (80% de lípidos)	36,3 g	36,3 g	36,3 g
Leite em pó	10,8 g	10,8 g	10,8 g
Fermento químico	5,2 g	5,2 g	5,2 g
Ovos	30,8 g	30,8 g	30,8 g
Cloreto de Cálcio	0,54 g	0,54 g	0,54 g
Amido de batata inter cruzado por 150 min	-	15 g	20 g
Água	90,8 mL	76 mL	69 mL

Após o forneamento os bolos foram resfriados a temperatura ambiente por 3 horas, e então embalados em sacos plásticos de polietileno, selados e armazenados em BOD a 25 °C por 0, 1, 5, 12 e 21 dias para estudos de envelhecimento. Os bolos foram fotografados utilizando uma câmera digital de 12,6 MP.

4.3.3 Densidade das massas

A densidade das massas foi determinada utilizando um recipiente de alumínio cilíndrico (diâmetro = 3,7 cm; altura = 6,8 cm), pela relação entre o peso pelo volume da massa, expresso em g/cm^3 .

4.3.4 Volume específico dos bolos

O volume dos bolos padrão e com AR foi determinado, após 3 h do término do forneamento, de acordo com o método 10-05 da AACC (2000) por deslocamento de sementes. O peso dos bolos foi determinado em balança semianalítica. Foram utilizados 3 bolos para cada formulação. O volume específico foi calculado como a relação peso/volume (g/cm^3).

4.3.5 Determinação instrumental da cor do miolo e crosta dos bolos

A cor instrumental, dos miolos e das crostas dos bolos, padrão e adicionados de AR, foi avaliada no dia zero, através de um colorímetro Hunter Lab, modelo Color Quest II (Restin, VA, EUA), utilizando o sistema CIEL*a*b, com uma fonte de iluminação D65 e ângulo de visão de 10°, ajustado para refletância especular incluída. Foram utilizadas fatias 2,5 cm de espessura e realizaram-se três leituras em posições diferentes.

4.3.6 Umidade dos bolos

A umidade dos bolos padrão e com adição de AR foi determinada de acordo com o método 44-40 da AACCC (2000), em estufa a 105 °C até peso constante, nos dias 0, 1, 5, 12 e 21.

4.3.7 Textura instrumental dos bolos

A avaliação instrumental da textura dos bolos foi realizada utilizando texturômetro TAXT Plus 50 (Stable Micro System, Reino Unido) equipado com um *probe* de 36 mm de diâmetro (P 36R), com os seguintes parâmetros: velocidade de pré-teste 10 mm/s; compressão de 50% da altura da amostra, tempo entre as compressões 5 s. Para cada formulação foram analisados 2 bolos, com 8 campos em cada bolo. Os bolos foram cortados em fatias de 25 mm, e em seguida as fatias foram cortadas utilizando um cortador circular de 25 mm de diâmetro. Os parâmetros de dureza, mastigabilidade, coesividade e elasticidade foram determinados.

4.3.8 Análise térmica dos bolos

As amostras dos bolos padrão e adicionados de AR foram congeladas a -80 °C nos dias 0, 1, 5, 12 e 21 e então liofilizadas e finamente trituradas em almofariz. As amostras foram pesadas (3 mg) e adicionadas de água (9 µL) em porta amostras de alumínio, mantidas por duas horas a temperatura ambiente para equilíbrio, e então aquecidas de 25 °C a 125 °C a uma taxa constante de 10 °C/min usando um calorímetro exploratório diferencial (modelo Pyris 1, *Perkin Elmer*, EUA).

4.3.9 Padrão de difração de raios-X

Os padrões de difração de raios-X dos bolos padrão e com adição de AR foram determinados utilizando-se um difractômetro de bancada (MiniFlex 300, *Rigaku*, Japão) com radiação monocromática de Cu K α ($\lambda = 1,542 \text{ \AA}$). A velocidade de varredura foi de 0,1° por min e as condições de uso foram de 40 Kv e 30 mA. As amostras foram congeladas a -80 °C nos dias 0, 1, 5, 12 e 21, liofilizadas e finamente trituradas. A cristalinidade relativa foi quantitativamente estimada baseada na relação entre a área cristalina e área total seguindo o método de Nara e Komiya (1983).

4.3.10 Determinação do teor de amido resistente dos bolos

O teor de amido resistente nos bolos, padrão e adicionados de amido inter cruzado, foi determinado pelo método 991.43 da AOAC (1995) para fibra total. Esse método foi utilizado devido a inviabilidade da aplicação dos métodos de Englyst, Kingman e Cummings (1992) e Gõni et al., (1996), uma vez que ambos os métodos incluem uma etapa de dispersão em hidróxido de potássio do amido resistente para posterior conversão em glicose. Devido as fortes ligações covalentes formadas durante o processo de inter cruzamento, o amido inter cruzado não apresenta fácil dispersão mesmo quando KOH e DMSO são empregados, o que inviabiliza a determinação do teor de amido total, aplicada nos dois métodos citados. A adaptação descrita por Sang, Prakash e Seib (2007) também não pode ser aplicada às amostras de bolo por se tratar de um sistema com vários componentes.

As amostras de bolo previamente desengorduradas com éter de petróleo, e secas, foram pesadas em duplicata (1,000 g) e analisadas como descrito no item 4.2.10.

4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Todas as análises foram realizadas no mínimo em triplicata. Os dados foram apresentados como médias das determinações seguidas de desvio padrão e foram avaliados pelo emprego do programa Statistica for Windows (v. 7.0, Statsoft, Tulsa, UK) abrangendo a análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS NATIVOS

5.1.1 Composição química

A Tabela 3 apresenta os valores encontrados para a composição química dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho. Para todos os amidos os teores de cinzas, proteínas, lipídeos e fósforo foram baixos. Entre esses componentes o fósforo e os lipídeos são os de maior influência nas propriedades físico-químicas dos amidos.

O amido nativo de batata apresentou o maior teor de fósforo (0,048%), como esperado, embora esse valor possa ser considerado inferior aos encontrados na literatura para amido de batata que variam entre 0,052 e 0,090% (LIM; KASEMSUWAN; JANE 1994; ALVANI *et al.*, 2011; CHUNG *et al.*, 2014). De acordo com Alvani *et al.* (2011), o amido de batata é naturalmente fosfatado. Nos amidos de raízes e tubérculos o fósforo está presente principalmente na forma de monoéster fosfato, localizado principalmente no C₆ de suas unidades glicosídicas (KASEMSUWAN *et al.*, 1995). Presente em grandes quantidades, como no amido de batata, o monoéster fosfato tem papel importante na claridade, viscosidade, consistência e estabilidade de pasta (FRANCO *et al.*, 2001).

O amido de milho apresentou o maior teor de lipídeos, o que também era esperado por se tratar de um amido de cereais. Nos amidos de cereais os lipídeos ocorrem na superfície e no interior dos grânulos, sendo que na superfície são constituídos principalmente de triglicerídeos e em menores quantidades por ácidos graxos livres, glicolipídeos e fosfolipídeos. Tanto na superfície quanto no interior dos grânulos os lipídeos podem se apresentar no estado livre, ligados através de ligações iônicas ou pontes de hidrogênio aos grupos hidroxilas ou formando complexos de inclusão com a amilose (COPELAND *et al.*, 2009). Os lipídeos são a fração mais importante associada aos grânulos de amido. Altos conteúdos são geralmente observados em amidos de cereais (BULEÓN *et al.*, 1998). Os lipídeos são os responsáveis pela fixação de cor, desenvolvimento de aromas e complexos. Nos amidos de tuberosas são encontrados em pequenas quantidades, tornando esses amidos mais neutros e menos sujeitos a formação de complexos (FRANCO *et al.*, 2001).

Tabela 3: Composição química dos amidos nativos de diferentes fontes botânicas (g/ 100 g em relação à matéria seca)

Teor	Mandioca	Milho	Banana	Batata
Carboidratos totais*	99,23	98,88	99,24	99,03
Cinzas	0,34 ± 0,02 ^a	0,09 ± 0,01 ^c	0,04 ± 0,00 ^d	0,22 ± 0,01 ^b
Proteínas	0,24 ± 0,00 ^c	0,69 ± 0,00 ^a	0,53 ± 0,04 ^b	0,47 ± 0,06 ^b
Lipídeos	0,18 ± 0,00 ^b	0,32 ± 0,02 ^a	0,18 ± 0,01 ^b	0,23 ± 0,03 ^b
Fósforo	0,010 ± 0,000 ^b	0,020 ± 0,001 ^c	0,012 ± 0,000 ^b	0,048 ± 0,001 ^a
Afinidade por Iodo	4,52 ± 0,14 ^b	5,91 ± 0,23 ^a	4,71 ± 0,25 ^b	5,63 ± 0,32 ^a
Amilose aparente	22,59	29,53	23,53	28,16

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). * determinado por diferença entre cinzas, proteínas e lipídeos.

A Tabela 3 também apresenta os valores para a afinidade por iodo e teor de amilose aparente dos amidos nativos. Os amidos de milho e batata apresentaram os maiores teores de amilose aparente, não apresentando diferença significativa entre as afinidades por iodo. O teor de amilose dos amidos pode apresentar grande variação de acordo com a variedade da fonte botânica e método de determinação utilizado. Os teores de amilose encontrados estão próximos da faixa de valores encontrados para amilose aparente na literatura. Leonel *et al.* (2011) analisaram os amidos de banana de nove genótipos diferentes e encontraram valores de amilose entre 26,68 e 33,95%. Pelissari *et al.* (2012) relataram um valor de 35% e Nasrin e Anal (2014) obtiveram 39,8% para este amido.

O teor de amilose aparente encontrado no amido de batata foi semelhante ao relatado por Rocha, Carneiro e Franco (2010) de 28,9% que usaram a mesma metodologia. Alvani *et al.* (2011) investigaram amidos de 11 variedades de batata e encontraram teores de amilose variando entre 25,2% e 29,1%. Apesar do teor de amilose aparente encontrado para o amido de batata ser semelhante ao do amido de milho, esse valor pode ter sido superestimado devido a alta proporção de cadeias ramificadas longas da amilopectina apresentado pelo amido de batata, como pode ser observado na Tabela 4. As cadeias longas da amilopectina também podem formar complexo com iodo, e dessa forma superestimam o teor de amilose aparente dos amidos (JANE *et al.*, 1999).

Cavallini e Franco (2010) obtiveram 23,2% e Freitas *et al.* (2004) 23,0% de amilose para amido de mandioca, valores também semelhantes ao obtido nesse trabalho. O teor de amilose encontrado para o amido de milho está dentro da faixa citada por Singh *et al.* (2003) que encontraram uma variação de 22,4 e 32,5% para este amido.

5.1.2 Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina

A proporção de cadeias ramificadas curtas e longas da amilopectina é responsável pela forma da molécula, o que afeta diretamente seu empacotamento, além de afetar sua morfologia e o tamanho do grânulo (SINGH; DARTOIS; KAUR, 2010). O comprimento dessas ramificações influencia as propriedades de gelatinização, retrogradação e de pasta dos amidos.

A Tabela 4 apresenta a distribuição normalizada do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho. A amilopectina do amido de batata apresentou o maior grau de polimerização (GP) médio e maior proporção de cadeias longas ($GP \geq 37$). Alta proporção de cadeias longas também foi observada para a amilopectina de banana. Altas proporções de cadeias longas são características de amidos com padrão cristalino do tipo B, nos quais as duplas hélices se estendem por dois ou mais clusters na molécula de amilopectina (JANE, 2006).

Tabela 4: Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho.

Amido	Distribuição do comprimento das cadeias (%)				\overline{GP}	Maior GP
	GP 6-12	GP 13-24	GP 25-36	GP >37		
Banana	22,19 ± 0,34 ^b	44,40 ± 0,17 ^b	12,67 ± 0,21 ^b	20,74 ± 0,48 ^a	24,25 ± 0,37 ^b	98
Batata	20,00 ± 0,06 ^c	44,20 ± 0,49 ^b	14,44 ± 0,30 ^a	21,36 ± 0,42 ^a	25,27 ± 0,21 ^a	98
Mandioca	26,73 ± 0,78 ^a	41,33 ± 0,40 ^c	14,05 ± 0,15 ^a	17,89 ± 0,53 ^b	23,23 ± 0,23 ^c	98
Milho	22,86 ± 0,34 ^b	46,61 ± 0,21 ^a	14,59 ± 0,21 ^a	15,94 ± 0,32 ^c	22,89 ± 0,16 ^c	97

Média de duas repetições com respectivo desvio-padrão. GP: grau de polimerização. Valores seguidos pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O amilopectina de mandioca apresentou a maior proporção de cadeias curtas (GP 6-12) e a menor proporção de cadeias intermediárias, levando a formação de um ombro entre os GPs 18-21. A formação de ombros na distribuição das cadeias ramificadas da amilopectina indica uma estrutura cristalina do amido com defeitos, devido a presença de cadeias com $GP < 10$ que não podem formar duplas hélices (JANE *et al.*, 1999; GENKINA *et al.*, 2007). O amido de mandioca também apresentou uma proporção significativa de cadeias longas. Essa distribuição resulta em uma estrutura cristalina frágil com menor capacidade de manter a integridade dos grânulos.

O amido de milho apresentou a menor proporção de cadeias longas e uma alta quantidade de cadeias curtas, característico de amidos de cereais, que apresentam padrão cristalino tipo A.

5.1.3 Microscopia eletrônica de Varredura

A Figura 4 apresenta as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura para os amidos nativos. Os grânulos dos amidos nativos de banana e batata apresentaram formato oval, com superfície regular e diâmetro grande. Os grânulos do amido de mandioca nativo apresentaram formato circular com uma das extremidades truncadas, superfície regular e diâmetro menor do que observado para os amidos de batata e banana. Os grânulos nativos do amido de milho exibiram formato poliédrico e alguns grânulos apresentaram superfície com presença de poros.

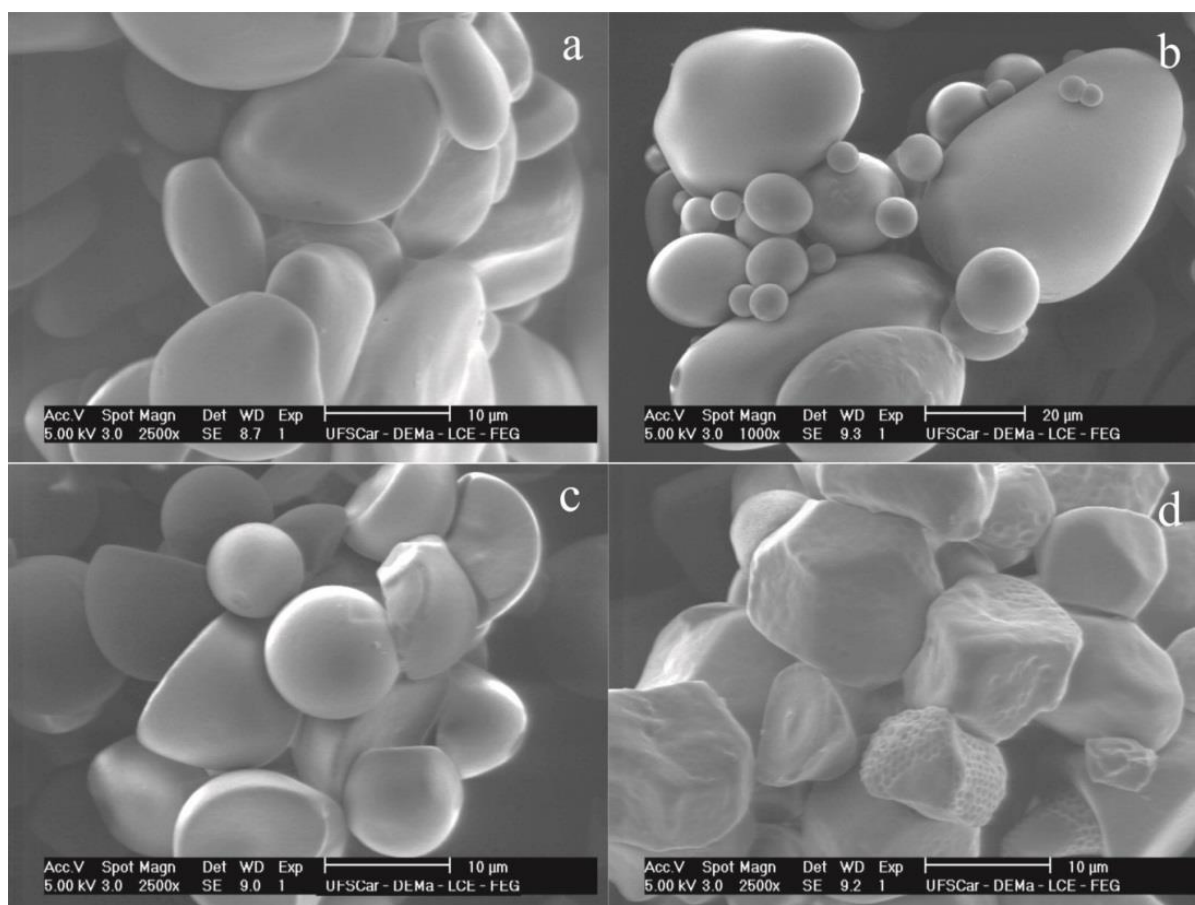


Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura dos amidos nativos de banana (a), batata (b), mandioca (c) e milho (d).

5.1.4 Difração de Raios-X

Os difractogramas de raios-X dos amidos juntamente com suas cristalinidades relativas estão apresentados na Figura 5. O amido de batata apresentou padrão cristalino do tipo B, caracterizado por picos singletos em 5,6° e 17° e um dubleto em 22° e 24° em 2 θ . O padrão cristalino do tipo B também é relatado para o amido de batata por Varatharajan *et al.* (2010), Lee *et al.* (2011) e Rocha *et al.* (2011). O amido de banana apresentou padrão cristalino do tipo C_B, diferenciando do padrão tipo B pela presença de um pico singlete em 23° ao invés do pico dubleto em 22 e 24°. De acordo com Zhang *et al.* (2005) o padrão cristalino para o amido de banana não é claro e há estudos relatando padrão cristalino do tipo A, B e C para amido de banana. Essa variação pode ser associada à variedade da fonte botânica, condições ambientais de crescimento e técnica utilizada para isolamento. O amido de milho apresentou padrão cristalino do tipo A, típico de amidos de cereais, com um pico dubleto em 17° e 18° e um pico singlete em 23°. O padrão cristalino tipo A também é atribuído ao amido de milho por Pukkahuta *et al.* (2008), Jiranuntakul *et al.* (2011), e Rocha *et al.* (2012). O amido de mandioca apresentou um pico dubleto em 17° e 18° e um pico singlete em 23° característicos do polimorfo do tipo A, no entanto um leve pico a 5,6° foi observado, pico este característico do tipo B, o que levou a classificação desse amido como tipo C_A (BÚLEON *et al.*, 1998; THYS *et al.*, 2008), concordando com os estudos Jyothi, Sajeev e Sreekumar (2010), Rocha *et al.* (2011) e Moraes, Alves e Franco (2013). No entanto, no trabalho de Cavallini e Franco (2010) o amido de mandioca foi classificado como tipo A.

A cristalinidade dos amidos é influenciada por vários fatores, como quantidade de duplas hélices dispostas na região cristalina, teor de amilose, tamanho dos cristais, e extensão do rompimento dos cristais da amilopectina pela amilose. Os amidos com padrão cristalino do tipo B são conhecidos por apresentar maior proporção de cadeias longas, como pode ser observado na tabela 4, que são diretamente relacionadas à maior cristalinidade relativa dos amidos (JANE, 2006). Os maiores valores para a cristalinidade relativa foram observados para os amidos de banana e batata, que apresentaram padrão cristalino do tipo B. O amido de milho apresentou a menor cristalinidade relativa, o que pode ser relacionado à maior proporção de cadeias curtas e menor proporção de cadeias longas, apresentado por esse amido (Tabela 4). As cadeias laterais curtas da amilopectina (DP 6-12) apresentam comprimento menor do que a lamela cristalina, resultando em defeitos na estrutura cristalina, que reduz a cristalinidade dos grânulos (JANE *et al.*, 1999).

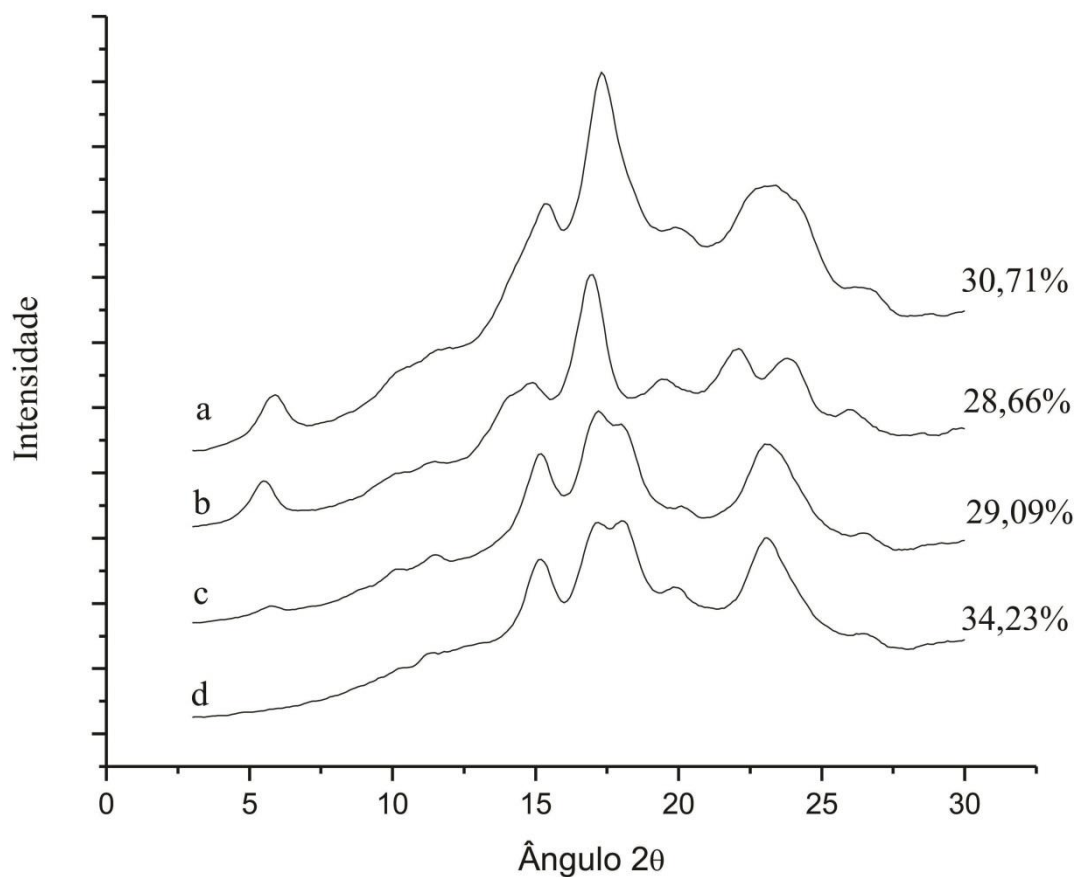


Figura 5: Difratogramas de Raios-X dos amidos nativos de banana (a), batata (b), mandioca (c) e milho (d).

5.1.5 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta e os perfis viscoamilográficos dos amidos nativos estão apresentados na Tabela 5 e Figura 6. Os amidos nativos de banana, batata e mandioca apresentaram perfis com altas viscosidades de pico e quebra e baixa tendência a retrogradação, quando comparado ao amido de milho.

O maior conteúdo de lipídeos e maior teor de amilose apresentados pelo amido de milho (Tabela 3) podem explicar as menores viscosidades obtidas para este amido. A amilose restringe a capacidade de expansão dos grânulos e a presença de lipídeos promove a formação de complexos com 7-8% da amilose, o que também dificulta a expansão dos grânulos (SINGH *et al.*, 2003).

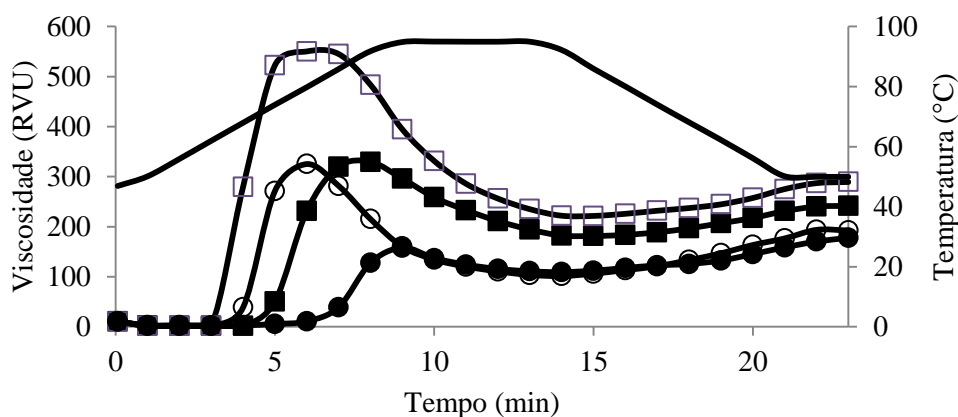


Figura 6: Perfil viscoamilográfico dos amidos nativos de banana (■), batata (□), mandioca (○) e milho (●).

O amido de batata, por sua vez, exibiu as maiores viscosidades de pico e quebra. O amido de batata é um amido naturalmente fosfatado, com teores de fósforo entre 0,04 e 0,13% (BERGTHALLER, 2000), que se encontra na forma de monoéster fosfato. Esses grupos fosfatos encontram-se ligados às cadeias de amilopectina e se repelem uns aos outros nas cadeias próximas possibilitando maior hidratação da região cristalina, que permite com que o grânulo expanda mais antes de se romper (SINGH *et al.*, 2003).

Tabela 5: Propriedades de pasta dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho.

Amido	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidades (RVU)			
		Pico	Quebra	Final	Setback
Banana	72,5 ± 0,3 ^b	332 ± 0 ^b	151 ± 0 ^c	242 ± 2 ^b	61 ± 2 ^c
Batata	65,4 ± 0,4 ^d	558 ± 12 ^a	338 ± 10 ^a	290 ± 3 ^a	70 ± 1 ^b
Mandioca	67,0 ± 0,3 ^c	327 ± 5 ^b	226 ± 4 ^b	193 ± 4 ^c	92 ± 3 ^a
Milho	85,8 ± 0,0 ^a	162 ± 2 ^c	53 ± 1 ^d	178 ± 5 ^d	69 ± 2 ^{bc}

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O amido de banana apresentou maior temperatura de pasta e viscosidade de pico e menor viscosidade de quebra comparada ao amido de mandioca, mostrando ser um amido de maior estabilidade. Resultados obtidos por Zhang e Hamaker (2012) mostram perfis viscoamilográficos para o amido de banana distintos daquele obtido neste trabalho, com grande estabilidade, sendo o amido nativo comparado a amidos quimicamente modificados por inter cruzamento devido à alta viscosidade de pico e viscosidade de quebra quase

desprezível, contudo os autores não citam a variedade de banana empregada na extração do amido.

5.1.6 Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos amidos nativos são apresentadas na Tabela 6 e as endotermas de gelatinização na Figura 7.

Os amidos de banana e milho apresentaram as maiores temperaturas iniciais de gelatinização, que não apresentaram diferença significativa entre si. O amido de banana, no entanto apresentou maior variação de entalpia que o amido de milho. A elevada temperatura de gelatinização do amido de banana pode ser relacionada à alta proporção de cadeias longas (≥ 37) apresentada por esse amido, como discutido anteriormente (Tabela 4). Pelissari *et al.* (2012) também compararam as propriedades térmicas dos amidos de banana, batata, milho e mandioca e encontraram as maiores temperaturas de gelatinização para o amido de banana.

A alta temperatura de gelatinização do amido de milho pode, por sua vez, ser explicado pela estrutura mais densamente empacotada e pela maior ordem molecular apresentada por amidos com padrão cristalino tipo A (JANE *et al.*, 1999).

Tabela 6: Propriedades térmicas dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho.

	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)
Banana	64,05 ± 0,16 ^a	67,59 ± 0,24 ^b	70,96 ± 0,40 ^b	17,00 ± 0,08 ^a
Batata	60,45 ± 0,10 ^b	63,43 ± 0,12 ^d	67,08 ± 0,11 ^c	17,25 ± 0,11 ^a
Mandioca	59,63 ± 0,88 ^b	65,05 ± 0,22 ^c	70,52 ± 0,23 ^b	16,01 ± 0,18 ^b
Milho	64,66 ± 0,26 ^a	68,64 ± 0,24 ^a	72,20 ± 0,09 ^a	12,10 ± 0,35 ^c

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O amido de mandioca apresentou a temperatura inicial de gelatinização mais baixa, entre os amidos estudados. Segundo Singh *et al.* (2003), o grau de perfeição cristalina é refletido nas temperaturas de gelatinização. A temperatura de pico de gelatinização fornece uma medida da qualidade dos cristais, o que está relacionado ao comprimento das duplas hélices. As baixas temperaturas de gelatinização do amido de mandioca, bem como a maior faixa de temperatura de gelatinização deste amido, podem ser relacionadas à sua estrutura cristalina que apresenta maior fragilidade devido à baixa proporção de cadeias de GP entre 18 e 21 e a grande proporção de cadeias curtas apresentadas por esse amido (Tabela 4).

Os amidos de banana, batata e mandioca apresentaram maiores valores de ΔH que o amido de milho, o que pode ser atribuído ao maior número de duplas hélices presentes, devido a maior proporção de cadeias longas (Tabela 4) e à maior interação entre as duplas hélices da amilopectina e os domínios cristalinos (GUNARATNE; HOOVER, 2002).

Os amidos de banana e batata apresentaram picos mais estreitos, com menor faixa de temperatura de gelatinização, indicando maior homogeneidade dos cristais em comparação aos amidos de mandioca e milho, que apresentaram picos de gelatinização mais largos. De acordo com Ellis *et al.* (1998) a faixa de temperatura de gelatinização do amido é afetada pelas condições do meio durante a síntese do amido, principalmente pela temperatura durante o desenvolvimento do grânulo.

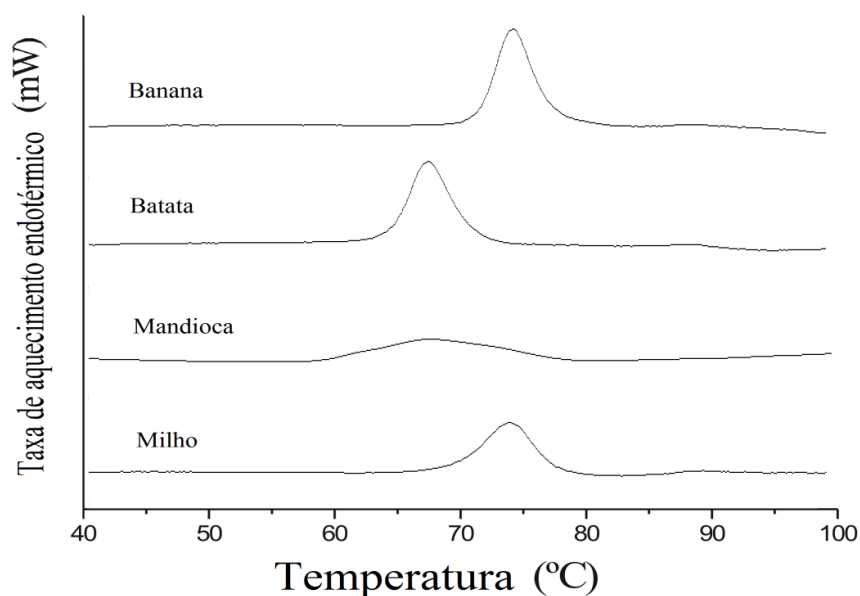


Figura 7: Perfil endotérmico dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho determinados por DSC.

5.1.7 Teor de amido resistente

As digestibilidades dos amidos nativos determinadas pelo método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) adaptado por Sang, Prakash e Seib (2007) e pelo método 991.43 da AOAC estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Teores de amido resistente dos amidos nativos de banana, batata, mandioca e milho obtidos pelo método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) adaptado por Sang, Prakash e Seib (2007) e pelo método 991.43 da AOAC.

Amido	Método de Englyst et al. (1992)			Método 991.43 da AOAC (%)
	ARD (%)	ALD (%)	AR (%)	
Banana	56,86 ± 0,82 ^c	33,86 ± 0,12 ^b	9,84 ± 0,32 ^b	1,24 ± 0,02 ^a
Batata	70,87 ± 0,12 ^b	16,38 ± 0,73 ^c	12,75 ± 0,29 ^a	1,32 ± 0,07 ^a
Mandioca	90,89 ± 0,89 ^a	6,27 ± 0,49 ^d	1,84 ± 0,10 ^d	0,46 ± 0,04 ^b
Milho	58,92 ± 0,37 ^c	37,02 ± 0,14 ^a	4,06 ± 0,27 ^c	0,16 ± 0,01 ^c

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os amidos nativos apresentaram baixos teores de AR, em ambos os métodos, porém os valores obtidos pelo método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) foram superiores àqueles observados pelo método da AOAC. É conhecido que os diferentes métodos de determinação de AR apresentam diferenças nos resultados, de forma que as variações observadas nos teores de AR pelos métodos aplicados já era esperada. De acordo com Perera, Meda e Tyler (2010), as diferenças entre os métodos analíticos empregados para a determinação de AR, como a concentração das enzimas, a sequência de aplicação, o tempo de incubação e a diferença nas condições dos experimentos fazem com que as diferenças obtidas nos resultados sejam significativas. Shin, Song e Seib (2004) também relacionam a diferença observada nos diferentes métodos de determinação com as fontes das enzimas utilizadas. No método da AOAC o amido é digerido inicialmente com α -amilase termoestável, na sequência com protease e na etapa final com amiloglucosidase, enquanto no método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) a digestão é feita com um preparado enzimático em que as três enzimas são adicionadas ao mesmo tempo. Além disso, a α -amilase na pancreatina tem especificidade diferente para o substrato da α -amilase termoestável (JANE; ROBYT, 1984).

As duas metodologias empregam etapas de aquecimento a altas temperaturas para que os amidos sejam gelatinizados, de forma que as contribuições de AR1 e AR2 não são consideradas no teor de AR final (PERERA; MEDA; TYLER, 2010), e por esse motivo os teores de AR dos amidos nativos são baixos quando comparados aos valores descritos quando a etapa de gelatinização não é aplicada. Han e BeMiller (2007) utilizaram o método de Englyst em amido gelatinizado e relataram valores de 1,1, 0,1 e 3,9% de AR para os amidos

de milho normal, mandioca e batata, respectivamente. Zhang e Hamaker (2012), contudo, também utilizando o método de Englyst em amostras gelatinizadas durante 20 min relatam teores de AR de 27,0, 16,5 e 16,1% para os amidos de banana, batata e milho normal, respectivamente. No trabalho de Sang *et al.* (2010), o teor de AR obtido para o amido de batata foi de 77%, utilizando uma adaptação do método de Englyst sem a prévia gelatinização dos amidos. No trabalho de Carlos-Amaya *et al.* (2011) o amido nativo de banana foi analisado com e sem gelatinização pelo método de Englyst e os valores obtidos para o teor de AR foram 21,49 e 85,07%, respectivamente. Utrilla-Coello *et al.* (2014) relataram que o teor de AR para o amido de banana nativo de diferentes variedades variou entre 0,76 a 13,4% quando analisado pelo método de Englyst com gelatinização dos amidos. Devido as diferentes informações obtidas na literatura e adaptações realizadas pelos autores principalmente no método descrito por Englyst, a comparação dos teores de AR torna-se difícil.

Os amidos nativos de batata e banana apresentaram os maiores teores de AR, em ambos os métodos. O padrão cristalino do tipo B e o maior tamanho de grânulo com superfície regular desses amidos podem estar relacionados à maior resistência desses amidos às enzimas (GALLANT *et al.*, 1992; ZHANG *et al.*, 2005; SHI *et al.*, 2013).

O amido de batata apresentou o maior teor de AR, apesar das semelhanças observadas entre os amidos de banana e batata, algumas características como a diferença no padrão cristalino e a maior proporção de cadeias curtas apresentada pelo amido de banana, que provocam uma desestabilização da estrutura cristalina, podem ser relacionados ao maior teor de AR no amido de batata. O amido de banana por sua vez apresentou maior teor de ALD que o amido de batata. O amido nativo de banana apresenta alta estabilidade de pasta e temperaturas de gelatinização que indicam um grau de organização cristalina que pode justificar a resistência enzimática apresentada.

O amido de milho apresentou o maior teor de ALD entre os amidos nativos. De acordo com Han e BeMiller (2007) quanto maior o teor de amilose dos amidos mais lenta a digestão. As moléculas de amilopectina apresentam maior área superficial que as moléculas de amilose, fazendo com que a amilopectina seja o principal substrato para o ataque enzimático (SINGH; DARTOIS; KAUR, 2010). Além do maior teor de amilose, o conteúdo superior de lipídeos apresentado pelo amido de milho pode justificar sua digestibilidade mais lenta, uma vez que esses lipídeos tem a capacidade de formar complexos de inclusão com a amilose (SINGH; DARTOIS; KAUR, 2010).

O amido de mandioca apresentou os menores valores para AR e ALD entre os amidos estudados. A alta proporção de cadeias curtas (Tabela 4) e estrutura cristalina mais frágil, além de resultar em menores temperaturas de gelatinização (Tabela 6) também facilita a hidrólise enzimática desse amido.

5.2 MODIFICAÇÕES

5.2.1 Intercruzamento

5.2.1.1 Teor de fósforo.

Os teores de fósforo dos amidos modificados nos diferentes tempos estão apresentados na Tabela 8.

O teor de fósforo em amidos modificados quimicamente não deve ser superior a 0,04% quando trimetafosfato de sódio (TMPS) é utilizado como agente inter cruzante, porém quando o agente inter cruzante é a mistura de trimetafosfato de sódio (TMFS) e tripolifosfato de sódio (TPFS) o teor de fósforo máximo permitido é de 0,4% para que os mesmos possam ser considerados seguros para serem utilizados em produtos alimentícios (CFR, 2013; WONGSAGONSUP *et al.*, 2014). Todos os amidos inter cruzados neste trabalho podem ser considerados seguros para o uso em alimentos, com exceção dos amidos de batata e mandioca inter cruzados por 180 min que apresentaram teor de fósforo superior a 0,4%.

O amido de batata obteve a maior incorporação de fósforo e o amido de milho a menor. O teor de fósforo aumentou com o aumento do tempo de tratamento, independente da fonte de amido. As diferentes fontes de amido apresentaram, no entanto, comportamento diferente durante o inter cruzamento. Para o amido de banana a maior parte do fósforo foi incorporada na primeira hora de tratamento (aproximadamente 65% do fósforo total). Os amidos de batata e mandioca incorporaram quantidades semelhantes de fósforo durante e a primeira e a última hora de tratamento (aproximadamente 35%), enquanto o amido de milho apresentou a menor quantidade de fósforo incorporada durante todo o processo, em comparação aos outros amidos.

As diferenças na estrutura e composição dos amidos podem explicar as diferenças nas quantidades de fósforo incorporadas durante o tratamento. Apesar dos amidos de banana e

batata apresentarem alta proporção de cadeias ramificadas longas, (Tabela 4), e grânulos com superfície lisa e de diâmetro grande (KAUR *et al.*, 2007; PELISSARI *et al.*, 2012), o amido nativo de batata tem maior teor de fósforo, presente na forma de monoéster fosfato ligado principalmente ao carbono C6 das cadeias e amilopectina (BULÉON *et al.*, 1998). Esses grupos negativamente carregados propiciam uma maior distancia entre as cadeias de amido, o que pode facilitar o acesso dos grupos fosfatos até o interior do grânulo de amido durante o intercrossamento.

Tabela 8: Teor de fósforo dos diferentes amidos nativos e intercrossados em diferentes tempos.

Tempo de intercrossamento (min)	Teor de fósforo (g/100 g)			
	Banana	Batata	Mandioca	Milho
Nativo	0,012 ± 0,000 ^{e,B}	0,048 ± 0,001 ^{f,A}	0,010 ± 0,000 ^{e,B}	0,020 ± 0,001 ^{e,C}
60	0,226 ± 0,003 ^{d,A}	0,200 ± 0,004 ^{e,B}	0,168 ± 0,002 ^{d,C}	0,124 ± 0,006 ^{d,D}
90	0,265 ± 0,007 ^{c,B}	0,290 ± 0,003 ^{d,A}	0,172 ± 0,003 ^{d,D}	0,180 ± 0,001 ^{c,C}
120	0,304 ± 0,003 ^{b,B}	0,329 ± 0,002 ^{c,A}	0,253 ± 0,001 ^{c,C}	0,192 ± 0,002 ^{c,D}
150	0,313 ± 0,006 ^{b,B}	0,374 ± 0,005 ^{b,A}	0,287 ± 0,006 ^{b,BC}	0,249 ± 0,002 ^{b,C}
180	0,345 ± 0,000 ^{a,C}	0,543 ± 0,004 ^{a,A}	0,448 ± 0,001 ^{a,B}	0,289 ± 0,006 ^{a,D}

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra maiúscula na mesma linha e minúscula na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A estrutura cristalina frágil apresentada pelo amido de mandioca pode explicar a alta incorporação de fósforo durante o intercrossamento, observada para esse amido. Por outro lado, o amido de milho possui padrão cristalino do tipo A, no qual as cadeias de amido estão mais densamente empacotadas (BULÉON *et al.*, 1998) o que dificulta a incorporação de fósforo. Além disso, o amido de milho possui alto teor de amilose (29,53%) o que também pode estar relacionado ao menor teor de fósforo após o intercrossamento. Amilose e amilopectina podem ser intercrossadas, porém as moléculas de amilopectina são mais suscetíveis ao intercrossamento (JANE *et al.*, 1992; KASEMSUWAN; JANE, 1994).

5.2.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ³¹P

A digestão exaustiva dos amidos nativos e intercrossados com α -amilase termoestável resulta em fosfodextrinas de alta solubilidade em água que foram analisadas através de ³¹P-RMN. Os espectros estão apresentados na Figura 8.

Entre os amidos nativos apenas o amido de batata apresentou picos entre δ 3,2 e 4,2 ppm, correspondentes ao éster mono-amido mono-fosfato ligados aos carbonos C-6 e C-3 das unidades de D-glicose, e ao fosfato inorgânico (SANG *et al.*, 2010), o que era esperado uma vez que o amido de batata é naturalmente fosfatado.

Diferentes formas de éster fosfato foram formadas durante o inter cruzamento para todos os amidos. Os amidos inter cruzados apresentaram, independente do tempo de tratamento, uma sequência de sinais centrados em δ 15 ppm, δ 3 a 5 ppm e δ -1 a 1 ppm, correspondentes aos ésteres mono-amido monofosfato cíclico (cíclico MSMP), mono-amido mono-fosfato (MSMP), e di-amido monofosfato (DSMP), respectivamente (SANG *et al.*, 2010). Os amidos de batata e mandioca apresentaram também, independente do teor de fósforo incorporado durante o tratamento, sinais centrados em δ -5 e -10 ppm, que correspondem ao éster mono-amido difosfato (MSDP).

Os diferentes ésteres conferem diferentes funcionalidades aos amidos fosforilados. O éster mono-amido monofosfato melhora a aparência, higroscopicidade, transparência da solução, inchamento e viscosidade dos amidos, enquanto di-amido monofosfato proporciona melhores propriedades espessantes mesmo com baixos teores de fósforo (<0,04%) além de conferir maior resistência ao aquecimento, cisalhamento e meios ácidos (SANG *et al.*, 2010).

A intensidade dos sinais aumentou com o tempo de tratamento, independente da fonte botânica do amido (Figura 8). O éster DSMP estava presente em maior proporção em todos os amidos inter cruzados, quando comparado aos outros ésteres formados, seguido pelos ésteres MSMP e cíclico-MSMP. O éster MSDP, observado apenas para os amidos de batata e mandioca, apresentou maior proporção relativa no amido de batata.

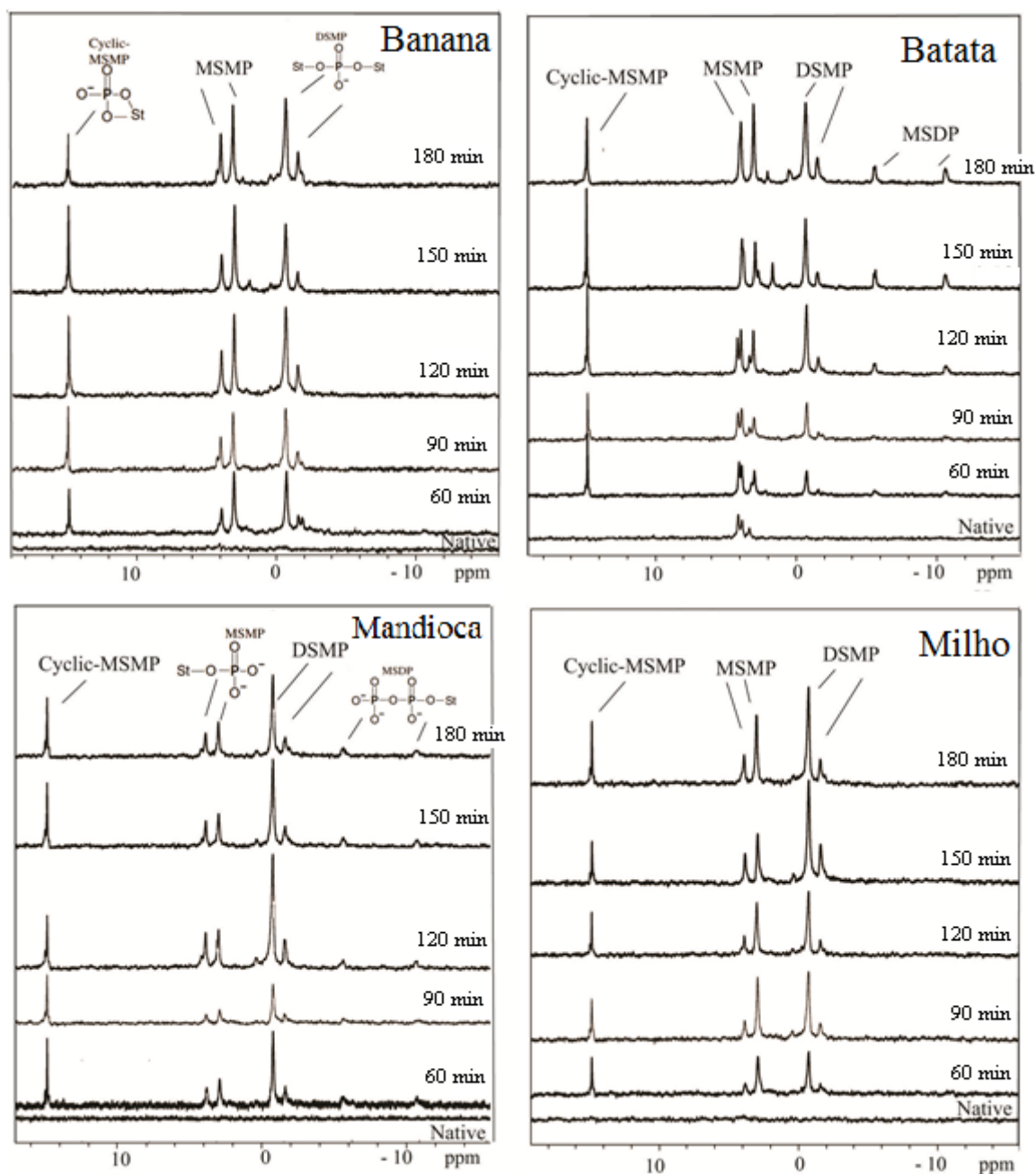


Figura 8: Espectros de ^{31}P -RMN das fosfodextrinas obtidas dos amidos nativos e inter cruzados de banana, batata, mandioca e milho.

5.2.1.1 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros obtidos por FT-IR para os amidos modificados não apresentaram diferenças significativas quando comparados aos respectivos amidos nativos (Figura 9). Contudo foi observado um aumento na intensidade de absorção na região entre 1050 – 995 cm^{-1} , em todos os amidos. De acordo com Liu *et al.* (2014), a absorção na região de 1050 –

995 cm^{-1} é relativa a ligação P-O-C que é formada no intercruzamento das moléculas. Essa absorção é devida a estrutura química do TMPS e a vibração de tensão dos componentes do éster de fosfato formado. A absorção nessa região foi mais intensa nos amidos de batata e mandioca, confirmando o maior intercruzamento desses amidos, como indicado também nos espectros de ^{31}P -RMN e teor de AR.

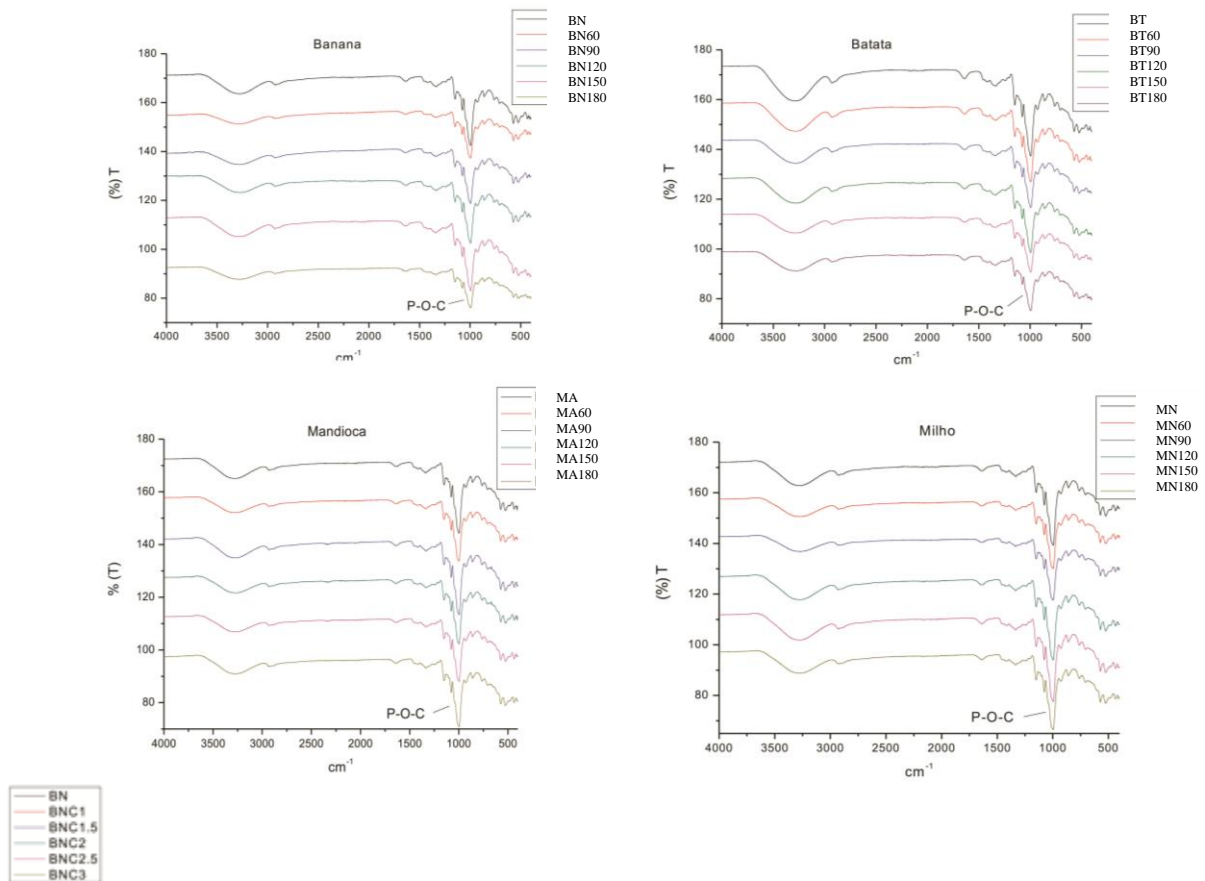


Figura 9: Espectros de espectroscopia FT-IR dos amidos nativos e modificados de banana, batata, mandioca e milho.

5.2.1.2 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura dos amidos nativos e intercruzados estão apresentadas na Figura 10.

O intercruzamento não alterou a estrutura granular dos amidos, porém a superfície dos grânulos tornou-se menos uniforme, o que pode ser observado principalmente para os grânulos de amido de milho, que apresentam superfície porosa. Sulfato de sódio foi usado

durante o tratamento com o objetivo de prevenir a gelatinização pelo pH fortemente alcalino (11,5), mas uma ligeira degradação superficial foi observada.

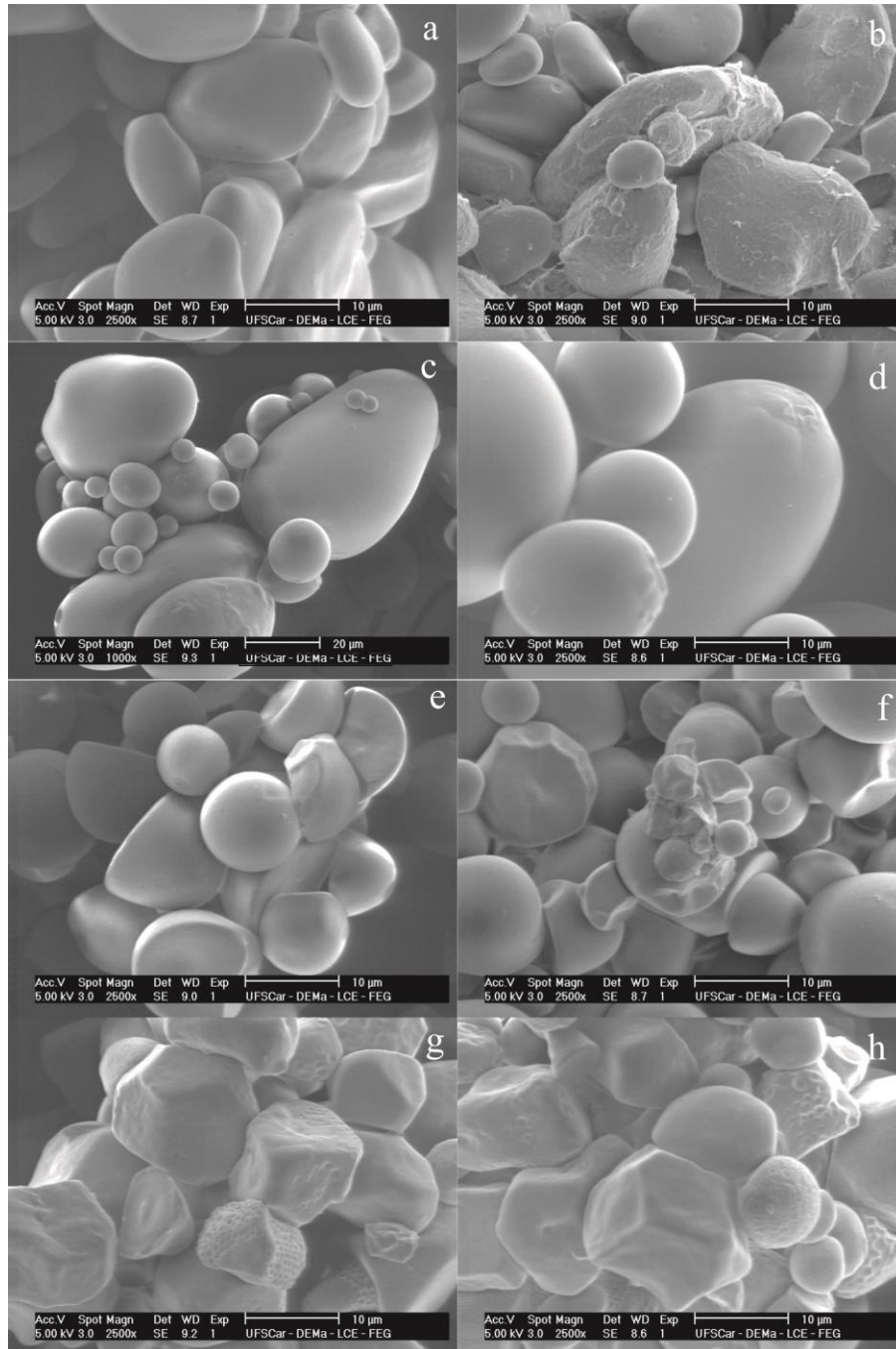


Figura 10: Microscopias eletrônicas de varredura dos amidos de banana nativo (a), banana inter cruzado por 180 min (b), batata nativo (c), batata inter cruzado por 150 min (d), mandioca nativo (e), mandioca inter cruzado por 150 min (f), milho nativo (g) e milho inter cruzado por 180 min (h).

5.2.1.3 Difração de raios-X e cristalinidade relativa

O padrão cristalino dos amidos não foi alterado com o intercruzamento. Esse comportamento também foi observado por Carlos-Amaya *et al.* (2011), Shi *et al.* (2013), Koo, Lee e Lee (2010) e Liu *et al.* (2014) para o intercruzamento de amidos de banana, ervilha e milho, respectivamente. Esses autores sugerem que o intercruzamento com fósforo ocorre principalmente na região amorfa dos grânulos não alterando o padrão cristalino dos amidos.

Tabela 9: Cristalinidade relativa dos amidos nativos e modificados por intercruzamento por diferentes tempos.

Tempo de tratamento (min)	Cristalinidade relativa (%)			
	Banana	Batata	Milho	Mandioca
Nativo	30,71 ± 0,75 ^{ns}	28,66 ± 0,46 ^{ns}	29,09 ± 0,06 ^a	34,23 ± 0,05 ^a
60 min	30,89 ± 0,20 ^{ns}	27,81 ± 0,32 ^{ns}	27,06 ± 0,18 ^{bc}	31,41 ± 0,26 ^c
90 min	29,86 ± 0,46 ^{ns}	27,95 ± 0,12 ^{ns}	27,47 ± 0,13 ^b	31,97 ± 0,02 ^{bc}
120 min	30,43 ± 0,36 ^{ns}	27,84 ± 0,33 ^{ns}	27,61 ± 0,09 ^b	32,17 ± 0,05 ^b
150 min	30,55 ± 0,21 ^{ns}	27,76 ± 0,46 ^{ns}	27,65 ± 0,10 ^b	31,66 ± 0,18 ^c
180 min	29,89 ± 0,19 ^{ns}	27,91 ± 0,45 ^{ns}	27,02 ± 0,27 ^c	32,18 ± 0,25 ^b

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Ns: Não significativo.

A cristalinidade relativa (CR) dos amidos intercruzados é apresentada na Tabela 9. A CR não apresentou diferença significativa para os amidos de banana e batata após o intercruzamento, em nenhum dos tempos de tratamento, enquanto apresentou uma leve redução nos amidos de milho e mandioca. A substituição dos grupos hidroxilas por grupos fosfatos acontece inicialmente na região amorfa dos grânulos (BILIADERIS, 1982; CARMONA-GARCIA *et al.*, 2009) e promove o inchamento dessa região (REDDY E SEIB, 2000) devido ao volume dos grupos fosfatos, podendo resultar no rompimento da fase cristalina desses amidos (JENKINS; DONALD, 1998).

5.2.1.4 Propriedades térmicas

As temperaturas de gelatinização dos amidos de banana, batata, mandioca e milho, nativos e intercruzados em diferentes tempos são apresentados na Tabela 10.

O intercruzamento resultou em leves alterações nas temperaturas de gelatinização. O intercruzamento no amido de banana promoveu uma pequena elevação nas temperaturas de gelatinização, mais visível após 180 min de tratamento.

De um modo geral, as temperaturas de gelatinização praticamente não foram alteradas para o amido de batata, independente do tempo de tratamento, e apresentaram um pequeno aumento para os amidos de banana, mandioca e milho, com o aumento do tempo de tratamento.

Tabela 10: Propriedades térmicas de gelatinização dos amidos de banana, batata, mandioca e milho, nativos e intercruzados em diferentes tempos.

Amidos	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)
Banana					
Nativo	64,05 ± 0,16 ^{bc}	67,59 ± 0,24 ^{cd}	70,96 ± 0,40 ^c	6,91	17,00 ± 0,08 ^a
60 min	62,78 ± 0,11 ^d	67,44 ± 0,11 ^d	71,18 ± 0,09 ^c	8,40	16,34 ± 0,19 ^b
90 min	63,66 ± 0,24 ^{bcd}	68,26 ± 0,23 ^{bc}	71,91 ± 0,25 ^{bc}	8,25	16,29 ± 0,27 ^b
120 min	64,18 ± 0,30 ^b	68,86 ± 0,15 ^b	72,46 ± 0,13 ^{ab}	8,28	16,39 ± 0,16 ^b
150 min	63,08 ± 0,74 ^{cd}	67,73 ± 0,66 ^{cd}	71,39 ± 0,81 ^{bc}	8,31	13,63 ± 0,41 ^c
180 min	65,56 ± 0,31 ^a	69,94 ± 0,32 ^a	74,43 ± 0,46 ^a	7,83	16,74 ± 0,17 ^{ab}
Batata					
Nativo	60,45 ± 0,10 ^a	63,43 ± 0,12 ^{ab}	67,08 ± 0,11 ^{ab}	6,63	17,25 ± 0,11 ^a
60 min	58,66 ± 0,56 ^b	62,34 ± 0,71 ^b	66,40 ± 1,00 ^b	7,75	15,87 ± 0,18 ^c
90 min	59,21 ± 0,11 ^b	62,76 ± 0,11 ^b	66,50 ± 0,22 ^b	7,29	16,41 ± 0,13 ^b
120 min	59,05 ± 0,29 ^b	63,26 ± 0,35 ^{ab}	67,60 ± 0,63 ^{ab}	8,55	14,88 ± 0,13 ^d
150 min	58,72 ± 0,41 ^b	62,59 ± 0,59 ^b	66,76 ± 0,76 ^{ab}	8,04	15,47 ± 0,03 ^c
180 min	60,60 ± 0,00 ^a	64,51 ± 0,00 ^a	68,91 ± 0,00 ^b	8,31	14,44 ± 0,00 ^d
Mandioca					
Nativo	59,63 ± 0,88 ^c	65,05 ± 0,22 ^e	70,52 ± 0,23 ^e	10,89	16,01 ± 0,18 ^a
60 min	61,31 ± 0,80 ^{abc}	67,62 ± 0,36 ^{cd}	73,73 ± 0,30 ^c	12,41	15,55 ± 0,08 ^b
90 min	60,72 ± 0,15 ^{ac}	67,36 ± 0,00 ^d	72,83 ± 0,10 ^d	12,11	13,48 ± 0,29 ^d
120 min	62,75 ± 0,19 ^a	69,20 ± 0,00 ^a	75,09 ± 0,37 ^a	12,35	13,78 ± 0,10 ^d
150 min	61,57 ± 0,30 ^{ab}	68,20 ± 0,01 ^{bc}	74,23 ± 0,06 ^{bc}	12,66	13,27 ± 0,01 ^d
180 min	61,67 ± 0,35 ^{ab}	68,53 ± 0,24 ^{ab}	75,05 ± 0,17 ^{ab}	13,38	14,72 ± 0,29 ^c
Milho					
Nativo	64,66 ± 0,26 ^d	68,64 ± 0,24 ^e	72,20 ± 0,09 ^e	7,54	12,10 ± 0,35 ^b
60 min	66,64 ± 0,09 ^c	70,29 ± 0,13 ^d	73,42 ± 0,11 ^d	6,79	13,28 ± 0,01 ^a
90 min	67,72 ± 0,04 ^{bc}	71,38 ± 0,21 ^c	74,55 ± 0,22 ^c	6,83	11,78 ± 0,19 ^b
120 min	67,64 ± 0,16 ^{bc}	71,26 ± 0,11 ^{cd}	74,44 ± 0,06 ^c	6,80	11,51 ± 0,34 ^b
150 min	69,99 ± 0,62 ^a	73,99 ± 0,53 ^a	76,96 ± 0,35 ^a	6,96	11,75 ± 0,20 ^b
180 min	68,77 ± 0,07 ^b	72,52 ± 0,17 ^b	75,61 ± 0,22 ^b	6,84	11,72 ± 0,21 ^b

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p > 0,05).

Um ligeiro aumento nas temperaturas de gelatinização em amidos inter cruzados também foi relatado por Aparicio-Saguilán *et al.* (2008) e Carmona-Garcia *et al.* (2009) para amidos de banana e por Chung, Woo e Lim (2004) para amido de milho. Esses autores sugerem que as ligações covalentes formadas entre os grupos fosfatos e as cadeias de amido fortalecem a estrutura granular.

A variação de entalpia (ΔH) apresentou uma leve redução para todos os amidos após o inter cruzamento, exceto para o amido de milho. Foi observada uma redução na faixa de temperatura de gelatinização (ΔT) do amido de milho, sugerindo uma maior homogeneidade dos cristais após o tratamento. A redução observada no (ΔH) concorda com a redução na CR (Tabela 9), e pode ser explicada pelo aumento do volume da região amorfa dos grânulos (REDDY; SEIB, 2000) devido à inclusão dos grupos fosfatos (BILIADERIS, 1982).

5.2.1.5 Propriedades de pasta

Os amidos modificados por inter cruzamento não apresentaram nenhuma viscosidade, em qualquer dos tempos estudados. Isso acontece porque as ligações covalentes criadas durante o processo tornam a estrutura do amido muito rígida impedindo a mobilidade das moléculas e o inchamento dos grânulos. Esse comportamento também foi observado por Chung, Woo e Lim (2004) em amido de milho normal, por Seib e Woo (1999) em amido de trigo, e por Shi *et al.* (2013) em amido de ervilha, após inter cruzamento.

5.2.1.6 Teor de amido resistente

As digestibilidades dos amidos nativos e inter cruzados, determinadas pelo método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) adaptado por Sang, Prakash e Seib (2007) estão apresentados na Tabela 11, enquanto os teores de AR, determinados pelo método 991.43 da AOAC para os amidos nativos e inter cruzados por 150 min estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 11: Digestibilidade dos amidos nativos e modificados por inter cruzamento em diferentes tempos, determinado pelo método modificado de Englyst, Kingman e Cummings (1992).

Amido	ARD (%)	ALD (%)	AR (%)
Banana			
Nativo	56,86 ± 0,82 ^a	33,86 ± 0,12 ^a	9,84 ± 0,32 ^f
60 min	49,17 ± 0,28 ^b	13,20 ± 0,54 ^b	37,63 ± 0,51 ^e
90 min	46,42 ± 0,90 ^c	10,32 ± 0,37 ^c	43,26 ± 0,17 ^d
120 min	45,08 ± 0,30 ^c	9,17 ± 0,23 ^c	45,75 ± 0,12 ^c
150 min	35,03 ± 0,32 ^d	8,53 ± 0,59 ^c	56,44 ± 0,76 ^b
180 min	31,60 ± 0,64 ^e	8,32 ± 0,73 ^c	60,08 ± 0,81 ^a
Batata			
Nativo	70,87 ± 0,12 ^a	16,38 ± 0,73 ^a	12,75 ± 0,29 ^f
60 min	24,57 ± 0,93 ^b	14,68 ± 0,65 ^b	60,75 ± 0,92 ^e
90 min	16,31 ± 0,43 ^c	11,92 ± 0,82 ^c	71,77 ± 0,51 ^d
120 min	7,23 ± 0,24 ^d	8,96 ± 0,71 ^d	83,81 ± 0,47 ^c
150 min	3,57 ± 0,39 ^e	7,77 ± 0,58 ^d	88,66 ± 0,63 ^b
180 min	0,71 ± 0,14 ^f	3,21 ± 0,32 ^e	96,08 ± 0,74 ^a
Mandioca			
Nativo	90,89 ± 0,89 ^a	6,27 ± 0,49 ^c	1,84 ± 0,10 ^f
60 min	32,60 ± 0,73 ^b	20,32 ± 0,73 ^a	47,08 ± 0,27 ^e
90 min	30,90 ± 0,90 ^b	19,88 ± 0,47 ^a	49,22 ± 0,87 ^d
120 min	23,67 ± 0,12 ^c	18,58 ± 0,36 ^a	57,76 ± 0,44 ^c
150 min	10,88 ± 0,43 ^d	17,92 ± 0,81 ^a	65,40 ± 0,72 ^b
180 min	9,78 ± 0,59 ^d	11,44 ± 0,13 ^b	72,41 ± 0,82 ^a
Milho			
Nativo	58,92 ± 0,37 ^a	37,02 ± 0,14 ^a	4,06 ± 0,27 ^f
60 min	56,81 ± 0,18 ^b	27,34 ± 0,58 ^b	15,85 ± 0,38 ^e
90 min	51,25 ± 0,39 ^c	22,38 ± 0,36 ^c	26,37 ± 0,42 ^d
120 min	48,93 ± 0,50 ^d	21,31 ± 0,71 ^c	29,76 ± 0,35 ^c
150 min	41,58 ± 0,42 ^e	19,00 ± 0,43 ^d	39,42 ± 0,92 ^b
180 min	38,21 ± 0,26 ^f	18,23 ± 0,32 ^d	43,56 ± 0,23 ^a

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O inter cruzamento reduziu os teores de ARD e ALD e aumentou significativamente os níveis de AR em todos os amidos. A elevação do teor de AR foi maior nos maiores tempos de tratamento. O teor de AR dos amidos inter cruzados de batata e mandioca foi maior do que os observados para os amidos de banana e milho. Considerando o teor de fósforo permitido para o uso em produtos alimentícios (<0,4%), o teor de AR obtido foi de 88,66% e 65,40% após 150 min de inter cruzamento para os amidos de batata e mandioca, respectivamente, e 60,08% e 43,56% nos amidos inter cruzados por 180 min de banana e milho. Pode-se observar que o

teor de AR obtido para o amido de batata após 150 min de intercruzamento foi duas vezes maior do que o obtido para o amido de milho intercruzado por 180 min. Segundo Shi *et al.* (2013) o conteúdo de fósforo incorporado ao amido é diretamente proporcional ao teor de AR, contudo fatores como a fonte botânica do amido, características estruturais do amido e a forma com que os grupos fosfato são ligados às moléculas de amido exercem grande influência na digestibilidade (SANG *et al.*, 2010).

Tabela 12: Teor de AR dos diferentes amidos nativos e intercruzados obtido pelo método 991.43 da AOAC

Amido	Amido resistente (% b.s)	
	Nativo	Intercruzado (150 min)
Banana	1,24 ± 0,02 ^a	50,84 ± 0,03 ^c
Batata	1,32 ± 0,07 ^a	84,00 ± 0,17 ^a
Mandioca	0,46 ± 0,04 ^b	59,68 ± 0,96 ^b
Milho	0,16 ± 0,01 ^c	35,59 ± 0,34 ^d

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O tipo de éster formado durante o intercruzamento parece ser particularmente importante na formação de AR. De acordo com Sang *et al.* (2010) os ésteres cíclico-MSMP, MSMP e MSDP apresentam um efeito significativo na digestibilidade do amido, porém o DSMP é o principal responsável pelo drástico aumento no teor de AR. A formação de ligações covalentes entre as cadeias de amilose/amilopectina e amilopectina/amilopectina promovem a estabilização dos grânulos e limitam a ação da α -amilase (JYOTHI; MOORTHY; RAJASEKHARAN, 2006). Segundo Takeda e Hizukuri (1982) as moléculas de amilose não formam ligações cruzadas umas com as outras, mas com as moléculas de amilopectina. O DSMP foi o principal éster formado em todos os amidos intercruzados, como já anteriormente mencionado.

O impedimento estérico promovido pelos grupos fosfatos ligados às moléculas de amido também parecem ter efeito significativo no teor de AR (KHONDKAR; TESTER; KARKALAS, 2009). Para os amidos intercruzados de batata e mandioca, que obtiveram os maiores teores de AR, foi observada a formação do éster MSDP, que não estava presente nos amidos intercruzados de banana e milho.

Apesar do alto teor de AR observado para os amidos inter cruzados, suas temperaturas de gelatinização não podem ser consideradas altas (Tabela 10). O mesmo comportamento foi observado por Aparicio-Saguilán *et al.* (2008) que relataram 94,7% de AR para amido inter cruzado de banana e temperatura de pico de gelatinização de 86,6 °C. Chung, Woo e Lim (2004) obtiveram amido de milho inter cruzado com 81,6% de AR e temperatura de pico de gelatinização de 74,9 °C. Ratnayake e Jackson (2008) afirmam que o aquecimento de amidos inter cruzados acima da temperatura de gelatinização promove a quebra das pontes de hidrogênio da região cristalina, porém, as ligações covalentes formadas durante o inter cruzamento não são rompidas e mantém a integridade do grânulo.

Os amidos inter cruzados não apresentaram nenhuma viscosidade devido à estrutura rígida promovida pelas ligações covalentes formadas durante o tratamento. Essa característica pode ser de grande relevância para a aplicação do amido inter cruzado como fonte de AR4 em produtos alimentícios, uma vez que esse amido pode agir como material inerte na formulação, não alterando a viscosidade e a absorção de água no produto final.

5.2.2 Tratamento térmico a baixa umidade (TTBU)

Os tratamentos térmicos são os principais métodos de obtenção de AR3, formado após a retrogradação do amido. Esse tipo de AR consiste de polímeros de amido retrogradado, principalmente de amilose, produzidos quando o amido é resfriado após a gelatinização (JENKINS; DONALD, 1998).

5.2.2.1 Teor de amido resistente

O TTBU foi inicialmente testado em 3 condições com o objetivo de obter a condição ideal para maior produção de AR. Dessa forma, os amidos foram modificados com 18 % de umidade, utilizando ciclos de aquecimento a 130 °C, resfriamento a 4 °C e congelamento a -20 °C, com e sem repetição dos ciclos. O teor de amido resistente desses amidos foi determinado pelo método de Englyst, Kingman e Cummings (1992) sem a prévia gelatinização dos amidos, e os resultados estão apresentados na Tabela 13. É possível observar que as variações apresentadas nos teores de AR foram pequenas nas diferentes condições utilizadas.

Tabela 13: Teor de AR dos amidos modificados por TTBU, determinados pelo método de Englyst et al. (1992) sem prévia gelatinização dos amidos.

Tratamento	Amido Resistente (% b.s)			
	Banana	Batata	Mandioca	Milho
Nativo	65.7 ± 4.6 ^a	25.4 ± 0.7 ^d	2.7 ± 0.2 ^c	11.0 ± 1.6 ^b
TTBU 1	25.4 ± 0.5 ^b	33.5 ± 0.6 ^b	30.7 ± 0.6 ^{ab}	22.6 ± 1.9 ^a
TTBU 2	20.7 ± 0.9 ^b	36.8 ± 0.9 ^a	33.8 ± 0.9 ^a	22.4 ± 0.1 ^a
TTBU 3	21.1 ± 0.8 ^b	30.6 ± 1.3 ^c	30.0 ± 1.3 ^b	21.9 ± 2.5 ^a

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). TTBU 1: 130 °C por 2h, 4 °C por 2 h em dois ciclos; TTBU2: 130 °C por 2h, -18 °C por 2 h; TTBU3: 130 °C por 2h, -18 °C por 2 h em dois ciclos.

O teor de AR nos amidos modificados por TTBU é resultado da maior interação entre as cadeias de amilose e amilopectina provocada pelo tratamento. O tratamento também pode resultar na formação de cristais na região amorfa ou na formação de complexos cristalinos amilose-lipídeo, que reduzem a suscetibilidade enzimática (SHI *et al.*, 2013). Apesar de apresentar teores de AR que podem ser considerados expressivos, é necessário lembrar que nessa etapa os amidos foram analisados na forma granular e que essa reorganização estrutural dos grânulos pode ser perdida na gelatinização dos grânulos durante o processamento.

Tabela 14: Teor de AR dos amidos modificados por TTBU em diferentes teores de umidade utilizando o método 991.43 da AOAC

Amido	AR (% b.s)		
	Nativo	TTBU 20 %	TTBU 35 %
Batata	1,32 ± 0,07 ^a	2,57 ± 0,08 ^a	2,03 ± 0,60 ^a
Mandioca	0,46 ± 0,04 ^b	0,69 ± 0,11 ^b	0,13 ± 0,13 ^b

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Em uma segunda etapa do projeto, outras condições de TTBU foram testadas, e os amidos foram modificados utilizando 20 e 35% de umidade com dois ciclos de aquecimento a 130 °C e 2 ciclos de resfriamento a 4 °C. Essas condições foram determinadas buscando maiores teores de umidade para que as cadeias de amidos apresentassem maior mobilidade e pudessem retrogradar durante o resfriamento, aumentando assim os teores de AR. Contudo mesmo utilizando 35% de umidade, condição na qual alguma gelatinização dos amidos ocorreu, observada pela formação de grumos, os teores de AR foram pouco expressivos (Tabela 14). Nessa segunda etapa do projeto o AR foi determinado segundo o método 991.43 da AOAC, onde os amidos foram gelatinizados durante a análise.

Alguns trabalhos também relataram baixos teores de AR após o TTBU. Zavareze *et al.* (2012) observaram variação no teor de AR em amido de arroz de 1,06 % para 2,20 % (método 996.11 da AOAC), enquanto Li, Ward e Gao (2011) observaram aumento no teor de AR em amido de feijão de 11,2 % para 45,2% (método 2002.02 da AOAC) quando os mesmos foram tratados termicamente com 25% de umidade a 110 °C durante 1h e com 20% de umidade a 120 °C durante 12 h, respectivamente. É possível entender dessa forma que a obtenção de AR por TTBU é altamente dependente das condições utilizadas no tratamento e da fonte botânica do amido.

Devido aos baixos teores de AR obtidos com as diferentes condições de TTBU testadas neste trabalho, foi evidenciado que o TTBU não pôde ser considerado um método de modificação eficiente para a produção de AR, quando comparado ao inter cruzamento, e por esse motivo as características estruturais e físico-químicas desses amidos não foram estudadas.

5.3 APLICAÇÃO DOS AMIDOS NA PRODUÇÃO DE BOLO

5.3.1 Características da farinha de trigo

A farinha de trigo utilizada apresentou absorção de água de 63%, tempo de chegada de 1,5 segundos, tempo de desenvolvimento de 4,4 min, estabilidade de 15 min e índice de tolerância a mistura de 33 UF (unidades farinográficas). O teor de proteína obtido foi de 11,60%. Essas características demonstraram que a farinha pode ser considerada forte e com alto teor de proteína, o que não a torna ideal para a produção de bolos. Por esse motivo a farinha foi diluída, em lote único com 10% de amido de milho comercial.

5.3.1 Avaliação da qualidade dos bolos

A tabela 15 mostra os resultados da densidade das massas, altura, volume específico e cor do miolo dos bolos de formulação padrão e substituídos com 15 e 20% de amido de batata inter cruzado por 150 min.

A massa produzida com substituição de 20% da farinha por AR apresentou uma densidade levemente inferior à formulação padrão, enquanto a substituição por 15% de AR não alterou a densidade da massa.

A substituição com AR resultou em bolos com maior altura e maior volume específico, quando comparado à formulação padrão, não havendo diferença significativa entre as formulações com 15 e 20% de AR, o que também pode ser observado na Figura 11. O amido atua como um diluente da farinha de trigo, reduzindo a força da farinha e fornecem uma textura mais fina aos bolos (BENNION; BAMFORD, 1997; ELIASSON, 2004), resulta no aumento do volume, favorece a retenção de umidade e melhora a maciez do produto final (ELIASSON, 2004). Além disso, o aumento da temperatura de gelatinização (Tabela 17), provocada pela adição de AR pode ser relacionado ao aumento do volume por permitir a expansão adequada das bolhas de ar antes do aumento da viscosidade da massa e fixação da estrutura do bolo (KIM; WALKER, 1992; ATWELL,2001).

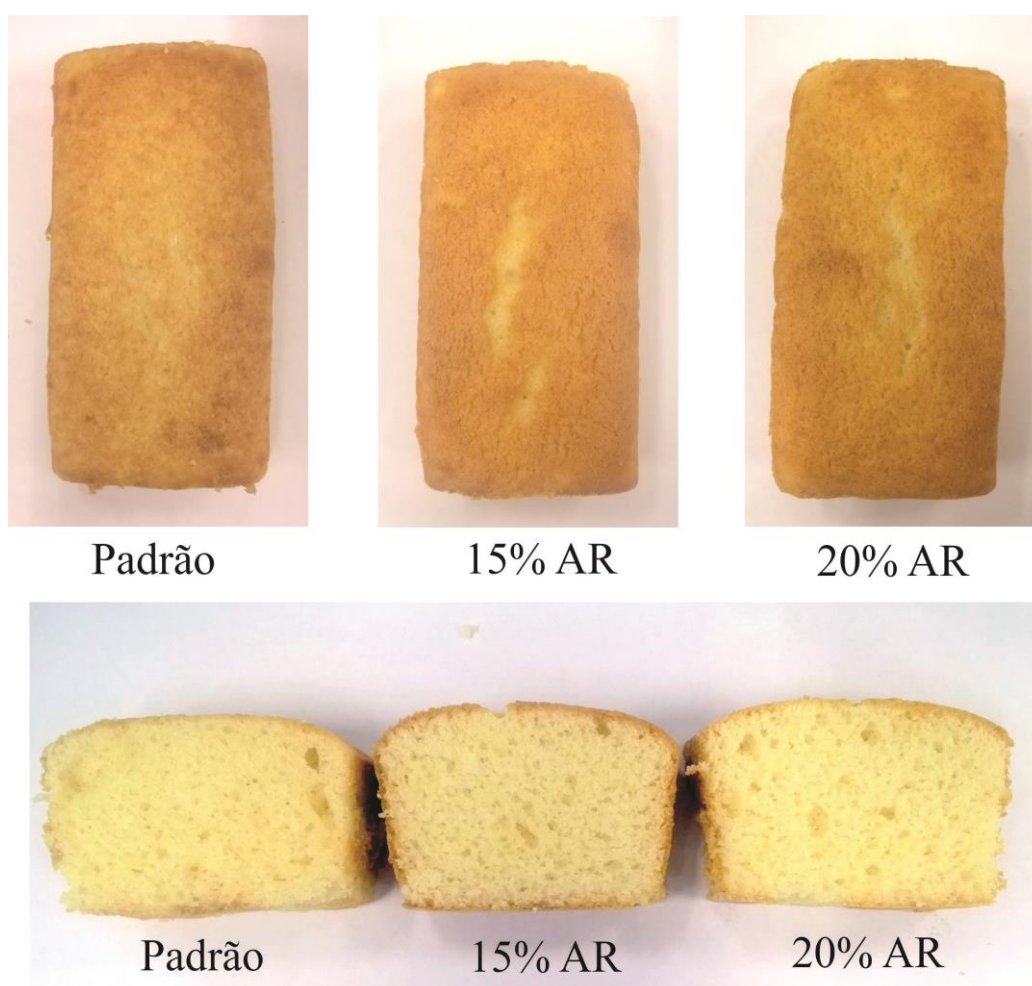


Figura 11: Imagens internas e externas dos bolos padrão e adicionados de 15 e 20% de AR.

A cor do miolo dos bolos foi levemente afetada pela substituição com AR. Maiores valores para L* correspondem a amostras com maior luminosidade, ou seja, coloração mais clara, enquanto maiores valores de a* indicam maior tendência para o vermelho. A adição de AR aos bolos resultou no aumento no parâmetro do L* no miolo dos bolos. Esse aumento pode ser relacionado ao maior volume apresentado pelos bolos adicionados de AR, uma vez que o maior volume resulta em células do miolo mais uniformes e, portanto que refletem melhor a luz proporcionando um maior L*. A coloração mais clara do miolo também pode ser relacionada à coloração branca do amido adicionado (CAUVAIN, 2009) que exerce um efeito diluente dos pigmentos da coloração (BAUXAULI; SALVADOR; FIZSMAN, 2008). A adição de AR apresentou efeito significativo também na coloração da crosta dos bolos, que apresentaram menor tonalidade de vermelho. A menor proporção de amido proveniente da farinha nas formulações com substituição de AR pode ser relacionada a crostas mais claras. Durante o forneamento acontece a gelatinização e degradação do amido pelas amilases, que resulta na formação de açúcares redutores que participarão na reação e *Maillard*, responsável pela coloração da crosta. O amido inter cruzado tem comportamento inerte, como já mencionado anteriormente, reduzindo a quantidade de açúcares redutores para a reação de *Maillard*.

Tabela 15: Parâmetros de avaliação da qualidade dos bolos com e sem adição de AR.

Formulação	Densidade da massa	Altura	Volume específico	Cor miolo L*	Cor crosta a*
Padrão	0,81 ± 0,01 ^a	42,68 ± 1,26 ^b	2,39 ± 0,19 ^b	72,46 ± 0,37 ^b	19,28 ± 0,52 ^a
15%	0,82 ± 0,00 ^a	45,52 ± 0,80 ^a	2,71 ± 0,16 ^a	74,34 ± 0,86 ^a	17,66 ± 0,58 ^b
20%	0,77 ± 0,00 ^b	45,62 ± 1,24 ^a	2,72 ± 0,05 ^a	74,68 ± 0,81 ^a	18,68 ± 0,47 ^{ab}

Média de três determinações, em duas unidades para cada formulação com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

5.3.2 Umidade dos bolos

A Tabela 16 apresenta os dados de umidade após a produção dos bolos e durante o armazenamento. As amostras em que o AR foi adicionado apresentaram menor teor de umidade no dia 0. O menor teor de umidade pode ser relacionado à baixa capacidade de absorção de água apresentada pelo AR devido à formação de ligações covalentes durante a

modificação, que conferem uma estrutura bastante rígida aos grânulos, fazendo com que uma maior quantidade de água fique livre e com maior disponibilidade de evaporar durante o forneamento.

Durante o armazenamento dos bolos a formulação contendo 20% de AR apresentou uma maior perda de água durante o primeiro dia de armazenamento. Porém ao final do tempo de avaliação não houve diferença significativa entre os teores de umidade das amostras com 15 e 20% de AR.

Tabela 16: Teor de umidade dos bolos com e sem substituição de AR durante o tempo de armazenamento.

	Dia 0	Dia 1	Dia 5	Dia 12	Dia 21
Padrão	35,12 ± 0,42 ^{aA}	29,58 ± 0,66 ^{aB}	28,38 ± 0,24 ^{aB}	24,56 ± 0,48 ^{aC}	22,35 ± 1,70 ^{aC}
15%	32,01 ± 0,57 ^{bA}	27,35 ± 0,87 ^{bB}	24,40 ± 0,17 ^{bC}	22,66 ± 0,15 ^{bD}	18,77 ± 0,66 ^{bE}
20%	31,65 ± 0,01 ^{bA}	25,04 ± 1,57 ^{cB}	24,86 ± 0,11 ^{bB}	21,48 ± 0,20 ^{cC}	19,55 ± 0,18 ^{bD}

Média de três determinações com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma minúscula na mesma coluna e pela mesma letra maiúscula na mesma linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

5.3.3 Avaliação instrumental da textura dos bolos

Os dados da avaliação instrumental de textura estão apresentados na Tabela 17. A dureza em amostras sólidas é relacionada à força necessária para que ela seja comprimida entre os molares e a língua. No dia 0 não houve diferença significativa entre as amostras adicionadas de AR e a padrão com relação a esse atributo, porém a partir do quinto dia de armazenamento a amostra com 20% de AR apresentou os menores valores para dureza e não foi observada diferença significativa entre a amostra padrão e com 15% de AR. Durante o armazenamento foi observado o aumento da dureza das amostras, em todas as formulações, que pode ser relacionado à perda de umidade e retrogradação do amido. Uma redução na dureza foi também observada por Bauxauli, Salvador e Fizsmán (2008) na produção de *muffins* adicionados de AR, porém a diferença já foi significativa no dia 0, e a maior concentração de AR (20% com relação ao peso total da massa) resultou na menor dureza.

A coesividade é relacionada à resistência das ligações internas do produto, e demonstra o grau em que o alimento é comprimido entre os dentes antes de romper. A adição de AR resultou na redução da coesividade. Durante o armazenamento houve redução da coesividade para todas as formulações. A menor coesividade pode indicar que menor energia é necessária para a segunda compressão da amostra (BAUXAULI; SALVADOR; FIZSMAN,

2008), e também pode ser relacionada ao enfraquecimento na atração intramolecular entre os ingredientes e a perda de água durante o envelhecimento (GÓMEZ *et al.*, 2007) que torna a amostra mais farinhenta.

Tabela 17: Parâmetros de avaliação instrumental da textura dos bolos com e sem substituição de AR durante o armazenamento.

Formulação	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	1	5	12	21
Dureza					
Padrão	0,72 ± 0,02 ^{nsE}	0,90 ± 0,04 ^{bd}	1,57 ± 0,06 ^{ac}	2,52 ± 0,15 ^{ab}	3,10 ± 0,22 ^{aA}
15%	0,73 ± 0,02 ^{nsE}	1,01 ± 0,05 ^{ad}	1,65 ± 0,11 ^{ac}	2,43 ± 0,16 ^{ab}	3,27 ± 0,20 ^{aA}
20%	0,73 ± 0,02 ^{nsE}	1,02 ± 0,06 ^{ad}	1,23 ± 0,10 ^{bc}	1,52 ± 0,11 ^{bb}	2,48 ± 0,18 ^{bA}
Coesividade					
Padrão	0,47 ± 0,02 ^{aA}	0,37 ± 0,02 ^{ab}	0,26 ± 0,02 ^{ac}	0,16 ± 0,02 ^{ad}	0,13 ± 0,01 ^{aE}
15%	0,44 ± 0,02 ^{bA}	0,33 ± 0,02 ^{bb}	0,24 ± 0,03 ^{bc}	0,14 ± 0,01 ^{bd}	0,12 ± 0,01 ^{bE}
20%	0,37 ± 0,02 ^{cA}	0,28 ± 0,02 ^{cb}	0,20 ± 0,01 ^{cc}	0,13 ± 0,01 ^{cd}	0,10 ± 0,01 ^{cE}
Elasticidade					
Padrão	0,68 ± 0,03 ^{aA}	0,67 ± 0,03 ^{aA}	0,60 ± 0,04 ^{ab}	0,53 ± 0,02 ^{ac}	0,49 ± 0,03 ^{ad}
15%	0,67 ± 0,03 ^{aA}	0,62 ± 0,04 ^{bb}	0,54 ± 0,02 ^{bc}	0,49 ± 0,03 ^{bd}	0,46 ± 0,03 ^{ad}
20%	0,62 ± 0,03 ^{bA}	0,56 ± 0,03 ^{cb}	0,50 ± 0,02 ^{cc}	0,43 ± 0,03 ^{cd}	0,39 ± 0,02 ^{bE}
Mastigabilidade					
Padrão	0,23 ± 0,01 ^{aA}	0,22 ± 0,01 ^{aA}	0,23 ± 0,02 ^{aA}	0,21 ± 0,02 ^{aAB}	0,18 ± 0,03 ^{aB}
15%	0,22 ± 0,02 ^{aA}	0,20 ± 0,01 ^{ab}	0,20 ± 0,01 ^{bb}	0,16 ± 0,02 ^{bc}	0,15 ± 0,01 ^{bc}
20%	0,16 ± 0,01 ^{bA}	0,17 ± 0,01 ^{bA}	0,12 ± 0,01 ^{cb}	0,08 ± 0,02 ^{cc}	0,09 ± 0,01 ^{cc}

Média de oito determinações, em duas unidades para cada formulação com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma minúscula na mesma coluna e pela mesma letra maiúscula na mesma linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Ns: não significativo.

A capacidade que o produto tem de voltar à forma original após compressão é chamada de elasticidade. A elasticidade foi menor para a formulação com 20% de AR e não apresentou diferença significativa entre a formulação com 15% de AR e a padrão no dia 0 e no dia 21 do armazenamento. No restante do intervalo de armazenamento quanto maior a proporção de AR, menor a elasticidade da amostra, o que pode ser novamente relacionada à estrutura rígida do AR adicionado, que não permite o desenvolvimento de viscosidade do amido, tornando a estrutura dos bolos mais quebradiça. Para a formulação padrão houve redução na elasticidade apenas no quinto dia de armazenamento, enquanto as amostras adicionadas de AR apresentaram redução significativa já no primeiro dia de armazenamento.

A mastigabilidade de um alimento reflete o tempo de mastigação requerido para que o alimento atinja a consistência adequada à deglutição. No dia 0 não houve diferença significativa entre as amostras para esse parâmetro. Durante o armazenamento houve redução na mastigabilidade com a adição de AR, os valores também reduziram com o tempo de armazenamento. Essa redução também pode ser relacionada à perda de umidade que torna o produto menos coeso.

Apesar das diferenças estatisticamente significativas em alguns parâmetros que descrevem a textura dos bolos, observadas entre a formulação padrão e as amostras adicionadas de AR é possível notar que essas diferenças foram sutis, e a adição de AR não afetou drasticamente a textura dos bolos.

5.3.4 Análise térmica

As temperaturas de gelatinização e variação de entalpia dos bolos padrão e com adição de AR durante o período de armazenamento estão apresentadas na Tabela 18. De um modo geral as temperaturas de gelatinização sofreram leves alterações, com exceção da temperatura final de gelatinização que apresentou aumento após o quinto dia de armazenamento, o que pode indicar a formação de cristais retrogradados, que apresentam maior temperatura de fusão. As temperaturas de gelatinização também não foram drasticamente alteradas com a adição de AR.

A variação de entalpia não apresentou grandes variações com a adição de AR no dia 0, no primeiro dia do armazenamento sofreu um aumento, e após o quinto dia foi menor na formulação com 20% de AR. Isso pode ser explicado pelo fato da fração de amido inter cruzado adicionada não apresentar retrogradação. A inclusão dos grupos fosfato entre as cadeias de amido e a estrutura rígida fornecida aos grânulos pelo inter cruzamento que impede o inchamento, rompimento e lixiviação das cadeias de amilose e amilopectina não permitindo a retrogradação. Esses dados são coerentes com os observados para a dureza, que também apresentou menores valores para a formulação com 20% de AR ao final do tempo de armazenamento.

O aumento no tempo de armazenamento resultou em um leve aumento nos valores de ΔH , indicando a retrogradação dos amidos durante esse período.

Tabela 18: Propriedades térmicas dos bolos com e sem substituição de AR durante o armazenamento.

	Tempo de armazenamento (dias)				
	Dia 0	Dia 1	Dia 5	Dia 12	Dia 21
	T_0 (°C)				
Padrão	41,68 ± 1,58 ^{nsB}	43,82 ± 0,36 ^{abAB}	44,20 ± 0,38 ^{bA}	44,19 ± 0,69 ^{nsAB}	43,64 ± 0,16 ^{nsAB}
15%	44,26 ± 0,36 ^{nsAB}	44,80 ± 0,91 ^{aAB}	45,51 ± 0,16 ^{aA}	44,01 ± 0,12 ^{nsAB}	43,44 ± 0,42 ^{nsB}
20%	44,26 ± 0,76 ^{nsA}	43,05 ± 0,08 ^{bA}	43,46 ± 0,67 ^{aA}	43,52 ± 0,14 ^{nsA}	43,36 ± 0,23 ^{nsA}
	T_p (°C)				
Padrão	49,43 ± 0,58 ^{nsC}	48,97 ± 0,29 ^{abC}	50,25 ± 0,35 ^{abC}	51,20 ± 0,26 ^{aA}	51,03 ± 0,10 ^{aAB}
15%	49,13 ± 0,44 ^{nsA}	49,98 ± 0,88 ^{aA}	50,73 ± 0,35 ^{aA}	50,06 ± 0,59 ^{bA}	49,70 ± 0,26 ^{bA}
20%	49,72 ± 0,13 ^{nsA}	48,46 ± 0,29 ^{bB}	49,35 ± 0,48 ^{bAB}	49,58 ± 0,11 ^{bA}	50,05 ± 0,60 ^{bA}
	T_c (°C)				
Padrão	54,63 ± 0,58 ^{bB}	54,86 ± 0,08 ^{nsB}	57,88 ± 2,08 ^{nsA}	58,59 ± 0,50 ^{aA}	57,12 ± 0,18 ^{bA}
15%	56,15 ± 0,68 ^{abC}	55,03 ± 0,85 ^{nsAB}	59,65 ± 0,23 ^{nsA}	57,02 ± 0,37 ^{bBC}	56,19 ± 0,11 ^{aC}
20%	55,47 ± 0,64 ^{aAB}	54,61 ± 0,22 ^{nsB}	58,11 ± 0,57 ^{nsA}	58,52 ± 0,35 ^{aA}	58,72 ± 0,33 ^{aA}
	ΔH (J.g ⁻¹)				
Padrão	0,92 ± 0,06 ^{bAB}	0,89 ± 0,01 ^{bA}	1,16 ± 0,09 ^{nsB}	1,52 ± 0,10 ^{aA}	1,67 ± 0,14 ^{aA}
15%	1,09 ± 0,03 ^{aC}	1,03 ± 0,05 ^{aC}	1,14 ± 0,01 ^{nsC}	1,62 ± 0,02 ^{aB}	1,76 ± 0,05 ^{aA}
20%	0,95 ± 0,05 ^{bA}	1,03 ± 0,01 ^{aAB}	1,04 ± 0,07 ^{nsAB}	1,16 ± 0,03 ^{bA}	1,24 ± 0,09 ^{bA}

Média de três determinações com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma minúscula na mesma coluna e pela mesma letra maiúscula na mesma linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). ns: Não significativo.

5.3.5 Difração de Raios-X

A Figura 12 apresenta os difratogramas de raios-X das amostras de bolo padrão e adicionadas de AR, durante o período de armazenamento. No dia 0 de armazenamento as amostras apresentaram difratogramas sem a presença de picos indicando cristalinidade, com apenas uma tendência de formação de pico na região de 17° a 20°, mostrando que a estrutura dos bolos era essencialmente amorfa. Com o aumento do tempo de armazenamento esse indicativo de pico se tornou mais pronunciado, mas ainda sem definição clara, mesmo ao final do tempo de armazenamento. Esses dados concordam com as variações de entalpia obtidas na análise térmica que mostram valores baixos de ΔH . A formação do pico entre 17 e 20° se assemelha com estrutura da amilose V, caracterizada pelo pico em 20° em 2θ (KARKALAS *et al.*, 1995) e relativa a formação do complexo entre as cadeias de amilose e os lipídeos presentes na formulação do bolo. A formação do complexo amilose/lipídeos é relatado por Fuentes-Zaragoza *et al.* (2011) como o tipo 5 de AR.

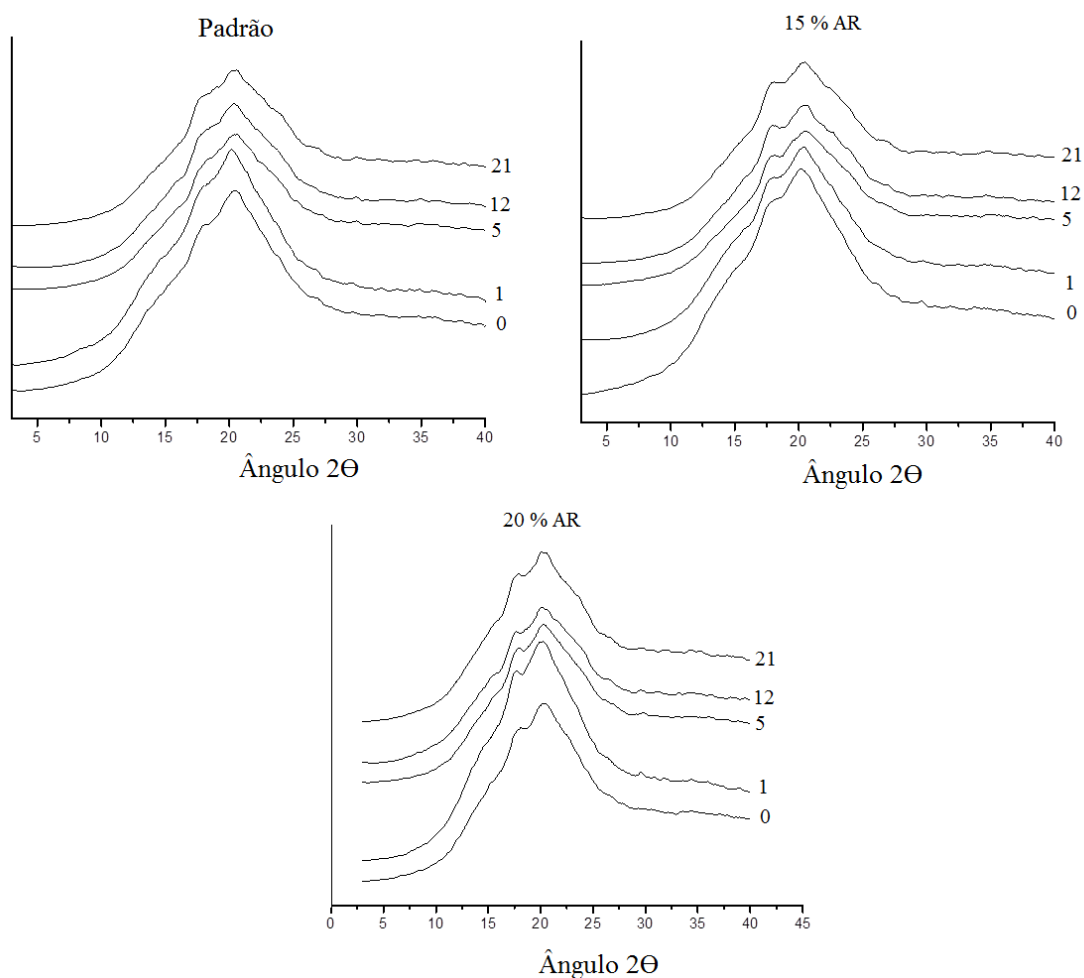


Figura 12: Difrátogramas de Raios-X das amostras de bolo substituídas ou não de AR, durante o armazenamento.

A Tabela 19 apresenta as cristalinidades das diferentes formulações de bolo durante o envelhecimento. Pode-se observar que a variação na cristalinidade das amostras foi pequena entre as formulações, sendo observadas diferenças significativas entre as formulações apenas a partir do dia 5 de armazenamento. Ao final dos 21 dias de armazenamento a formulação adicionada de 20% de AR apresentou a menor cristalinidade relativa, concordando com os resultados obtidos para o ΔH , reforçando a indicação de que a adição de AR reduziu a retrogradação nos bolos.

Tabela 19: Cristalinidade relativa dos bolos de diferentes formulações durante o armazenamento.

	Tempo armazenamento (dias)				
	0	1	5	12	21
Padrão	5,82 ± 0,14 ^{nsB}	6,15 ± 0,80 ^{nsB}	6,88 ± 0,22 ^{bAB}	7,23 ± 0,16 ^{nsA}	7,94 ± 0,23 ^{bA}
15%	6,12 ± 0,22 ^{nsD}	6,93 ± 0,07 ^{nsC}	7,59 ± 0,18 ^{aB}	7,63 ± 0,35 ^{nsB}	8,55 ± 0,07 ^{aA}
20%	6,06 ± 0,01 ^{nsE}	6,33 ± 0,02 ^{nsD}	6,52 ± 0,04 ^{bC}	7,21 ± 0,08 ^{nsB}	7,52 ± 0,06 ^{cA}

Média de três determinações com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma minúscula na mesma coluna e pela mesma letra maiúscula na mesma linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

5.3.6 Teor de fibras

Os teores de amido resistente das amostras de bolo com e sem substituição de AR foram determinados como fibra total pelo método 991.43 da AOAC e estão apresentados na Tabela 20.

O amido com 20% de AR apresentou maior teor de fibras, a formulação com 15% não apresentou aumento significativo em relação à formulação padrão. De acordo com a Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012, “para um alimento ser considerado *Fonte de fibras* ele deve conter no mínimo 2,5 g de fibra por porção de produto pronto que no caso de bolos é de 60 g, e para ser considerado *Alto conteúdo de fibras* deve conter no mínimo 5 g por porção”. Nenhuma das formulações atingiu o teor de fibras necessário para ser considerado como Fonte de Fibras.

Tabela 20: Teor de fibra das amostras de bolo com e sem substituição de AR.

Formulação	Teor de Fibra (g/100 g)	Teor de fibra na porção (g/60 g)
Padrão	2,13 ± 0,05 ^b	1,28
15%	2,23 ± 0,33 ^b	1,34
20%	2,68 ± 0,31 ^a	1,61

Média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O pequeno aumento no teor de fibras em relação à formulação padrão se deve ao fato de que a adição do AR foi realizada em substituição parcial à farinha de trigo, e no caso das formulações de bolo, a quantidade de farinha de trigo não é tão representativa no peso final da massa como no caso, por exemplo, de pães.

6 CONCLUSÕES

Os amidos modificados por intercrossamento apresentaram alto teor de AR, e nível de fósforo dentro de valores permitidos para a aplicação em alimentos. A formação de ligações covalentes, responsável pela resistência à digestão dos amidos também resultou em uma estrutura molecular rígida de forma que os grânulos não apresentaram viscosidade à quente podendo ser utilizados como ingredientes praticamente inertes em diferentes formulações de alimentos.

O intercrossamento afetou de forma diferente as propriedades térmicas dos amidos de banana, batata, mandioca e milho indicando que as diferenças estruturais apresentadas por esses influenciam na forma em que ésteres de fosfato se formam durante o tratamento.

O intercrossamento no amido de batata resultou em maior formação do éster DSMP, justificando seu maior teor de AR em comparação aos outros amidos. Nos amidos de milho intercrossados os ésteres MSMP não foram identificados, e nos amidos de banana eles aparecem com pouca intensidade, mostrando que o impedimento estérico apresentado pelos grupos fosfatos também é representativo no teor de AR, uma vez que esses amidos apresentaram as maiores digestibilidades.

O TTBU não se mostrou um método eficiente para a produção de amidos com alto teor de AR, uma vez que o teor de umidade não é suficiente para permitir a mobilidade das cadeias necessária para a retrogradação. As alterações que acontecem na estrutura dos grânulos de amido são referentes à reorganização das cadeias e podem ser perdidas durante a posterior gelatinização.

A aplicação de AR na produção de bolo inglês resultou em bolos com maior volume e miolo de cor mais clara. A adição de AR não influenciou a textura no dia 0 de armazenamento, mas após 21 dias a dureza, coesividade, mastigabilidade e elasticidade dos bolos adicionados de AR foi menor do que na formulação padrão. A adição de AR também resultou em menor ΔH e cristalinidade relativa dos bolos ao final do armazenamento, indicando que a adição de AR reduziu a retrogradação do bolo, estendendo sua vida útil.

A adição de AR, contudo não resultou em altos teores de fibra nos bolos, indicando que uma maior proporção de AR necessitaria ser adicionada.

7 REFERÊNCIAS

AACC. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. Sant Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, 2000.

ABIMA. **Associação Brasileira das Indústrias de Massas Alimentícias, Pão & Bolo Industrializado**. Estatísticas - Mercado nacional de pães. Disponível em http://www.abima.com.br/estatistica_pao.php#tabs. Acesso em 03 de dezembro de 2014.

ALSAFFAR, A.A. Effect of food processing on the resistant starch content of cereals and cereal products – a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 3, p. 455-462, 2011.

ALVANI, K.; QI, X.; TESTER, R.F.; SNAPE, C.E. Physico-chemical properties of potato starches. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 958-965, 2011.

APARICIO-SAGUILÁN, A.; GUTIÉRREZ-MERAZ, F.; GARCIA-SUÁREZ, F.J.; TOVAR, J.; BELLO-PEREZ, L.A. Physicochemical and functional properties of cross-linked banana resistant starch. Effect of pressure cooking. **Starch/Stärke**, v. 60, n. 6, p. 286-291, 2008.

ATWELL, W. A. Wheat flour. Eagen press handbook series. **American Association of Cereal Chemists**. St. Paul: Inc., 134p. 2001.

AURORE, G.; PARFAIT, B.; FAHRASMANE, L. Bananas, raw materials for making processed food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 2, p. 78-91, 2009.

BAO, J.; XING, J.; PHILLIPS, D.L.; CORKE, H. Physical properties of octenyl succinic anhydride modified rice, wheat, and potato starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2283-2287, 2003.

BAUXAULI, R.; SALVADOR, A.; FIZSMAN, S.M. Textural and colour changes during storage and sensory shelf life of muffins containing resistant starch. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 523-530, 2008.

BENNION, E.B.; BAMFORD, G.S.T. **The technology of cake making**. 6a ed. London: Blackie Academic and Professional, 1997. 421p.

BERGTHALLER, W. Developments in potato starch. In: ELIASSON, A.C. (Ed.). **Starch in food: Structure, function and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2000. cap. 8, p.605.

BERRY, C.S. Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. **Journal of Cereal Science**, v. 4, p. 310-314, 1986.

BILIADERIS, C.G. Physical characteristics, enzymatic digestibility, and structure of chemically modified smooth pea and waxy maize starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v 30, p. 925-930, 1982.

BRASIL, Resolução RDC ANVISA/MS nº54, de 12 de novembro de 2012. **Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar**. Diário Oficial União, Brasília, DF, 12 de nov. de 2012. Seção 1.

BROUNS, F.; ARRIGONI, E.; LANGKILDE, A.M.; VERKOOIJEN, I.; FASSLER, C.; ANDERSSON, H.; KETTLITZ, B.; NIEUWENHOVEN, M.V.; PHILIPSSON, H.; AMADO, R. Physiological and metabolic properties of a digestion-resistant maltodextrin, classified as type 3 retrograded resistant starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 1574-1581, 2007.

BROWN, I.L. Applications and uses of resistant starch. **Journal of AOAC International**, v. 87, n. 3, p. 727-732, 2004.

BROWN, I.L.; MCNAUGHT, K.J.; MOLONEY, E. Hi-maize: new directions in starch technology and nutrition. **Food Australia - official journal of CAFTA and AIFST.**, v. 47, p. 272-275, 1995.

BULEÓN, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V., BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.

BUTTRISS, J.L.; STOKES, C.S. Dietary fibre and health: an overview. **Nutrition Bulletin**, v. 33, p. 186-200, 2008.

CARLOS-AMAYA, F.; OSORIO-DIAZ, P.; AGAMA-ACEVEDO, E.; YEE-MADEIRA, H.; BELLO-PÉREZ, L.A. Physicochemical and digestibility properties of

double-modified banana (*Musa paradisiaca* L.) starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 1376-1382, 2011.

CARMONA-GARCIA, R.; SANCHEZ-RIVERA, M.M.; MÉNDEZ-MONTEALVO, G.; GARZA-MONTOYA, B.; BELLO-PÉREZ, L.A. Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (*Musa paradisiaca*). **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 1, p. 117-122, 2009.

CASARRUBIAS-CASTILLO, M.G.; HAMAKER, B.R.; RODRIGUES-AMBRIZ, S.L.; BELLO-PÉREZ, L.A. Physicochemical, structural, and digestibility properties of enzymatic modified plantain and mango starches. **Starch/Stärke**, v. 64, n. 4, p. 304-312, 2012.

CAUVAIN, S. Let them eat cake especially if it's low fat. **Food, Flavourings Ingredients, Packaging and Process**, London. v. 9, p. 37-39, 1987.

CAUVAIN, S.P. Outros cereais na panificação. In: CAUVAIN, S.P.; YOUNG, L.S. **Tecnologia de Panificação**. Barueri, SP: Manole, 2^aed., p. 389-407, 2009.

CAVALLINI, C.M.; FRANCO, C.M.L. Effect of acid-ethanol treatment followed by ball milling on structural and physicochemical characteristics of cassava starch. **Starch/Stärke**, v. 62, n. 5, p. 236-245, 2010.

CFR (Code of Federal Regulations). Food starch-modified. Title 21, Chapter1, Part 172, Sec. 172.892. In **Food additives permitted for direct addition to food for human consumption**. Washington, DC: U.S. Government Printing Office. 2013.

CHUNG, H.; LI, X.; KALINGA, D.; LIM, S.; YADA, R.; LIU, Q. Physicochemical properties of dry matter and isolated starch from potatoes grown in different locations in Canada. **Food Research International**, v.57, p.89-94, 2014.

CHUNG, H.J.; LIU, Q.; HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 436-447, 2009.

CHUNG, H.J.; WOO, K.S.; LIM, S.T. Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p. 9-15, 2004.

CLEMENTS, R.L.; DONELSON, J.R. Role of free flour lipids in batter expansion in layer cakes. I. Effects of "aging". **Cereal Chemistry**, v. 59, p. 121, 1982.

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M.C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1527-1534, 2009.

CRAWFORD, A.M. Misturas com farinhas, pães e bolos. In: **Alimentos: seleção e preparo**. 2 ed. Rio de Janeiro: Record, p. 310-360, 1985.

ECKHOFF, S.; RAUSCH, K.D.; FOX, E.J.; TSO, C.C.; WU, X.; PAN, Z.; BURIK, P. A laboratory wet-milling procedure to increase reproducibility and accuracy of product yields. **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 5, 1993.

ELIASSON, A.C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 605p, 2004.

ELLIS, R.P.; COCHRANE, M.P.; DALE, M.F.B.; DUFFUS, C.M.; LYNN, A.; MORRISON, I.M.; PRENTICE, R.D.M.; SWANSTON, J.S.; TILLER, S.A. Starch production and industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, p. 289-311, 1998.

ENGLYST, H.N.; KINGMAN, S.M.; CUMMINGS, J.H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, p. S33-50, 1992.

ENGLYST, H.N.; CUMMINGS, J.H. Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 42, p. 778-787, 1985.

ENGLYST, K.; QUIGLEY, M.; ENGLYST, H.; PARMAR, B.; DAMANT, A.; SELVARANI, E.; LAWRENCE, P. Evaluation of methods of analysis for dietary fibre using real foods and model foods. **Food Chemistry**, v. 140, p. 568-573, 2013.

ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M.C. Tecnología del almidón resistente. **Food Science and Technology International**, v. 3, p. 149-161, 1997.

ESPINOSA-SOLIS, V.; SANCHEZ-AMBRIZ, S.L.; HAMAKER, B.R.; BELLO-PÉREZ, L.A. Fine structural characteristics related to digestion properties of acid-treated fruit starches. **Starch/Stärke**, v. 63, p. 717-727, 2011.

FARAJ, A.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R. The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. **Food Research International**, v. 37, p. 517-525, 2004.

FRANCO, C.M.L.; WONG, K.; YOO, S.; JANE, J. Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. **Cereal Chemistry**, v.79, p. 243-248, 2002.

FRANCO, C.M.L. et al. **Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001.

FREITAS, R.A.; PAULA, R.C.; FEITOSA, J.P.A.; ROCHA, S.; SIERAKOWSKI, M.R. Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Dioscorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p. 3-8, 2004.

FUENTES-ZARAGOZA, E.; SÁNCHEZ-ZAPATA, E.; SENDRA, E.; SAYAS, E.; NAVARRO, C.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Resistant starch as prebiotic: A review. **Starch/Stärke**, v. 63, p. 406-415, 2011.

GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BULÉON, A.; PEREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, p. S3-16, 1992.

GENKINA, N.K.; WIKMAN, J.; BERTOFT, E.; YURYEV, V.P. Effects of structural imperfection on gelatinization characteristics of amylopectin starches with A- and B-type crystallinity. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 2329-2335, 2007.

GÓMEZ, M.; RONDA, F.; CABALLERO, P.A.; BLANCO, C.A.; ROSELL, C.M. Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow cakes. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 167-173, 2007.

GOÑI, I.; GARCÍA-DIZ, L.; MAÑAS, E.; SAURA-CALIXTO, F. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. **Food Chemistry**, v. 56, p. 445-449, 1996.

GOÑI, I.; GARCIA-ALONSO, A.; SAURA-CALIXTO, F. A Starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. **Nutrition Research**, v. 17, p. 427-437, 1997.

GONZÁLEZ-SOTO, R.A.; AGAMA-ACEVEDO, E.; SOLORZA-FERLA, J.; RENDÓN-VILLALOBOS, R.; BELLO-PÉREZ, L.A. Resistant starch made from banana starch by autoclaving and debranching. **Starch/Stärke**, v. 56, p. 495-499, 2004.

GONZÁLEZ-SOTO, R.A.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, L.; SOLORZA-FERIA, J.; NÚÑEZ-SANTIAGO, C.; FLORES-HUICOCHEA, E.; BELLO-PÉREZ, L.A. Resistant starch production from non-conventional starch sources by extrusion. **Food Science and Technology International**, v. 12, p. 5-11, 2006.

GRISWOLD, R.M. **Estudo experimental dos alimentos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 469p, 1972.

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.

GUTKOSKI, L.C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.; SILVA, A.C.T.; ELIAS, M.C. Efeito do período de maturação de grãos nas propriedades físicas e reológicas de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 888-894, 2008.

GUTKOSKI, L.C.; KLEIN, B.; PAGNUSSATT, F.A.; PEDÓ, I. Características tecnológicas de genótipos de trigo cultivados no cerrado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 786-792, 2007

GUTKOSKI, L.C.; TEIXEIRA, D.M.F.; DURIGON, A., GANZER, A.G.; BERTOLIN, T.E.; COLLA, L.M. Influência dos teores de aveia e de gordura nas características tecnológicas e funcionais de bolo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 1-8, 2009.

GUTKOSKI, L.C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.; CEZARE, K.; COLLA, L.M. Influência do tipo de farinha de trigo na elaboração de bolo tipo inglês. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 275-282, 2011.

GUY, R.C.E.; PITHAWALA, H.R. Rheological studies of high ratio cake batters to investigate the mechanism of improvement of flours by chlorination or heat treatment. **Journal of Food Technology**, v. 16, p. 153 – 166, 1981.

HAN, J.A.; BEMILLER, J.N. Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 366-374, 2007.

HARALAMPU, S.G. Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS3. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 285-292, 2000.

HASJIM, J.; JANE, J. Production of resistant starch by extrusion cooking of acid-modified normal-maize starch. **Journal of Food Science**, v. 74, p. C556-C562, 2009.

HOOVER, R.; VASANTHAN, T. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. **Carbohydrate Research**, v. 252, p. 33-53, 1994.

HOSENEY, R.C.; WADE, P.; FINLEY, J.W. Soft wheat products. In: POMERANZ, Y. **Wheat: Chemistry and Technology**. 3 ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, p. 407-456, 1988.

HUBER, K.C.; BeMILLER, J.N. Channels of maize and sorghum starch granules. **Carbohydrate Polymers**, 41, 269-276, 2000.

JACOBASCH, G.; DONGOWSKI, G.; SCHMIEDL, D.; MÜLLER-SCHMEHL, K. Hydrothermal treatment of Novelose 330 results in high yield of resistant starch type 3 with beneficial prebiotic properties and decreased secondary bile acid formation in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 95, p. 1063-1074, 2006.

JACOBS, H.; DELCOUR, J.A. Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 2895-2905, 1998.

JANE, J.; XU, A.; RADOSAVLJEVIC, M.; SEIB, P.A. Location of amylose in normal starch granules. I. Susceptibility of amylose and amylopectin to cross-linking reagents. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 405-409, 1992

JANE, J.; CHEN, Y.Y.; LEE, L.F.; McPHERSON, A.E.; WONG, K.S.; RADOSAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch¹. **Cereal Chemistry**. v. 76, p. 629-637, 1999.

JANE, J.; CHEN, J.F. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. **Cereal chemistry**, v. 69, p. 60-65, 1992.

JANE, J. Current understanding on starch granule structures. **Journal of Applied Glycoscience**, v. 53, p. 205-213, 2006.

JANE, J.; HASJIM, J.; BIRT, D.; ZHAO, Y. Resistant food starches and methods related thereto. Patent WO 2009023159, 2009.

JANE, J.L.; ROBYT, J.F. Structure studies of amylose V-complex and retrograded amylose by action of alpha-amylase and a new method for preparing amyloextrins. **Carbohydrate Research**, v. 132, p. 105-118, 1984

JENKINS, P.J.; DONALD, A.M. Gelatinisation of starch: a combined SAXS/WAXS/DSC and SANS study. **Carbohydrate Research**, v. 308, p. 133-147, 1998.

JIRANUNTAKUL, W.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP. Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 246-258, 2011.

JUASANG, J.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D. Effect of gelatinization on slowly digestible starch and resistant starch of heat-moisture treated and chemically modified canna starches. **Food Chemistry**, v. 131, p. 500-507, 2012.

JYOTHI, A. N.; MOORTHY, S. N.; RAJASEKHARAN, K. N. effect of cross-linking with epichlorohydrin on the properties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch. **Starch/Stärke**, v. 58, p. 292-299, 2006.

JYOTHI, A.N.; SAJEEV, M.S.; SREEKUMAR, J.N. Hydrothermal modifications of tropical tuber starches. 1. effect of heat-moisture treatment on the physicochemical, rheological and gelatinization characteristics. **Starch/Stärke**, v. 62, p. 28-40, 2010.

KAEWATATIP, K., THONGMEE, J. The effects of cross-linked starch on the properties of thermoplastic starch. **Material Design**, v. 45, p. 586-589, 2013.

KARKALAS, J.; MA, S.; MORRISON, W.R.; PETHRICK, R.A. Some factors determining thermal properties of amylase inclusion complexes with fatty acids. **Carbohydrate Research**, v. 268, p. 233-247, 1995.

KASEMSUWAN, T.; JANE, J. Location of amylose in normal starch granules. II. Locations of phosphodiester cross-linking revealed by phosphorous-31 nuclear magnetic resonance. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 282-287, 1994.

KASEMSUWAN, T., JANE, J., SCHNABLE, P., STINARD, P., ROBERTSON, D. Characterization of the dominant mutant amylose-extender (Ae1-5180) maize starch. **Cereal Chemistry**, v.75, p.457-464, 1995.

KAUR, A.; SINGH, N.; EZEKIEL, R.; GURAYA, H.S. Physicochemical, thermal and pasting properties of starches separated from different potato cultivars grown at different locations. *Food Chemistry*, v. 101, p. 643-651, 2007.

KAUR, L.; SINGH, J.; SINGH, N. Effect of cross-linking on some properties of potato (*Solanum tuberosum* L.) starches. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 1945-1954, 2006.

KHONDKAR, D.; TESTER, R.F.; KARKALAS, J. Effect of cross-linking on the resistance to enzymatic hydrolysis of waxy maize starch and low-methoxy pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 387-393, 2009.

KIM, C.S.; WALKER, C.E. Interactions between starches, sugars, and emulsifiers in high-ratio cake model systems. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 206 – 212, 1992.

KIM, N.H.; KIM, J.H.; LEE, S.; LEE, H.; YOON, J.W.; WANG, R.; YOO, S.H. Combined effect of autoclaving-cooling and cross-linking treatments of normal corn starch on the resistant starch formation and physicochemical properties. **Starch/Stärke**, v. 62, p. 358-363, 2010.

KOCER, D.; HICSASMAZ, Z.; BAYINDIRLI, A.; KATNAS, S. Bubble and pore formation of the high-ratio cake formulation with polydextrose as a sugar- and fat-replacer. **Journal of Food Engineering**, v.78, p 953-964, 2007.

KOO, S.H.; LEE, K.Y.; LEE, H.G. Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 619-625, 2010.

LAWAL, O.S. Studies on the hydrothermal modifications of new cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 37, p. 268-277, 2005.

LEE, C.J.; SHIN, S.I.; KIM, Y.; CHOI, H.J.; MOON, T.W. Structural characteristics and glucose response in mice of potato starch modified by hydrothermal treatments. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1879-1886, 2011.

LEHMANN, U.; ROBIN, F. Slowly digestible starch – its structure and health implications: a review. **Food Science & Technology**, v. 18, p. 346-355, 2007.

LEONEL, M.; CARMO, E.L.; LEONEL, S.; FRANCO, C.M.L.; CAMPANHA, R.B. Extração e caracterização do amido de diferentes genótipos de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 599-605, 2011.

LI, L.; JIANG, H.; CAMPBELL, M.; BLANCO, M.; JANE, J. Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 396-404, 2008.

LI, S.; WARD, R.; GAO, Q. Effect of heat-moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1702-1709, 2011.

LIM, S.; SEIB, P.A. Preparation and pasting properties of wheat and corn starch phosphates. *Cereal Chemistry*, v. 70, p. 137-144, 1993.

LIM, S.; KASEMSUWAN, T.; JANE, J. Characterization of phosphorous in starch by ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 488-493, 1994.

LIU, J.; WANG, B.; LIN, L.; ZHANG, J.; LIU, W.; XIE, J.; DING, Y. Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. **Food Hydrocolloids**, v 36, p. 42-52, 2014.

LUCKETT, C.R.; WANG, Y.J. Effects of β -amylolysis on the resistant starch formation of debranched corn starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 18, p. 4751-4757, 2012.

LUNN, J.; BUTTRISS, J.L. Carbohydrates and dietary fibre. **Nutrition Bulletin**. v. 32, p. 21–64, 2007.

MORAES, J.; ALVES, F.S.; FRANCO, C.M.L. Effect of ball milling on structural and physicochemical characteristics of cassava and Peruvian carrot starches. **Starch/Stärke**, v. 65, p. 200-209, 2013.

MUN, S.H.; SHIN, M. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. **Food Chemistry**, v. 96, p. 115-121, 2006.

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Stärke**, v.35, p.407-410, 1983.

NASRIN, T.A.A.; ANAL, A.K. Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 403-409, 2014.

NUGENT, A.P. Health properties of resistant starch. **Nutrition Bulletin**, v. 30, p. 27-54, 2005.

PELISSARI, F.M.; ANDRADE-MAHECHA, M.M.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C. Isolation and characterization of the flour and starch of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). **Starch/Stärke**, v. 64, p. 382-391, 2012.

PERERA, A.; MEDA, V.; TYLER, R.T. Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. **Food Research International**, v. 43, p. 1959-1974, 2010..

PERONI, F.H.G.; ROCHA, T.S.; FRANCO, C.M.L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology International**, v. 12, p. 505-513, 2006.

POLESI, L.F.; SARMENTO, S.B.S.; FRANCO, C.M.L. Production and physicochemical properties of resistant starch from hydrolysed wrinkled pea starch. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, p. 2257-2264, 2011.

PRIMO-MARTÍN, C. Cross-linking of wheat starch improves the crispness of deep-fried battered food. **Food Hydrocolloids**, v. 28, p. 53-58, 2012.

PUKKAHUTA, C.; SUWANAWAT, B.; SHOBSNGOB, S.; VARAVINIT, S. Comparative study of pasting and thermal transition characteristics of osmotic pressure and heat-moisture treated corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 527-536, 2008.

PYLER, E.J. Bakery shortenings. In: PYLER, E.J. (Ed.) **Baking Science and Technology**, Kansas City: Sosland Publishing Co., vol 1. p. 223 – 285, 1973.

RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A.; GLASER, B.K. Effect of resistant starch on blood and liver lipids in hamsters. **Cereal Chemistry**, v. 73, p. 176-178, 1996.

RATNAYAKE, W.S.; JACKSON, D.S. Phase transition of cross-linked and hydroxypropylated corn (*Zea mays* L.) starches. **LWT**, 41, 346-358, 2008.

REDDY, I.; SEIB, P.A. Modified waxy wheat starch compared to modified waxy corn starch. **Journal of Cereal Science**, v 31, p. 25-39, 2000.

ROCHA, T.S.; CARNEIRO, A.P.D.A.; FRANCO, C.M.L. Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 544-551, 2010.

ROCHA, T.S.; CUNHA, V.A.G.; JANE, J.; FRANCO, C.M.L. Structural characterization of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*) starch and the effect of annealing on its semicrystalline structure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 4208-4216, 2011.

ROCHA, T.S.; FELIZARDO, S.G.; JANE, J.; FRANCO, C.M.L. Effect of annealing on the semicrystalline structure of normal and waxy corn starches. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 93-99, 2012.

SAHIN, S. Cake batter rheology. In: SUMNU, S.G.; SAHIN, S. (Eds.). **Food engineering aspects of baking sweet goods**. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2008. p. 99 – 117.

SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R. Resistant starch—a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, p. 1-17, 2006.

SANG, Y.; SEIB, P.A.; HERRERA, A.I.; PRAKASH, O.; SHI, Y. Effects of alkaline treatment on the structure of phosphorylated wheat starch and its digestibility. **Food Chemistry**, v. 118, p. 323-327, 2010.

SANG, Y.; PRAKASH, O.; SEIB, P. A. Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by ³¹P nuclear magnetic resonance (³¹P NMR) spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 201-212, 2007.

SANG, Y.; SEIB, P. A. Resistant starches from amylose mutants of corn by simultaneous heat-moisture treatment and phosphorylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 167-175, 2006.

SANZ, T.; SALVADOR, A.; BAIXAULI, R.; FISZMAN, S.M. Evaluation of four types of resistant starch in muffins. II. Effects in texture, colour and consumer response. **European Food Research and Technology**, v. 229, p. 197-204, 2009.

SATMALEE, P.; MATSUKI, J. Effect of debranching and heat-moisture treatment on the properties of Thai rice flours. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, p. 2628-2633, 2011.

SARKO, A.; WU, H.C.H. The crystal structures of A-B and C- polymorphs of amylose and starch. **Starch/Stärke**, v. 30, p.73-78, 1978.

SEIB, P.A.; WOO, K.S. **Food grade starch resistant to alpha-amylase and method of preparing the same**. Kansas State University Research Foundation. USA. 5,855,946: 25 p. 1999.

SHARMA, A.; YADAV, B.S.; RITIKA. Resistant starch: physiological roles and food applications. **Food Reviews International**, v. 24, p. 193-234, 2008.

SHELKE, K.; FAUBION, J.M.; HOSENEY, R.C. The dynamics of cake baking as studied by a combination of viscometry and electrical resistance oven heating. **Cereal Chemistry**, v. 67, p. 575 – 580, 1990.

SHI, M.; GU, F.; WU, J.; YU, S.; GAO, Q. Preparation, physicochemical properties, and in vitro digestibility of cross-linked resistant starch from pea starch. **Starch/Stärke**, v. 65, p. 947-953, 2013.

SHIN, M.; SONG, J.; SEIB, P. A. In vitro Digestibility of Cross-Linked Starches – RS4. **Starch/Stärke**, v. 56, p. 478-483, 2004.

SINGH, J.; DARTOIS, A.; KAUR, L. Starch digestibility in food matrix: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 168-180, 2010.

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.

SMITH, A.R.; CARUSO, T.E. Determination of phosphorous content. In: R.L. WHISTLER, R.L. **Methods in carbohydrate chemistry**; New York, Starch. ed., Academic Press, v. 4, p. 43 - 47, 1964.

SONG, J.Y.; PARK, J.H.; SHIN, M. The effects of annealing and acid hydrolysis on resistant starch level and the properties of cross-linked RS4 rice starch. **Starch/Stärke**, v. 63, p. 147-153, 2011.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal and high amylose varieties. *Carbohydrate Polymers*, v. 41, p. 365-377, 2000.

SPIES, R.D.; HOSENEY, R.C. Effect of sugars on starch gelatinization. **Cereal Chemistry**, v. 59, p. 128 – 131, 1982.

STYNE, D.M. Childhood and adolescent obesity. Prevalence and significance. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, p.823 - 53. 2001.

SUI, Z.; SHAH, A.; BEMILLER, J.N. Crosslinked and stabilized in-kernel heat-moisture-treated and temperature-cycled normal maize starch and effects of reaction conditions on starch properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 1461-1467, 2011.

TAKEDA, Y.; HIZUKURI, S. Location of phosphates groups in potato amylopectin. **Carbohydrate Research**, v. 102, p. 321- 327, 1982.

TAKEDA, Y.; HIZUKURI, S.; JULIANO, B.O. Structures of rice amylopectin with low and high affinities for iodine. **Carbohydrate Research**, v. 168, p. 79 – 88, 1987.

THEMEIER, H.; HOLLMANN, J.; NEESE, U.; LINDHAUER, M.G. Structural and morphological factors influencing the quantification of resistant starch II in starches of different botanical origin. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, p. 72-79, 2005.

THYS, R.C.S.; WESTFAHL JR, H.; NOREÑA, C.; MARCZAK, L.D.F. Effect of alkaline treatment on the ultrastructure of starch granules, **Biomacromolecules**, v. 9, p. 1894-1901, 2008.

TOPPING, D.L.; FUKUSHIMA, M.; BIRD, A. R. Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p. 171-176, 2003.

UTRILLA-COELLO, R.G.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M.E.; CARRILLO-NAVAS, H.; HERNÁNDEZ-JAIMES, C.; VERNON-CARTER, E.J.; ALVAREZ-RAMIREZ, J. In vitro

digestibility, physicochemical, thermal and rheological properties of banana starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 154-162, 2014.

VARATHARAJAN, V.; HOOVER, R.; LIU, Q.; SEETHARAMAN, K. The impact of heat-moisture treatment on the molecular structure and physicochemical properties of normal and waxy potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 466-475, 2010.

VARAVINIT, S.; PAISANJIT, W.; TUKOMANE, T.; PUKKAHUTA, C. Effects of osmotic pressure on the crosslinking reaction of tapioca starch. **Starch/Stärke**, v. 59, p. 290-296, 2007.

VIEIRA, F.C.; SARMENTO, S.B.S. Heat-moisture treatment and enzymatic digestibility of peruvian carrot, sweet potato and ginger starches. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 223-232, 2008.

WARREN, J.M.; HENRY, C.J.K.; SIMONITE, V. Low glycemic index breakfasts and reduced food intake in preadolescent children. **Pediatrics**, 112: e414-e419, 2003.

WHISTLER, R. L. **Banana starch production**. 5797985: 2 p. 1998.

WILDERJANS, E.; PAREYT, B.; GOESAERT, H.; BRIJS, K.; DELCOUR, J.A. The role of gluten in a pound cake system: A model approach based on gluten-starch blends. **Food Chemistry**, v. 110, p. 909 – 915, 2008.

WOLF, B.W.; BAUER, L.L.; FAHEY, G.C. Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slowly digested starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4178-4183, 1999.

WONG, K.S.; JANE, J. Effects of pushing agents on the separation and detection of debranched amylopectin by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 18, p. 63-80, 1995.

WONGSAGONSUP, R.; SHOBSNGOB, S.; OONKHANOND, B.; VARAVINIT, S. Zeta potential (ζ) and pasting properties of phosphorylated or crosslinked rice starches. **Starch - Stärke**, v. 57, p. 32-37, 2005.

WONGSAGONSUP, R.; PUJCHAKARN, T.; JITRAKBUMRUNG, S.; CHAIWAT, W.; FUONGFUCHAT, A.; VARAVINIT, S.; DANGTIP, S.; SUPHANTHARIKA, M.

Effect of cross-linking on physicochemical properties of tapioca starch and its application in soup product. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 656-665, 2014.

WONGSAGONSUP, R.; VARAVINIT, S.; BEMILLER, J.N. Increasing slowly digestible starch content of normal and waxy maize starches and properties of starch products. **Cereal Chemistry**, v. 85, p. 738-745, 2008.

YUE, P.; WARING, G. Resistant starch in food application. **Cereal Foods World**, v. 43, p. 5, 1998.

YUSSOF, N.S., UTRA, U., ALIAS, A.K. Hydrolysis of native and cross-linked corn, tapioca, and sweet potato starches at sub-gelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes. **Starch/Stärke**, v. 65, p. 285-295, 2013.

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

ZAVAREZE, E.R.; PINTO, V.Z.; KLEIN, B.; HALAL, S.L.M.E.; ELIAS, M.C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; DIAS, A.R.G. Development of oxidised and heat-moisture treated potato starch film. **Food Chemistry**, v. 132, p. 7-7, 2012.

ZHANG, P.; WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N.; HAMAKER, B.R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility—a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 443-458, 2005.

ZHANG, P.; HAMAKER, B.R. Banana starch structure and digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1552-1558, 2012.

ZHANG, T.; LI, X.; CHEN, L.; SITU, W. Digestibility and structural changes of waxy rice starch during the fermentation process for waxy rice vinasse. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 38-45, 2016.

ZHOU, X.; CHUNG, H.J.; KIM, J.Y.; LIM, S.T. In vitro analyses of resistant starch in retrograded waxy and normal corn starches. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 55, p. 113-117, 2013.