

**FERNANDA HELENA GONÇALVES PERONI**

**CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-  
QUÍMICAS DE AMIDOS OBTIDOS DE DIFERENTES  
FONTES BOTÂNICAS**

São José do Rio Preto  
Junho-2003

**FERNANDA HELENA GONÇALVES PERONI**

**CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS  
DE AMIDOS OBTIDOS DE DIFERENTES FONTES  
BOTÂNICAS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de São José do Rio Preto, para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos (Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos).

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Célia Maria Landi Franco

São José do Rio Preto  
Junho-2003

**DADOS CURRICULARES**  
**FERNANDA HELENA GONÇALVES PERONI**

NASCIMENTO	23.07.1978 – OSVALDO CRUZ/SP
FILIAÇÃO	Vitor Hugo Peroni Lúcia Helena Gonçalves Peroni
1997/2000	Curso de Graduação em Química Universidade Estadual de Londrina – Londrina/PR
2001	Início do curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, nível de mestrado Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP – São José do Rio Preto/SP

**FERNANDA HELENA GONÇALVES PERONI**

**CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS  
DE AMIDOS OBTIDOS DE DIFERENTES FONTES  
BOTÂNICAS**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE**

Presidente e Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Célia Maria Landi Franco

2º Examinador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marney Pascoli Cereda

3º Examinador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Silene Bruder S. Sarmento

Data da Realização: 30 de junho de 2003.

*Dedico este trabalho à minha família, em especial  
aos meus pais, Vitor e Lúcia, pelo amor,  
compreensão e apoio em todos os  
momentos de minha vida.*

*Ao meu namorado Alex, pelo amor incondicional,  
amizade, compreensão e auxílio  
durante todos esses anos.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre presente em minha vida, pelas oportunidades que me concedeu até hoje, por me dar forças para enfrentar as dificuldades e sempre me guiar para o melhor caminho.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Célia Maria Landi Franco, pelo acolhimento, confiança, incentivo, dedicação, paciência e compreensão durante a orientação deste trabalho, além da amizade e sabedoria que contribuíram para o enriquecimento do mesmo.

Ao Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos pelas facilidades recebidas e pela contribuição na realização deste trabalho.

Aos técnicos dos laboratórios do DETA, em especial ao João Carlos, ao Ginaldo e ao Luís Carlos, por toda ajuda concedida durante a realização dos experimentos.

A todos da Seção de Pós-Graduação pela atenção e eficiência.

Aos Professores integrantes da banca examinadora, Dr<sup>a</sup>. Marney Pascoli Cereda, Dr<sup>a</sup>. Silene Bruder S. Sarmiento, Dr. José Francisco Lopes Filho e Dr. Ivo Mottin Demiate pelas correções e sugestões que muito contribuíram no enriquecimento deste trabalho.

À FAPESP, processo nº 98/01946-9, pelas amostras de amidos de mandioca, batata-doce, araruta, mandioquinha-salsa, inhame e biri concedidas e utilizadas neste trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa.

A todas as colegas de trabalho do Laboratório de Cereais, Polyana, Talita, Ana Paula, Carolina, Renata, Thaís e Suzy pela amizade, em especial à Érika, à Cristina e à Taís R. por todo auxílio prestado em todos os momentos, além da grande amizade.

Aos todos os amigos da pós-graduação pela amizade, ensinamentos, auxílio, pelos bons momentos compartilhados, em especial à Erika, ao Alan, à Daniella, à Giani, à Riana, à Polyana e ao Marcelo.

Aos meus irmãos Hugo Leonardo e Carlos Henrique pela paciência e auxílio prestados com os conhecimentos de informática, os quais foram muito úteis para confecção deste trabalho.

Aos meus pais, Vitor e Lúcia, por todo esforço e dedicação que tiveram pela minha formação.

À minha avó, Amália, que mesmo não estando mais presente em minha vida, tenho certeza que sempre estará olhando por mim.

A todos aqueles, que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>vi</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
3.1. Introdução.....	<b>5</b>
3.2. Fontes de Amidos Tropicais.....	<b>7</b>
3.3. Propriedades Químicas dos Amidos.....	<b>10</b>
3.3.1. Composição.....	<b>10</b>
3.3.2. Amilose.....	<b>11</b>
3.3.3. Amilopectina.....	<b>13</b>
3.3.4. Material Intermediário.....	<b>15</b>
3.3.5. Constituintes Menores.....	<b>15</b>
3.4. Organização dos Grânulos de Amidos.....	<b>17</b>
3.5. Características Estruturais dos Grânulos de Amidos.....	<b>20</b>
3.5.1. Teor de Amilose.....	<b>21</b>
3.5.2. Estrutura Fina da Amilopectina.....	<b>25</b>
3.5.3. Teor de Lipídios e Fósforo.....	<b>30</b>
3.6. Propriedades Funcionais dos Amidos.....	<b>33</b>



3.6.1. Propriedades de Pasta.....	33
3.6.2. Poder de Inchamento e Solubilidade.....	38
3.6.3. Propriedades Térmicas.....	41
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>48</b>
4.1. Materiais.....	48
4.2. Métodos.....	49
4.2.1. Extração dos Amidos.....	49
4.2.2. Caracterização dos Amidos.....	52
4.2.2.1. Teor de Umidade.....	52
4.2.2.2. Teor de Lipídios.....	52
4.2.2.3. Teor de Nitrogênio.....	52
4.2.2.4. Teor de Cinzas.....	53
4.2.2.5. Teor de Fósforo.....	53
4.2.2.6. Distribuição de Peso Molecular dos Amidos.....	53
4.2.2.7. Distribuição de Comprimentos de Cadeias Ramificadas da Amilopectina.....	55
4.2.2.8. Afinidade com Iodo e Teor de Amilose.....	57
4.2.2.9. Propriedades de Pasta.....	58
4.2.2.10. Poder de Inchamento e Solubilidade.....	59
4.2.2.11. Propriedades Térmicas.....	60
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>62</b>
5.1. Composição Química dos Amidos.....	62
5.2. Características Estruturais dos Grânulos de Amido.....	65

5.2.1. Distribuição do Peso Molecular de Amidos por Cromatografia de Permeação em Gel.....	65
5.2.2. Distribuição do Comprimento de Cadeias Ramificadas da Amilopectina.....	71
5.2.3. Teor de Amilose.....	77
5.3. Propriedades Funcionais do Amido.....	81
5.3.1. Propriedades de Pasta.....	81
5.3.2. Poder de Inchamento e Solubilidade.....	90
5.3.3. Propriedades Térmicas.....	95
5.3.3.1. Gelificação.....	95
5.3.3.2. Retrogradação.....	99
5.4. Considerações finais.....	103
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>106</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>108</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Molécula de glicose.....	10
Figura 2 – Ligações $\alpha(1-4)$ da molécula de amilose.....	12
Figura 3 – Ligações $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$ da molécula de amilopectina.....	13
Figura 4 – Representação esquemática dos três tipos de cadeias presentes na estrutura ramificada da amilopectina: A: cadeias curtas de amilose sem grupos OH no C <sub>6</sub> comprometidos; B: cadeias com um ou mais grupos OH no C <sub>6</sub> comprometidos; C: cadeia com grupo redutor.....	14
Figura 5 – Representação da variação de viscosidade, em Unidades Brabender (BU), em função de mudanças granulares de amidos em suspensões aquosas aquecidas e agitadas.....	35
Figura 6 – Curva de empastamento típica de RVA apresentando os parâmetros comumente medidos e viscosidade em unidade RVU.....	36
Figura 7 – Fluxograma do processo de extração dos amidos obtidos no CERAT, em Botucatu/SP.....	50
Figura 8 - Fluxograma do processo de extração dos amidos obtidos no Laboratório de Cereais, Raízes e Tubérculos da UNESP de São José do Rio Preto/SP.....	51
Figura 9 – Perfil de eluição dos amidos de <b>A</b> : Mandioca; <b>B</b> : Batata-doce; <b>C</b> : Araruta através de cromatografia de permeação em gel Sepharose CL-2B.....	67
Figura 10 – Perfil de eluição dos amidos de <b>A</b> : Taro; <b>B</b> : Mandioquinha-salsa; <b>C</b> : Inhame através de cromatografia de permeação em gel Sepharose CL-2B.....	68
Figura 11 – Perfil de eluição dos amidos de <b>A</b> : Biri; <b>B</b> : Açafrão; <b>C</b> : Gengibre através de cromatografia de permeação em gel Sepharose CL-2B.....	69
Figura 12 – Perfil de eluição dos amidos hidrolisados de <b>A</b> : Mandioca; <b>B</b> : Batata-doce; <b>C</b> : Araruta através de cromatografia de permeação em gel Bio -Gel P-6.....	73

Figura 13 – Perfil de eluição dos amidos hidrolisados de <b>A:</b> Taro; <b>B:</b> Mandioquinha-salsa; <b>C:</b> Inhame através de cromatografia de permeação em gel Bio-Gel P-6.....	<b>74</b>
Figura 14 – Perfil de eluição dos amidos hidrolisados de <b>A:</b> Biri; <b>B:</b> Açafrão; <b>C:</b> Gengibre através de cromatografia de permeação em gel Bio-Gel P-6.....	<b>75</b>
Figura 15 – Curva Viscoamilográfica de Amidos de Mandioca, Batata-doce e Araruta.....	<b>83</b>
Figura 16 – Curva Viscoamilográfica de Amidos de Taro, Mandioquinha-salsa e Inhame.....	<b>85</b>
Figura 17 – Curva Viscoamilográfica de Amidos de Biri, Açafrão e Gengibre.....	<b>88</b>
Figura 18 – Curvas de Poder de Inchamento para os amidos de <b>A:</b> Mandioca, Batata-doce e Araruta; <b>B:</b> Taro, Mandioquinha-salsa e Inhame; <b>C:</b> Biri, Açafrão e Gengibre.....	<b>92</b>
Figura 19 – Curvas de Solubilidade para os amidos de <b>A:</b> Mandioca, Batata-doce e Araruta; <b>B:</b> Taro, Mandioquinha-salsa e Inhame; <b>C:</b> Biri, Açafrão e Gengibre.....	<b>93</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Nomes científicos e locais de cultivo das espécies estudadas neste trabalho.....	48
Tabela 2 – Composição química de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas, além de dados literários do amido de milho que foi citado apenas para comparação.....	62
Tabela 3 – Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas das amilopectinas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas.....	72
Tabela 4 – Afinidade por iodo e teor de amilose dos amidos obtidos de diferentes fontes botânicas e seus respectivos valores segundo a literatura.....	79
Tabela 5 – Propriedades de pasta de amidos de diferentes fontes botânicas.....	82
Tabela 6 – Poder de inchamento e solubilidade, a 60 e 70°C, de amidos de diferentes fontes botânicas.....	91
Tabela 7 – Poder de inchamento e solubilidade, a 80, 90 e 95°C, de amidos de diferentes fontes botânicas.....	91
Tabela 8 – Propriedades de gelificação de amidos de diferentes fontes botânicas.....	96
Tabela 9 – Propriedades de retrogradação de amidos de diferentes fontes botânicas.....	101

## RESUMO

Características estruturais e físico-químicas de amidos estão relacionadas a sua fonte botânica. Países tropicais como o Brasil, possuem uma grande variedade de espécies amiláceas que poderiam substituir amidos modificados em alimentos processados. Neste trabalho, amidos isolados de nove espécies diferentes (mandioca, batata-doce, araruta, mandiocinha-salsa, biri, inhame, taro, açafião, gengibre) foram analisados. Distribuições de peso molecular dos amidos e comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina foram analisadas por cromatografia de permeação em gel (GPC) usando Sepharose CL-2B e Bio gel P-6, respectivamente. Teores de fósforo e de amilose foram determinados por método colorimétrico e medida da afinidade com iodo, respectivamente. As propriedades de pasta e térmicas dos amidos foram determinadas usando-se um Rápido Visco Analisador (RVA) e um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC), respectivamente. O poder de inchamento e solubilidade dos amidos foram determinados a temperaturas entre 60-90°C, com exceção do amido de gengibre que foi também determinado a 95°C. Os resultados mostraram diferentes padrões de distribuições de comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina para os diferentes amidos. Através de Bio gel P-6, os cromatogramas mostraram cadeias ramificadas longas da amilopectina com DP (grau de polimerização) variando de 21 a 38, e cadeias ramificadas curtas com DP variando de 7 a 19. Os amidos de biri e açafião mostraram altas proporções de cadeias muito longas da amilopectina enquanto que o amido de taro mostrou altas proporções de cadeias curtas com alto

grau de ramificações. Em Sepharose CL-2B, foi observado que os amidos de batata-doce, araruta e taro, apresentaram moléculas de amilose de alto peso molecular, enquanto que o amido de açafrão mostrou o mais baixo. Os amidos de açafrão, inhame e biri apresentaram altos teores de amilose (45,1, 35,0 e 33,7%, respectivamente) enquanto que o amido de taro mostrou o mais baixo (10,2%). O teor de fósforo variou de 0,007 a 0,031% para os amidos de mandioca e biri, respectivamente. Do RVA, a viscosidade de pico variou de 78 para o amido de gengibre a 506 (RVU) para o amido de açafrão e as temperaturas de pasta variaram de 61,2 a 95,0°C para os amidos de mandioquinha-salsa e gengibre, respectivamente. Os padrões amilográficos mostraram características desejáveis como boa estabilidade térmica para os amidos de inhame, gengibre e açafrão, enquanto que o amido de mandioquinha-salsa demonstrou ser de fácil cozimento. As temperaturas iniciais de gelificação ( $T_0$ ) variaram de 58,08 a 81,77°C para os amidos de mandioquinha-salsa e gengibre, respectivamente. O amido de mandioca apresentou a menor taxa de retrogradação (4,89%), enquanto que o amido de açafrão mostrou a maior (94,53%). As propriedades térmicas e de pasta e poder de inchamento dos amidos foram fortemente influenciados pelos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina, teor de amilose e teor de fósforo.

Palavras-chave: amido, estrutura, propriedades físico-químicas.

## ***ABSTRACT***

Structural and physicochemical characteristics of starches are related to their botanical sources. Tropical countries have a great variety of starchy species that could replace modified starches in processed foods. In this work, starch samples isolated from nine different species (cassava, sweet potato, arrowroot, Perurian carrot, canna, yam, taro, curcuma, ginger) were analyzed. Molecular weight distributions of the starches and branch chains lengths of debranched amylopectins were analyzed by gel permeation chromatography (GPC) by using Sepharose CL-2B and Bio gel P-6, respectively. Phosphorous and amylose contents were determined by a colorimetric method and measuring iodine affinity, respectively. Pasting and thermal properties of the starches were determined using Rapid Visco Analyzer (RVA) and Differential Scanning Calorimetry (DSC), respectively. Swelling power and solubility of the starches were determined at temperatures between 60-90°C, with exception of the ginger starch swelling power that was also determined at 95°C. The results showed different patterns of amylopectin branch chains length distributions for different starches. From Bio gel P-6 GPC, chromatograms displayed long branch chains of amylopectin with DP (polimerization degree) varying from 21 to 38, and short branch chains with DP varying from 7 to 19. The canna and curcuma starches displayed higher proportions of very long chains of amylopectin whereas the taro starch showed higher proportions of short chains with a higher degree of branching. From Sepharose CL-2B, it was observed that the sweet potato, arrowroot and taro



starches displayed amylose molecules with higher molecular weight, whereas the curcuma starch showed the lowest. The curcuma, yam, and canna starches displayed higher amylose contents (45.1, 35.0, and 33.7%, respectively) whereas the taro starch showed the lowest (10.2%). Phosphorous content varied from 0.007 to 0.031% for the cassava and canna starches, respectively. From RVA, peak viscosity varied from 78 for the ginger starch to 506 (RVU) for the curcuma starch and the pasting temperature varied from 61.2 to 95.0°C for the Perurian carrot and ginger starches, respectively. Amylographic patterns showed desirable characteristics as good thermal stability to the yam, ginger, and curcuma starches, whereas the Perurian carrot starch proved easier to cook. Onset gelatinization temperatures ( $T_o$ ) varied from 58.08 to 81.77°C, for the Perurian carrot and ginger starches, respectively. The cassava starch showed the lowest retrogradation rate (4.89%), whereas the curcuma starch displayed the highest (94.53%). The pasting and thermal properties and the swelling power of starches were deeply affected by the branch chain length of amylopectin, amylose content and phosphorous content.

Keyword: starch, structure, physicochemical properties.

## 1. INTRODUÇÃO

O amido é muito usado pela indústria de alimentos nacional e internacional como melhorador das propriedades funcionais em sistemas alimentícios. Dependendo da fonte botânica e da natureza (regular ou modificado) ele pode ser utilizado para fornecer textura, servir como espessante, proteger os alimentos durante o processamento, entre outras funções (SMITH, 1982). Deste modo, o amido desempenha importante papel no controle das características de um grande número de alimentos processados. Sua aplicação é função de suas propriedades físico-químicas que estão diretamente relacionadas a sua fonte botânica.

Nem sempre o amido, na sua forma natural, possui as propriedades físico-químicas adequadas a determinados requerimentos dos alimentos ou tipos de processamentos. Deste modo, modificações químicas e físicas são largamente realizadas para que estes amidos se tornem mais adequados à fabricação de alimentos preparados, principalmente em países desenvolvidos.

Num mundo onde os consumidores exigem produtos cada vez mais naturais e as normas de proteção a esses consumidores são cada vez mais rigorosas, o desenvolvimento de novos amidos para uso alimentar a partir de modificações, principalmente as químicas, tem se tornado cada vez mais difícil.

Para BeMILLER (1997), dificilmente novos reagentes para serem usados na modificação de amidos, ou novos derivados de amidos serão aprovados, principalmente para uso alimentar. Os principais motivos que

contribuem para que estas medidas sejam tomadas são proteção ao consumidor, proteção ao meio ambiente e economia nos custos de produção. Para o autor, isto explica a baixa quantidade de derivados de amidos surgidos nos últimos 40 anos para usos alimentares.

Faz-se necessário, então, que as empresas processadoras de amido busquem novos produtos capazes de atender tanto as novas exigências dos consumidores quanto às necessidades das indústrias de alimentos, encontrando amidos naturais de fontes alternativas, com propriedades funcionais específicas que possam ser utilizados nos mais diferentes processamentos de alimentos, podendo vir a substituir amidos modificados quimicamente.

Os países tropicais, como o Brasil, possuem grande quantidade de espécies amiláceas pouco estudadas e cujas características poderiam atender a determinados usos alimentares. O conhecimento da estrutura dos grânulos de amido dessas espécies é importante para o entendimento de suas propriedades físico-químicas, as quais determinam o seu comportamento nos mais diversos processos industriais. Características estruturais tais como teor de amilose, distribuição de comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina, teores de monoésterfosfato, fosfolipídeos e lipídeos, distribuição do tamanho dos grânulos e estruturas cristalinas afetam profundamente as propriedades térmicas, propriedades de pasta e poder de inchamento dos amidos que basicamente determinam sua utilização nos alimentos processados.

O objetivo do presente trabalho foi o de estudar e correlacionar as características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes

fontes botânicas visando obter e disponibilizar mais informações sobre sua caracterização.

## 2. OBJETIVOS

- Estabelecer as características estruturais de amidos de tuberosas como mandioca, batata-doce, araruta, taro, mandioquinha-salsa, inhame, biri, açafraão e gengibre quanto aos teores de amilose, fósforo e lipídios, assim como a distribuição do peso molecular dos componentes do amido e distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina.
- Determinar as propriedades de pasta, inchamento e solubilidade e propriedades térmicas dos amidos obtidos das diferentes fontes botânicas citadas.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1. Introdução**

O amido é a principal substância de reserva nas plantas superiores, fornecendo de 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem. É considerado um dos principais componentes da maioria dos vegetais, e os depósitos permanentes de amido nas plantas ocorrem principalmente nos órgãos de reserva como é o caso de grãos em cereais (arroz, milho e trigo), tubérculos e raízes (batata, mandioca, taro, etc) e leguminosas (feijão, ervilha, entre outros) (CIACCO; CRUZ, 1987; LEONEL; CEREDA, 2002).

O amido apresenta características físicas e químicas e qualidade nutricional superiores quando comparado com outros carboidratos (WHISTLER; BeMILLER, 1997). Suas características físico-químicas e funcionais estão diretamente relacionadas às características estruturais do grânulo as quais dependem da fonte botânica, local e condições de crescimento, entre outras (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000).

Pode ser usado como importante ingrediente nas indústrias de alimentos, sendo estas as maiores consumidoras de amido. Quando novos produtos são desenvolvidos, amidos com propriedades específicas são utilizados para conferir funcionalidade desejável ao alimento (ALVES; GROSSMANN;

SILVA, 1999). Pode ser usado como espessante quando o objetivo é se obter alta viscosidade e adoçante na fabricação de bebidas em geral, além de ser adicionado como ingrediente funcional em muitos produtos como sopas instantâneas, pudins, balas, produtos em pó a base de carnes e peixes, pode ser usado como ligante em salsichas e lingüiças, e em grande variedade de produtos com baixo teor de gorduras, além de ter aplicações em um grande número de processos industriais destacando-se seu uso pelas indústrias de papel e têxtil. O emprego de amidos em geral pode variar de produto para produto de acordo com sua funcionalidade específica (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000; FRANCO et al., 2001; LEONEL; CEREDA, 2002). As aplicações industriais de amidos, são limitadas, principalmente quando estes estão na forma não modificada. As modificações químicas ou físicas de amidos têm sido realizadas com o objetivo de estender suas possibilidades de uso e seu valor.

A modificação química tem sido realizada, entre outros motivos, para melhorar as propriedades de gelificação, aumentar a estabilidade da pasta e prevenir a retrogradação (BeMILLER, 1997; MORIKAWA; NISHINARI, 2000; SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000; MIYOSHI, 2002). No entanto, o desenvolvimento de amidos alimentares a partir de modificações químicas tem se tornado cada vez mais difícil. Devido às restrições a amidos modificados, impostas principalmente pelos consumidores, as empresas produtoras de amido no mundo vêm mostrando um interesse cada vez maior em amidos naturais com características desejáveis que atendam ao mercado consumidor. Pesquisas em torno de novas matérias-primas amiláceas têm se intensificado nos últimos anos, e

o uso de amidos naturais de fontes alternativas ou misturas de amidos poderia suprir a demanda para a substituição de amidos modificados quimicamente.

### **3.2. Fontes de Amidos Tropicais**

As fontes comerciais de amido mais importantes são os grãos de cereais, apresentando de 40 a 90% do peso seco constituído por amido, os grãos de leguminosas, com 30 a 70% e as tuberosas, contendo de 65 a 85% (FRANCO et al., 2001). Atualmente, as fontes comerciais de amido no mundo são cinco: milho, mandioca, batata, trigo e arroz, das quais quatro são de origem tropical. Quase todas as tuberosas apresentam alto teor de amido, mas apenas algumas poucas, como a araruta, inhame e biri são usadas como matéria-prima alternativa (CEREDA, 2001).

Dentre as culturas amiláceas tropicais mais comuns, a que merece destaque é a mandioca, sendo o Brasil o segundo maior produtor, cuja produção comercial existe em grande escala nos países de clima tropical e subtropical, além da mandioquinha-salsa, araruta, inhame, taro, sendo que na grande maioria desses cultivos o amido é o componente predominante (CEREDA, 2001; LEONEL; CEREDA, 2002). A batata-doce, planta originária da América tropical, é também uma das tuberosas mais populares do Brasil, sendo consumida na forma assada ou cozida e industrializada na forma de doces. A mandioquinha-



salsa é originária dos Andes, e no Brasil é cultivada em áreas de elevada altitude e clima ameno na região Centro-Sul.

O açafrão é um rizoma originário do Sudeste da Ásia e sua utilização está mais voltada para condimento ou especiaria e em atividades farmacológicas, sendo os principais produtos a curcumina e o óleo essencial. O seu amido não é muito utilizado pela indústria devido a sua extração ser considerada uma atividade secundária. Mas, devido ao elevado teor de amido que pode variar de 25 a 70% e o processo de extração não interferir na obtenção dos produtos comerciais a que se destina, este rizoma torna-se promissor como matéria-prima para a indústria de amido. O açafrão e o gengibre não são usados diretamente na alimentação, mas entram na composição de pratos como corantes e aromatizantes (LEONEL; CEREDA, 2002).

As culturas tuberosas receberam diversas denominações populares em cada país de origem. Estas são eminentemente calóricas, razão pela qual são considerados alimentos de subsistência, capazes de proporcionar energia a populações carentes. São constituídas aproximadamente de 70-80% de água, 16-24% de amido e pequenas quantidades (< 4%) de proteínas e lipídios. As propriedades agronômicas e fenotípicas dessas culturas são bem documentadas. No entanto, a estrutura e as propriedades físico-químicas desses amidos ainda não foram muito bem estudadas (HOOVER, 2001).

Para a introdução de uma nova matéria-prima nas indústrias produtoras de amido é preciso levar em conta a parte agrícola da cultura, a composição físico-química da porção a ser processada e os resíduos gerados. Sob

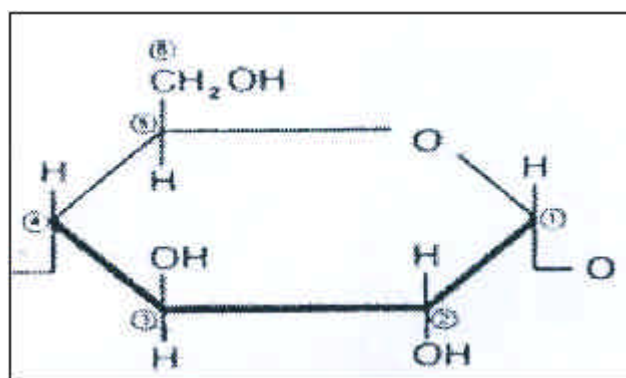
o ponto de vista tecnológico, a presença de outros componentes, além do amido na matéria-prima, deve ser considerada. Estes compostos podem interferir no processo de extração do amido, alterando o rendimento final, como é o caso das fibras (teor e tipo), proteínas, gorduras e gomas (LEONEL; CEREDA, 2002).

Moorthy (2001), relata que a importância da cultura da mandioca está na extração de seu amido. O amido sedimenta rapidamente e proporciona bons rendimentos, sendo livre de impurezas e corantes, ao contrário de amidos de outras plantas que se contaminam com proteínas ou lipídios e são coloridos. Comparado ao amido de mandioca, o de batata-doce demora a sedimentar e seu rendimento é baixo. No caso dos inhames o problema está na presença de mucilagens, que mantêm o amido em suspensão não permitindo sua sedimentação. Para contornar este problema, Moorthy (2001) relata uma técnica simples usada em laboratório, através do uso de amônia (0,03M), o que não apenas melhora o rendimento, mas também a qualidade do amido extraído. Embora se possa contornar o problema da extração, uma série de estudos deveriam ser realizados sobre a implicação do uso da amônia nas propriedades dos amidos de tuberosas.

### 3.3. Propriedades Químicas dos Amidos

#### 3.3.1. Composição

O amido é um polissacarídeo que consiste de resíduos de  $\alpha$ -D-glicose, com suas ligações glicosídicas identificadas através de átomos de carbono numerados de um a seis como se apresenta na Figura 1. Essas numerações facilitam a compreensão das propriedades e reatividade dos grupos funcionais da molécula de glicose anidra no amido (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; BULÉON et al., 1998).



1, 2, 3, 4, 5, 6: Átomos de carbono; Fonte: SWINKELS (1985).  
FIGURA 1 – Molécula de glicose.

O amido, que se apresenta na forma de discretos grânulos com forma e tamanho dependente da sua fonte botânica, é composto basicamente por dois tipos de macromoléculas, amilose e amilopectina que se apresentam em proporções relativamente constantes de 20:80; porém podem apresentar

quantidades relativas de 2% de amilose em amidos cerosos, até cerca de 80% de amilose, no “amilomilho” (BULÉON et al., 1998; ALONSO et al., 1999).

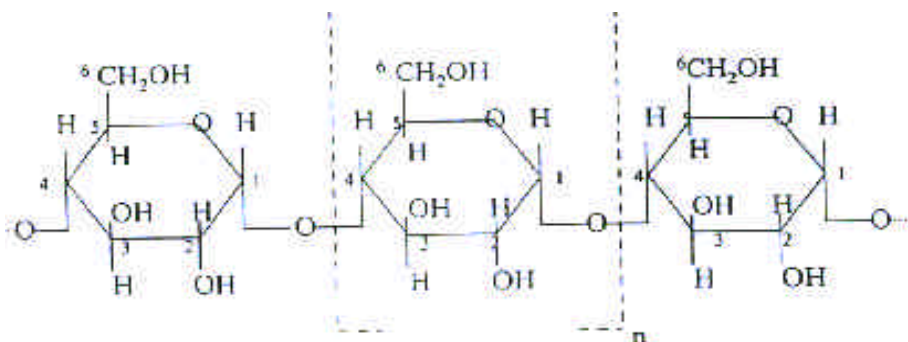
A proporção entre amilose e amilopectina é variável com a fonte botânica, o que irá conferir características específicas à pasta de amido. O amido deve muito de sua funcionalidade a estas duas macromoléculas, assim como à organização física das mesmas dentro da estrutura granular (BILIADERIS, 1991).

A disposição de amilose e amilopectina dentro do grânulo de amido, ainda não é completamente compreendida. O empacotamento desses dois polímeros no grânulo de amido nativo não é ao acaso e sim, bem organizado. No entanto, quando aquecido na presença de água, a estrutura do grânulo torna-se menos ordenada. Tal perda na organização interna ocorre em diferentes temperaturas para diferentes tipos de amidos. Dependendo do amido, se ele for aquecido em água indefinidamente, o grânulo aumenta até que sua estrutura finalmente se desintegre e amilose e amilopectina sejam liberadas na suspensão aquosa. O conteúdo desses polissacarídeos afeta a arquitetura do grânulo de amido, as propriedades de pasta e gelificação, os atributos texturais, podendo afetar sua aplicação em alimentos industrializados (YUAN; THOMPSON; BOYER, 1993; THOMAS; ATWELL, 1999).

### **3.3.2. Amilose**

A amilose é definida como uma molécula essencialmente linear formada por unidades de D-glicose unidas entre si por ligações glicosídicas  $\alpha(1-4)$

(Figura 2). No entanto, um certo grau de ramificação (9-20 ramificações) em  $\alpha$ (1-6) tem sido encontrado em sua estrutura (FRENCH, 1973, 1984; HIZUKURI; TAKEDA; YASUDA, 1981; BULÉON et al., 1998; HOOVER, 2001).



1, 2, 3, 4, 5, 6: Átomos de carbono; Fonte: THOMAS e ATWELL (1999).  
 FIGURA 2 – Ligações  $\alpha$ (1-4) da molécula de amilose.

De acordo com Greenwood e Thomson (1959 apud HOOVER, 2001), essas ramificações são aumentadas com o aumento do peso molecular da amilose, que varia de  $10^5$  a  $10^6$ . Buléon et al. (1998), comentam que estudos demonstraram um comportamento similar entre essas amiloses de diferentes pesos moleculares, em que a presença de ramificações não alterou o comportamento em solução das cadeias de amilose, permanecendo idêntico ao comportamento das cadeias totalmente lineares.

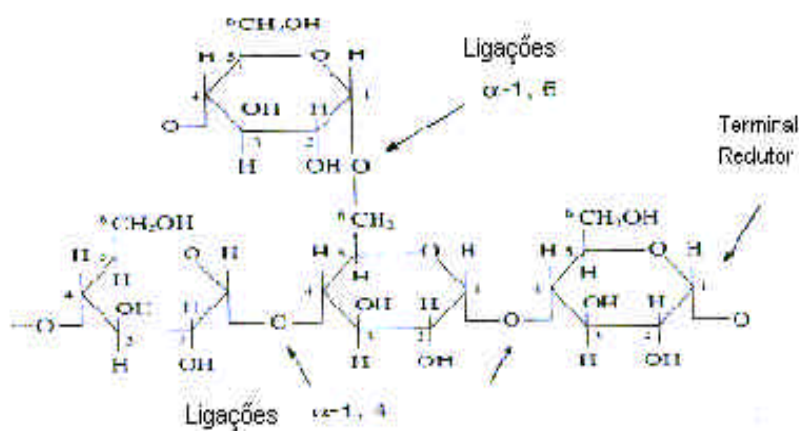
Sabe-se que as ligações glicosídicas na configuração  $\alpha$ , conferem à amilose uma estrutura helicoidal dentro da qual podem se acomodar átomos de iodo formando um composto de inclusão de cor azul intensa com absorção máxima a comprimentos de onda entre 620 e 680 nm. Esta reação é

usada na determinação quantitativa do teor de amilose, e como indicador da presença de amido (HOOVER, 2001).

De acordo com Hoover (2001), amiloses de tubérculos e raízes apresentam teores de amilose variando entre 18,3-20,4% e número de ramificações entre 2,2-12.

### 3.3.3. Amilopectina

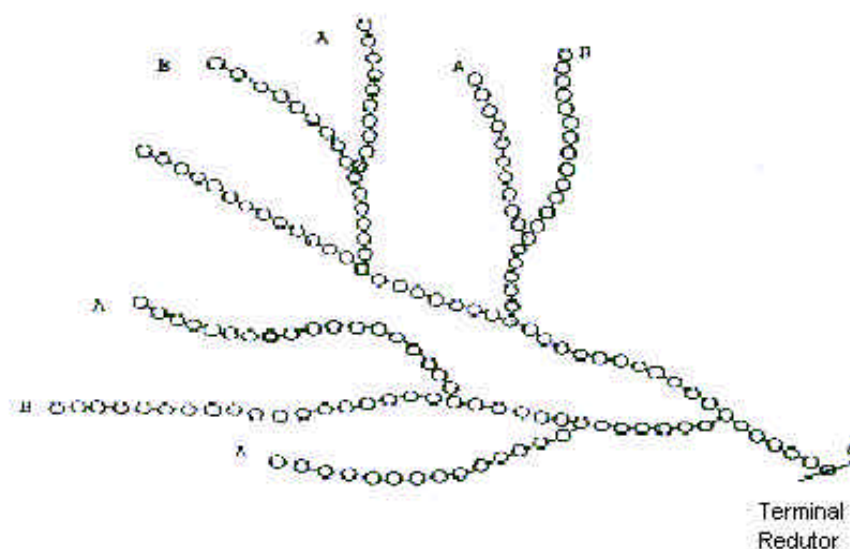
A amilopectina é uma molécula muito grande e altamente ramificada, com peso molecular médio da ordem de  $10^7$ - $10^9$ . É formada por várias cadeias constituídas de 20-25 unidades de  $\alpha$ -D-glicose ligadas em  $\alpha(1-4)$ ; essas cadeias, por sua vez, estão unidas entre si por ligações  $\alpha(1-6)$  constituindo essas ligações de 4-5% do total das ligações glicosídicas (Figura 3) (WHISTLER; BeMILLER, 1997; BULÉON et al., 1998; HOOVER, 2001; FRANCO et al., 2001).



1, 2, 3, 4, 5, 6: Átomos de carbono; Fonte: THOMAS e ATWELL (1999).

FIGURA 3 – Ligações  $\alpha(1-4)$  e  $\alpha(1-6)$  da molécula de amilopectina.

A molécula de amilopectina (Figura 4) consiste de uma cadeia principal, denominada de cadeia C, que carrega o grupo redutor da molécula, e numerosas cadeias ramificadas denominadas A e B. As cadeias A são conectadas às cadeias B ou C por ligações  $\alpha(1-6)$ , mas não carregam qualquer ramificação. As cadeias B, são aquelas conectadas às outras cadeias por ligações  $\alpha(1-6)$  e possuem uma ou mais cadeias A ou B ligadas a ela através de ligações  $\alpha(1-6)$  (FRANCO et al., 2001; HOOVER, 2001).



Fonte: CIACCO e CRUZ (1987).

FIGURA 4 – Representação esquemática dos três tipos de cadeias presentes na estrutura ramificada da amilopectina: A: cadeias curtas de amilose sem grupos OH no C<sub>6</sub> comprometidos; B: cadeias com um ou mais grupos OH no C<sub>6</sub> comprometidos; C: cadeia com grupo redutor.

A estrutura fina da amilopectina de amidos tem sido assunto de pesquisas durante os últimos anos. Vários modelos estruturais têm sido propostos para explicar a maneira como as cadeias unitárias agregam-se para proporcionar estrutura altamente ramificada, além de estudos envolvendo medidas de

comprimento médio de cadeias, razão de cadeias A/B e comprimento das cadeias internas e externas (WANG et al., 1993; FRANCO et al., 2001).

De acordo com Hoover (2001), amilopectinas de tubérculos e raízes apresentam afinidade por iodo variando entre 0,06-1,1% e comprimento médio das cadeias entre 19-44.

### **3.3.4. Material Intermediário**

Alguns estudos têm mostrado a existência de um terceiro componente no amido denominado de material intermediário (WANG et al., 1993; KASEMSUWAN et al., 1995). A quantidade e a estrutura deste material diferem com o tipo e grau de maturação do grânulo de amido (WANG et al., 1993). Segundo Biliaderis (1991) e Gérard et al. (2001), o material intermediário apresenta um peso molecular menor que a amilose e uma estrutura levemente ramificada, com grau de ramificação entre a amilose e amilopectina.

### **3.3.5. Constituintes Menores**

Além dos componentes macromoleculares do amido, a amilose e a amilopectina, podem aparecer outros constituintes menores associados, os quais podem ser divididos em três categorias: material particulado, composto principalmente de fragmentos da parede celular; componentes superficiais,



removíveis por procedimentos de extração e componentes internos (HOOVER, 2002).

Os constituintes menores mais comuns são umidade, lipídios, cinzas e sais minerais. Observações microscópicas podem ser realizadas para detectar a presença de alguma proteína aderida ao grânulo. Estes compostos podem interferir no processo de extração do amido alterando o rendimento final, como é o caso das fibras (teor e tipo). É importante que a matéria-prima apresente baixos teores destes constituintes e um alto teor de amido, características essas reunidas pela mandioca (HOOVER, 2002).

As proteínas, que também aparecem em menores teores nos amidos de raízes e tubérculos não influenciam suas propriedades funcionais.

Os lipídios representam a fração mais importante associada ao grânulo de amido. Segundo Buléon et al. (1998) e Mestres (1996 apud FRANCO et al., 2001), amidos de cereais apresentam elevados teores de lipídios, podendo variar de 0,8 a 1,2% para amido de trigo, não podendo ser retirados com muita facilidade pelo processo de extração. Como consequência, parte dos lipídios permanecem nos amidos de cereais, sendo responsáveis pela fixação de cor, desenvolvimento de aromas e complexações que não ocorrem nos amidos de tuberosas. Nestes, os teores de lipídios são naturalmente baixos, menores que 1%, o que faz destes amidos os mais neutros e menos sujeitos a complexações. Ainda segundo os autores, isto explica alguns comportamentos típicos dos amidos de cereais.

A presença de fósforo em amidos desempenha um importante papel nas suas propriedades funcionais (LIM; KASEMSUWAN; JANE, 1994). Estes estão ligados covalentemente em muitos amidos nativos, causando um grande impacto nas propriedades reológicas de amidos isolados, como pastas muito claras (transparentes), alta viscosidade e consistência. Assim, monoesterfósforo em amidos de raízes e tubérculos promove sua natureza hidrofílica por introduzir nas cadeias de amido os grupos fosfatos carregados negativamente aumentando sua capacidade de ligação com a água e poder de inchamento, sendo uma vantagem para muitas aplicações industriais. Por sua vez, como maiores fontes de fósforo em amidos de cereais, os lisofosfolipídios são complexados pelas hélices de amiloses, reduzindo a capacidade de ligação do amido com a água e tornando suas pastas mais opacas e menos viscosas (TESTER; MORRISON, 1990; BLENNOW et al., 2000b; FRANCO et al., 2001; HOOVER, 2001).

#### **3.4. Organização dos Grânulos de Amidos**

Os grânulos de amido são birrefringentes e quando observados sob luz polarizada apresentam a típica cruz de malta. Os diferentes graus de ordenamento estrutural do grânulo são responsáveis pelas propriedades de birrefringência e cristalinidade.

De acordo com Cui e Oates (1999) e Parker e Ring (2001), os grânulos de amido estão organizados em regiões cristalinas e amorfas, sendo a transição entre essas regiões gradual. Estudos mostram que a amilopectina é a responsável pela cristalinidade do amido, não existindo evidências de que a amilose participe dessas regiões. Em amidos provenientes de raízes e tubérculos, a região cristalina é constituída das frações lineares da amilopectina, enquanto que os pontos de ramificação e a amilose são os principais componentes das regiões amorfas.

De acordo com Buléon et al. (1998), o conceito mais aceito sobre a estrutura da amilopectina, foi o proposto por Robin et al. (1974) e French (1973). Eles propuseram um modelo no qual os *clusters* associados de cadeias A de 60Å de comprimento passariam a constituir uma camada cristalina com 60Å de espessura na direção do eixo da cadeia. Tais *clusters* associados constituiriam a fração dos grânulos de amido resistentes ao ácido (WHISTLER; BeMILLER, 1997; PARKER; RING, 2001). As áreas intercristalinas entre os sucessivos *clusters* conteriam a maior parte das ligações  $\alpha(1-6)$  bem mais susceptíveis ao ácido. No entanto, existem variações deste modelo proposto por outros autores (MANNERS; MATHERSON, 1981; HIZUKURI, 1986; BERTOFT, 1989) e ainda não está claro se ele é aplicado a todas as amilopectinas independente da fonte botânica. De acordo com Smith et al. (1997 apud FRANCO et al., 2001), cada *cluster* contém uma região com pontos de ramificação (área amorfa), e uma região com segmentos curtos da cadeia de amilopectina que forma duplas hélices (área cristalina).

Gallant; Bouchet e Baldwin (1997) sugeriram que as camadas cristalinas e amorfas da amilopectina são organizadas dentro de estruturas, maiores mais ou menos esféricas, chamadas bloquetes. O diâmetro desses bloquetes seria de 20 a 500 nm dependendo do tipo de amido e sua localização no grânulo e teria um papel importante na maior ou menor resistência dos amidos à ação enzimática. Assim, a amilopectina estaria localizada no grânulo em regiões cristalinas e semicristalinas e nesta última os bloquetes seriam menores e a cristalinidade da amilopectina seria reduzida, principalmente devido a seu maior envolvimento com a amilose.

Segundo estudos realizados por Gallant et al. (1982), a constituição estrutural das regiões amorfas e cristalinas do grânulo de amido nativo pode ser estudada por Difractometria de Raios-X, sendo este o melhor método para investigação das regiões cristalinas.

Por este método o grânulo de amido pode ser dividido em dois grupos. No primeiro se encontram os amidos de cereais produzindo um padrão de raios-X tipo A consistindo de duplas hélices dispostas em arranjo monocíclico. No segundo grupo estão presentes os amidos de tubérculos e raízes tropicais produzindo padrões de raios-X tipo B, consistindo de uma estrutura aberta e altamente hidratada, com duplas hélices dispostas em arranjo hexagonal (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; WHISTLER; BeMILLER, 1997; BLENNOW et al., 2000a, b; PARKER; RING, 2001). Os amidos de tuberosas tropicais podem ainda ser descritos na literatura como sendo dos tipos A e B (GALLANT et al., 1982). Deste modo, Gallant et al. (1982), Reyes et al. (1982),

Hoover (2001) e Moorthy (2001) enquadram os amidos de mandioca, batata-doce, gengibre, taro, araruta e mandioquinha-salsa, como sendo amidos tipo A, enquanto que amidos de biri, açafraão e inhame pertencem ao tipo B. Amidos de leguminosas exibem um padrão tipo C, considerado por alguns autores como uma mistura dos tipos A e B.

McPherson e Jane (1999) e Yoo e Jane (2002), relatam que há mais cadeias ramificadas curtas em amilopectinas tipo A e estas são espalhadas e localizadas em regiões cristalinas e amorfas, enquanto que em amilopectinas tipo B há poucas ramificações sendo a maioria *clusters* em regiões amorfas, e mais ramificações longas. Amidos tipo C contêm amilopectinas com ambos os comprimentos de ramificações, longas e curtas.

### **3.5. Características Estruturais dos Grânulos de Amidos**

Características relacionadas à estrutura dos grânulos de amidos tais como teor de amilose, distribuição de comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina (JANE et al., 1999; FRANCO et al., 2002b), teores de monoésterfosfato, fosfolipídeos e lipídeos (TESTER; MORRISON, 1990; LIM; KASEMSUWAN; JANE, 1994; MORRISON, 1995), entre outros, afetam profundamente as propriedades funcionais de amidos.

A compreensão da estrutura dos grânulos de amido é importante no entendimento de suas propriedades físico-químicas, as quais determinam o seu comportamento nos mais diversos processos industriais.

### **3.5.1. Teor de Amilose**

O teor de amilose pode ser determinado por diversas metodologias, porém nenhuma é totalmente aceita como ideal. Há variações nos dados da literatura o que comprova a falta de uma técnica completamente confiável para sua quantificação.

De acordo com Thomas e Atwell (1999) e Gérard et al. (2001), o teor de amilose é comumente medido por métodos que envolvem a reação com iodo, como potenciométricos, amperométricos, ou espectrofotométricos pela medida da absorvância do complexo amido-iodo (*blue value*). Esses métodos baseiam-se na capacidade que a estrutura helicoidal da amilose tem em formar complexos de inclusão com iodo, apresentando uma coloração azul característica, pela absorção máxima no comprimento de onda de 620 nm. Quanto maior a afinidade por iodo, maior será o teor de amilose do amido.

O teor de amilose de amidos reportado na maioria dos trabalhos geralmente se refere ao teor de amilose aparente. Isto ocorre porque cadeias ramificadas externas de amilopectina muito longas podem interagir com o iodo superestimando o teor de amilose quando este é determinado por titulação iodométrica (KASEMSUWAM et al., 1995; JANE et al., 1999). Considerar a

afinidade da amilopectina pelo iodo para reportar o teor real de amilose no amido se faz então necessário.

No entanto, muitos autores se referem ao teor de amilose aparente como sendo aquele obtido de amidos que não foram previamente desengordurados (MORRISON, 1995).

Os lipídios estão presentes principalmente nos amidos de cereais e eles diferem em quantidade e tipo. Ácidos graxos livres e lisofosfolipídios também formam complexos de inclusão com amilose. De acordo com Morrison (1995), a prova de que estes complexos existem no amido natural e que eles não são formados durante isolamento do amido foi obtido usando  $^{13}\text{C}$ -CP/MAS-NMR ( $^{13}\text{C}$  espectro de ressonância magnética nuclear). Este autor observou que os lipídios não estavam distribuídos uniformemente através da fração amilose e que, provavelmente, existiriam dois tipos de amilose: amilose complexada com lipídios (LAM) e amilose livre de lipídios (FAM). Para esse autor, amilose aparente é aquela determinada na presença dos lipídios do amido, os quais interferem na afinidade com iodo e é definida como sendo FAM, enquanto a diferença entre amilose total (medida em amidos desengordurados) e amilose aparente seria o mesmo que LAM.

Os complexos de amilose com a maioria dos lipídios são insolúveis e amorfos (tipo I), mas eles podem ser rearranjados numa forma semicristalina (tipo II). Complexos do tipo I, mais frequentes na maioria dos cereais, geralmente se dissociam sob aquecimento em água a 94-110°C (RAPHAELIDES; KARKALAS, 1988), enquanto complexos do tipo II,

normalmente encontrados em amidos após gelificação, se dissociam entre 100-125°C (MORRISON, 1995).

Segundo Cui e Oates (1999), estes complexos amilose-lipídio diminuem a susceptibilidade da amilose ao ataque enzimático, devido ao mecanismo competitivo entre retrogradação da amilose e formação destes complexos, em que a cristalização deste último é favorecida. Estes autores comentam ainda que a formação destes complexos previne a saída da amilose durante a gelificação, inibindo o inchamento do grânulo quando aquecido em água, e reduz a capacidade de ligação do amido com a água.

Fosfolipídios e ácidos graxos que podem estar complexados com a amilose, devem ser extraídos antes das determinações para evitar resultados subestimados (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991; WANG et al., 1993; YOU; IZYDORCZYK, 2002).

De acordo com Takeda; Guan e Preiss (1993), a cromatografia de permeação em gel é um método sensível para se determinar a pureza da amilose podendo detectar a heterogeneidade em termos de peso molecular e estrutura ramificada. Entretanto, Wang et al. (1993), empregando este mesmo método para separar os componentes do amido, não obtiveram separação definida entre amilose e amilopectina, devido a quantidade de material intermediário eluído entre as duas frações.

Os resultados obtidos por McPherson e Jane (1999) com relação à distribuição do peso molecular para os amidos de batata normal, batata cerosa, batata-doce e inhame através de cromatografia de permeação em gel, mostraram



que o amido de batata normal apresentou amilose de maior peso molecular do que os amidos de inhame e batata-doce. A proporção de *blue value* para carboidratos totais (BV/CHO) no pico da amilopectina mostrou que amilopectinas de amidos de batata normal e ceroso desenvolveram menos coloração azul do que amilopectinas de amidos de inhame e batata-doce, o que pode ser atribuído a interferências de grupos monoesterfosfato.

Métodos calorimétricos também dão uma estimativa da formação de complexos com a amilose através de medidas de entalpia de fusão ou formação de complexos amilose-lipídio após completa dispersão da estrutura granular na presença de excesso de fosfolipídios ou monoglicerídeos (FRANCO et al., 2001).

Um outro método que pode ser utilizado na determinação de amilose é a cromatografia de exclusão por tamanho (SEC), para amido nativo ou desramificado. Este método permite separar as moléculas de acordo com seu raio hidrodinâmico. O teor de amilose é calculado comparando a população de cadeias longas ( $DP > 100$ ) atribuídas a amilose com as cadeias mais curtas, geralmente da amilopectina (GÉRARD et al., 2001).

A amilose é considerada a responsável pelo processo de retrogradação, sendo esta uma das mais importantes propriedades deste polissacarídeo. Existe uma relação entre o comprimento da cadeia de moléculas de amilose e a facilidade em retrogradar; moléculas muito grandes ou muito curvas têm dificuldade em se reassociarem, diminuindo a velocidade de retrogradação (SWINKELS, 1985).

O grau de polimerização da amilose depende da fonte do amido. Amidos de batata e mandioca contêm moléculas de amilose com alto grau de polimerização quando comparadas com amidos de milho e trigo (SWINKELS, 1985).

O teor de amilose de amidos de cereais é maior que aqueles encontrados em amidos de raízes e tubérculos (batata, mandioca), que contêm cerca de 20%. O amido de gengibre apresenta um teor de amilose de 22,2%, similar a outros amidos de raízes (REYES et al., 1982). Gallant et al (1982), estudando alguns amidos de tuberosas como mandioca, batata-doce, inhame, taro e biri, encontraram teores de amilose de 8-16%; 18%; 10-15%; 9-17% e 27%, respectivamente. O valor encontrado por Leonel et al. (2001) para o teor de amilose do amido de araruta foi de 23,9%, um pouco superior aos 19% encontrados na literatura. Para o amido de mandioquinha-salsa, Gonzáles e Carrasco (2001) encontraram um valor de 20%.

### **3.5.2. Estrutura Fina da Amilopectina**

A estimativa da distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina é um dos parâmetros mais importantes para a caracterização da estrutura desta macromolécula e para o entendimento da relação entre estrutura química e as propriedades funcionais do amido.

Enzimas amilolíticas altamente purificadas, como isoamilase ou pululanase, são usadas para hidrolisar as ligações  $\alpha(1-6)$  e fornecer pequenas

cadeias lineares que são denominadas de (S) – cadeias curtas consistindo das cadeias mais externas (A) ou mais internas (B) com grau de polimerização (DP) variando de 14 a 18; (L) – cadeias longas B, mais internas, de DP 45 a 55, e umas poucas cadeias B, com DP acima de 60 (KIMURA; ROBYT, 1996; BULÉON et al., 1998).

Segundo Bello-Pérez et al. (1996), a extensão da hidrólise liberando cadeias lineares, é dependente do comprimento das ramificações e também da especificidade da enzima. Assim, a proporção de cadeias A/B, nos dá o grau das múltiplas ramificações sendo este um importante parâmetro a ser determinado. Segundo Buléon et al. (1998), esta proporção pode variar de 0,4 a 1,0 em peso. A regra geral é que amilopectinas tem maiores proporções de cadeias A do que B, então esta relação pode variar de 1,0:0 a 1,5:1.

Muitas técnicas têm sido aplicadas para o estudo da distribuição de cadeias ramificadas, e as mais comuns são cromatografia de permeação em gel (GPC) (WANG et al., 1993; WANG; WHITE, 1994; BELLO-PÉREZ et al., 1996; FRANCO; CABRAL; TAVARES, 2002a; YOO; JANE, 2002; YOU; IZYDORCZYK, 2002), cromatografia de exclusão por tamanho de alta performance equipada com um detector de índice de refração (HPSEC-RI) (WANG; WHITE, 1994; BELLO-PÉREZ et al., 1996; WONG; JANE, 1997; YOU; FIEDOROWICZ; LIM, 1999; YOO; JANE, 2002) e cromatografia de troca iônica de alta performance equipada com um detector de pulso amperométrico (HPAEC-PAD) (KASEMSUWAN et al., 1995; BELLO-PÉREZ

et al., 1996; WONG; JANE, 1997; JANE et al., 1999; SONG; JANE 2000; FRANCO et al., 2002b; YOO; JANE, 2002; YOU; IZYDORCZYK, 2002).

De acordo com Wong e Jane (1997), o procedimento total da metodologia de GPC consome muito tempo. Além disso, os reagentes necessários para determinação dos carboidratos totais, pelo método fenol-sulfúrico de Dubois et al. (1956), e dos açúcares redutores, cujo procedimento é o modificado de Park-Johnson, segundo Hizukuri; Takeda e Yasuda (1981), são tóxicos e de difícil manuseio.

A HPSEC pode ser usada para determinar a distribuição de amilopectina desramificada em um tempo bem menor que o gasto em GPC. Quando um detector de espalhamento da luz laser é usado como um segundo detector (HPSEC-LS-RI) a técnica fornece informações da distribuição de peso molecular sem a necessidade de calibração da coluna. No entanto, a desvantagem dessa técnica está na limitada resolução da coluna de exclusão por tamanho (WONG; JANE, 1997). Para estes autores, a utilização da HPAEC-PAD poderia resolver este problema. O alto poder de separação da coluna de troca iônica permite às amilodextrinas serem separadas em comprimentos de cadeias homólogas individuais, e o detector é seletivo e altamente sensível.

Hizukuri (1986 apud FRANCO et al., 2001), estudaram as distribuições de cadeias ramificadas de 11 amilopectinas de diferentes fontes botânicas em que os cromatogramas exibiram picos com valores de DP 12, exceto para amilopectinas de *Canna edulis* e *Dioscorea* que apresentaram DP 15. Amilopectinas com grandes quantidades de cadeias ramificadas de DP 6-12

mostraram difrações de raio X dos grânulos de amido do tipo A, enquanto aquelas que apresentaram baixas quantidades de frações de DP 6-12 apresentaram padrões de difração do tipo B. Segundo Hizukuri et al. (1997), as cadeias curtas de DP 6-12 parecem exercer um papel importante na determinação do polimorfismo dos cristais de amido.

Jane et al. (1999), investigaram 21 amidos de diferentes fontes botânicas e com diferentes padrões de cristalinidade e observaram, através de HPAEC com detector de pulso amperométrico, que amidos com padrão de cristalização tipo B possuíam maiores proporções de cadeias longas que os de padrão tipo A ou C.

Hanashiro et al. (1996 apud JANE et al., 1999), investigaram a distribuição de cadeias ramificadas de um certo número de amidos, usando cromatografia por exclusão de alta performance. Os autores examinaram amidos dos tipos A, B e C através de difração de raios-X e concluíram que as cadeias ramificadas da amilopectina são divididas em grupos com DP 6-12; 13-24; 25-36 e acima de 37.

A distribuição das cadeias ramificadas de amilopectinas para os amidos estudados por McPherson e Jane (1999), mostrou um primeiro pico em DP 14 para os amidos de batata normal e ceroso, e DP 13 para os amidos de inhame e batata-doce com um segundo pico variando de DP 48-52 para todos os amidos. Amilopectinas de amidos de inhame e batata-doce tiveram maiores proporções (19,09% e 17,05%, respectivamente) de cadeias ramificadas curtas (DP 6-12), em comparação com amidos de batata normal e ceroso (13,07% e

14,75%, respectivamente). Esses resultados também foram encontrados por Takeda et al (1986), citados por esses autores. Amilopectina de amido de batata normal apresentou maior proporção (28,5%) de cadeias ramificadas longas (DP > 37) do que amidos de batata ceroso (22,43%), inhame (21,8%) e batata-doce (23,44%). Todos os amidos em estudo tiveram um máximo detectado nos comprimentos de cadeia em DP 85.

De acordo com estudos realizados por Jane et al. (1999), os cromatogramas obtidos para alguns amidos através de cromatografia de troca iônica de alta performance equipada com um reator enzimático de coluna e com um detector de pulso amperométrico (HPAEC-ENZ-PAD), mostraram ombros em DP 18-21, e sua intensidade pode variar de acordo com o tipo de amido. Dentre estes amidos, o trigo, o milho ceroso, o amaranto e a mandioca, apresentaram ombros bem definidos, não ocorrendo o mesmo para os amidos de milho normal, arroz normal e batata. Geralmente a presença de ombros é devido a um defeito cristalino na estrutura, que contribui para uma diminuição da temperatura de gelificação. Esses ombros em DP 18-21, segundo Parker e Ring (2001), são devido às frações de cadeias curtas da amilopectina, sendo estas mais abundantes em número e peso. Há também a possibilidade de que a amilopectina possa conter algumas cadeias longas de comprimentos ininterruptos, que proporcionam um aumento significativo no comportamento de ligação com o iodo.

O estudo detalhado da estrutura molecular interna tem ajudado a descrever mecanismos de cristalização, biossíntese e organização das moléculas

de amilopectina dentro do grânulo de amido, sendo a estrutura molecular deste polímero muito importante para explicação de suas propriedades físico-químicas.

### **3.5.3. Teor de Lipídios e Fósforo**

Os lipídios afetam a gelificação, modificam o comportamento reológico das pastas e inibem a cristalização das moléculas (WANG; WHITE, 1994). A maioria dos lipídios presente nos amidos são monoacil lipídios, livre de ácidos graxos, e lisofosfolipídios, nos quais uma cadeia de ácido graxo encontra-se esterificada com ácido fosfórico. Segundo Buléon et al. (1998), numerosos estudos foram realizados com amidos de cereais, resultando em uma correlação entre monoacil lipídios e propriedades funcionais desses amidos. Monoacil lipídios induzem a formação do complexo amilose-lipídio durante o processo de gelificação do amido, restringindo o inchamento, a dispersão do grânulo de amido e a solubilização da amilose, gerando pastas opacas e de viscosidade reduzida e aumentando a temperatura de pasta.

Os amidos de cereais de modo geral contém fósforo principalmente na forma de fosfolipídios, enquanto amidos de raízes e tubérculos, o fósforo é encontrado principalmente na forma de monoesterfosfato.

As metodologias disponíveis para dosagem de fósforo no amido exigem que este seja desengordurado e os lipídios extraídos podem ser analisados para determinação do teor de fósforo através de métodos colorimétricos. Métodos

mais eficientes estão disponíveis, como a ressonância magnética nuclear (NMR) (LIM; KASEMSUWAN; JANE, 1994).

De acordo com Kasemsuwan e Jane (1996 apud FRANCO et al., 2001), o fósforo inorgânico, em geral, está ligado à amilose, enquanto que os grupos fosfato em amidos estão confinados na fração da amilopectina no grânulo, em unidades de cadeias longas (30-100 unidades de glicose). Cerca de 60-70% são encontrados como monoésterfosfato na posição do C<sup>6</sup> das unidades glicosídicas, uma vez que 30-40% são monoesterificados na posição C<sup>3</sup> (BLENNOW et al., 2000b). As cadeias longas em amidos altamente fosforilados resultam em áreas cristalinas mais estáveis, opostas às forças desestabilizadoras exercidas pela substituição dos grupos fosfatos nas cadeias. Cada cadeia pode conter um ou mais grupos fosfatos, mas estes não podem localizar-se no terminal redutor da molécula. Estas restrições com relação à posição podem resultar em uma distribuição irregular dos grupos fosfatos no amido em relação às regiões cristalinas e amorfas do grânulo. Pode ocorrer um enriquecimento de fosfato nas regiões amorfas quando as cadeias longas se estenderem a duas ou mais áreas cristalinas (KASEMSUWAN; JANE, 1996; BLENNOW et al., 1998, 2000b; HOOVER, 2001).

Blennow et al. (1998) estudaram a suposta relação entre o grau de fosforilação e os comprimentos de cadeias da amilopectina através de cromatografia de permeação em gel para os amidos de araruta, batata e açafrão. Eles encontraram que as cadeias derivadas de amidos altamente fosforilados foram eluídas primeiro na coluna, confirmando então a presença de cadeias



longas. Estes autores concluíram também que amidos tipo B e amidos com alto teor de amilose, com grande população de cadeias longas na amilopectina, apresentam alto grau de fosforilação e elevados valores de DP.

Jane e Shen (1993 apud HOOVER, 2001), encontraram que os grupos monoesterfosfato no amido de batata estão localizados densamente no centro do grânulo junto com a amilopectina. O alto teor de fósforo no amido de batata confere a ele uma pasta clara e um alto pico de viscosidade, e uma lenta retrogradação. Amidos de batata normal e ceroso contêm um maior teor de fósforo do que o amido de inhame (MCPHERSON; JANE, 1999).

Blennow et al. (2000b), estudaram a distribuição dos grupos monoesterfosfato em grânulos de amidos nativos e seu efeito na estrutura molecular, cristalina e propriedades térmicas. Como a presença desses grupos na amilopectina afeta as propriedades cristalinas do amido, o DSC foi usado para estimar a cristalinidade e a estabilidade de diferentes amidos nativos, como trigo, batata e mandioca, e a possível heterogeneidade nas regiões cristalinas. Os resultados mostraram que o grânulo de amido apresentou heterogeneidade nas regiões cristalinas e que a maior parte dos grupos monoesterfosfato no amido estão localizados em regiões amorfas do grânulo. As regiões amorfas do grânulo de amido têm papel fundamental em suas propriedades de inchamento. Já a localização dos grupos fosfato nas regiões semicristalinas pode alterar a ordem cristalina ou sua cristalinidade.

## **3.6. Propriedades Funcionais dos Amidos**

### **3.6.1. Propriedades de Pasta**

O amido é largamente usado pela indústria de alimentos nacional e internacional como melhorador das propriedades funcionais em sistemas alimentícios. Relações entre as características estruturais de amidos e suas propriedades térmicas e de pasta tem recebido muita atenção.

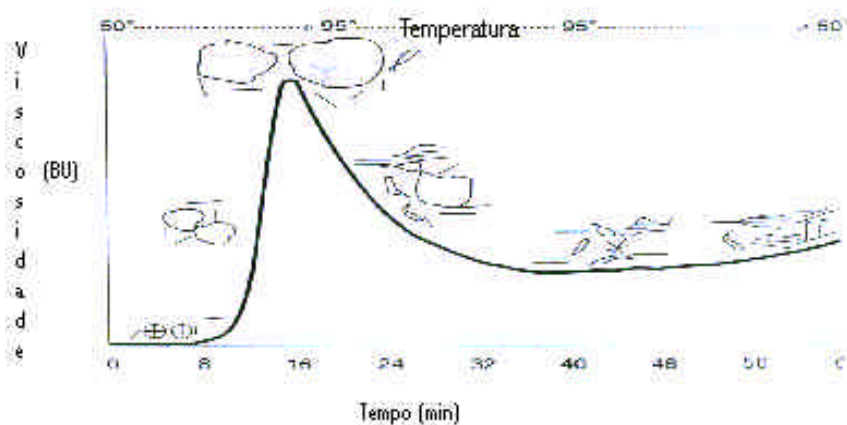
Grânulos de amido são insolúveis em água fria, mas quando aquecidos, ocorre um inchamento irreversível dos grânulos, produzindo uma pasta viscosa (WHISTLER; BeMILLER, 1997). Este fenômeno é conhecido como gelificação do amido, e depende de vários fatores como a fonte do amido, concentração deste e temperatura durante o aquecimento (MORIKAWA; NISHINARI, 2000). Gelificação é definida como “o colapso (ruptura) da ordem molecular dentro do grânulo de amido manifestada em mudanças irreversíveis nas propriedades tais como aumento de tamanho granular, fusão de cristais, perda da birrefringência e solubilização do amido” (THOMAS; ATWELL, 1999). Ocorre acima de uma determinada temperatura, com grânulos maiores gelificando primeiro e os menores, depois. A temperatura inicial de gelificação depende do método de medida e da relação amido-água, tipo de grânulo e heterogeneidade dentro do grânulo.

As mudanças que ocorrem nos grânulos de amido durante a gelificação e retrogradação são os principais determinantes do comportamento de pasta desses amidos, as quais têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido usando equipamentos como viscoamilógrafo Brabender e mais recentemente, o rapidoviscoanalisador (RVA) (THOMAS; ATWELL, 1999).

No RVA, durante a fase inicial de aquecimento de uma suspensão aquosa de amido, um aumento na viscosidade é registrado quando os grânulos começam a inchar. Neste ponto polímeros com baixo peso molecular, particularmente moléculas de amilose, começam a ser lixiviadas dos grânulos. Um pico de viscosidade é obtido durante o empastamento, quando existe a maioria dos grânulos totalmente inchados, grânulos intactos e o alinhamento molecular de qualquer polímero solubilizado ainda não ocorreu dentro do campo de atrito do instrumento (TSAI; LI; LII, 1997; WHISTLER; BeMILLER, 1997). Durante a fase de temperatura constante (95°C) os grânulos começam a se quebrar e a solubilização dos polímeros continua. Neste ponto ocorre uma quebra na viscosidade seguida de diminuição. Durante a fase de resfriamento, polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar e um outro aumento na viscosidade é registrado. Este segundo aumento da viscosidade é conhecido como tendência a retrogradação ou *set-back* (Figura 5).

Geralmente, para aqueles amidos que são facilmente gelificados, quanto maior o teor de amilose, maior o *set-back*. Dependendo do tipo de amido (fonte botânica, amido natural ou modificado), do pH da suspensão aquosa e da

programação de aquecimento, vários perfis de gelificação e empastamento podem ser gerados (WHISTLER; BeMILLER, 1997).



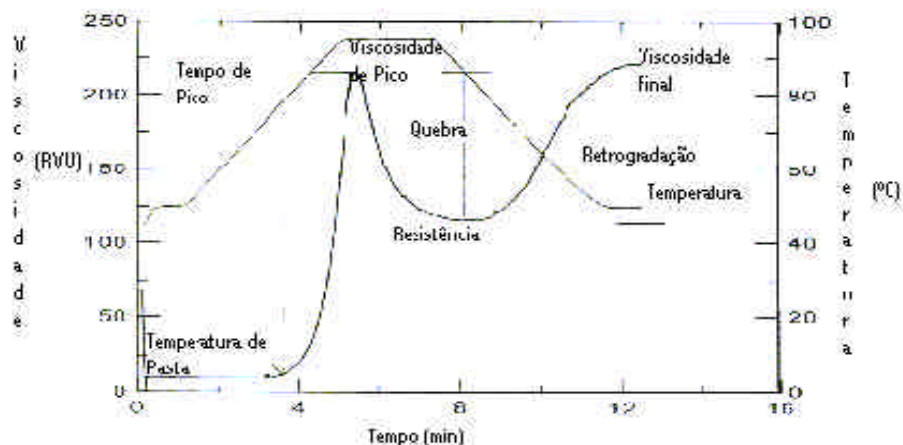
Fonte: THOMAS e ATWELL (1999).

FIGURA 5 – Representação da variação de viscosidade, em Unidades Brabender (BU), em função de mudanças granulares de amidos em suspensões aquosas aquecidas e agitadas.

Medidas numa curva típica de RVA incluem pico de viscosidade, tempo para atingir o pico de viscosidade, quebra e viscosidade final (Figura 6) (WHISTLER; BeMILLER, 1997).

O perfil de viscosidade é extremamente útil na determinação do comportamento do amido sob várias condições e para comparar diferenças relativas entre amidos. Um dos mais importantes aspectos dos perfis de viscosidade é a medida dos efeitos de reagentes ou processos que modificam os amidos sobre as suas propriedades de pasta.

De acordo com Tester e Morrison (1990 apud JANE et al., 1999), as propriedades de pasta de amidos são afetadas pelo teor de amilose e de lipídeos e pela distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina.



Fonte: THOMAS e ATWELL (1999).

FIGURA 6 - Curva de empastamento típica de RVA apresentando os parâmetros comumente medidos e viscosidade em unidade RVU.

A amilopectina contribui para o inchamento do grânulo de amido e empastamento, enquanto que a amilose e lipídeos o inibem. Assim, os comprimentos de cadeias da amilopectina e peso molecular da amilose produzem efeitos sinérgicos na viscosidade de pasta de amidos. Em amidos cerosos, contendo principalmente amilopectinas, o inchamento do grânulo não é restringido ao complexo amilose-lipídeo (JANE; CHEN, 1992).

Amidos com elevados teores de amilose, lipídios e fosfolipídios, como pode ser encontrado para os amidos de milho, arroz, trigo, etc, apresentam elevadas temperaturas de pasta, baixo pico de viscosidade, maior resistência ao cisalhamento e alta tendência a retrogradação podendo ser atribuído ao complexo amilose-lipídeo (FRANCO et al., 2002b). Este efeito é também observado em amidos de trigo e cevada devido a ambos conterem altas concentrações de fosfolipídeos (JANE et al., 1999).

Entre os amidos de tubérculos, o de batata apresenta um alto pico de viscosidade (702 RVU) como resultado da grande quantidade de grupos monoesterfosfato (0,089%, base seca) e de longas cadeias ramificadas (JANE et al., 1999).

Comparado com amido de cereal normal, os amidos de raízes e tubérculos dão baixas temperaturas de pasta, baixa resistência ao atrito mecânico, e baixa tendência a retrogradação. Segundo Lim et al. (1994) essas propriedades foram atribuídas à ausência de lipídeos e fosfolipídeos nesses amidos.

Estudos realizados por Franco et al. (2002b) com amidos de trigo de diversas linhagens, contendo amilopectinas com maiores proporções de cadeias ramificadas longas ( $DP \geq 37$ ) apresentaram maior pico de viscosidade, menor temperatura de pasta e grande resistência ao cisalhamento quando comparados aos amidos com menores proporções destas cadeias.

Estudos realizados por Soni et al. (1985), Moorthy e Nair (1989) e por Hoover (2001), mostraram que amidos de *Dioscorea*, como o inhame, por exemplo, exibem uma alta temperatura de pasta ( $\approx 95^\circ\text{C}$ ) e estabilidade térmica em relação a outros amidos, como batata-doce ( $66-68^\circ\text{C}$ ), mandioca ( $60-70^\circ\text{C}$ ), taro ( $70-75^\circ\text{C}$ ), araruta ( $72-75^\circ\text{C}$ ), entre outros. Isto pode ser atribuído à presença de fortes forças de ligação no interior do grânulo que resistem à quebra durante o período de cozimento. Com exceção do amido de inhame, todos esses amidos exibem um alto pico de viscosidade. A alta força do gel do amido de inhame é desejável em muitas aplicações na indústria alimentícia.

Reyes et al. (1982), estudando as propriedades de pasta para o amido de gengibre, encontrou uma temperatura de pasta muito alta (80°C), comparada às temperaturas de amidos de cereais e de outras raízes, e um rápido aumento na viscosidade após ter atingido a temperatura de pasta inicial, confirmando a presença de forças de ligações homogêneas e um alto grau de associação entre os componentes do amido que mantém sua estrutura granular. A alta temperatura de pasta do amido de gengibre em conjunto com sua alta densidade absoluta (1,57g/cm<sup>3</sup>), dá suporte a teoria de que ele possui um grânulo compacto.

O amido de mandioca, estudado por Rickard; Asaoka e Blanshard (1991), mostrou alto grau de inchamento, resultando em alto pico de viscosidade seguido de rápida quebra no gel. Durante o período de resfriamento, sua consistência aumenta muito pouco, indicando baixo potencial para formação do gel. A tendência a retrogradação do amido de mandioca pode ser determinada pela afinidade dos grupos hidroxilas de uma molécula para outra ocorrendo principalmente entre as moléculas de amilose, e que sua baixa tendência a retrogradação pode ser devido ao peso molecular da fração de amilose.

### **3.6.2. Poder de Inchamento e Solubilidade**

Quando o amido é aquecido em excesso de água acima da temperatura de gelificação, a estrutura cristalina é rompida (devido às quebras das ligações de hidrogênio) e as moléculas de água começam a se ligar por ligações de

hidrogênio com os grupos hidroxilas da amilose e amilopectina. Isso causa um aumento do tamanho do grânulo devido ao inchamento e solubilidade (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991; HOOVER, 2001).

O poder de inchamento dos grânulos, que pode ser determinado pelo aquecimento da amostra de amido em excesso de água, é definido como o peso do sedimento inchado (g) por grama de amido. A solubilidade do amido também pode ser determinada na mesma suspensão; ela é expressa como a porcentagem (de peso) da amostra de amido que é dissolvida molecularmente após o aquecimento (LEACH; McCOWEN; SCHOCH, 1959).

O inchamento do grânulo depende da força e da natureza da rede micelar (forças associativas) dentro do grânulo de amido. Os vários fatores que determinam as forças associativas são: razão entre amilose e amilopectina, peso molecular das frações, distribuição do peso molecular, grau de ramificação, conformação, e comprimento das cadeias ramificadas mais externas de amilopectinas, que podem compartilhar em ligações associativas (LEACH; McCOWEN; SCHOCH, 1959; BALAGOPALAN et al., 1988; HOOVER, 2001).

O complexo amilose-lipídeo pode restringir o inchamento e solubilização de amidos (SWINKELS, 1985). De acordo com o grau de associação, os amidos podem ser divididos em três grupos. Assim, amidos de cereais, com o maior grau de associação, têm o menor poder de inchamento e solubilidade, seguido pelos amidos de raízes e tubérculos (BALAGOPALAN et al., 1988).



Leach; Mccowen e Schoch (1959) determinaram o poder de inchamento e solubilidade de vários amidos no intervalo de 50 a 95°C, a fim de estabelecerem evidências do grau de associação molecular dentro do grânulo de amido. Pelos resultados obtidos, esses autores concluíram que o poder de inchamento e solubilidade são fortemente influenciados pela fonte botânica. Assim, amido de batata sofre um rápido aumento de volume em temperatura relativamente baixa, indicando ligações fracas e uniformes, e um alto teor de grupos fosfatos na amilopectina (repulsão entre os grupos fosfato das cadeias adjacentes aumentando a hidratação por enfraquecimento das ligações dentro da região cristalina). Em comparação, o amido de mandioca começa a inchar em temperatura próxima à da batata, mas em velocidade muito menor, pelo que, presume-se que as forças associativas dentro do grânulo sejam mais fortes que aquelas na batata.

Hoover (2001), determinou o poder de inchamento e solubilidade dos amidos de batata-doce (90°C), inhame (95°C), mandioca (95°C) e biri (95°C), obtendo como resultado 80 e 68%; 20,5 e 7,8%; 51 e 26%; 19 e 17%, respectivamente.

Soni et al (1985), estudando os amidos de mandioca e inhame, encontraram dois estágios de inchamento para o primeiro, enquanto que o segundo apresentou somente um. Dois estágios de inchamento indicam que há dois tipos de forças que requerem diferentes temperaturas para causar o relaxamento. Leach; Mccowen e Schoch (1959), postularam que as ligações fortes dentro do grânulo de amido influenciam o inchamento. Com isso se explica o

menor poder de inchamento obtido para o amido de inhame em relação ao amido de mandioca à temperatura de 95°C.

Gonzáles e Carrasco (2001) determinaram o poder de inchamento e solubilidade do amido de mandioquinha-salsa a 90°C, e encontraram os valores de 69,82 e 24,26%, respectivamente.

### **3.6.3. Propriedades Térmicas**

As propriedades térmicas de amidos podem ajudar a determinar sua funcionalidade específica e, portanto, sua utilidade na indústria de alimentos (KRIEGER et al., 1997).

O estudo do comportamento térmico de amidos, incluindo temperaturas de gelificação, retrogradação, temperatura de transição vítrea e cristalização foram, nos últimos vinte anos muito estudados utilizando-se o Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC) (YU; CHRISTIE, 2001), o qual mede a quebra de ligações (principalmente ligações de hidrogênio que estabilizam as duplas hélices) dentro dos grânulos de amido quando eles são aquecidos em água e quantifica a temperatura e energia envolvida (entalpia) na transição de um grânulo semi-cristalino para um gel amorfo. Esta técnica pode também ser empregada para medir maiores transições de temperaturas em amidos quando complexos amilose-lipídeo se dissociam (TESTER, 1997). Contudo, os resultados reportados não são muito reprodutíveis e causam controvérsias devido à

complexidade do comportamento térmico dos amidos e condições de medidas diferentes.

O comportamento térmico de amidos é muito mais complexo do que a termoplasticidade convencional causada pelas mudanças físico-químicas que ocorrem durante o aquecimento de amidos ou produtos amiláceos que envolvem gelificação, fusão, transição vítrea, cristalização, mudanças da estrutura cristalina, expansão do volume, degradação molecular e movimentação da água. Todos esses comportamentos térmicos dependem do teor de umidade e da quantidade de água contida no amido durante o aquecimento instável (YU; CHRISTIE, 2001). Stevens e Elton (1971 apud YU; CHRISTIE, 2001), foram os primeiros a apresentarem as aplicações do DSC para medidas de temperaturas de gelificação e retrogradação do amido.

O termo gelificação é muito usado para descrever o evento molecular associado ao aquecimento do amido em excesso de água, causando um inchamento irreversível, no qual envolve a dissolução de duplas hélices. O amido é convertido de uma forma semicristalina para uma amorfa. Cada amido tem suas temperaturas características de gelificação,  $T_0$ ,  $T_p$  e  $T_c$  (temperaturas inicial, de pico e de conclusão, respectivamente) e sua entalpia de gelificação ( $\Delta H$ ) obtidas do DSC (TESTER, 1997). Depois de atingida a temperatura de conclusão ( $T_c$ ), toda dupla hélice da amilopectina é dissociada, embora a expansão da estrutura granular possa ser conservada até que temperaturas mais altas e cisalhamento sejam aplicados. Acima de 95°C um gel amorfo é formado. O intervalo de

temperatura  $T_c$ - $T_o$  representa o período de gelificação (BLENNOW et al., 2000b).

A cristalinidade do amido pode ser estimada pela entalpia ( $\Delta H$ ) requerida para fundir os segmentos de duplas hélices. As temperaturas de gelificação (inicial e de pico) podem ser usadas como medida da estabilidade ou perfeição das regiões cristalinas, e a largura do pico endotérmico como estimativa da heterogeneidade da estrutura cristalina (BLENNOW et al., 2000b).

As propriedades de gelificação e inchamento são controladas em parte pela estrutura da amilopectina. Como as regiões cristalinas do grânulo de amido são geralmente compostas de amilopectina e não de amilose, amidos com alto teor de amilose apresentam baixas temperaturas de gelificação (inicial e de pico) e entalpia (NODA et al., 1998). Por outro lado, a maior proporção de cadeias longas na amilopectina contribui para aumentar a temperatura de gelificação, devido a essas cadeias formarem duplas hélices longas resultando em regiões cristalinas mais longas, e assim mais energia térmica seria necessária para romper a barreira cinética, para que ocorra completa dissociação (YUAN; THOMPSON; BOYER, 1993; FRANCO et al., 2002b). Já os grupos monoésterfosfato na amilopectina diminuem as temperaturas de gelificação (MCPHERSON; JANE, 1999).

Defloor; Dehing e Delcour (1998) investigaram os efeitos que as estações do ano causam no cultivo e crescimento do amido de mandioca em suas propriedades de gelificação. Eles concluíram, dos resultados obtidos do DSC, que fatores genéticos e condições ambientais afetam as temperaturas de gelificação e

entalpia. Eles observaram também, que para amostras de farinhas de raspa de mandioca obtidas de colheitas provenientes de estações secas, houve o aparecimento de picos múltiplos nas temperaturas de gelificação.

O aparecimento de picos múltiplos é um fenômeno bem conhecido para amidos com um baixo teor de umidade. Donovan (1979 apud KRUEGER et al., 1987), observou três endotermas durante a gelificação a baixas concentrações de água. Duas dessas endotermas mostraram estar diretamente relacionadas à ruptura das regiões cristalinas do amido, enquanto a terceira, ocorreu devido à fusão de complexos amilose-lipídio. Donovan (1979 apud DEFLOOR; DEHING; DELCOUR, 1998), sugeriu ainda que picos múltiplos ocorrem em sistemas com baixa quantidade de água, onde uma porção de cristais funde a temperaturas mais baixas absorvendo mais água, ao passo que a temperatura de fusão de cristais não fundidos ocorre em valores mais altos à medida que a quantidade de água diminui.

De acordo com Sriroth et al. (1999), a fusão dos grânulos de amido de raízes e cereais é governada pela velocidade com que a água penetra nos mesmos. O evento é composto de dois estágios, envolvendo a plasticização da amilose amorfa, seguido de hidratação e fusão das regiões cristalinas. Em excesso de água, uma rápida plasticização pode ocorrer e as duas endotermas fundem-se em uma. Para Cottrelli et al. (1995), as endotermas simples, que são exibidas quando água está presente em excesso, ocorrem devido a hidratação, seguida pelo inchamento e movimento da água entre regiões amorfas. Como as regiões cristalinas estão intimamente ligadas às regiões amorfas, o inchamento e

movimento destas últimas, provocam um esforço nas regiões cristalinas, das quais cadeias moleculares são arrancadas fundindo a menores temperaturas do que teriam se fossem isoladas de regiões amorfas. O inchamento das regiões amorfas e fusão das regiões cristalinas ocorrem de forma sincronizada e aparecem como uma endoterma simples.

McPherson e Jane (1999), encontraram para os amidos de batata normal, batata ceroso, inhame e batata-doce os seguintes resultados de temperatura inicial de gelificação: 60,8; 62,5; 64,6 e 57,9°C, respectivamente. Os grupos monoesterfosfato na amilopectina são responsáveis pela diminuição da temperatura de gelificação. Portanto, amidos de batata normal e ceroso, apesar de suas cadeias ramificadas longas, dão uma baixa temperatura inicial de gelificação devido ao seu alto teor de monoesterfosfato. As mudanças de entalpia para esses amidos foram 17,3; 18,2; 13,5 e 13,3 J/g, respectivamente. Um grande valor de entalpia para os amidos de batata normal e ceroso é resultado do empacotamento das cadeias ramificadas da amilopectina.

O comportamento de amidos gelificados quando armazenados e resfriados, geralmente expresso como retrogradação, é de grande interesse para cientistas e tecnólogos na área de alimentos, pois afeta profundamente a qualidade, aceitabilidade e meia-vida de muitos alimentos baseados em amido (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

A retrogradação é o processo pelo qual o amido retorna ao seu estado mais ordenado, após a gelificação (KLUCINEC; THOMPSON, 1999). Durante a retrogradação as moléculas de amilose formam associações de duplas

hélices de 40 a 70 unidades de glicose, sendo que a amilopectina forma duplas hélices menores, devido às restrições impostas pela estrutura ramificada das moléculas e o comprimento das ramificações. Essa reassociação ocorre de forma molecular e estrutural mais fraca que a encontrada na molécula nativa. Portanto, menos energia é requerida para fundir os cristais reestruturados (KIM; WEISENBORN; GRANT, 1997; SASAKI; YASUI; MATSUKI, 2000).

A distribuição de cadeias de amilopectina afeta a taxa de retrogradação. Sasaki e Matsuki (1998), relataram que uma menor taxa de retrogradação em amilopectinas de cereais foi devida ao seu menor comprimento médio de cadeias quando comparado a amilopectinas de batata e ervilha. Embora amilopectinas possam retrogradar, moléculas lineares têm maior tendência a se reassociarem e formar ligações de hidrogênio que as moléculas grandes da amilopectina (THOMAS; ATWELL, 1999).

Uma maior quantidade de amilose tem sido tradicionalmente associada à maior tendência a retrogradação em amido, porém, amilopectina e materiais intermediários também desempenham papel importante na retrogradação durante o armazenamento sob refrigeração (YAMIN et al., 1999).

Na retrogradação do amido, o valor da entalpia fornece uma medida quantitativa da transformação de energia que ocorre durante a fusão e recristalização da amilopectina, resultando em uma medida precisa da temperatura de transição ( $T_o$ ,  $T_p$  e  $T_c$ ) deste evento endotérmico.

Segundo Klucinec e Thompson (1999), amidos com alto teor de amilose foram aquecidos de 120 a 140°C e quando estes amidos gelificados foram

reaquecidos, as endotermas acima de 120°C resultantes foram atribuídas à amilose, sugerindo que esta molécula pode se reassociar de modo independente de moléculas ramificadas.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Materiais

Foram analisados amidos de nove espécies, sendo seis obtidos de plantas cultivadas na região de Botucatu/SP e extraídos no Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT) da UNESP, localizado na Fazenda Lageado, em Botucatu, e outros três foram obtidos de espécies cultivadas na região de São José do Rio Preto/SP e extraídos no Laboratório de Cereais, Raízes e Tubérculos da UNESP de São José do Rio Preto, as quais estão apresentadas na Tabela 1. Todas as plantas foram de cultivo comercial da região.

TABELA 1 – Nomes científicos e locais de cultivo das espécies estudadas neste trabalho.

Nome Científico	Nome Usual	Fonte
<i>Manihot esculenta</i>	<b>Mandioca</b>	CERAT
<i>Ipomoea batatas</i>	<b>Batata-doce</b>	CERAT
<i>Maranta arundinacea</i>	<b>Araruta</b>	CERAT
<i>Colocasia esculenta</i>	<b>Taro</b>	SJRP
<i>Arracacia xanthorrhiza</i>	<b>Mandioquinha-salsa</b>	CERAT
<i>Dioscorea alata</i>	<b>Inhame</b>	CERAT
<i>Canna edulis</i>	<b>Biri</b>	CERAT
<i>Curcuma longa</i>	<b>Açafrão</b>	SJRP
<i>Zingiber officinale</i>	<b>Gengibre</b>	SJRP

Isoamilase (EC 3.2.1.68) de *Pseudomonas amyloclavata* (Hayashibara Biochemical Laboratories, INC.), gel Sepharose CL-2B (Pharmacia Biotech) e Bio gel P-6 Fine 45-90 µm (Bio Rad Laboratories) foram usados.

Todos os outros reagentes foram utilizados puros para análise, sem qualquer modificação.

## **4.2. Métodos**

### **4.2.1. Extração dos Amidos**

Os amidos obtidos do CERAT foram extraídos conforme metodologia descrita por Guerreiro (2002). Para as raízes de batata-doce, inhame e biri, foram utilizados o antioxidante metabissulfito de potássio (P.A.) em concentrações de 0,2, 0,2 e 0,5%, respectivamente, uma vez que por apresentarem componentes fenólicos estas raízes escurecem quando cortadas (GUERREIRO, 2002). As amostras extraídas no Laboratório de Cereais, Raízes e Tubérculos da Unesp de São José do Rio Preto, seguiram metodologia descrita por Sarmiento (1997), também com modificações. A temperatura da água utilizada para extração dos amidos obtidos das espécies de São José do Rio Preto foi de 8-10°C, e a etapa de decantação foi efetuada em câmara fria a 5°C para evitar ação enzimática ou fermentativa durante o processo. Na extração do açafraão após a decantação, o amido foi lavado com etanol comercial várias vezes para retirada do óleo essencial. Os fluxogramas dos processos de extrações para os amidos obtidos nas regiões de Botucatu e São José do Rio Preto, estão resumidos nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

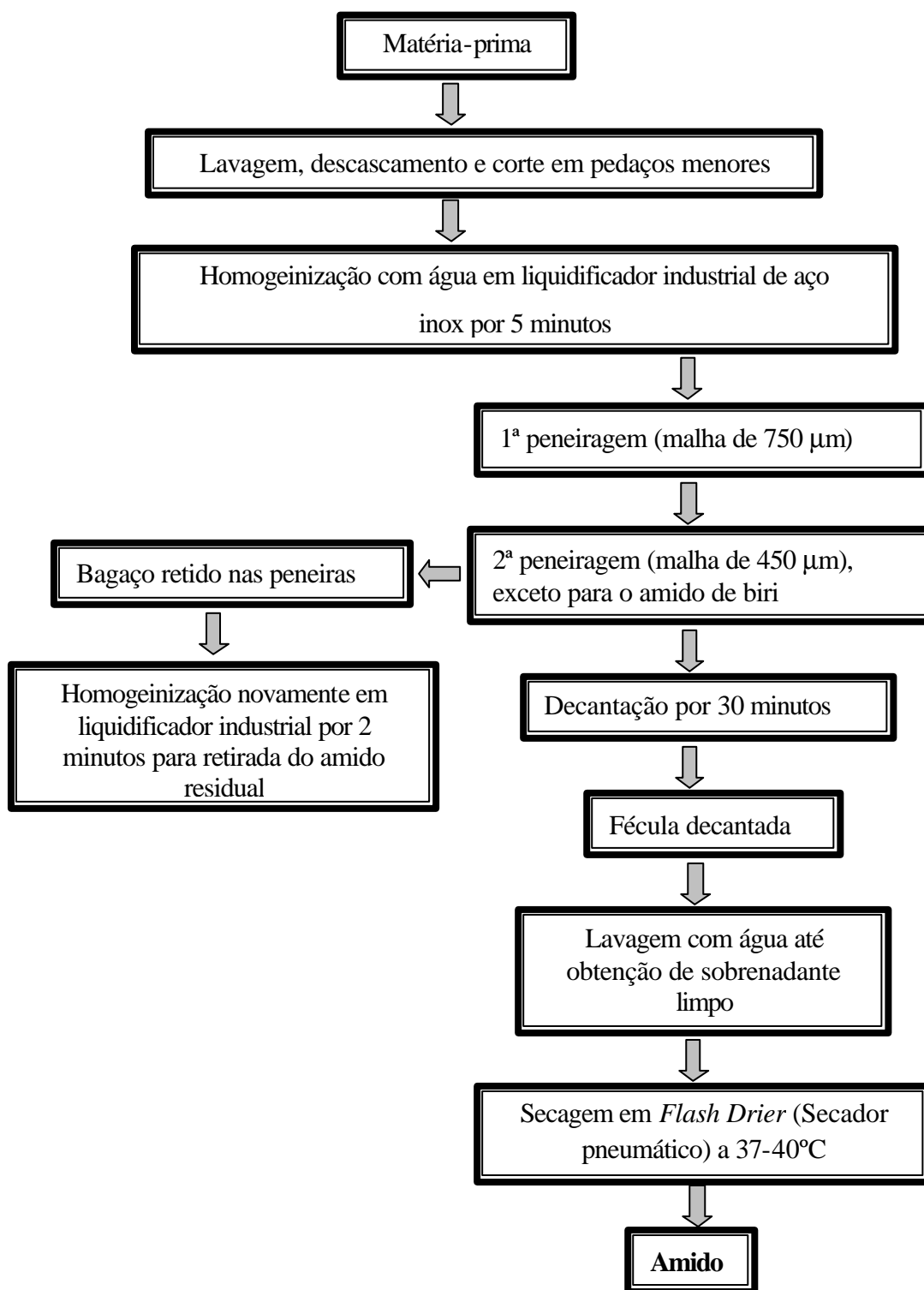


FIGURA 7 - Fluxograma do processo de extração dos amidos obtidos no CERAT, em Botucatu/SP.

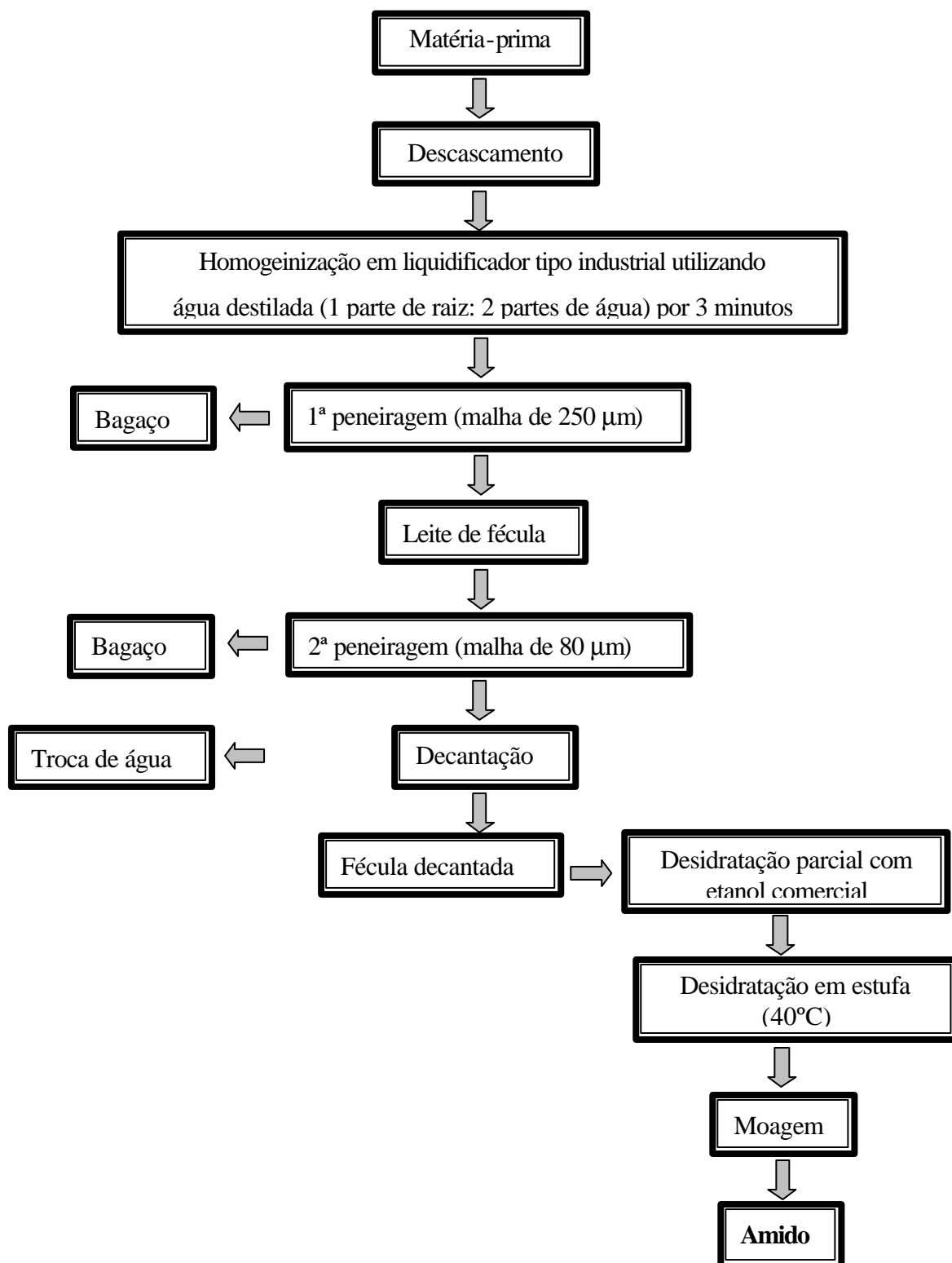


FIGURA 8 - Fluxograma do processo de extração dos amidos obtidos no Laboratório de Cereais, Raízes e Tubérculos da UNESP de São José do Rio Preto/SP.

## **4.2.2. Caracterização dos Amidos**

### **4.2.2.1. Teor de Umidade**

As determinações de umidade dos amidos estudados foram realizadas de acordo com o método 6.1.1 das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985; p.125-126).

### **4.2.2.2. Teor de Lipídios**

O teor de lipídios dos amidos foi determinado pelo método 4.10 das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985; p.42-43) após extração em Soxhlet.

### **4.2.2.3. Teor de Nitrogênio**

O nitrogênio nos amidos foi determinado pelo método 4.12 das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985; p.44-45) empregando-se o fator 6,25 para a conversão do nitrogênio detectado em proteína bruta.

#### **4.2.2.4. Teor de Cinzas**

A quantidade de cinzas presente nos amidos foi determinada segundo o método 4.8 das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985; p.27-28).

#### **4.2.2.5. Teor de Fósforo**

O teor de fósforo foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de Smith e Caruso (1964) para todos os amidos.

#### **4.2.2.6. Distribuições de Peso Molecular dos Amidos**

A distribuição dos pesos moleculares dos componentes dos amidos foi realizada por cromatografia de permeação em gel (GPC), usando-se uma coluna Pharmacia Biotech de 70 cm de altura e 1,5 cm de diâmetro a qual foi devidamente empacotada com gel Sepharose CL-2B. Adaptadores foram inseridos no topo da coluna a qual foi conectada a uma bomba peristáltica para manter o fluxo do eluente constante no sentido ascendente a 0,5 mL/minuto. Foi usado como eluente uma solução de 25,0 mM de NaCl/1,0 mM de NaOH, a qual foi filtrada e degaseificada a vácuo por um período de 4 horas aproximadamente, antes de ser utilizada na coluna.

As amostras foram previamente preparadas seguindo o procedimento descrito por Song e Jane (2000), com algumas adaptações. Inicialmente, em tubo de vidro com tampa, adicionou-se 0,1 g (b.s.) de amido e 10 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) 90%. A mistura foi aquecida em banho de água fervente ( $\approx 95^{\circ}\text{C}$ ) por 1 hora sob agitação constante, e permaneceu sob agitação por mais 24 horas a temperatura ambiente. Uma alíquota de 3 mL da mistura (30 mg de amostra) foi colocada em tubo de centrífuga e precipitada com 12 mL de etanol absoluto, para ser em seguida centrifugada por 30 minutos a 4500 rpm. O sobrenadante foi descartado e ao amido precipitado foram adicionados 10 mL de água deionizada quente e 1 mg de glicose anidra (para marcar o final da eluição). A mistura foi levada novamente em banho de água fervente sob agitação por 30 minutos antes de ser aplicada à coluna. Uma alíquota de 3,5 mL da amostra contendo 10,5 mg de amido e 0,35 mg de glicose foi aplicada à base da coluna e eluída em fluxo ascendente. Frações de 2,5 mL foram coletadas a cada 5 minutos. Este procedimento foi realizado em duplicata para todas as amostras.

As frações coletadas foram analisadas quanto ao teor de açúcares totais (CHO) a 490 nm, usando-se a metodologia de fenol sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) modificada para uso em microleitora de absorvância (Biotech Instruments, ELX 808) de acordo com Fox e Robyt (1991), e reações de coloração com iodo através do método de *blue value* (BV) a 630 nm (JULIANO, 1971), respectivamente.

A distribuição do peso molecular foi calculada tomando como base os açúcares totais, enquanto que os valores de *blue value* foram usados para

identificar as frações de amilose e amilopectina nos cromatogramas (KASEMSUWAN et al., 1995). A relação BV/CHO no pico em que a amilopectina foi eluída (fração 27) foi calculada para todos os amidos.

#### **4.2.2.7. Distribuição de Comprimentos de Cadeias Ramificadas da Amilopectina**

O perfil de distribuição do comprimento de cadeias ramificadas das amilopectinas desramificadas com isoamilase foi determinado por cromatografia de permeação em gel (GPC) usando-se uma coluna Biorad de 100 cm de altura e 1,0 cm de diâmetro devidamente empacotada com gel Bio gel P-6 de acordo com a metodologia descrita por Wang et al. (1993). A coluna foi conectada a uma bomba peristáltica que permitiu um fluxo descendente e constante do eluente de 0,5 mL/minuto. O eluente usado foi água deionizada degaseificada.

As amostras foram previamente tratadas e desramificadas com isoamilase (EC 3.2.1.68) de *Pseudomonas amyloclavata*, seguindo o procedimento descrito por Jane et al. (1992) com algumas modificações. Inicialmente, em tubo de vidro com tampa, adicionou-se a 0,05 g de amido (b.s.) e 1mL de DMSO (dimetilsulfóxido) 90%. A mistura foi aquecida sob agitação constante em banho de água fervente por 1 hora, permanecendo sob agitação por 24 horas a temperatura ambiente. Etanol (8 mL) foi adicionado à mistura para precipitar o amido que foi centrifugado por 30 minutos a 4500 rpm. O



sobrenadante foi descartado e 9 mL de água deionizada quente foram adicionados ao amido precipitado. A mistura permaneceu sob agitação em banho de água fervente por 1 hora. Após o resfriamento adicionou-se 1 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M pH 3,5, 20 µL de solução de azida 10% para evitar contaminação microbiana e 15 µL de isoamilase de *Pseudomonas amyloclavata*. A mistura foi incubada em banho a 40°C com agitação por 48 horas para completa desramificação. A enzima foi inativada através da elevação do pH para 6,7 com NaOH 0,1 M (aproximadamente 20 gotas). A mistura foi novamente aquecida por 15 minutos e resfriada rapidamente, sendo dividida em frascos de vidro com 3 mL cada e congeladas para serem aplicadas posteriormente à coluna.

Uma alíquota de 3 mL da amostra congelada contendo 15 mg de amido desramificado foi fervida por 30 minutos, resfriada e aplicada ao topo da coluna. A cada 5 minutos frações de 2,5 mL foram coletadas.

As amostras coletadas da coluna foram analisadas quanto ao teor de açúcares totais e açúcares redutores de acordo com os métodos de Dubois et al. (1956) e Park-Johnson modificado (HIZUKURI; TAKEDA; YASUDA, 1981), respectivamente.

Utilizando-se de uma curva de glicose de 0 a 80 µg/mL e outra de 0 a 8 µg/mL, foi possível quantificar os açúcares totais e redutores, respectivamente, de cada fração em µg/mL.

O grau de polimerização (DP) das cadeias de amilopectina desramificadas foi calculado através da relação açúcares totais/açúcares redutores nos picos obtidos dos cromatogramas.

#### **4.2.2.8. Afinidade com Iodo e Teor de Amilose**

Para a determinação do teor de amilose, todas amostras foram previamente tratadas para o completo desengorduramento, como descrito a seguir. Inicialmente pesou-se 1,0 g (b.s.) de amido em erlenmeyer de 250 mL e adicionou-se 50 mL de solução de DMSO (dimetilsulfóxido) 90%, agitando-se levemente. A mistura foi levada em banho de água fervente com agitação por 1 hora, sendo em seguida resfriada à temperatura ambiente com agitação por 2 horas. Aproximadamente 150 mL de etanol absoluto foram adicionados à mistura para total precipitação do amido que foi recuperado por centrifugação a 4200 rpm por 20 minutos. O precipitado foi re-suspenso em etanol absoluto, filtrado a vácuo em funil de buchner e seco em estufa com circulação de ar a 38°C por 24 horas. As amostras secas foram trituradas em almofariz e armazenadas em tubos de vidro com tampa para determinação do teor de amilose posteriormente.

O teor de amilose aparente foi determinado, pela medida da afinidade de iodo dos amidos usando-se um Autotitulado Potenciométrico, modelo 716 DMS Titrino (Metrohm, Suíça), de acordo com o método reportado por Kasemsuwan et al. (1995). As análises foram baseadas no método descrito por Schoch (1964b). O teor de amilose aparente foi calculado pela divisão da

afinidade de iodo do amido por 19,0%, de acordo com procedimentos descritos por Takeda e Hizukuri (1987).

Todas as determinações foram realizadas em duplicatas

#### **4.2.2.9. Propriedades de Pasta**

As propriedades de pasta dos amidos foram determinadas através da utilização do aparelho Rápido Visco Analisador (RVA), série 4, da Newport Scientific (Austrália) de acordo com o método de Franco et al. (2002b).

Suspensões de amido foram misturadas em recipiente de alumínio, equilibradas a 50°C por 1 minuto, e aquecidas a 95°C em 7,5 minutos, numa taxa de 6°C/minuto, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos. Em seguida, as pastas foram resfriadas a 50°C, numa taxa de 6°C/minuto, em 7,5 minutos e mantidas nesta temperatura por 2 minutos. Nos 10 segundos iniciais do processo, a suspensão foi agitada a uma velocidade de 960 rpm e logo em seguida a 160 rpm até o final. Com o auxílio do programa *software Thermocline for Windows*, versão 2.2, de acordo com as informações contidas no manual de instruções (NEWPORT SCIENTIFIC, 1998), e usando-se o perfil de temperatura STD 2 (*Standard Analysis 2*), com modificações, os resultados puderam ser processados e analisados. Para o perfil de temperatura STD 2 a seguinte correção foi realizada na fórmula para o cálculo da temperatura de pasta em que *TempAtViscRate* (1;13;1;24) foi modificado para (1;13;1;6), apenas para o amido de inhame.

Os valores de umidade de cada amostra foram usados na correção da quantidade de amido a ser pesado e na quantidade de água adicionada (25 mL antes da correção), seguindo a tabela de correção fornecida no manual de operação (NEWPORT SCIENTIFIC, 1998), tomando como base um teor de umidade de 14%, para obter um peso seco de amido de 2,5 g.

Dos amilogramas obtidos do RVA, foram determinados os seguintes parâmetros: Temperatura de pasta (°C), viscosidade máxima, *set back*, quebra, viscosidade final e tempo (minutos) para se atingir o pico de viscosidade máxima. As mudanças de viscosidade registradas nos amilogramas apresentam unidades arbitrárias RVU.

As análises foram realizadas em duplicatas e o valor médio foi usado para plotar os resultados.

#### **4.2.2.10. Poder de Inchamento e Solubilidade**

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos foram determinados de acordo com método descrito por Schoch (1964a), com algumas modificações.

Para esta análise pesou-se 0,2 g (b.u.) de amido em tubos de vidro com tampa de 50 mL, próprios para centrífuga e previamente tarados, e adicionou-se 18 g de água destilada. A suspensão foi agitada algumas vezes e levada ao banho com agitação constante por 30 minutos a temperaturas de 60 a 95°C. Em seguida, os tubos foram retirados do banho, secos por fora e pesados,

adicionando-se água destilada para se obter peso de 20 g, considerando o peso inicial de água de cada amostra. Os tubos foram fechados, invertidos várias vezes para homogeneização, e centrifugados por 15 minutos a 3200 rpm. Uma alíquota de 5 mL foi retirada do sobrenadante e colocada em béquer previamente tarado e levados à estufa a 105°C por 24 h ou *over night*, para determinação do peso de amido solúvel. O amido sedimentado no tubo de centrífuga foi cuidadosamente pesado e o poder de inchamento e solubilidade determinados segundo as relações abaixo.

$$\% \text{ Sólidos Solúveis} = \frac{\text{peso de amido solúvel} \times 400}{\text{peso da amostra (b.s.)}}$$

$$\text{Poder de Inchamento} = \frac{\text{peso de material sedimentado} \times 100}{\text{peso da amostra (b.s.)} \times (100 - \% \text{ sólidos solúveis})}$$

As análises foram realizadas em duplicatas.

#### 4.2.2.11. Propriedades Térmicas

Análises térmicas foram realizadas usando-se um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC – (Differential Scanning Calorimetry) Pyris 1 –

Perkin Elmer; EUA) equipado com um intracooler e um software de análise térmica (PERKIN ELMER, EUA) para determinação das temperaturas de gelificação e retrogradação dos amidos seguindo os procedimentos descritos por Franco et al. (2002b).

Índio e zinco foram usados como padrões de calibração. Aproximadamente 2 mg de amido foram pesados em panelinhas padrão de alumínio (0219-0062, Perkin Elmer) para amostras voláteis e 6  $\mu\text{L}$  de água deionizada foram adicionados, para em seguida serem seladas. As suspensões de amido foram deixadas em equilíbrio por no mínimo 1 hora à temperatura ambiente antes da análise. As amostras foram aquecidas de 25 a 125°C a uma taxa de 10°C/minuto. Uma panelinha vazia foi usada como referência. As análises de retrogradação dos amidos foram realizadas seguindo o mesmo procedimento, após armazenamento das panelinhas contendo as amostras gelificadas a 4°C por 14 dias. As análises foram realizadas em triplicatas. Temperaturas inicial, de pico e conclusão ( $T_0$ ,  $T_p$  e  $T_c$ , respectivamente) além de mudanças de entalpia ( $\Delta H$ ) foram determinadas utilizando-se o software Pyris 1 (Perkin Elmer; EUA). A porcentagem de retrogradação dos amidos foi calculada através da relação:  $(\Delta H_{\text{retrogradação}}/\Delta H_{\text{gelificação}})\times 100$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Composição Química dos Amidos

O amido é constituído praticamente de carboidratos, no entanto, substâncias como lipídios, proteínas e cinzas estão presentes em sua composição. A quantidade destes constituintes no amido depende da composição da planta e do método de extração e purificação. Quanto menor o teor destas substâncias, melhor a qualidade do amido.

A composição química dos amidos em estudo está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas\*, além de dados literários do amido de milho que foi citado apenas para comparação.

<i>Amostra</i>	<i>Carboidratos</i> (%)	<i>Lipídeos</i> (%)	<i>Proteínas</i> (%)	<i>Cinzas</i> (%)	<i>Teor de Fósforo</i> (%)
<i>Mandioca</i>	99,44	0,15	0,20	0,21	0,007
<i>Batata-doce</i>	99,51	0,14	0,14	0,21	0,014
<i>Araruta</i>	99,40	0,17	0,15	0,28	0,018
<i>Taro</i>	99,33	0,22	0,19	0,26	0,027
<i>Mandioquinha-salsa</i>	99,59	0,13	0,10	0,18	0,015
<i>Inhame</i>	99,59	0,10	0,09	0,22	0,022
<i>Biri</i>	99,44	0,19	0,13	0,24	0,031
<i>Açafrão</i>	99,26	0,21**	0,30	0,23	ND
<i>Gengibre</i>	98,94	0,24	0,32	0,50	0,007
<i>Milho</i> (Hoover e Manuel, 1996)	ND	0,75	0,12	0,03	0,026

\* Cada valor representa a média de duas determinações

\*\* Após desengorduramento no processo de extração

ND: Não determinado

Os teores de carboidratos obtidos para todos os amidos foram elevados variando de 98,94% para o amido de gengibre a 99,59% para os amidos de mandioca-salsa e inhame. Estes resultados indicam um excelente método de extração em nível de laboratório.

A pureza dos amidos está relacionada com sua composição química em que baixos teores de lipídios e cinzas e ausência de alguma proteína aderida ao grânulo do amido são desejados.

Os lipídios representam a fração mais importante associada com o grânulo de amido, estando presente principalmente em amidos de cereais, sendo responsáveis pela fixação de cor, desenvolvimento de aromas e complexações, o que não acontece nos amidos de tuberosas (BULÉON et al., 1998). Como pode ser observado na Tabela 2, o amido de milho apresenta um teor de lipídio de 0,75%, sendo este superior aos obtidos para os amidos de tuberosas, dentre os quais o amido de inhame apresentou o menor teor de lipídio, enquanto que o amido de gengibre mostrou o maior valor (0,10 e 0,24%, respectivamente). Estes valores estão de acordo com o que foi relatado por Gunaratne e Hoover (2002), em que amidos de raízes e tubérculos são geralmente caracterizados pelo seu baixo teor de lipídio (< 1%), não tendo um efeito pronunciado nas propriedades funcionais comparado aos amidos de cereais (MOORTHY, 2001).

Segundo Hoover (2002) as proteínas e cinzas também aparecem em menores quantidades nos amidos de raízes e tubérculos não tendo influência em suas propriedades funcionais, já que quantidades elevadas destes compostos



podem também interferir no processo de extração do amido alterando seu rendimento final.

O amido de inhame apresentou o menor teor de proteína (0,09%) enquanto que o amido de gengibre mostrou o maior (0,32%). Na determinação de cinzas os valores variaram de 0,18 a 0,50% para os amidos de mandioca-salsa e gengibre, respectivamente. Embora, amidos de cereais sejam conhecidos por apresentarem maiores teores de proteínas e cinzas, o amido de milho, citado na Tabela 2, também mostrou baixa quantidade destes constituintes menores, que de acordo com Hoover e Manuel (1996), isto indica a ausência de lipídios associado ao endosperma da proteína no amido. Reyes et al. (1982), obtiveram para o amido de gengibre um teor de proteínas de 0,18% e cinzas de 0,15%. Alves; Grossmann e Silva (1999), encontrou para o amido de inhame um teor de proteínas de 0,20% e um teor de cinzas de 0,15%. Rickard; Asaoka e Blanshard (1991), encontraram para o amido de mandioca um teor de proteínas variando de 0,03-0,60% e cinzas de 0,02-0,33%.

Segundo Franco et al. (2001) é importante que a matéria-prima apresente baixos teores de constituintes menores e um alto teor de amido, características essas que podem ser encontradas, de acordo com a maioria dos autores, no amido de mandioca.

Outro importante componente presente em amidos de raízes e tubérculos é o fósforo, principalmente na forma de monoésterfosfato. O teor de fósforo determinado para os amidos mostrou que amidos de mandioca e gengibre apresentaram os menores valores (0,007%), seguidos dos amidos de batata-doce,

mandioquinha-salsa e araruta que estiveram na faixa entre 0,014-0,018%. Os amidos de inhame, taro e biri mostraram os maiores valores (0,022, 0,027% e 0,031%, respectivamente). Estes resultados estão de acordo com os valores encontrados por Hoover (2001) e Gunaratne e Hoover (2002) para os amidos de batata-doce, taro, mandioca e inhame.

De acordo com Hoover (2001) e Moorthy (2001), um elevado teor de fósforo em amidos de raízes e tubérculos pode contribuir para alta viscosidade, claridade de pasta, aumento da capacidade de ligação com a água e poder de inchamento, sendo uma vantagem para muitas aplicações industriais. A influência do teor de fósforo nas propriedades funcionais dos amidos será discutida mais adiante.

## **5.2. Características Estruturais dos Grânulos de Amido**

### **5.2.1. Distribuição do Peso Molecular de Amidos por Cromatografia de Permeação em Gel**

As propriedades funcionais do amido são grandemente afetadas pelo peso molecular da amilose e amilopectina. Quanto maior o peso molecular destes polímeros maior o pico de viscosidade obtido e maior a temperatura de pasta dos amidos (YOO; JANE, 2002).

As distribuições dos pesos moleculares dos componentes dos amidos em estudo, determinadas por cromatografia de permeação em gel (GPC) em gel Sepharose CL-2B estão mostradas nas Figuras 9 a 11. Esta técnica de análise possibilita separações discriminativas dos componentes do amido com base no tamanho.

O perfil de eluição dos amidos nativos mostra a quantidade de açúcares totais e resposta de *blue value* derivado do teste de afinidade com iodo. Todos os cromatogramas apresentaram um primeiro pico correspondente à fração da amilopectina, que devido a seu grande peso molecular foi excluída do gel e eluída no volume vazio da coluna. O segundo pico, que mostrou uma alta resposta ao *blue value* (reação com iodo), correspondeu a amilose e o último pico é o da glicose que foi adicionada à amostra para marcar o final da eluição.

A relação de *blue value* para açúcares totais (BV/CHO) no pico da amilopectina (fração 27 para todos os amidos) variou de 0,22 a 0,46 para os amidos de taro, mandioca, araruta e mandioquinha-salsa, enquanto que para os amidos de gengibre, inhame e batata-doce estes valores estiveram na faixa de 0,63 a 0,77. Valores muito superiores a estes foram encontrados para os amidos de biri e açafão (1,12 e 1,30, respectivamente).

Os valores elevados da relação BV/CHO para os amidos de biri e açafão sugerem que as moléculas de amilopectinas destes amidos poderiam conter maiores proporções de cadeias ramificadas muito longas que os demais amidos (KASEMSUWAN et al., 1995; FRANCO et al., 2002b).

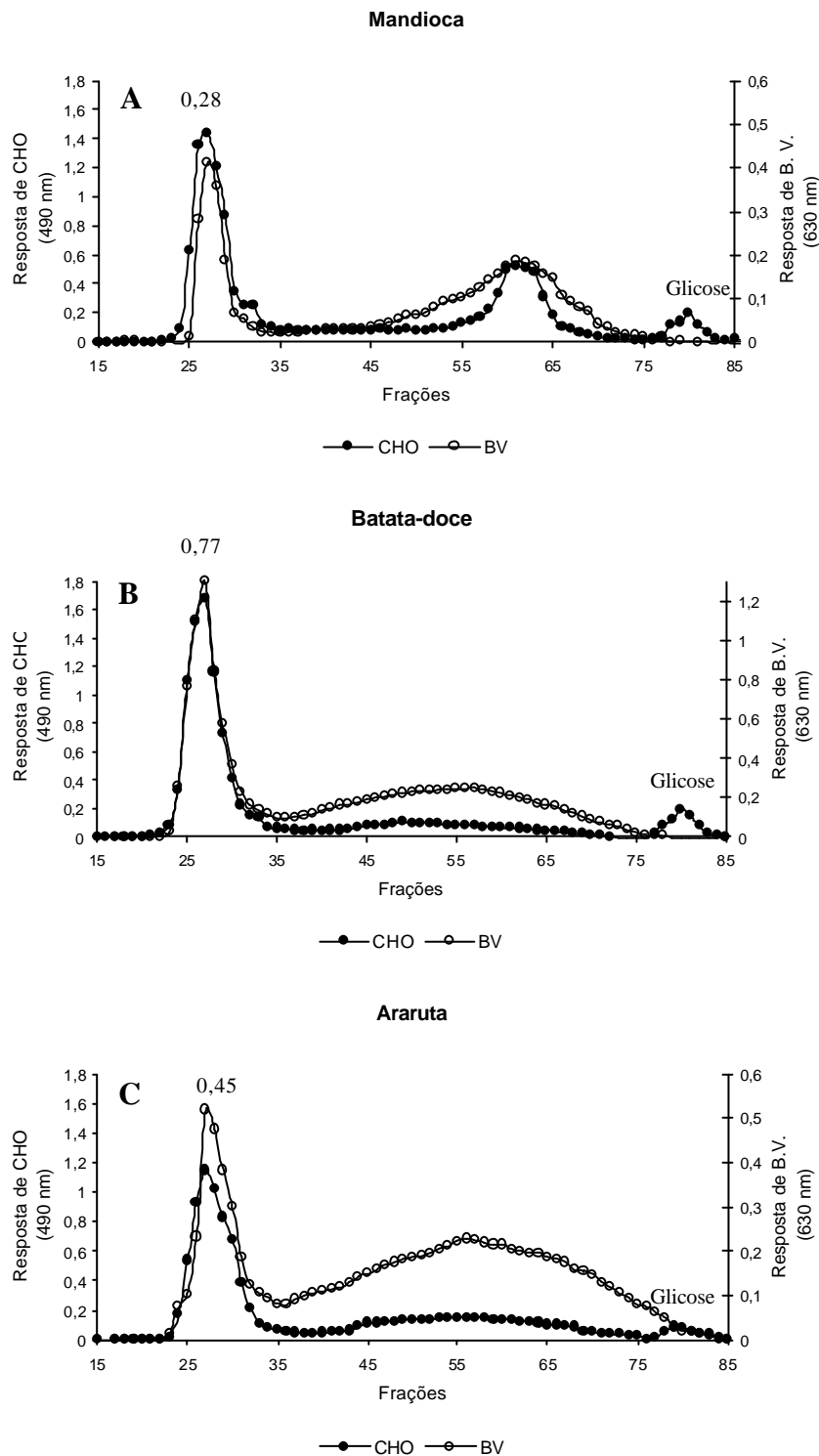


FIGURA 9 - Perfil de eluição dos amidos de **A:** Mandioca; **B:** Batata-doce; **C:** Araruta através de cromatografia de permeação em gel Sepharose CL-2B.

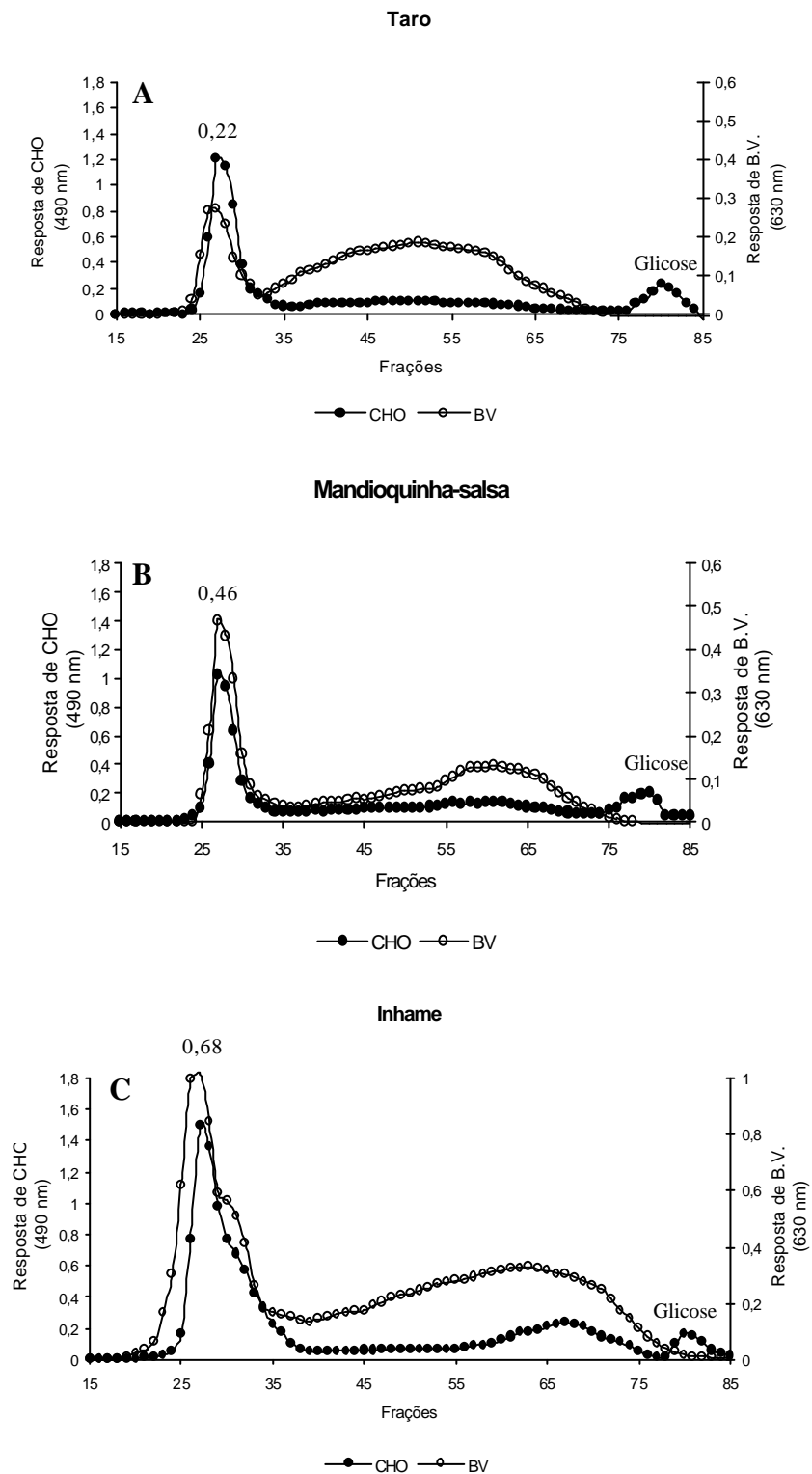


FIGURA 10 - Perfil de eluição dos amidos de **A:** Taro; **B:** Mandioquinha-salsa; **C:** Inhame através de cromatografia de permeação em gel Sepharose CL-2B.

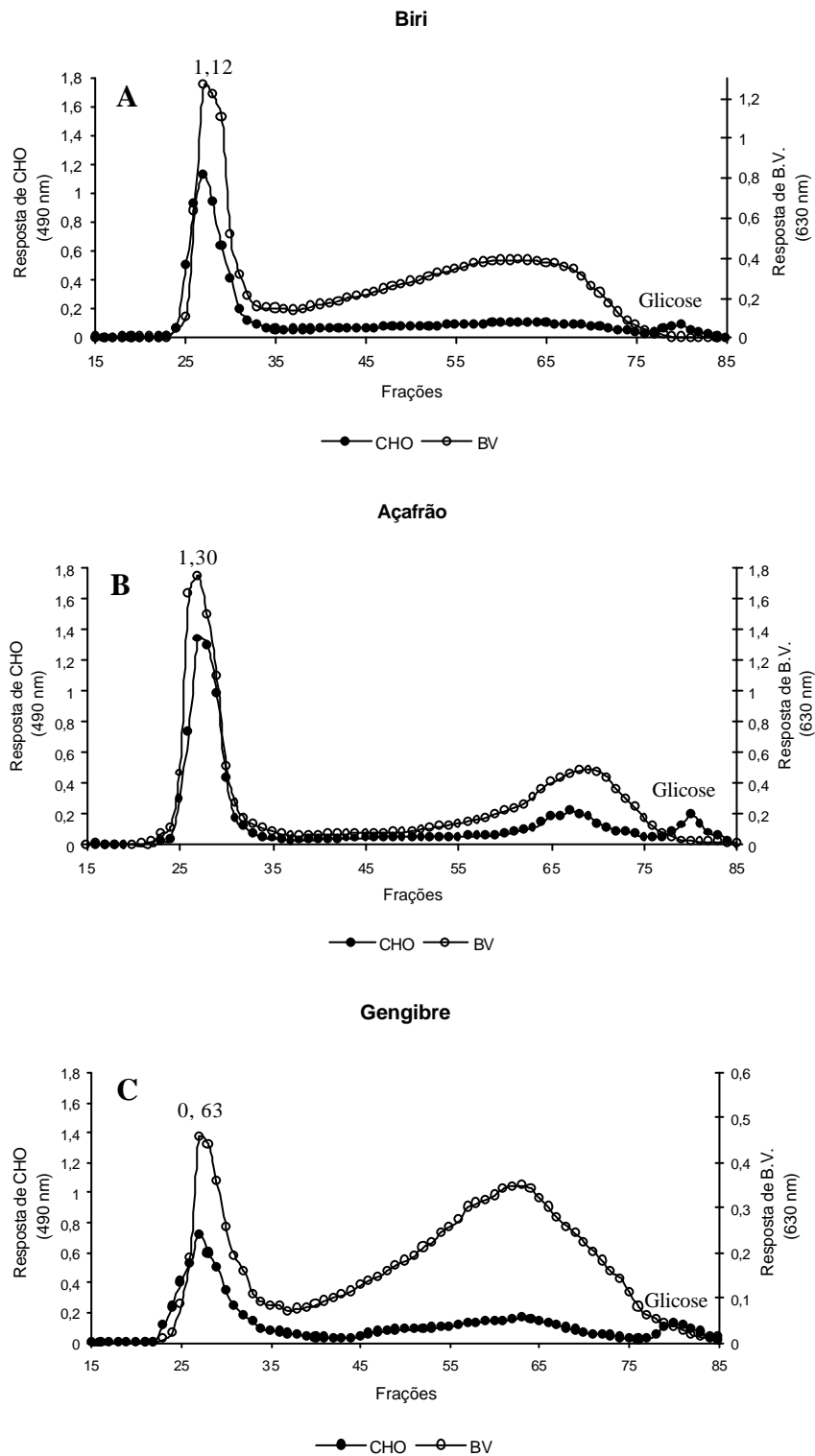


FIGURA 11 - Perfil de eluição dos amidos de **A:** Biri; **B:** Açafirão; **C:** Gengibre através de cromatografia de permeação em gel Sepharose CL-2B.

Estes resultados também explicariam os maiores picos de *blue value* na fração da amilopectina obtidos para estes amidos, atribuídos à formação de complexos destas cadeias longas com o iodo, podendo levar a uma superestimação do teor de amilose, o que foi encontrado também nos estudos realizados por Jane e Chen (1992) para amilopectina de milho com alto teor de amilose.

Os amidos de biri e açafão (Figuras 11A e 11B, respectivamente), juntamente com os amidos de inhame e gengibre (Figuras 10C e 11C, respectivamente), apresentaram os mais elevados picos de *blue value* na fração em que a amilose foi eluída (frações 62, 69, 63 e 63, respectivamente), indicando que estes podem conter um elevado teor de amilose devido a sua grande afinidade pelo iodo, enquanto que os amidos de mandioquinha-salsa e taro (Figura 10B e 10A) mostraram os menores picos indicando menores teores de amilose.

Estes resultados obtidos por GPC deverão ser confirmados mais adiante após determinação do teor de amilose pelo método de titulação potenciométrica.

Pela análise dos cromatogramas, os amidos de batata-doce, araruta e taro (Figuras 9B, 9C e 10A, respectivamente) mostraram picos de *blue value* mais largos para amilose por volta da fração 55, indicando a presença de moléculas de alto peso molecular. Por outro lado, os amidos de inhame, biri e gengibre (Figuras 10C, 11A e 11C respectivamente), apresentaram picos de *blue value* para amilose nas frações próximas a 65, indicando pesos moleculares menores, pois essas moléculas foram eluídas em frações mais distantes da fração

em que a amilopectina foi eluída. O amido de açafraão (Figura 11B) apresentou o maior e mais estreito pico de *blue value* na fração 70 indicando maior porcentagem de moléculas de amilose de menor peso molecular em relação a todos os outros amidos estudados.

### **5.2.2. Distribuição do Comprimento de Cadeias Ramificadas da Amilopectina**

A distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas do amido é um importante parâmetro para a caracterização da estrutura molecular da amilopectina, facilitando o entendimento da relação entre estrutura química e propriedades funcionais do amido.

Enzimas desramificantes como a isoamilase, hidrolisam especificamente os pontos onde se encontram ligadas as ramificações, produzindo cadeias lineares curtas (KIMURA; ROBYT, 1996). O tamanho e a distribuição destas cadeias foram caracterizados por cromatografia de permeação em gel (GPC) em gel Bio gel P-6.

Os cromatogramas dos amidos desramificados estão apresentados nas Figuras 12 a 14.

Para calcular a quantidade de material em frações de baixo e alto peso molecular, cada padrão de eluição foi dividido em três frações (I, II e III) no ponto de mínimo valor da resposta de carboidratos entre os picos. O comprimento médio de cadeia ( $\overline{CL}$ ) no ápice dos picos das frações II e III, expresso como grau



de polimerização (DP), a porcentagem das frações I, II e III e a razão entre teores de cadeias longas e cadeias curtas foram determinadas (Tabela 3; Figuras 12 a 14).

A fração I em todos os cromatogramas, eluída no volume vazio da coluna continha principalmente, moléculas de amilose e algumas cadeias B muito longas de amilopectina (que poderiam ser B<sub>3</sub> ou maiores) (HIZUKURI, 1986). A fração II correspondeu às cadeias B<sub>2</sub> da amilopectina (cadeias longas), e a fração III, era composta de cadeias A (mais externas) e cadeias curtas B (mais internas) da amilopectina (HIZUKURI, 1986).

Tabela 3: Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas das amilopectinas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas \*

	<i>Comprimento Médio de Cadeia (CL)</i>		<i>Fração I</i>	<i>Fração II</i>	<i>Fração III</i>	<i>Fração III:</i>
	<i>Fração II</i>	<i>Fração III</i>	(%)	(%)	(%)	<i>Fração II</i>
<i>Mandioca</i>	37	15	6,0	26,0	68,0	2,61
<i>Batata-doce</i>	32	16	8,0	16,0	76,0	4,75
<i>Araruta</i>	29	15	5,0	17,0	78,0	4,58
<i>Taro</i>	30	16	3,0	11,0	86,0	7,82
<i>Mandioquinha-salsa</i>	21	7	15,0	40,0	45,0	1,13
<i>Inhame</i>	32	14	8,0	18,0	74,0	4,11
<i>Biri</i>	34	19	7,0	16,0	77,0	4,81
<i>Açafrão</i>	ND	15	67,0	ND	33,0	ND
<i>Gengibre</i>	38	16	7,0	16,0	77,0	4,81

\* Cada valor representa a média de duas determinações

ND: Não determinado

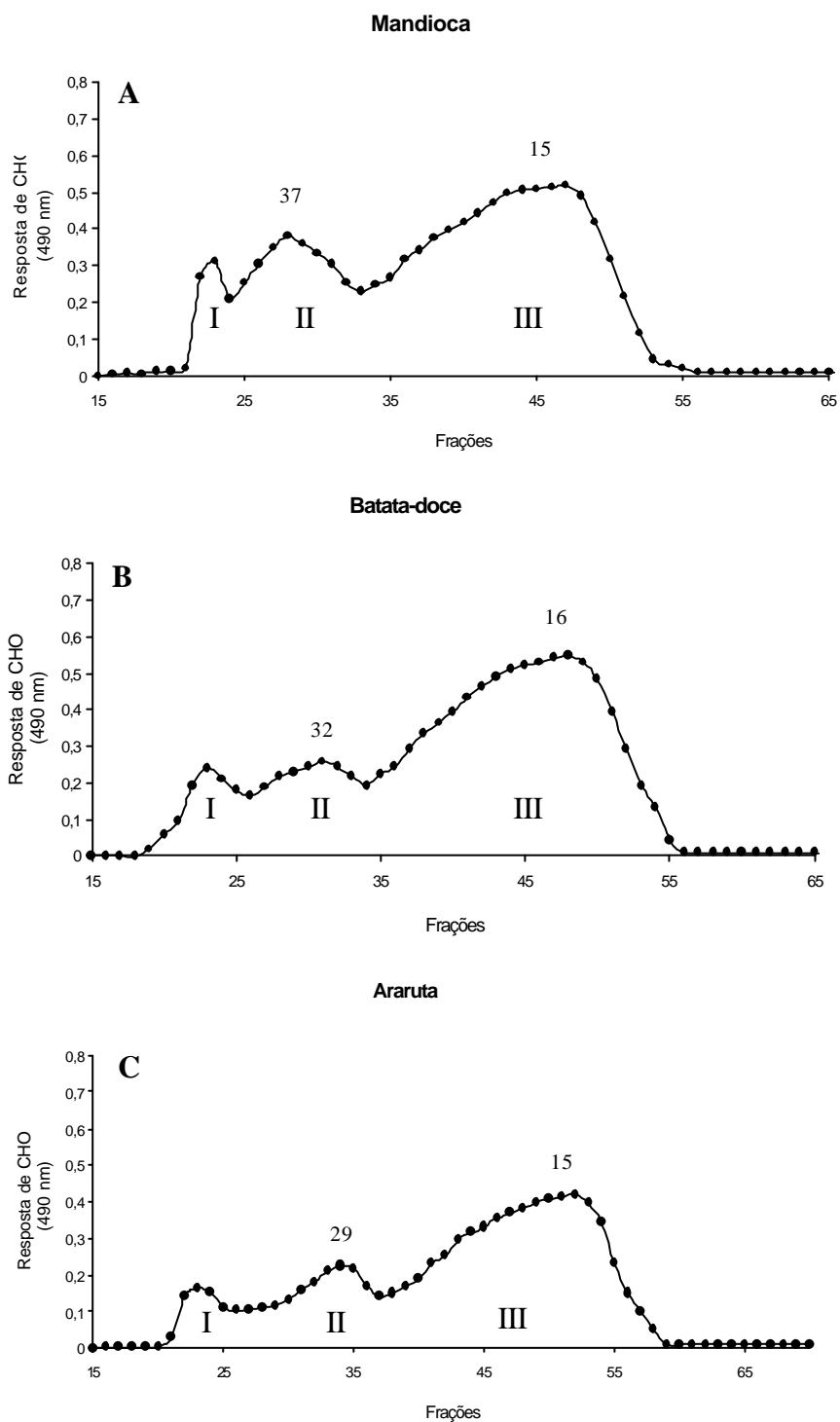


FIGURA 12 - Perfil de eluição dos amidos hidrolisados de **A:** Mandioca; **B:** Batata-doce; **C:** Araruta através de cromatografia de permeação em gel Bio-Gel P-6.

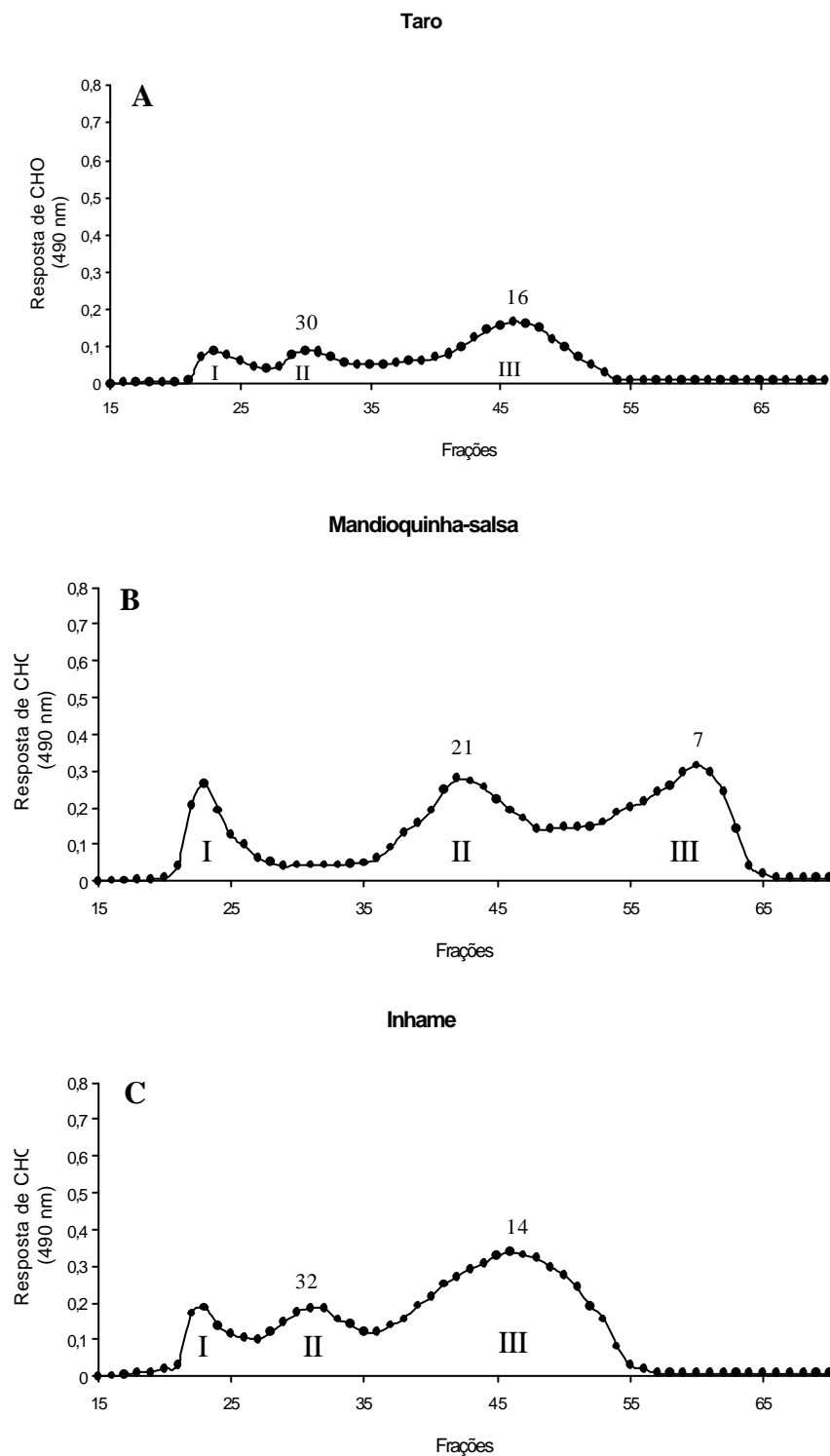


FIGURA 13 - Perfil de eluição dos amidos hidrolisados de **A:** Taro; **B:** Mandioquinha-salsa; **C:** Inhame através de cromatografia de permeação em gel Bio-Gel P-6.

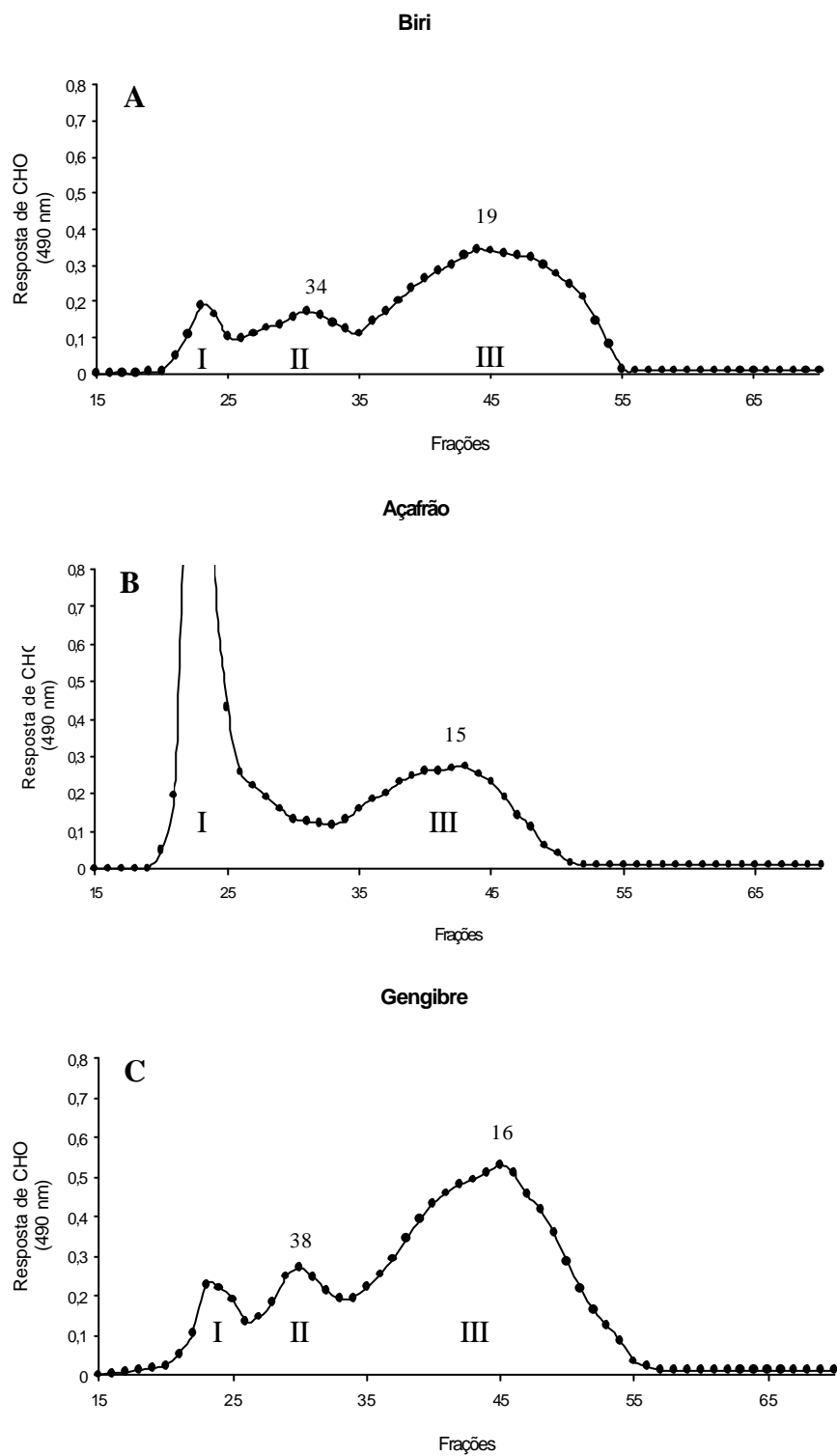


FIGURA 14 - Perfil de eluição dos amidos hidrolisados de **A:** Biri; **B:** Açafrão; **C:** Gengibre através de cromatografia de permeação em gel Bio-Gel P-6.

A distribuição das cadeias ramificadas de amilopectinas para os amidos estudados mostrou o comprimento de cadeia médio da fração II com DP variando entre 21-38 (Tabela 3). Os amidos de gengibre e mandioca apresentaram os maiores valores de DP (38 e 37, respectivamente), para o comprimento de cadeia nessa fração, enquanto que os amidos de biri, inhame, batata-doce, taro e araruta mostraram valores de DP variando de 29 a 34. O amido de mandioquinha-salsa mostrou o menor valor de DP para essa fração (21). A fração III, correspondendo às cadeias curtas B e cadeias A, apresentou valores de DP entre 14 a 19 para todos os amidos, com exceção do amido de mandioquinha-salsa que mostrou DP igual a 7.

O amido de taro mostrou maiores proporções (86,0%) de cadeias ramificadas curtas (fração III), enquanto que o amido de açafrão apresentou a menor proporção dessas moléculas (Tabela 3). Por outro lado, o amido de mandioquinha-salsa apresentou a maior proporção (40,0%) de cadeias longas B<sub>2</sub> da amilopectina (fração II), enquanto o amido de taro mostrou apenas 11% dessa fração (Tabela 3).

Segundo Wang et al. (1993), a relação da fração III para fração II (III/II), pode ser usada como um índice de extensão das ramificações da amilopectina. Quanto maior esta relação, mais alto é o grau de ramificações da molécula, indicando a presença de maiores proporções de cadeias curtas. Assim, de acordo com a Tabela 3, o amido de taro mostrou o maior valor da relação entre as frações III/II (7,82), sendo este muito superior aos valores obtidos para todos os outros amidos, sugerindo que este amido apresenta um maior grau de múltiplas

ramificações. Os amidos de mandioquinha-salsa e mandioca apresentaram o menor valor dessa relação (1,13 e 2,61, respectivamente), enquanto que os demais amidos mostraram valores na faixa de 4,11 a 4,81.

Dos cromatogramas apresentados nas Figuras 12 a 14, observa-se que o amido de açafão mostrou um perfil cromatográfico bem diferente dos outros amidos. Não houve separação distinta entre as frações I e II, nem o aparecimento de pico na fração II.

Uma explicação para o perfil de eluição do amido de açafão pode ser dada em função da alta proporção de moléculas de amilose e cadeias lineares muito longas de amilopectina ( $B_3$  ou maiores) que foram eluídas na fração I. A presença de maiores proporções de cadeias B muito longas da amilopectina neste amido, também pôde ser confirmada pela alta relação BV/CHO de 1,30 apresentada na fração da amilopectina quando esta foi eluída em Sepharose CL-2B (Figura 11B). Estas cadeias muito longas da amilopectina tendem a se ligar com o iodo formando complexos podendo levar à superestimação do teor de amilose.

### **5.2.3. Teor de Amilose**

O teor de amilose no amido é conhecido por afetar suas propriedades funcionais como gelificação, retrogradação, empastamento, inchamento e susceptibilidade a hidrólise enzimática, (GERARD et al., 2001; YOU; IZYDORCZYK, 2002).

A afinidade por iodo e teor de amilose obtidos para os diferentes amidos através de titulação potenciométrica, assim como valores obtidos da literatura estão apresentados na Tabela 4. Nesta tabela, os teores de amilose foram calculados através da relação:  $\text{Teor de amilose} = \text{IA}/0,19 \times 100$ , de acordo com Schoch (1964).

De acordo com os resultados obtidos para teor de amilose, observa-se que existem diferenças nos valores encontrados na literatura. Essas diferenças podem estar relacionadas às diferentes metodologias utilizadas na determinação do teor de amilose bem como diferentes variedades, condições de cultivos e extração da fração amido das raízes e tubérculos estudados.

O amido de taro apresentou a menor afinidade por iodo e teor de amilose (1,94 e 10,2%, respectivamente), enquanto que para o amido de açafrão estes valores foram os mais elevados (8,57 e 45,1%, respectivamente). Quanto maior a afinidade por iodo (IA), maior será o teor de amilose do amido, o que pode ser observado pela análise da Tabela 4. Esses resultados confirmam aqueles apresentados para distribuição de pesos moleculares quando os amidos foram eluídos em GPC em gel Sepharose CL-2B.

Segundo Bello-Pérez et al. (1996), valores mais baixos de IA e teor de amilose, podem estar ligados à presença de cadeias ramificadas curtas nas moléculas de amilopectina e amilose livre; enquanto que altos valores implicam em cadeias ramificadas longas da amilopectina. Para estes autores, IA está diretamente relacionada com cadeias ramificadas longas. Deste modo, o baixo teor de amilose encontrado para o amido de taro (Tabela 4) fortalece a hipótese da

alta proporção de múltiplas ramificações da amilopectina encontradas para este amido através de GPC em Bio gel P-6 (Tabela 3).

Os amidos de açafrão, inhame e biri se destacaram por apresentarem altos valores de afinidade por iodo (IA) e conseqüentemente altos valores de amilose, fato já observado por GPC em Sepharose CL-2B. No entanto, a presença de amilopectinas de cadeias ramificadas externas muito longas ( $B_3$  ou maiores), semelhantes a amilose, presente nos amidos de açafrão e biri, como pôde ser observado pela relação BV/CHO das amostras eluídas em Sepharose CL-2B, provavelmente podem ter se complexo com o iodo, superestimando estes valores de teor de amilose.

Tabela 4 - Afinidade por iodo e teor de amilose dos amidos obtidos de diferentes fontes botânicas e seus respectivos valores segundo a literatura

<i>Amostra</i>	<i>Afinidade por Iodo</i> <sup>*</sup> (IA)	<i>Teor de Amilose</i> <sup>**</sup> (%)	<b>Dados literários</b>	
			<i>Referências</i>	<i>Teor de Amilose Aparente</i> (%)
<i>Mandioca</i>	4,14	21,8	Hoover (2001)	18,6-23,6
<i>Batata-doce</i>	4,86	25,6	Moorthy (2001)	16,0-27,0
<i>Araruta</i>	4,17	21,9	Leonel et al. (2001)	23,9
<i>Taro</i>	1,94	10,2	Gallant et al. (1982)	9,0-17,0
<i>Mandioquinha-salsa</i>	4,05	21,3	Gonzáles e Carrasco (2001)	20,0
<i>Inhame</i>	6,65	35,0	Hoover (2001)	30,0
<i>Biri</i>	6,41	33,7	Moorthy (2001)	24,0-30,0
<i>Açafrão</i>	8,57	45,1	-	-
<i>Gengibre</i>	5,36	28,2	Reyes et al. (1982)	22,2

\* Cada valor representa a média de duas determinações

\*\* Teor de amilose = IA/0,19x100 (SCHOCH, 1964).



Isso confirma a necessidade de se realizar o fracionamento das moléculas de amilose e amilopectina no amido e da determinação do teor de amilose real, principalmente para estes amidos que possuem cadeias externas muito longas. Infelizmente pela falta de quantidades adequadas de amostras, essa separação não pôde ser realizada em nossos experimentos.

Como discutido anteriormente, a partir dos resultados de GPC em Sepharose CL-2B, os amidos de açafraão, biri, inhame e gengibre mostraram amiloses com menor peso molecular que os demais amidos. Resultados semelhantes foram obtidos por Cheetham e Tao (1997) para seis amostras de amido de milho com diferentes teores de amilose. Os amidos com altos valores de amilose apresentaram moléculas de amilose com peso molecular reduzido; por sua vez os comprimentos de cadeias longas da amilopectina aumentaram significativamente, levando a resultados superestimados.

Para Cheetham e Tao (1997), quando o amido apresenta baixo teor de amilose, as moléculas de amilopectina têm comprimentos de cadeias normais, e, portanto baixa capacidade destas amilopectinas ligarem-se ao iodo, com pouca influência na estimativa do teor de amilose.

Segundo estudos realizados por Gallant et al. (1982), o teor de amilose de amidos está diretamente relacionado com a constituição estrutural das regiões cristalinas e amorfas do grânulo de amido nativo estudados por Difractometria de Raios-X. Estes autores, juntamente com Reyes et al. (1982), Hoover (2001) e Moorthy (2001), encontraram que amidos tipo A (mandioca, batata-doce, taro, araruta, mandioquinha-salsa e gengibre) apresentam um baixo

teor de amilose e o grânulo desses amidos são geralmente pequenos (GALLANT et al., 1982). Amidos tipo B (biri, inhame e açafão) contêm um alto teor de amilose sendo estes amidos constituídos por grânulos maiores (GALLANT et al., 1982; MOORTHY, 2001), confirmando os resultados apresentados neste trabalho, exceto para o amido de gengibre que mostrou um teor de amilose acima da média dos valores encontrados para os amidos tipo A, sendo de 28,2%.

### **5.3. Propriedades Funcionais do Amido**

#### **5.3.1. Propriedades de Pasta**

De acordo com Tester e Morrison (1990 apud JANE et al., 1999), as propriedades de pasta de amidos são afetadas pelos teores de amilose, lipídios e fósforo e pela distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina. A amilopectina favorece o inchamento do grânulo de amido e empastamento, enquanto a amilose e lipídeos o inibem.

As propriedades de pasta e os perfis viscoamilográficos dos diferentes amidos determinados através da utilização do Rápido Visco Analizador (RVA), estão apresentados na Tabela 5 e Figuras 15 a 17.

O amido de mandioca é considerado uma matéria-prima importante na indústria de alimentos e sendo a mais comercial dentre as culturas

amiláceas tropicais. No Brasil a extração do amido é feita em mais de 70 agroindústrias bem estabelecidas, com alguns amidos modificados básicos. A Tailândia produziu em 1998 em torno de 1,7 milhões de toneladas da fécula de mandioca, sendo considerada o maior exportador de amido natural e derivados, principalmente para o Hemisfério Norte (FRANCO et al., 2001). Este amido mostrou o comportamento típico relatado na literatura com temperatura de pasta de 67,4°C, viscosidade de pico de 263 RVU e baixa tendência a retrogradação (Figura 15; Tabela 5). Foi observado patamar durante o período de aquecimento, antes do mesmo se tornar constante indicando uma certa resistência entre as forças de ligação dos grânulos que, uma vez rompidas sob agitação contínua, provocou a queda da viscosidade.

Tabela 5 - Propriedades de pasta de amidos de diferentes fontes botânicas (\*)

Amostra	Viscosidade (RVU) (**)				Temp. Pasta (°C)	Tempo de Pico (min)
	Pico	Quebra	Visc. Final	Set Back		
<b>Mandioca</b>	263	160	164	61	67,4	5,8
<b>Batata-doce</b>	281	148	206	73	72,4	6,1
<b>Araruta</b>	339	204	197	62	71,7	6,4
<b>Taro</b>	289	185	180	76	77,5	6,4
<b>Mandioquinha-salsa</b>	399	283	155	39	61,2	4
<b>Inhame</b>	172	28	304	160	76,6	8,0
<b>Biri</b>	413	198	335	120	71,2	7,3
<b>Açafrão</b>	506	10	779	283	84,5	11,6
<b>Gengibre</b>	78	-0,2	119	41	> 95°C	12,9

(\*) Cada valor representa a média de duas determinações

(\*\*) Viscosidade: Unidade RVU

O amido de araruta com maior viscosidade de pico (339 RVU) e temperatura de pasta (71,7°C) que o amido de mandioca, mostrou pouca resistência ao atrito mecânico e a altas temperaturas, evidenciado pela sua alta quebra (204 RVU) (Figura 15; Tabela 5).

Os amidos de alta expansão sofrem um grande inchamento quando aquecidos em água, e as forças associativas internas do grânulo tornam-se frágeis com a agitação mecânica e ação do calor, daí a acentuada queda durante o cozimento (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991).

Observando-se dados da literatura, verifica-se que o amido de batata-doce é descrito como um amido resistente à desintegração mecânica durante a gelificação comparado com outros amidos (TAKEDA et al., 1986;

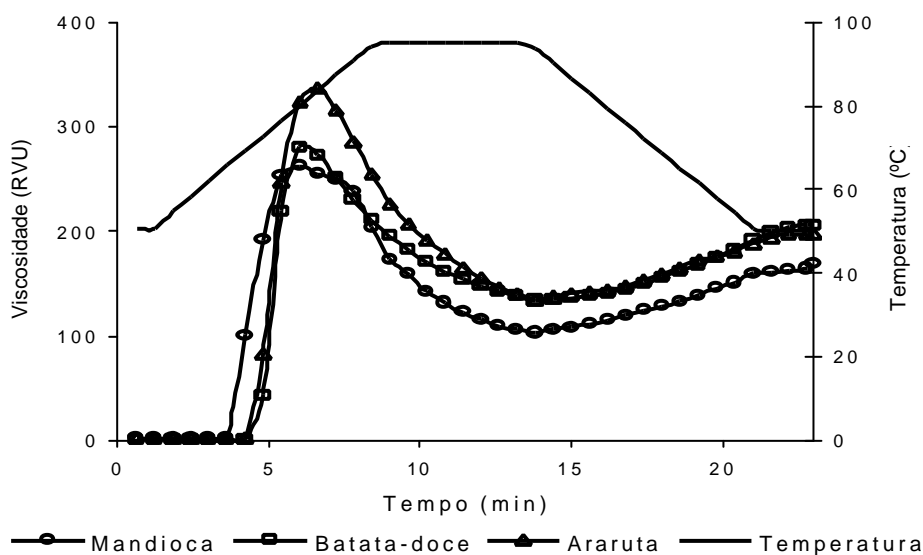


FIGURA 15 - Curva Viscoamilográfica de Amidos de Mandioca, Batata-doce e Araruta.

BATISTUTI; VALIM; CÂMARA, 1993, 1994; MCPHERSON e JANE 1999).

Neste trabalho este fato não foi observado, apesar do valor de quebra deste amido (148 RVU) ter sido inferior àquele observado para o amido de mandioca (160 RVU).

A baixa tendência a retrogradação evidenciada para os amidos de mandioca, araruta e batata-doce (Figura 15; Tabela 5), pode estar relacionada a uma série de fatores que estão diretamente interligados, como valores intermediários de amilose de alto peso molecular (21,8, 21,9 e 25,6%, respectivamente).

As boas características apresentadas por estes amidos os tornam potencialmente muito úteis para diversos empregos em processamentos de alimentos. As indústrias produtoras de amido vêm apresentando grande interesse no amido de araruta, devido às qualidades diferenciadas apresentadas por este em produtos de panificação, como substituto parcial da farinha de trigo, na confecção de biscoitos, etc. Entretanto, a araruta no Brasil é pouco cultivada e não existe o processamento industrial (CEREDA, 2001).

A Figura 16 apresenta os perfis amilográficos dos amidos de taro, mandioquinha-salsa e inhame.

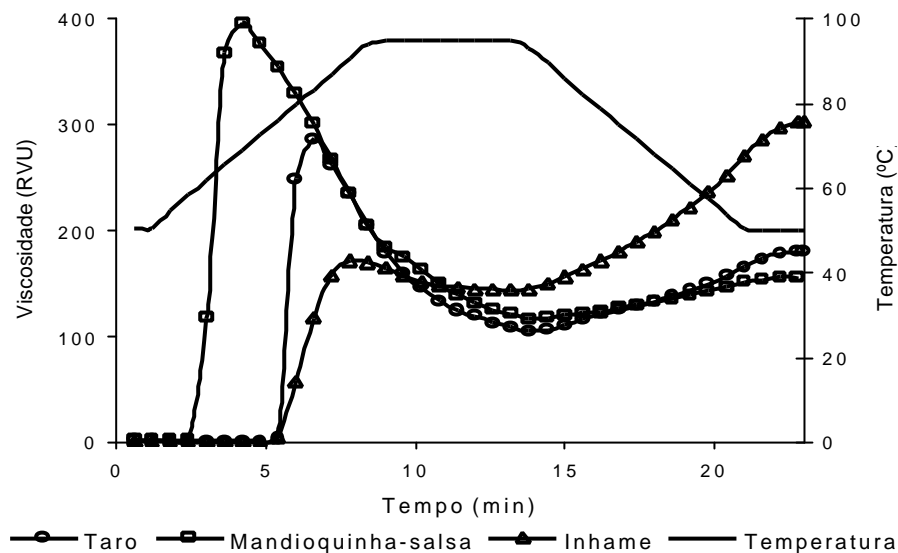


FIGURA 16 - Curva Viscoamilográfica de Amidos de Taro, Mandioquinha-salsa e Inhame.

O amido de mandioquinha-salsa destacou-se pela alta viscosidade de pico (399 RVU) e baixa temperatura de pasta (61,2°C). O tempo necessário para atingir o pico foi menor que para os outros amidos (4,0 min), indicando um amido de fácil cozimento, porém muito susceptível ao atrito mecânico, o que pode ser evidenciado por sua alta viscosidade de quebra (283 RVU). Este amido também apresentou baixa tendência a retrogradação. O perfil cromatográfico diferenciado apresentado por este amido (Figura 13B; Tabela 3), com comprimentos médios de cadeias da amilopectina bem menores que aqueles apresentados para os outros amidos tanto na fração II como na fração III ( $\overline{CL} = 21$  e 7, respectivamente) pode ter contribuído para o comportamento viscoamilográfico deste amido, principalmente com sua baixa temperatura de

pasta. A temperatura de empastamento baixa representa um potencial favorável para seu uso em alimentos de preparo instantâneo como macarrões, sopas e sobremesas como pudins. Além disso, o seu teor de amilose, aliado a suas propriedades de pasta o torna muito útil para uso culinário em dietas para crianças e idosos decorrente da sua difícil retrogradação e sinerese, o que contribui para sua grande digestibilidade.

O amido de taro mostrou perfil semelhante ao do amido de batata-doce, com exceção da temperatura de pasta que foi um pouco mais elevada para o primeiro (77,5°C), indicando um grânulo mais fortemente ligado em função das múltiplas ramificações com grandes proporções de cadeias curtas que podem ter sido empacotadas em regiões cristalinas (Tabela 3). Quando a temperatura de pasta foi atingida, um rápido aumento da viscosidade foi verificado seguida de uma queda acentuada indicando pouca resistência a altas temperaturas e agitação mecânica. O alto teor de fósforo (0,027%) apresentado por este amido também pode ter contribuído para sua maior viscosidade a quente (KORTSTEE et al., 1998). Segundo Lim; Kasemsuwan e Jane (1994), os grupos monoésterfosfato se ligam covalentemente aos amidos nativos promovendo sua natureza hidrofílica, introduzindo nas cadeias de amido os grupos fosfatos carregados negativamente aumentando sua capacidade de ligação com a água e inchamento, dando alta viscosidade. Seu baixo teor de amilose (10,4%), contribuiu para a baixa tendência a retrogradação, apresentada por este amido.

O amido de inhame com um baixo pico de viscosidade (172 RVU) e alta temperatura de pasta (76,6°C) mostrou um perfil viscoamilográfico

com características bastante desejáveis, como boa estabilidade a altas temperaturas e estabilidade mecânica, o que o elege como um bom ingrediente a ser usado em diversos alimentos processados.

As elevadas temperatura de pasta e estabilidade térmica apresentadas por este amido sugerem a presença de fortes forças de ligação no interior dos grânulos que resistem à quebra durante o período de cozimento (HOOVER, 2001). Isto pode ser explicado pelo seu elevado teor de amilose (35,0%). Segundo McPherson e Jane (1999), as moléculas lineares fortemente associadas mantêm a integridade do grânulo de amido dando maior resistência a agitação mecânica e temperaturas de pasta mais elevadas; porém contribui para um baixo pico de viscosidade, devido ao inchamento limitado dos grânulos e contribui para a alta tendência a retrogradação observada para este amido.

Segundo Alves; Grossmann e Silva (1999) e Mali et al. (2002), o amido de inhame por conter alto teor de amilose, pode ser utilizado na produção de filmes. O inconveniente é que elevados níveis de amilose no amido favorecem a retrogradação e resultam em pastas mais opacas, o que o torna inadequado para muitas aplicações industriais, além da tendência que a amilose tem em interagir com lipídios trazendo problemas de sinerese, principalmente em produtos instantâneos.

A Figura 17 apresenta as curvas viscoamilográficas dos amidos de biri, açafraão e gengibre.



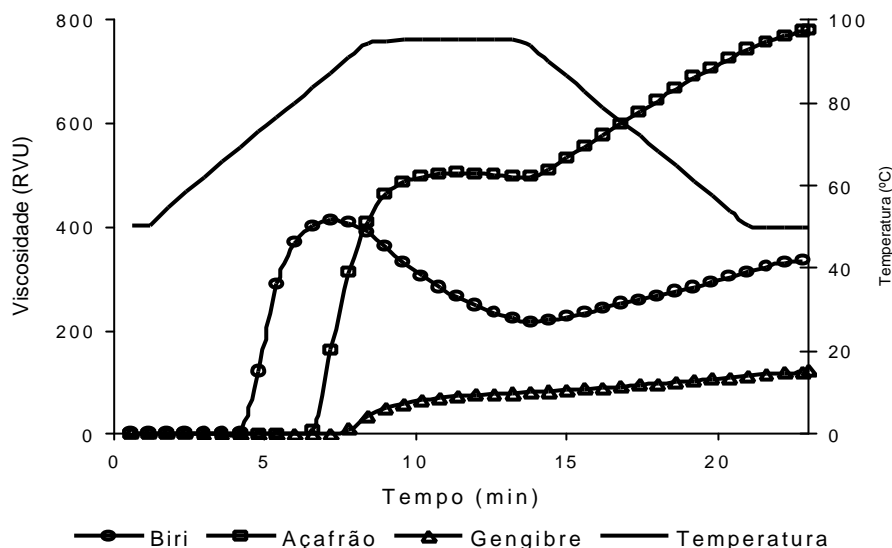


FIGURA 17 - Curva Viscoamilográfica de Amidos de Biri, Açafrão e Gengibre.

Cadeias ramificadas muito longas ( $B_3$  ou maiores) presentes na amilopectina do amido de biri, como apresentado no item 5.2 deste trabalho, e seu elevado teor de fósforo (0,031%), principalmente monoesterfosfato, podem ter contribuído para a alta viscosidade de pico deste amido (413 RVU) (Figura 17; Tabelas 1 e 5). Segundo Sasaki e Matsuki (1998), um maior número de ligações de hidrogênio pode ser formado entre as cadeias de amilopectina mais longas e a água contribuindo para o maior inchamento dos amidos. Apesar deste amido apresentar cadeias muito longas na amilopectina, que poderiam superestimar seu teor de amilose determinado por titulação potenciométrica (33,7%), os cromatogramas obtidos de GPC em Sepharose CL-2B para este amido, mostraram um alto pico de *blue value* na fração amilose comprovando alto teor deste

polímero, o que também provavelmente influenciou na tendência a retrogradação deste amido.

O amido de açafão apresentou alta viscosidade a quente (506 RVU) e alta temperatura de pasta (83,3°C) que, quando atingida, provocou uma rápida elevação da viscosidade chegando a um máximo durante o aquecimento, que se manteve e aumentou sensivelmente durante o resfriamento da pasta, não havendo quebra da viscosidade. Essas características indicaram um amido com boa estabilidade térmica e ao atrito mecânico, com a vantagem de se ter uma viscosidade a quente elevada o que faz com que o mesmo possa ser utilizado em menores quantidades em alimentos cujos processos térmico e mecânico sejam muito intensos. As cadeias muito longas da amilopectina presentes neste amido, como relatado anteriormente, provavelmente contribuíram para essa elevada viscosidade a quente, mas seu alto teor de amilose foi também importante para garantir sua estabilidade térmica e mecânica contribuindo ainda para sua alta tendência a retrogradação.

O amido de gengibre mostrou uma viscosidade à quente baixa (78 RVU), sem apresentar pico definido de viscosidade. Sua temperatura de pasta foi elevada (provavelmente acima de 95°C, ultrapassando a sensibilidade do RVA) (Figura 17; Tabela 5). Durante o cozimento à temperatura constante, a viscosidade continuou a aumentar, indicando alta resistência ao atrito mecânico, e a altas temperaturas, o que foi reportado também por Reyes et al. (1982), que associou este fato à presença de forças de ligações homogêneas e um alto grau de

associação entre os componentes do amido que mantém sua estrutura granular, fator este que também pode estar ligado ao seu teor de amilose (28,2%).

### **5.3.2. Poder de Inchamento e Solubilidade**

Os grânulos de amido apresentam áreas cristalinas e amorfas, que estão relacionadas com a presença de macromoléculas ramificadas e lineares. As áreas cristalinas mantêm a integridade dos grânulos, permitindo o inchamento, mas não a completa dispersão das macromoléculas. Durante o aquecimento de uma suspensão aquosa de amido, as áreas amorfas absorvem água rapidamente e incham, permanecendo unidas pelas regiões cristalinas. Os grânulos inchados são elásticos, responsáveis pela viscosidade das pastas obtidas. Assim, o gráfico que relaciona poder de inchamento e solubilidade revela informações importantes a respeito da integridade granular (LEACH; McCOWEN; SCHOCH, 1959).

Os valores de poder de inchamento e solubilidade, nas temperaturas de 60, 70, 80, 90 e 95°C dos diferentes amidos estudados, estão apresentados nas Tabelas 6 e 7 e Figuras 18 e 19. As diferenças observadas entre os diferentes amidos são principalmente decorrentes do tipo de estrutura cristalina existente nos vários amidos.

Os amidos de mandioca, araruta e mandioquinha-salsa mostraram frágeis forças associativas internas que mantêm a estrutura dos grânulos (Figuras 18A e 18B). O lento aumento do poder de inchamento com a

Tabela 6 - Poder de inchamento e solubilidade, a 60 e 70°C, de amidos de diferentes fontes botânicas\*

<i>Amostra</i>	<i>60°C</i>		<i>70°C</i>	
	<i>PI</i>	<i>% S</i>	<i>PI</i>	<i>% S</i>
<i>Mandioca</i>	10,10 ± 0,04	5,03 ± 0,01	20,95 ± 0,01	7,28 ± 0,02
<i>Batata-doce</i>	3,84 ± 0,04	4,54 ± 0,04	12,92 ± 0,02	5,77 ± 0,05
<i>Araruta</i>	3,17 ± 0,00	3,98 ± 0,02	26,18 ± 0,05	8,92 ± 0,01
<i>Taro</i>	4,27 ± 0,02	1,50 ± 0,00	4,82 ± 0,02	1,04 ± 0,00
<i>Mandioquinha-salsa</i>	12,12 ± 0,06	6,30 ± 0,14	25,36 ± 0,02	9,40 ± 0,06
<i>Inhame</i>	2,63 ± 0,01	2,89 ± 0,02	7,96 ± 0,01	4,79 ± 0,05
<i>Biri</i>	7,74 ± 0,00	1,50 ± 0,03	11,73 ± 0,01	3,42 ± 0,04
<i>Açafrão</i>	2,97 ± 0,03	0,65 ± 0,04	3,39 ± 0,03	0,71 ± 0,02
<i>Gengibre</i>	2,86 ± 0,04	3,94 ± 0,07	2,54 ± 0,01	0,70 ± 0,01

\* Cada valor representa a média de duas determinações

Tabela 7 - Poder de inchamento e solubilidade, a 80, 90 e 95°C, de amidos de diferentes fontes botânicas\*

<i>Amostra</i>	<i>80°C</i>		<i>90°C</i>		<i>95°C</i> **	
	<i>PI</i>	<i>%S</i>	<i>PI</i>	<i>% S</i>	<i>PI</i>	<i>% S</i>
<i>Mandioca</i>	44,37 ± 0,00	18,28 ± 0,03	78,33 ± 0,02	30,47 ± 0,06	-	-
<i>Batata-doce</i>	19,62 ± 0,01	13,74 ± 0,01	23,71 ± 0,02	16,53 ± 0,01	-	-
<i>Araruta</i>	40,45 ± 0,01	15,26 ± 0,01	41,06 ± 0,06	19,47 ± 0,04	-	-
<i>Taro</i>	16,33 ± 0,09	4,50 ± 0,01	19,03 ± 0,02	5,91 ± 0,02	-	-
<i>Mandioquinha-salsa</i>	36,64 ± 0,01	12,97 ± 0,01	71,00 ± 0,09	27,07 ± 0,05	-	-
<i>Inhame</i>	14,52 ± 0,01	9,84 ± 0,01	21,19 ± 0,03	15,05 ± 0,07	-	-
<i>Biri</i>	17,13 ± 0,03	5,13 ± 0,03	21,81 ± 0,02	6,00 ± 0,00	-	-
<i>Açafrão</i>	9,43 ± 0,03	2,10 ± 0,03	27,82 ± 0,02	13,03 ± 0,01	-	-
<i>Gengibre</i>	3,74 ± 0,02	1,30 ± 0,01	9,06 ± 0,01	2,13 ± 0,01	11,39 ± 0,02	10,59 ± 0,03

\* Cada valor representa a média de duas determinações

\*\* Análise realizada a 95°C apenas para o amido de gengibre

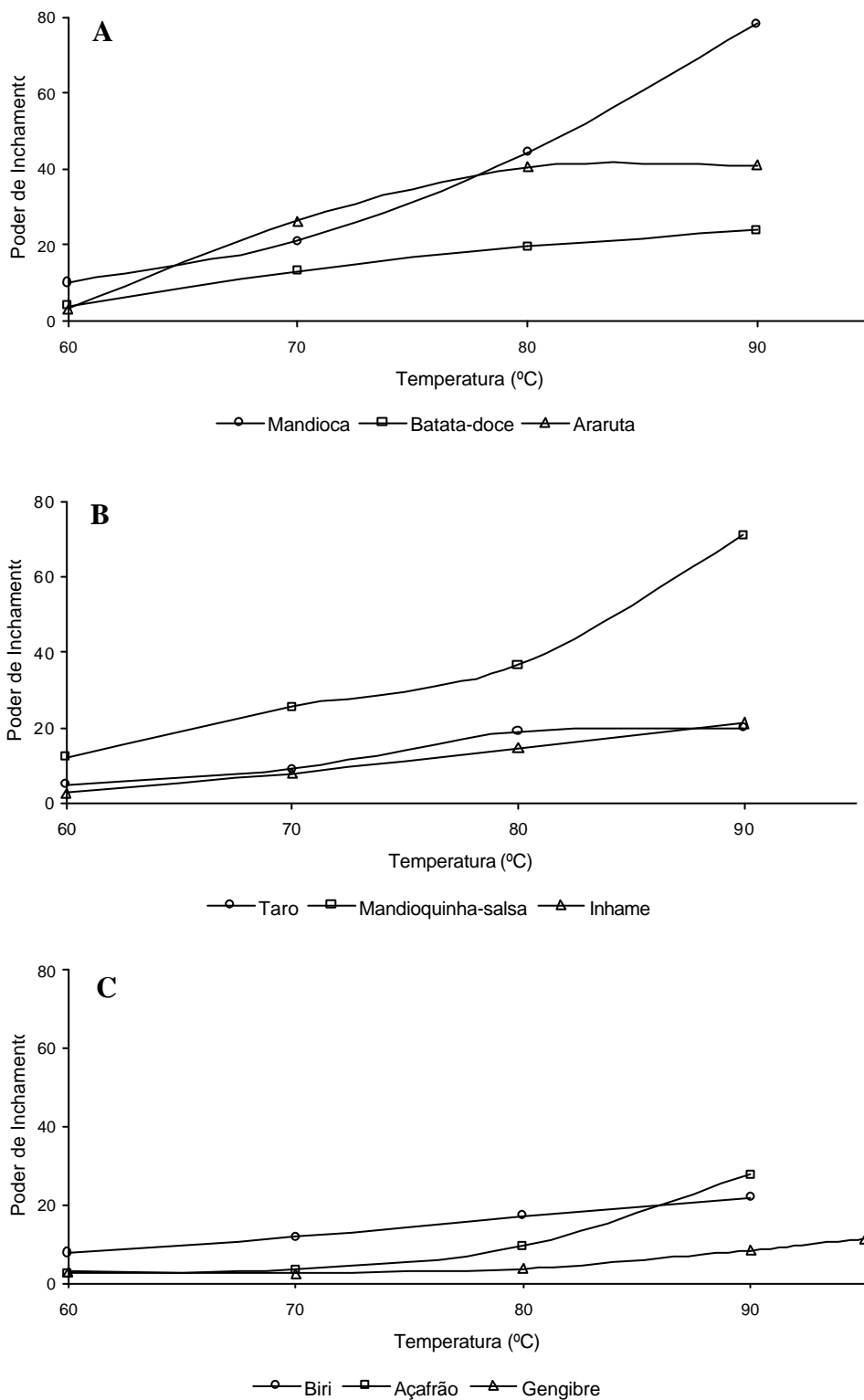


FIGURA 18 - Curvas de Poder de Inchamento para os amidos de **A**: Mandioca, Batata-doce e Araruta; **B**: Taro, Mandioquinha-salsa e Inhame; **C**: Biri, Açafrão e Gengibre.

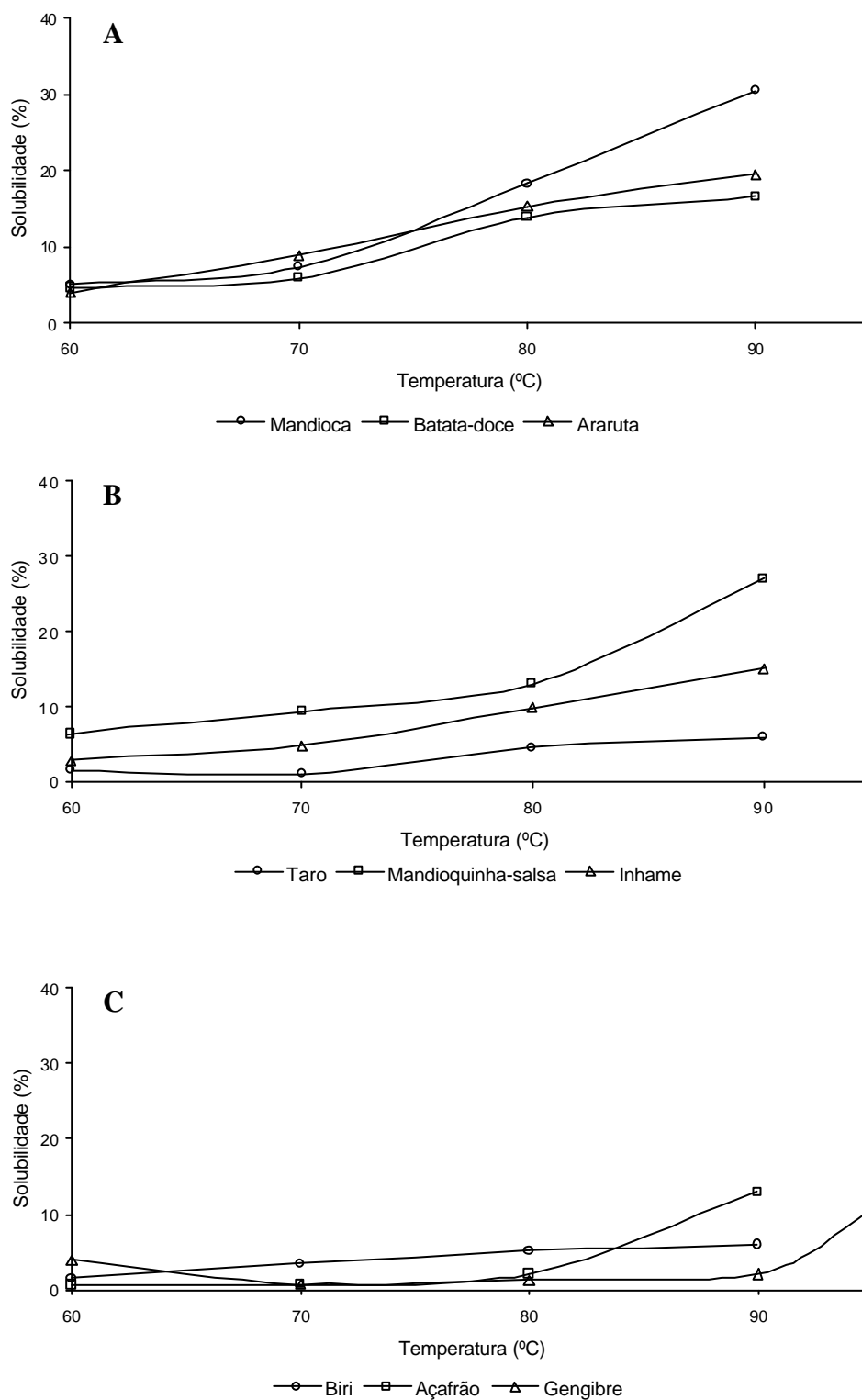


FIGURA 19 - Curvas de Solubilidade para os amidos de **A:** Mandioca, Batata-doce e Araruta; **B:** Taro, Mandioquinha-salsa e Inhame; **C:** Biri, Açafrão e Gengibre.

temperatura para os amidos de batata-doce, taro, inhame e gengibre (Figuras 18A, 18B e 18C) indicam que essas forças foram mais fortes, mantendo a estrutura destes grânulos e, portanto resistindo ao inchamento. O amido de açafrão apresentou maior resistência das forças associativas em temperaturas menores que 80°C, mas a medida que a temperatura aumentou, aumentou também o poder de inchamento (Figura 18C).

Em nível molecular, muitos fatores podem interferir no grau de associação, composição e distribuição das zonas cristalinas, dentre eles a proporção de amilose e amilopectina, peso molecular das frações, distribuição do peso molecular, grau de ramificação, conformação e extensão das cadeias externas da amilopectina. Deste modo, amidos com alto teor de amilose como biri, gengibre, inhame e açafrão teriam forças mais fortemente ligadas restringindo seu inchamento em função de suas moléculas lineares fortemente ligadas. Cadeias ramificadas muito longas como apresentadas pelo amido de açafrão também teriam a contribuir para aumento do inchamento, uma vez que essas cadeias apresentam pontos para as ligações de hidrogênio com a água mais numerosos, como sugerido por Sasaki e Matsuki (1998).

A grande porcentagem de cadeias curtas multi-ramificadas do amido de taro poderia contribuir para a formação de um grande emaranhado entre as moléculas de amilopectina que poderiam compartilhar ligações associativas, levando a mudanças na estrutura desta macromolécula (LEACH; McCOWEN; SCHOCH, 1959; BALAGOPALAN et al., 1988; KORTSTEE et al., 1998; HOOVER, 2001).

O aumento da solubilidade com a gelificação é a base para a confecção de alimentos pré-preparados. Após a gelificação, os amidos se tornam parcialmente solúveis em água fria facilitando o preparo de certos alimentos. A solubilidade dos amidos nas diferentes temperaturas é mostrada na Figura 19. Pode-se observar que ambos, poder de inchamento e solubilidade dos diferentes amidos, aumentaram com o aumento da temperatura.

Amidos de mandioca e mandioquinha-salsa apresentaram maior solubilidade quando comparados aos outros amidos. A solubilidade dos amidos se deve em grande parte à solubilização da amilose que é lixiviada do grânulo durante a gelificação.

### **5.3.3. Propriedades Térmicas**

As propriedades térmicas de gelificação e retrogradação do amido são muito importantes para a determinação de sua funcionalidade e sua utilização na indústria de alimentos (KRIEGER et al, 1997).

#### **5.3.3.1. Gelificação:**

As propriedades térmicas dos amidos gelificados determinadas através da utilização do Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC), encontram-se na Tabela 8.



De acordo com os resultados obtidos pelo DSC, apenas uma endoterma foi observada para todos os amidos. Maaruf et al. (2001) explicam que isso ocorre porque a água está presente em excesso, ocorrendo uma hidratação e conseqüente inchamento das regiões amorfas no grânulo de amido. O grau de hidratação está relacionado com o poder de inchamento do grânulo, influenciado pela associação molecular e pela composição química.

Segundo Krueger et al. (1987) e Yoo e Jane (2002), uma única endoterma apresentada para todos os amidos, significa que não há amilose complexada com lipídios, já que estes, se existentes, poderiam fundir proporcionando uma endoterma na faixa de temperatura de 91-100°C. Isso era de se esperar uma vez que amidos de raízes e tubérculos apresentam quantidades muito baixas de lipídios.

Tabela 8 - Propriedades de gelificação de amidos de diferentes fontes botânicas\*

<i>Amidos</i>	<i>Gelificação</i>			
	<i>To</i> (°C)	<i>Tp</i> (°C)	<i>Tc</i> (°C)	<i>DH</i> (J/g)
<i>Mandioca</i>	61,15 ± 0,18	67,73 ± 0,35	73,95 ± 0,17	13,73 ± 1,33
<i>Batata-doce</i>	61,57 ± 0,32	70,54 ± 0,26	78,69 ± 0,43	22,93 ± 0,27
<i>Araruta</i>	62,59 ± 0,42	69,79 ± 0,10	77,33 ± 0,21	21,12 ± 1,59
<i>Taro</i>	73,87 ± 0,03	77,36 ± 0,00	80,89 ± 0,27	14,12 ± 2,83
<i>Mandioquinha-salsa</i>	58,08 ± 0,18	61,69 ± 0,22	65,73 ± 0,13	14,15 ± 0,72
<i>Inhame</i>	70,75 ± 0,13	74,54 ± 0,12	77,81 ± 0,46	14,35 ± 0,54
<i>Biri</i>	65,44 ± 0,05	70,08 ± 0,01	74,84 ± 0,09	14,24 ± 0,72
<i>Açafrão</i>	78,78 ± 0,18	82,68 ± 0,25	89,04 ± 0,55	13,73 ± 0,24
<i>Gengibre</i>	81,77 ± 0,28	87,41 ± 0,35	93,28 ± 0,56	20,23 ± 1,30

\* valor médio de três determinações

To, Tp, Tc: Temperaturas inicial, de pico e de conclusão, respectivamente; ΔH: Variação de entalpia

De acordo com a Tabela 8, as temperaturas inicial de gelificação ( $T_o$ ), de pico ( $T_p$ ), de conclusão ( $T_c$ ) e variação de entalpia ( $\Delta H$ ) para os amidos em estudo variaram de 58,08 a 81,77°C; 61,69 a 87,41°C; 65,73 a 93,28°C e 13,73 a 22,93 J/g, respectivamente, sendo que os menores valores de temperatura são referentes ao amido de mandioca-salsa e as maiores temperaturas ao amido de gengibre.

Comparando as temperaturas iniciais de gelificação ( $T_o$ ) (Tabela 8) obtidas do DSC com as temperaturas de pasta do RVA (Tabela 5), observa-se que todas as temperaturas iniciais de gelificação apresentaram menores valores em relação às temperaturas de pasta, com diferenças consideráveis variando de 5 a 11°C, o que foi também observado por Pérez; Breene e Bahnassey (1998) e por Jane et al. (1999). Segundo estes autores, isso ocorre devido a temperatura de pasta, obtida do RVA, estar relacionada à sensibilidade do aparelho em detectar os primeiros acréscimos na viscosidade de pasta dos amidos, diferente da temperatura inicial de gelificação, que é detectada quando os primeiros grânulos começam a se desorganizar. Os valores obtidos no DSC são portanto, mais precisos, enquanto que os obtidos em RVA correspondem a uma faixa de temperatura.

Quando o amido gelifica e incha, propriedade esta basicamente função da fração amilopectina, as duplas hélices nas regiões cristalinas e aquelas duplas hélices não localizadas nos cristais ordenados, abrem-se e se dissociam quando as ligações de hidrogênio são quebradas (TESTER, 1997). Deste modo, as propriedades de gelificação e inchamento são controladas em parte pela estrutura

molecular da amilopectina (comprimento de cadeias ramificadas, extensão da ramificação, peso molecular e polidispersidade), composição do amido (razão de amilose/amilopectina, cadeias de amilose complexadas com lipídios, teor de fósforo) e arquitetura granular (razão entre cristalino e amorfo) (TESTER, 1997).

Amidos de açafrão e gengibre mostraram as mais altas temperaturas iniciais de gelificação comparativamente aos demais amidos. Cadeias ramificadas muito longas de amilopectina podem levar a altas temperaturas de gelificação, uma vez que essas cadeias podem formar duplas hélices longas em regiões cristalinas, requerendo maiores temperaturas para romper a barreira cinética, para em seguida incharem e dissociarem completamente.

Os resultados de GPC em Sepharose CL-2B e em Bio gel P-6 obtidos, sugerem que os amidos de açafrão e biri apresentam moléculas de amilopectina com ramificações muito longas. No entanto, o amido de biri também apresenta um alto teor de fósforo, o que poderia ter provocado a redução das temperaturas de gelificação a exemplo do que acontece com o amido de batata nos estudos realizados por Blennow et al. (2000b). De acordo com estes autores, a maior parte dos grupos monoesterfosfato no amido de batata estão localizados em regiões amorfas do grânulo tendo grande influência nas propriedades de inchamento do amido.

Outros fatores podem ter contribuído para com a alta temperatura de gelificação exibida pelo amido de gengibre, dentre as quais as fortes forças de associação entre as moléculas de amido observadas para esse

amido quando suas propriedades de pasta e poder de inchamento foram analisados.

Amidos com altas proporções de cadeias curtas e menores comprimentos médios de cadeias, poucas cadeias longas B mostram menores temperaturas de gelificação (JANE et al., 1999). Neste estudo, isso não ocorreu com o amido de taro que apesar de apresentar grandes quantidades de cadeias curtas mostrou temperatura inicial de gelificação superior àquelas encontradas para os amidos de mandioca, batata-doce, araruta e inhame. Por outro lado, o amido de mandioquinha-salsa, com os menores comprimentos médios de cadeias nas frações II e III ( $\overline{CL} = 21$  e  $7$ , respectivamente) e baixo valor da relação BV/CHO observado por GPC em Sepharose CL-2B (0,46), mostrou a menor faixa de temperatura de gelificação (58,08 a 65,73°C) (Tabela 8).

Regiões cristalinas do grânulo de amido são geralmente compostas de amilopectina e não de amilose (NODA et al., 1998). Os altos teores de amilose apresentado para os amidos de inhame, biri e açafão podem ter contribuído para os valores de  $\Delta H$  apresentados.

### **5.3.3.2. Retrogradação**

A Tabela 9 apresenta as propriedades térmicas dos amidos retrogradados avaliados pelo Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC). De acordo com esta tabela, os amidos retrogradados apresentaram temperatura inicial ( $T_0$ ) variando de 40,38 a 45,42°C, temperatura de pico ( $T_p$ ) de 54,14 a 73,74°C,

temperatura de conclusão ( $T_c$ ) de 63,40 a 86,05°C e variação de entalpia ( $\Delta H$ ) de 0,67 a 12,97 J/g. A porcentagem de retrogradação variou de 4,89 % para o amido de mandioca a 94,53% para o amido de açafrão.

As temperaturas de transição endotérmica inicial ( $T_o$ ), de pico ( $T_p$ ) e de conclusão ( $T_c$ ), e variação de entalpia ( $\Delta H$ ) foram menores para os amidos retrogradados, quando comparadas aos mesmos amidos nativos (Tabelas 8 e 9), como foi relatado também por Karim; Norziah e Seow (2000), em que os amidos retrogradados podem apresentar valores de entalpia de até 60-80% menores que os obtidos para os amidos nativos, além das temperaturas de transição endotérmica ( $T_o$ ,  $T_p$  e  $T_c$ ) associadas à fusão de amidos retrogradados, que também ocorrem a temperaturas de 10 a 26°C a menos comparadas aos amidos gelificados. Garcia-Alonso et al. (1999) e Karim; Norziah e Seow (2000) relatam que na retrogradação o gel sofre transformações que resultam em uma estrutura parcialmente cristalina, diferente da estrutura presente no grânulo de amido nativo.

Ainda, segundo Karim; Norziah e Seow (2000), a faixa de temperatura de retrogradação para os amidos retrogradados ( $T_c-T_o$ ) é geralmente mais ampla do que a faixa de temperatura de gelificação para os amidos nativos, como pode ser observado por comparação das Tabelas 8 e 9. Estes autores concluíram que durante armazenamento a baixas temperaturas ( $\approx 4^\circ\text{C}$ ), as moléculas de amido gelificadas reassociam, mas em menor ordenamento e, portanto, com menor perfeição que o arranjo do grânulo de amido nativo. Deste

Tabela 9 - Propriedades de retrogradação de amidos de diferentes fontes botânicas\*

<i>Amidos</i>	<i>Retrogradação</i>				
	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	DH (J/g)	% retrograd.
<i>Mandioca</i>	44,80 ± 1,57	56,51 ± 0,09	63,40 ± 0,41	0,67 ± 0,18	4,89
<i>Batata-doce</i>	41,44 ± 0,13	55,46 ± 0,18	66,79 ± 0,31	7,22 ± 0,61	31,48
<i>Araruta</i>	40,38 ± 0,87	54,14 ± 0,81	66,11 ± 0,12	5,84 ± 0,60	27,65
<i>Taro</i>	42,45 ± 1,42	56,07 ± 1,37	65,22 ± 0,25	6,13 ± 1,33	43,41
<i>Mandioquinha-salsa</i>	43,01 ± 1,24	55,59 ± 0,71	64,27 ± 0,08	3,66 ± 1,54	25,84
<i>Inhame</i>	42,48 ± 0,36	60,65 ± 0,23	74,76 ± 0,08	10,63 ± 0,01	74,06
<i>Biri</i>	42,75 ± 0,19	61,14 ± 0,03	74,48 ± 0,24	7,96 ± 0,25	55,91
<i>Açafrão</i>	42,66 ± 0,02	73,74 ± 0,00	86,05 ± 0,62	12,97 ± 0,48	94,53
<i>Gengibre</i>	45,42 ± 2,27	61,89 ± 1,25	72,80 ± 1,38	11,88 ± 2,15	58,73

\* valor médio de três determinações

To, Tp, Tc: Temperaturas inicial, de pico e de conclusão, respectivamente; ΔH: Variação de entalpia; % R: Taxa de retrogradação;

modo, menos energia é requerida para fundir os cristais reestruturados, o que foi relatado também por Kim; Weisenborn e Grant (1997) e Sasaki; Yasui e Matsuki (2000).

As diferenças na extensão da retrogradação observadas para os amidos retrogradados podem ser explicadas com base na distribuição dos comprimentos de cadeias da amilopectina e no teor de amilose. Muitos autores se referem à retrogradação como sendo uma associação de cadeias de amilose. Mas segundo Moorthy (2001), em amidos cerosos que não contém amilose, é a amilopectina que contribui para retrogradação pela associação de cadeias externas.

Amidos de mandioca, araruta e mandioquinha-salsa mostraram os menores valores de entalpia e menores taxas de retrogradação (Tabela 9) comparados aos demais amidos, o que pode estar associado à distribuição de suas cadeias ramificadas, aos menores valores da relação BV/CHO e aos seus valores

intermediários de amilose (Tabela 4).

Pela análise da Tabela 9, o amido de açafrão mostrou a maior taxa de retrogradação, seguidos pelos amidos de inhame, gengibre e biri (94,53%; 74,06%, 58,73% e 55,91%, respectivamente), além de apresentarem os maiores valores de entalpia.

No DSC, a retrogradação é função das cadeias lineares muito longas de amilopectinas (SASAKI; MATSUKI, 1998; JANE et al., 1999). Segundo Jane et al. (1999) e Song e Jane (2000), amidos com alto teor de amilose geralmente são constituídos por estas cadeias longas da amilopectina. Os amidos de biri e açafrão foram identificados anteriormente como constituídos por estas cadeias B muito longas (Figuras 11A e 11B, respectivamente), o que explicaria as elevadas taxas de retrogradação e valores de entalpia apresentados.

Comparando com as curvas viscoamilográficas (Figuras 15 e 16; Tabelas 5), os amidos de açafrão, biri e inhame também apresentam maior tendência a retrogradação, em virtude do alto teor de amilose que estes amidos também contêm.

O amido de taro, com grandes proporções de cadeias curtas com múltiplas ramificações (Tabela 3), e o menor teor de amilose (10,4%) quando comparado aos demais amidos, mostrou alta taxa de retrogradação (43,41%), o que não era esperado, já que cadeias ramificadas curtas contribuem para menores taxas, sugerindo que outros fatores não determinados neste estudo podem ter contribuído para estes resultados.

#### 5.4. Considerações Finais

A grande maioria dos trabalhos disponíveis na literatura a respeito de amidos de raízes e tubérculos na literatura traz informações principalmente sobre suas características físico-químicas e funcionais faltando informações mais detalhadas sobre suas características estruturais. Nesse sentido, este trabalho fornece uma contribuição importante na elucidação das características estruturais de amidos obtidos de raízes e tubérculos.

A funcionalidade do amido, pode ser principalmente explicada por fatores como estrutura das moléculas de amido dentro do grânulo, uma vez que as quantidades relativas de amilose e amilopectina determinam suas propriedades físicas e químicas, que são responsáveis pela sua funcionalidade específica e sua importância biotecnológica (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991; HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; ALVES; GROSSMANN; SILVA, 1999; SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000; LEONEL; CEREDA, 2002).

Como puderam ser observados neste estudo, muitos são os fatores que influenciam as propriedades funcionais dos amidos. Alguns deles como teor de fósforo, teor de amilose, distribuição do peso molecular das moléculas de amilose e amilopectina e distribuição das cadeias ramificadas da amilopectina foram evidenciados. Mas, muitos dos resultados que não puderam ser explicados podem ser efeito de outros fatores como arquitetura granular,



tamanho de grânulos ou outros ainda que, em conjunto, afetam as propriedades funcionais.

Em complementação aos resultados já obtidos, seria importante realizar a separação das moléculas de amilose e amilopectina com posterior purificação das mesmas para que os valores de amilose real possam confirmar os resultados de superestimação destes polímeros do amido, como foi sugerido para os amidos de açafão e biri. Também, seria importante a análise por equipamentos mais sofisticados como HPLC de troca iônica com detector de pulso amperométrico para as determinações das distribuições de comprimentos de cadeias ramificadas que sem dúvida alguma fazem falta para fornecer resultados muito mais reprodutíveis e esclarecedores.

Daí, a importância da continuidade deste estudo, principalmente para estes amidos de origens tropicais, que são ainda pouco explorados no Brasil. A utilização de técnicas mais avançadas de análise como HPLC de troca iônica para as determinações das distribuições de comprimentos de cadeias ramificadas, citada anteriormente; HPSEC-RI (cromatografia de exclusão por tamanho de alta performance equipada com um detector de índice de refração) para determinação dos valores de peso molecular dos componentes do amido; determinação do teor de fósforo no amido por NMR (ressonância magnética nuclear), dentre outras, podem fornecer informações mais precisas sobre a estrutura desses amidos e sua correlação com suas propriedades funcionais. Essas informações serviriam para alimentar pesquisas com manipulações genéticas que poderiam introduzir

características estruturais desejáveis nos diferentes amidos visando sua utilização nos mais variados processos industriais.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos dos experimentos realizados neste trabalho para os amidos de mandioca, batata-doce, araruta, taro, mandioquinha-salsa, inhame, biri, açafrão e gengibre permitiram concluir:

- A análise da composição química para estes amidos mostrou baixos teores de constituintes menores, o que confirma boa extração tendo pouca influência em suas propriedades de pasta e térmicas.
- Os amidos de biri, taro e inhame apresentaram os maiores teores de fósforo (0,031; 0,027 e 0,022%, respectivamente), enquanto que para os amidos de mandioca e gengibre este mostrou-se menor (0,007%).
- Os amidos de biri e açafrão apresentaram maiores proporções de cadeias muito longas da amilopectina através da relação BV/CHO (1,12 e 1,30, respectivamente), quando determinadas por cromatografia de permeação em gel (GPC) em Sepharose CL-2B.
- O amido de taro apresentou moléculas de amilopectina com maiores proporções de cadeias curtas (86,0%) e maior grau de multi-ramificações, quando analisado por cromatografia de permeação em gel (GPC) em Bio-gel P-6.
- O amido de mandioquinha-salsa apresentou os menores comprimentos médios de cadeia na fração II (DP = 21), correspondente às cadeias B<sub>2</sub> da amilopectina, e na fração III (DP = 7), composta por cadeias A e cadeias curtas B da amilopectina.

- Através de cromatografia de permeação em gel (GPC) em Sepharose CL-2B, as moléculas de amilose dos amidos de taro, batata-doce e araruta mostraram maior peso molecular do que as apresentadas pelos outros amidos, enquanto o amido de açafrão apresentou o menor.
- O amido de taro mostrou o menor teor de amilose (10,2%), enquanto os amidos de biri, inhame e açafrão apresentaram os maiores (33,7; 35,0 e 45,1%, respectivamente).
- As propriedades de pasta, térmicas e poder de inchamento e solubilidade dos amidos foram influenciados pela distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina, teor de amilose e teor de monoésterfosfato.
- Os amidos de taro, mandioca, araruta e batata-doce mostraram baixa tendência a retrogradação no RVA em função dos menores valores de amilose (10,2; 21,8; 21,9 e 25,6%, respectivamente) de alto peso molecular, ao contrário dos amidos de biri e açafrão que apresentaram alta tendência a retrogradação devido ao elevado teor de amilose (33,7 e 45,1%, respectivamente).
- As cadeias ramificadas muito longas de amilopectina podem ter contribuído para as mais altas temperaturas iniciais de gelificação obtidas no DSC.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. M. L.; GROSSMANN, M. V. E.; SILVA, R. S. S. F. Gelling properties of extruded yam (*Dioscorea alata*) starch. **Food Chemistry**, v.67, p.123-127, 1999.

BALAGOPALAN, C. et al. Properties of cassava starch. In: CASSAVA IN FOOD, FEED AND INDUSTRY, CRC Press, 1988, p.116-126.

BATISTUTI, J. P.; VALIM, M. F. C. F. A.; CÂMARA, F. L. A. Amido de batata-doce (*Ipomoeas batatas*, L.). Parte II. Características morfológicas e estudos de algumas propriedades funcionais. **Alimentação e Nutrição**, v.5, p.9-25 1993/1994.

BELLO-PÉREZ, L. A. et al. Amylopectin – properties and fine structure. **Food Chemistry**, v.56, n.2, p.171-176, 1996.

BeMILLER, J. N. Starch modification: challenges and prospects. **Starch/Starke**, v.49, n.4, p. 127-131, 1997.

BERTOFT, E. Investigation of the fine structure of amylopectin using alpha-amylase and beta-amylase. **Carbohydrate Research**, v.189, p.195-207, 1989.

BILIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.69, p.60-78, 1991.

BLENNOW, A. et al. Starch molecular structure and phosphorylation investigated by a combined chromatographic and chemometric approach. **Carbohydrate Polymers**, v.41, n.2, p.163-174, 2000a.

BLENNOW, A. et al. The distribution of covalently bound phosphate in the starch granule in relation to starch crystallinity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.27, p.211-218, 2000b.

BLENNOW, A. et al. The degree of starch phosphorylation is related to the chain length distribution of the neutral and the phosphorylated chains of amylopectin. **Carbohydrate Research**, v.307, n.1-2, p.45-54, 1998.

BULEON, A. et al. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.

CEREDA, M. P. Potencial de tuberosas sul americanas em uso culinário e uso industrial. In: SIMPOSIO LATINO AMERICANO DE RAICES Y TUBERCULOS, 2., 2001, Lima. **Anais**...Lima: 2001. Presentación Magistral.

CHEETHAM, N. W. H.; TAO, L. The effects of amylose content on the molecular size of amylose, and on the distribution of amylopectin chain length in maize starches. **Carbohydrate Polymers**, v.33, n.4, p.251-261, 1997.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. **Tecnologia Agroindustrial**: Fabricação de amido e sua utilização. São Paulo, Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia, 1987. v.7. 152p.

COTTRELLI, J. E. et al. Properties of potato starch: effects of genotype and growing conditions. **Phytochemistry**, v.40, n.4, p.1057-1064, 1995.

CUI, R.; OATES, C.G. The effect of amylose-lipid complex formation on enzyme susceptibility of sago starch. **Food Chemistry**, v.65, p.417-425, 1999.

DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J. A. Physicochemical properties of cassava. **Starch/Stärke**, v.50, n.2-3, p.58-64, 1998.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.

FOX, J. T.; ROBYT, J. F. Miniturization of three carbohydrate analyses using a microsample plate reader. **Analytical Biochemistry**, v.195, p.93-96, 1991.

FRANCO, C. M. L.; CABRAL, R. A. F.; TAVARES, D. Q. Structural and physicochemical characteristics of lintnerized native and sour cassava starches. **Starch/Stärke**, v.54, p.469-475, 2002a.

FRANCO, C. M. L. et al. Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. **Cereal Chemistry**, v.79, n.2, p.243-248, 2002b.

FRANCO, C. M. L. et al. **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**: Propriedades Gerais do Amido. Campinas, Fundação Cargill, 2001. v.1. 224p.

FRENCH, D. Chemical and physical properties of starch. **Journal of Animal Science**, v.37, n.4, p.1048-1061, 1973.

FRENCH, D. Organization of starch granules. In: WHISTLER, R. L., BeMILLER J.N., PASCHAL, E.F. **Starch**: chemistry and technology. 2.ed. London: Academic Press, 1984. p.183-247.

GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v.32, n.3-4, p.177-191, 1997.

GALLANT, D. J. et al. On ultrastructural and nutritional aspects of some tropical tuber starches. **Starch/Stärke**, v.34, n.8, p.255-262, 1982.

GARCIA-ALONSO, A. et al. Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. **Food Chemistry**, v.66, p.181-187, 1999.

GÉRARD, C. et al. amylose determination in genetically modified starches. **Carbohydrate Polymers**, v.44, n.1, p.19-27, 2001.

GONZALES, G.; CARRASCO, R. R. Extracción y caracterización del almidón de Peruvian carrot (*Arracacia Xanthorrhiza* Bancroft) y su resistencia a tratamientos tecnológicos. In: SIMPOSIO LATINO AMERICANO DE RAICES Y TUBERCULOS, 2., 2001, Lima. **Anais**...Lima: 2001. FS-O-12.

GUERREIRO, L. M. R. **Avaliação de amidos nativos em condições de estresse adaptados ao processamento de alimentos**. 2002. 180p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v.49, n.4, p.425-437, 2002.

HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Development in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science e Technology**, v.7, p.345-353, 1996.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**. v.45, n.3, p.253-267, 2001.

HOOVER, R.; MANUEL, H. The effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylo maize V starches. **Journal of Cereal Science**, v.23, p.153-162, 1996.

HIZUKURI, S. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins and its significance. **Carbohydrate Research**, v.147, n.2, p.342-347, 1986.

HIZUKURI, S.; TAKEDA, Y.; YASUDA, M. Multi-branched nature of amylose and the action of debranching enzymes. **Carbohydrate Research**, v.94, n.2, p.205-213, 1981.

HIZUKURI, S. et al. Analytical developments: molecular and microstructural characterization. In: FRAZIER, P. J.; RICHMOND, P.; DONALD, A.M. **Starch: Structure and Functionality**. London: Royal Society of Chemistry, 1997. p.121-128.

JANE, J.; CHEN, J. F. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.69, n.1, p.60-65, 1992.

JANE, J. et al. Physical and chemical studies of taro starches and flours. **Cereal Chemistry**, v.69, p.528-535, 1992.



JANE, J. et al. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.76, n.5, p.629-637, 1999.

JULIANO, B. O. A simplified assay for milled-rice amylose. **Cereal Science Today**, v. 16, p. 334-340, 1971.

KARIM, A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, v.71, p.9-36, 2000.

KASEMSUWAN, T.; JANE, J. Quantitative method for the survey of starch phosphate derivatives and starch phospholipids by  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v.73, n.6, p.702-707, 1996.

KASEMSUWAN, T. et al. Characterization of the dominant mutant amylose-extender (Ac1-5180) maize starch. **Cereal Chemistry**, v.72, n.5, p.457-464, 1995.

KIM, Y. S.; WEISENBORN, P.; GRANT, I. A. Pasting and thermal properties of potato and bean starches. **Starch/Stärke**, v.49, p.97-102, 1997.

KIMURA, A.; ROBYT, J. F. Reaction of enzymes with starch granules: reaction of isoamilase with native and gelatinized granules. **Carbohydrate Research**, v.287, n.2, p.255-261, 1996.

KLUCINEC, J. D.; THOMPSON, D. B. Amylose and amylopectin interact in retrogradation of dispersed high-amylose starches. **Cereal Chemistry**, v.76, n.2, p.282-291, 1999.

KORTSTEE, A. J. et al. The influence of an increased degree of branching on the physico-chemical properties of starch from genetically modified potato. **Carbohydrate Polymers**, v.37, n.2, p.173-184, 1998.

KRIEGER, K. M. et al. Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: micro blender and homogeneizer. **Cereal Chemistry**, v.74, n.5, p.553-555, 1997.

- KRUEGER, B. R. et al. A differential scanning calorimetry study on the effect of annealing on the gelatinization behaviour of corn starch. **Journal of Food Science**, v.52, n.3, p.715-718, 1987.
- LEACH, H. W.; McCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v.36, n.6, p.534-544, 1959.
- LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n.1, p. 65-69, 2002.
- LEONEL, M. et al. Processamento e caracterização do amido de biri (*canna edulis*). In: SIMPOSIO LATINO AMERICANO DE RAICES Y TUBERCULOS, 2., 2001, Lima. **Anais...**Lima: 2001. PM-P-5.
- LIM, S.; KASEMSUWAN, T.; JANE, J. Characterization of phosphorus in starch by  $^{31}\text{P}$ -nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v.71, p.488-493, 1994.
- LIN, P.; CZUCHAJOWSKA, Z. Role of phosphorus in viscosity, gelatinization, and retrogradation of starch. **Cereal Chemistry**, v.75, n.5, p.705-709, 1998.
- MAARUF, A. G. et al. Effect of water content on the gelatinization temperature of sago starch. **Carbohydrate Polymers**, v.46, n.4, p.331-337, 2001.
- MALI, S. et al. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**,v.50, n.4, p.379-386, 2002.
- MANNERS, D. J.; MATHERSON, N. K. The fine structure of amylopectin. **Carbohydrate Research**, v.90, n.1, p.99-110, 1981.
- McPHERSON, A. E.; JANE, J. Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. **Carbohydrate Polymers**, v.40, n.1, p.57-70, 1999.

MIYOSHI, E. Effects of heat-moisture treatment and lipids on gelatinization and retrogradation of maize and potato starches. **Cereal Chemistry**, v. 79, n.1, p. 72-77, 2002.

MOORTHY, S. N. **Tuber Crop Starches**. 2.ed. Thiruvananthapuram: Central Tuber Crops Research Institute, 2001. 52p.

MOORTHY, S. N.; NAIR, S. G. Studies on *Dioscorea rotundata* starch. **Stach/Stärke**, v.41, n.3, p.81-83, 1989.

MORIKAWA, K.; NISHINARI, K. Effects of concentration dependence of retrogradation behaviour of dispersions for native and chemically modified potato starch. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 395-401, 2000.

MORRISON, W. R. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. **Cereal Foods World**, v.40, n. , p.437-446, 1995.

NEWPORT SCIENTIFIC. **Operation manual for series 4**: Instructions Manual. Warriewood. Austrália, 1998. 123p.

NODA, T. et al. Relationships between chain length distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat. **Carbohydrate Polymers**, v.37, n.2, p.153-158, 1998.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 3.ed. São Paulo: O Instituto, 1985. v.1. 533p.

NORMAS PARA PUBLICAÇÕES DA UNESP. **Dissertações e Teses do Trabalho Científico ao Livro**. 2.ed. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1994. v.4. 95p.

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v.34, p.1-17, 2001.

PÉREZ, E. E.; BREENE, W. M.; BAHNASSEY, Y. A. Variations in the Gelatinization Profiles of Cassava, Sagu and Arrowroot Native Starches as

Measured with Different Thermal and Mechanical Methods. **Starch/Starke**, v.50, n.2-3, p.70-72, 1998.

RAPHAELIDES, S. R.; KARKALAS, J. Thermal dissociation of amylose-fatty acid complexes. **Carbohydrate Research**, v.172, n.2, p.172-177, 1988.

REYES, F. G. R. et al. Characterization of starch from ginger root (*Zingiber officinale*). **Starch/Stärke**, v.34, n.2, p.40-44, 1982.

RICKARD, J. E.; ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V. The physicochemical properties of cassava starch. **Tropical Science**, v.31, p.189-207, 1991.

ROBIN, J. P. et al. Lintnerized starches gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chemistry**, v.51, p.389-405, 1974.

SARMENTO, S. B. S. **Caracterização da fécula de mandioca (*Manihot esculenta*) no período de colheita de cultivares de uso industrial**. 1997. 162p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

SASAKI, T.; MATSUKI, J. Effect of wheat starch structure on swelling power. **Cereal Chemistry**, v.75, n.4, p.525-529, 1998.

SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starch from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v.77, n.1, p.58-63, 2000.

SCHOCH, T. J. Swelling power and solubility of granular starches. In: WHISTLER, R. L.; SMITH, R. J.; BeMILLER, J. N. **Methods in Carbohydrate Chemistry**. Orlando: Academic Press, 1964a. p.106-108.

SCHOCH, T. J. Iodimetric determination of amylose. In: WHISTLER, R. L.; SMITH, R. J.; BeMILLER, J. N. **Methods in Carbohydrate Chemistry**. Orlando: Academic Press, 1964b. p.157-160.

SLATTERY, C. J.; KAVAKLI, I. H.; OKITA, T. W. Engineering starch for increased quantity and quality. **Trends in Plant Science**, v.5, n.7, p.291-297, 2000.

SMITH, P. S. Starch and their use in foods. In: LINEBACK, D.R.; INGLETT; G.E. **Food Carbohydrates**. Westport : Avi Publishing Company, Inc., 1982. p. 237-269.

SMITH, R. J.; CARUSO, J. L. Determination of phosphorus. In: WHISTLER, R. L.; SMITH, R. J.; BeMILLER, J. N. **Methods in Carbohydrate Chemistry**. Orlando: Academic Press, 1964. p.42-46.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. **Carbohydrate Polymers**, v.41, n.4, p.365-377, 2000.

SONI, P. L. et al. The starches of *Dioscorea ballophylla* and *Amorphophallus campanulatus*. **Starch/Stärke**, v.37, n.1, p.6-9, 1985.

SRIROTH, K. et al. Cassava starch granule structure-function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.38, n.2, p.161-170, 1999.

SWINKELS, J. J. M. Composition and properties of commercial native starches. **Starke/Starch**, v.37, n.1, p.1-5, 1985.

TAKEDA, Y.; HIZUKURI, S. Structures of branched molecules of amylose of various origins, and molar fraction of branched and unbranched molecules. **Carbohydrate Research**, v.165, n.1, p.139-145, 1987.

TAKEDA, Y.; GUAN, H. P.; PREISS, J. Branching of amylose by the branching isoenzymes of maize endosperm. **Carbohydrate Research**, v.240, n.1, p.253-263, 1993.

TESTER, R. F. Starch: The polysaccharide fractions. In: FRAZIER, P. J.; RICHMOND, P.; DONALD, A. M. **Starch: Structure and Functionality**. London: Royal Society of Chemistry, 1997. p.163-171.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. **Cereal Chemistry**, v.67, p.551-557, 1990.

THOMAS, D. J., ATWELL, W. A. **Starches: Practical Guides for the Food Industry**. Minnesota: Eagan Press, 1999. 94p.

TSAI, M. L.; LI, C. F.; LII, C. Y. Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. **Cereal Chemistry**, v.74, n.6, p.750-757, 1997.

WANG, Y. J.; WHITE, P. Structure and properties of amylose, amylopectin, and intermediate materials of oat starches. **Cereal Chemistry**, v.71, p.263-268 1994.

WANG, Y. J. et al. Characterization of starch structures of 17 maize endosperm mutant genotypes with Oh43 inbred line background. **Cereal Chemistry**, v.70, n.2, p.171-179, 1993.

WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. Starch. In WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**. AACC. St Paul: Eagan Press, 1997. p. 117-151.

WONG, K. S.; JANE, J. Quantitative analysis of debranched amylopectin by HPAEC-PAD with a postcolumn enzyme reactor. **Journal of Liquid Chromatography e Related Technologies**, v.20, n.2, p.297-310, 1997.

YAMIN, F. F. et al. Thermal properties of starch in corn variants isolated after chemical mutagenesis of inbred line B73 (1). **Cereal Chemistry**, v.76, n.2, p.175-181, 1999.

YOO, S.; JANE, J. Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser-light scattering and refractive index detectors. **Carbohydrate Polymers**, v.49, n.3, p.307-314, 2002.

YOU, S.; IZYDORCZYK, M. S. Molecular characteristics of barley starches with variable amylose content. **Carbohydrate Polymers**, v.49, n.1, p.33-42, 2002.

YOU, S.; FIEDOROWICZ, M.; LIM, S. Molecular characterization of wheat amylopectins by multiangle laser light scattering analysis. **Cereal Research**, v.76, p.116-121, 1999.

YU, L.; CHRISTIE, G. Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v.46, n.2, p.179-184, 2001.

YUAN, R. C.; THOMPSON, D. B.; BOYER, C. D. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. **Cereal Chemistry**, v.70, p.81-89, 1993.

ZHANG, T.; OATES C. G. Relationship between  $\alpha$ -amylase degradation and physico-chemical properties of sweet potato starches. **Food Chemistry**, v.65, p.157-163, 1999.