

LUARA MIRELA KURACHI FERRINI

**“EFEITO DA MODIFICAÇÃO ÁCIDO- METANÓLICA NAS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FISICO-
QUÍMICAS DE AMIDOS DE MILHO E MANDIOCA”**

São José do Rio Preto – SP

Dezembro, 2006

LUARA MIRELA KURACHI FERRINI

Engenheira de Alimentos

**“EFEITO DA MODIFICAÇÃO ÁCIDO- METANÓLICA NAS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FISICO-
QUÍMICAS DE AMIDOS DE MILHO E MANDIOCA”**

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 obtenção do título de **Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.**

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

São José do Rio Preto, SP

Dezembro, 2006

Ferrini, Luara Mirela Kurachi Ferrini.

Efeito da modificação ácido-metanólica nas características estruturais e físico-químicas de amidos de milho e mandioca / Luara Mirela Kurachi Ferrini – São José do Rio Preto : [s.n.], 2007.

93 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Célia Maria Landi Franco

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Amido - Estrutura. 3. Amido - Características físico-químicas. 4. Amido de mandioca. 5. Amido de milho. 6. Ácido-metanólica – Modificação. I. Franco, Célia Maria Landi. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 664.2

LUARA MIRELA KURACHI FERRINI

**“EFEITO DA MODIFICAÇÃO ÁCIDO- METANÓLICA NAS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FISICO-
QUÍMICAS DE AMIDOS DE MILHO E MANDIOCA”**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Célia Maria Landi Franco – Universidade Estadual Paulista –
Campus de São José do Rio Preto, SP (Orientadora)

Prof. Dr. Cláudio Ernani Mendes da Silva – Universidade Federal do Ceará, CE
(Titular)

Prof. Dr. Maurício Boscolo – Universidade Estadual Paulista – Campus de São
José do Rio Preto, SP (Titular)

Prof. Dr. Ivo Mottim Demiate – Departamento de Engenharia de Alimentos –
Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR (Suplente)

Prof. Dra. Mieko Kimura – Universidade Estadual Paulista – Campus de São
José do Rio Preto, SP (Suplente)

São José do Rio Preto, 14 de dezembro de 2006.

**“O importante é aquilo que você aprende, depois que já sabe tudo”
(autor desconhecido)**

Dedico este trabalho à minha família, em especial aos meus pais, Kika e Shell e minhas irmãs, Lela e Lídia, pelo amor e compreensão em todo os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e luz em todos os momentos da minha vida;

À Prof. Dra. Célia Maria Landi Franco, pela oportunidade, paciência e dedicação na orientação deste trabalho;

Ao Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, por toda a infraestrutura e colaboração na realização deste projeto;

Aos professores integrantes da banca, Prof. Dr. Cláudio Ernani Mendes da Silva, Prof. Dr. Maurício Boscolo; Prof. Dr. Adjunto Ivo Mottim Demiate, Prof. Dra. Mieko Kimura

A todos os professores do curso de Pós graduação, pelo suporte e ensinamentos oferecidos durante o Curso de Mestrado;

Às amigas de laboratório Patrícia, Paula e Thaís que tanto me ajudaram nos momentos difíceis;

Ao técnico Newton, pela amizade e ajuda durante os experimentos;

Aos meus pais, Kika e Shell, pelo esforço e incentivo na minha formação;

Às minhas irmãs Lela e Lídia, pelo carinho e companheirismo;

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

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
RESUMO.....	XIII
<i>ABSTRACT</i>	XIV
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1. Introdução.....	6
3.2. Composição Química dos amidos	7
3.2.1. Amilose	8
3.2.2. Amilopectina	9
3.3. O Grânulo de Amido	10
3.3.1. Características Morfológicas	10
3.3.2. Características Estruturais	11
3.4. Propriedades Gerais do Amido	13
3.4.1. Gelatinização.....	13
3.4.2. Retrogradação	13
3.4.3. Propriedades de Pasta	14
3.4.4. Propriedades Térmicas	15
3.5. Modificação Ácida	17
3.6. Modificação Ácido-Alcoólica	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1. Materiais	22
4.2. Métodos.....	22
4.2.1. Caracterização dos amidos	22
4.2.1.1. Teor de Umidade	22
4.2.1.2. Teor de Proteína	23
4.2.1.3. Teor de Minerais	23
4.2.1.4. Teor de Lipídios	23
4.2.2. Modificação Ácido-alcoólica dos Amidos de Milho e Mandioca	23
4.2.3. Solubilidade	24

4.2.4. Microscopia de Luz Normal e Polarizada e Distribuição dos Tamanhos dos Grânulos.....	24
4.2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia dos Grânulos	24
4.2.6. Difração de Raio-X.....	25
4.2.7. Teor de Amilose.....	25
4.2.8. Distribuição do Tamanho Molecular dos Componentes do Amido.....	26
4.2.9. Viscosidade Intrínseca.....	27
4.2.10. Propriedades de Pasta	28
4.2.11. Propriedades Térmicas.....	28
4.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5.1. Caracterização dos amidos	29
5.2. Porcentagem de Recuperação dos amidos modificados.....	29
5.3. Solubilidade	31
5.4. Microscopia Óptica de Luz Normal, Polarizada e Distribuição dos Tamanhos dos Grânulos.....	34
5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia dos Grânulos	43
5.6. Difração de Raio-X.....	47
5.7. Teor de Amilose.....	51
5.8. Distribuição do Peso Molecular dos Componentes do Amido	53
5.9. Viscosidade Intrínseca.....	55
5.10. Propriedades de Pasta	58
5.11. Propriedades Térmicas.....	63
6. CONCLUSÕES	65
7. SUGESTÕES DE TRABALHO.....	66
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização de amidos de milho e mandioca	29
Tabela 1 – Rendimento dos amidos de milho e mandioca modificados por tratamento ácido-metanólico	30
Tabela 3 – Solubilidade a 65, 75, 85 e 95°C dos amidos de milho e mandioca naturais e modificados por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas.....	32
Tabela 4 – Tamanhos médio dos grânulos de amidos de milho e mandioca nativos e modificados por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas	40
Tabela 5 – Intensidade dos principais picos dos difratogramas de raios-X e Índice de cristalinidade dos amidos naturais e modificados dos amidos de milho e mandioca	48
Tabela 6 – Teor de amilose dos amidos de milho e mandioca naturais e modificados	52
Tabela 7 – Viscosidade Intrínseca de amidos de milho e mandioca naturais e modificados	55
Tabela 8 – Propriedades de pasta dos amidos de milho e mandioca naturais e modificados	612
Tabela 9 – Propriedades térmicas dos amidos de milho e mandioca naturais e modificados	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da amilose	8
Figura 2 – Estrutura química da amilopectina	10
Figura 3 – Solubilidade dos amidos de milho nativo e após modificação ácido- metanólica	33
Figura 4 – Solubilidade dos amidos de mandioca nativo e após modificação ácido-metanólica	33
Figura 5 – Micrografias dos amidos de milho, observados em microscópio óptico comum sob luz Normal	36
Figura 6 – Micrografias dos amidos de mandioca, observados em microscópio óptico comum sob luz normal	37
Figura 7 – Micrografias dos amidos de milho, observados em microscópio óptico comum sob luz polarizada	38
Figura 8 – Micrografias dos amidos de mandioca, observados em microscópio óptico comum sob luz polarizada	39
Figura 9 – Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de milho	41
Figura 10 – Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de mandioca	42
Figura 11 – Grânulos de amido de milho observados ao microscópio eletrônico de varredura, com aumento de 3500X.....	45
Figura 12 – Grânulos de amido de mandioca observados ao microscópio eletrônico de varredura, com aumento de 3500X	46
Figura 13 – Difrátogramas de amidos de milho nativo e submetidos à modificação ácido-metanólica.....	49
Figura 14 – Difrátogramas de amidos de mandioca nativo e submetidos à modificação ácido-metanólica.....	50
Figura 15 – Cromatogramas de alta performance de exclusão de tamanho de amidos de milho nativo e modificados com HCl-metanol por 1, 3, 5 e 8 horas	54
Figura 16 – Cromatogramas de alta performance de exclusão de tamanho de amidos de mandioca nativo e modificados com HCl-metanol por 1, 3, 5 e 8 horas	54

Figura 17 – Viscosidade intrínseca dos amidos de milho nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas.....	57
Figura 18 – Viscosidade intrínseca dos amidos de mandioca nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas.....	57
Figura 19 – Perfil Viscoamilográfico dos amidos de milho nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas.....	62
Figura 20 – Perfil Viscoamilográfico dos amidos de mandioca nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas.....	62

RESUMO

Modificações de amidos têm como objetivo melhorar suas características tecnológicas e estender sua utilização industrial e comercial. Amidos modificados por ácido podem ser usados na produção de confeitos, como substitutos de gordura e na indústria farmacêutica. O rendimento do amido ácido-modificado diminui quanto maior a concentração de ácido e tempo de reação. Maiores conversões de amido com menor produção de dextrinas de baixo peso molecular podem ser obtidas a partir do tratamento do amido com ácido na presença de álcool anidro. Neste trabalho, amidos de milho e mandioca foram modificados através da ação ácido-metanólica (0,36% HCl em metanol anidro) por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas a 54 °C. Os amidos modificados foram analisados quanto às suas características físico-químicas, estruturais e morfológicas. A porcentagem de recuperação dos amidos foi determinada e a solubilidade dos mesmos calculada nas temperaturas de 65,0, 75,0, 85,0 e 95,0 °C. A distribuição do tamanho dos grânulos foi determinada usando microscópio óptico acoplado a sistema de imagem. Análises de microscopia eletrônica de varredura e difração de raios-X foram realizadas. O teor de amilose foi determinado a partir de método colorimétrico. A viscosidade intrínseca foi determinada usando-se viscosímetro Cannon Fenske nº 50. A distribuição do peso molecular dos amidos foi determinada por Cromatografia de Exclusão por Tamanho de Alta Performance (HPSEC). As propriedades térmicas e de pasta foram analisadas através de Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC) e Rápido Visco Analisador (RVA), respectivamente. O rendimento médio foi de 97 e 96% para os amidos de milho e mandioca, respectivamente, sendo que não houve diferença significativa entre os rendimentos obtidos para amidos tratados em diferentes tempos de reação. A solubilidade dos amidos aumentou com a temperatura e a partir de 1,0 hora de tratamento atingiu valores tão altos quanto 86 e 94% a 95 °C para o amido de milho e mandioca, respectivamente. O tamanho médio dos grânulos de amido de mandioca modificados diminuiu com o aumento do tempo de reação chegando a 9,9 µm para 8 horas de reação em relação a 11,6 para o amido nativo. No caso do amido de milho a redução da média dos tamanhos dos

grânulos foi mais sutil, sendo de 11,8 para 11,2 para amido nativo e tratado, respectivamente. A partir da microscopia eletrônica de varredura, não foi possível observar mudanças na morfologia dos grânulos, entretanto as superfícies de muitos grânulos apresentaram-se esfoliadas e ásperas sugerindo exocorrosão das mesmas. Com relação à difração de raio-X, houve aumento da intensidade dos picos e aumento gradativo do índice de cristalinidade, quanto maior o tempo de tratamento ácido-metanólico. A redução no peso molecular da amilopectina foi observada em ambas fontes de amido quanto maior o tempo de tratamento. O teor de amilose diminuiu com o aumento do tempo de modificação e as viscosidades intrínsecas diminuíram, sendo que para o amido de mandioca houve redução de 2,36 para 0,21 com 8 horas de tratamento; para o amido de milho a redução foi de 1,85 para 0,04, nas mesmas condições. As temperaturas de gelatinização e entalpia bem como a faixa de temperatura de gelatinização aumentaram com o aumento do tempo de tratamento. As viscosidades de pasta dos amidos tratados com ácido-metanol foram menores que as observadas para o amido nativo, quanto maior foi o tempo de reação, principalmente para o amido de mandioca.

Palavras-chaves: mandioca, milho, amido, modificação ácido-metanólica.

ABSTRACT

Starch modifications have the purpose of improving their technological characteristics and extend their industrial and commercial uses. Modified starches by acid can be used in confectionary production, synthesizing fat replacements and pharmaceutical industry. As the acid concentration and reaction time increase, the yield of acid-modified starch decreases. The maximum conversion of starch with minimal production of low molecular weight dextrins can be obtained by treatment of starch with acid in the presence of anhydrous alcohol. In this work, corn and cassava starch were modified by the methanolic acid action (0,36% HCl in anhydrous methanol) for 1, 3, 5 and 8 hours at 54°C. The modified starch's physical-chemical properties, structure and morphological characteristics were analysed. The percentage of the starch recovery was determined and the solubility was calculated in the 65, 75, 85 and 95°C temperatures. The size distribution of granules was determined using an optic microscope with an imaging system. Scanning electron microscope analysis and X-ray diffraction were also performed. The amylose content was determined by the colorimetric method. The intrinsic viscosity was determined using Cannon Fenske viscosimeter nº 50. The molecular weight distribution of starch was determined by High Performance Size Exclusion Chromatography (HPSEC). The thermal and pasting properties were analysed by Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Rapid Visco-Analyser (RVA). The average yield was 97 and 96% for the corn and cassava starch, respectively, with no significant variation in yields for different reaction times. The solubility of the starches increased with the temperature and after 1 hour of hydrolysis, reached high values such as 86% (corn) and 94% (cassava) at 95°C. The average size of the cassava starch granules decreased with the increase in reaction time, reaching 9,9 µm (in 8 hours of reaction) compared to 11,6 µm in the native starch. In the corn starch, the reaction was more subtle, resulting in 11,2 µm compared to 11,8 µm for the native. Using a Scanning Electron Microscope, it was impossible to notice any changes in the granule morphology. However, the surfaces were rough and exfoliated, suggesting exocorrosion. In the X-ray diffraction, when the time in acid-methanolic hydrolysis increased, the peaks were accentuated while the cristallinity index grew gradually. The reduction in

molecular weight of amylopectin was observed in both starches as treatment time increased. Both the amylose content and intrinsic viscosity decreased with longer treatment periods. For the cassava, viscosity decreased from 2,36 to 0,21 with 8 hours of treatment; for the corn, the reduction was 1,85 to 0,04, in the same conditions. The gelatinization temperatures and enthalpy, as well as the temperature range of gelatinization increased with treatment time. The pasting viscosities of starches treated in acid-methanol were lower than those in native starches as the reaction time increased, especially with the cassava starch.

Key-words: cassava, corn, starch, acid-methanolic modification

1. INTRODUÇÃO

O amido é um importante ingrediente de vários alimentos processados e tem muitas aplicações industriais. Pode ser utilizado “in natura” ou pode, através de processamentos adicionais, fornecer produtos como amidos modificados, etanol e diversos xaropes que são empregados em vários segmentos industriais tais como, o de siderurgia, o têxtil, o de papel e o alimentício (ELLIS *et al.*, 1998), sendo este último seu maior consumidor (ALVEZ; GROSSMANN; SILVA, 1999).

Quando novos produtos são desenvolvidos, amidos com propriedades específicas podem ser utilizados para conferir a funcionalidade desejável ao alimento, pois as aplicações industriais dos amidos são limitadas quando estes estão na sua forma não modificada. As modificações de amido são realizadas, portanto, com o objetivo de estender suas possibilidades de uso e seu valor agregado.

No Brasil, ao contrário dos Estados Unidos, Europa e Japão, o consumo de amidos modificados no setor alimentício ainda é pequeno. O emprego destes amidos depende da modernização da economia, com a produção de pratos prontos, de conservas e de congelados. Com o crescimento da venda destes produtos, o setor alimentício vai necessitar cada vez mais de amidos modificados ou de amidos nativos com características específicas (CEREDA, 2001).

Os amidos podem ser modificados por via química, física, enzimática ou genética. As modificações químicas são as mais utilizadas devido a sua versatilidade, permitindo a obtenção de diversas propriedades necessárias a determinados processos (SILVA *et al.*, 2003).

Os amidos ácido modificados são produzidos comercialmente pela adição controlada de ácido clorídrico (HCl) ou ácido sulfúrico (H₂SO₄) em uma suspensão aquosa de amido sob agitação, em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização típica do amido (25 – 55 °C), até alcançar o apropriado grau de modificação, com a finalidade de produzir “amido solúvel”. O objetivo principal da modificação ácida é reduzir a viscosidade a quente da pasta de amido, para que maiores concentrações possam ser dispersas sem

viscosidade excessiva (JAYAKODY; HOOVER, 2002; THOMAS; ATWELL, 1999).

Esses amidos também conhecidos como “thin-boiling” são muito usados na indústria de confeitos. No processo de fabricação de bala de goma, a baixa viscosidade da pasta possibilita a concentração do açúcar e um cozimento mais eficiente sem dificuldades de bombeamento e deposição nos moldes (ZALLIE, 2005). Algumas aplicações interessantes dos amidos modificados por ácido vêm sendo estudadas tais como: substitutos de gorduras (BORTOLO, 1998; CASTRO, 2000; ZAMBRANO; CAMARGO, 1999a; ZAMBRANO; CAMARGO, 1999b; ZAMBRANO; CAMARGO, 2001) e preenchimento de comprimidos na indústria farmacêutica (ATICHOKUDOMCHAI; SHOBSNGOB; VARAVINIT, 2000; ATICHOKUDOMCHAI; VARAVITNIT; CHINACHOTI, 2002).

Embora a viscosidade e as propriedades de fluidez do amido modificado por ácido variem com as condições usadas durante a modificação, o rendimento do amido modificado diminui com o aumento da concentração do ácido e do tempo de hidrólise. Para obtenção da máxima conversão de amido nativo em amido solúvel, com mínima produção de dextrinas de baixo peso molecular, Small (1919 citado por CHANG; LIN; LII, 2004; LIN; LII; CHANG, 2005), propôs um método em que os grânulos de amido são refluxados, por períodos de 6-15 minutos, em 95% de etanol contendo 0,2-1,6% (p/v) de HCl.

Muitos trabalhos relataram a modificação ácido-alcoólica em amidos de milho, milho ceroso e batata estudando desde a morfologia até suas propriedades funcionais. No entanto, não foi encontrado na literatura nenhum trabalho semelhante com amido de mandioca.

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 80% (FRANCO *et al.*, 2001). Atualmente as fontes comerciais de amido são cinco: milho, mandioca, batata, arroz e trigo, sendo que os quatro primeiros são de origem tropical (CEREDA, 2001).

Dentre as culturas tropicais mais comuns a que merece maior destaque é a mandioca, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial (CEREDA,

2001; LEONEL e CEREDA, 2002). O mercado brasileiro de amido de mandioca movimentou a cifra de R\$ 573,3 milhões em 2004, quando o parque industrial brasileiro atingiu a produção de 395,4 mil toneladas, apesar das condições adversas, especificamente de falta de matéria prima e de preços médios altos na maior parte do ano. Diante desses aspectos, a produção em 2005 foi de 547 toneladas, observando-se um acréscimo de 38% sobre a produção de 2004. Do total comercializado pelas empresas, 67,7% são de amido natural e 32,3% de amido modificado (ABAM, 2006).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho e primeiro do Mercosul. A previsão de área colhida de milho para 2006 é de 13.109 hectares, resultando numa possível safra de 41,3 milhões de toneladas. Deste total, 4,3 milhões de toneladas destinar-se-ão à indústria moageira, dos quais 30% para a moagem úmida (ABIMILHO, 2006), principal processo de produção de amido de milho (SINGH *et al.*, 1997).

Zambrano e Camargo (1999b) relataram que recentes estudos indicam características de competitividade entre o amido de mandioca e o amido de milho, pois as etapas de extração e processamento do amido de mandioca são mais simples e baratas, além de não necessitar de pré-condicionamento para sua extração. De acordo com estes autores e Moorthy (2001), a preferência do amido de mandioca se justifica pelo seu baixo teor de proteínas e lipídios e principalmente pela formação de pasta de cor clara e sabor neutro. Segundo o Instituto de Economia Agrícola (IEA, 2005), a indústria de fécula de mandioca vem se tornando mais competitiva relativamente ao amido de milho, em decorrência do aumento da produção e da melhor qualidade da fécula modificada, mais adaptada às exigências dos diversos segmentos da demanda.

Segundo Jayakody e Hoover (2002), nenhuma pesquisa recente explica em detalhes as propriedades (inchamento granular, conteúdo de amilose, parâmetros de DSC, cristalinidade relativa e modelos de raio-X) do amido de mandioca modificado por ácido. Também relatam que há pouca informação sobre as mudanças na superfície granular durante o tempo de curso da modificação ácida. Além disso, nos últimos dez anos, as pesquisas têm sido focadas particularmente no comportamento de grânulos de amido submetidos à

modificação enzimática (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997) e menos nos grânulos submetidos à modificação ácida (ATICHOKUDOMCHAI; SHOBSNGOB; VARAVINIT, 2000).

2. OBJETIVOS

- Estudar a estrutura e as propriedades físico-químicas e funcionais de amidos de milho e mandioca submetidos à hidrólise ácido-metanólica.
- Verificar a influência do tempo (1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas) na modificação de tais amidos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Introdução

O amido é um polímero de elevado peso molecular e fornece de 70,0 a 80,0% das calorias consumidas pelo homem em todo mundo (CEREDA *et al.*, 2001). Além de ser facilmente convertido em muitas substâncias por processos químicos e bioquímicos, possui papel importante em vários campos da vida do homem (HIZUKURI *et al.*, 1997).

Comercialmente os amidos podem ser extraídos dos cereais (milho), de raízes (mandioca) e tubérculos (batata), sendo que os grânulos dessas diferentes fontes vão variar na composição, forma e tamanho. Como exemplo, os amidos de cereais são menores e contêm mais resíduos de proteínas e lipídios que os amidos de raízes e tubérculos (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996). Os amidos apresentam características físicas e químicas e qualidade nutricional superiores, quando comparados com outros carboidratos (WHISTLER; BeMILLER, 1997), e suas características físico-químicas e funcionais estão diretamente relacionadas às propriedades estruturais do grânulo, as quais dependem da fonte botânica, local e condições de crescimento, entre outros fatores (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; SLATERRY; KAVAKLY; OKITA, 2000).

Pode ser usado como espessante em formulações alimentícias e como adoçante na fabricação de bebidas em geral, além de ser adicionado como ingrediente em muitos produtos como sopas instantâneas, balas, pudins. Pode ser utilizado como ligantes em embutidos 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 na indústria de papel e têxtil (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; SLATERRY; KAVAKLY; OKITA, 2000; FRANCO *et al.*, 2001; LEONEL; CEREDA, 2002).

A presença de pequenas quantidades desse material pode ligar grande quantidade de água, trazendo alterações desejáveis na textura de produtos alimentícios. Amidos de cereais, tubérculos e raízes são amplamente utilizados na indústria alimentícia como estabilizantes ou modificadores de textura.

Particularmente são ingredientes atrativos, pois são naturais e seguros (MISHRA; RAI, 2005).

3.2. Composição Química dos amidos

O amido é um polissacarídeo formado unicamente de resíduos de α -D-glicose, unidos por ligações glicosídicas (BULEON *et al.*, 1998). Ocorre naturalmente na forma de partículas discretas, denominados de grânulos, compostos por uma mistura de dois polímeros: um polissacarídeo linear chamado amilose e um polissacarídeo altamente ramificado denominado amilopectina, em proporções que variam com a espécie e o grau de maturação da planta (WHISTLER; BeMILLER, 1997).

A maioria dos amidos contém 20-30% de amilose e 70-80% de amilopectina. Existem amidos que são constituídos quase que integralmente por amilopectina, denominados amidos “cerosos”, e algumas variedades de milho que apresentam altos teores de amilose como 50 e 70% (WHISTLER; BeMILLER, 1997).

O amido é o maior polissacarídeo presente nas plantas encontrado dentro das células vegetais. É semicristalino, com regiões cristalinas associadas à amilopectina e regiões amorfas, à amilose (ZOBEL, 1988; SINGH *et al.*, 2003).

Dentro dos grânulos, a alternância do agrupamento das macromoléculas em cachos semi-cristalinos e anéis de crescimento amorfos não ocorre de maneira uniforme (CHUNG; LAI, 2005). A região central do grânulo de amido ao redor do hilum é considerada menos organizada (HUBER; BeMILLER, 2001; GRAY; BeMILLER, 2004) e o arranjo molecular das cadeias externas do grânulo também parecem ser diferentes da porção interna (ZIEGLER; CREEK; RUNT, 2005).

De acordo com Chung e Lai (2005), considerando a heterogeneidade dentro do grânulo, as modificações químicas são influenciadas pela arquitetura do grânulo, incluindo o modo de empacotamento das cadeias dentro dele, a existência de cavidade central e o número de canais e poros na superfície, relacionados à origem da planta.

3.2.1. Amilose

A amilose é considerada um polímero linear formado por unidades de D-glicose, unidas entre si por ligações glicosídicas α (1 $\rightarrow$ 4), como apresentado na Figura 1. O grau de polimerização (DP) está usualmente na faixa de 500-6000 unidades de glicose. Somente poucas ligações α (1 $\rightarrow$ 6) estão presentes, correspondendo de 09 a 20 pontos de ramificação (JACOBS; DELCOUR, 1998; BULÉON *et al.*, 1998; AHMAD *et al.*, 1999; HOOVER, 2001).

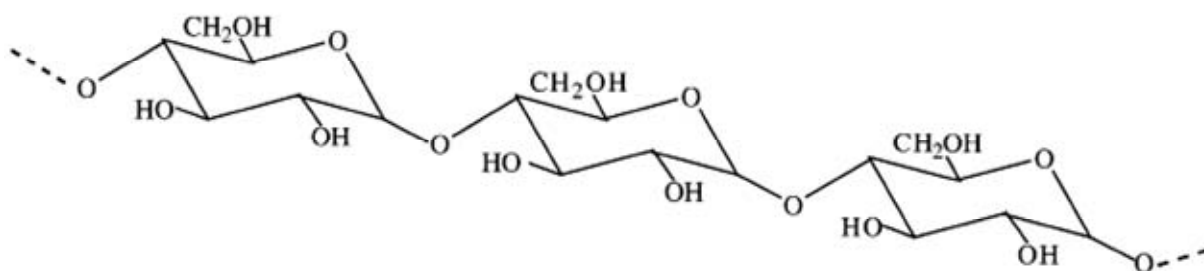


Figura 1 - Estrutura química da amilose

Fonte: MURALIKRISHNA; NIRMALA, 2005

A amilose possui facilidade para adquirir uma conformação helicoidal, pois as cadeias de α -D-glicose costumam enrolar-se em espiral, formando uma estrutura na qual a hélice é formada por pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxilas das moléculas. O interior da α -hélice contém somente átomos de hidrogênio (lipofílico) enquanto os grupos hidroxilas posicionam-se no lado externo da mesma. A hélice consiste em média de 6 resíduos de glicose por volta (0,8nm) e uma cavidade hidrofóbica com diâmetro de 0,5nm (HOOVER, 2001).

Segundo Buléon *et al.* (1998), as ramificações que se apresentam na molécula de amilose são separadas por grandes distâncias, permitindo a estas moléculas agirem como se fossem essencialmente lineares, não alterando significativamente algumas de suas propriedades como peso molecular e a capacidade de se complexar com o iodo, álcoois ou lipídios.

O conteúdo de amilose dos grânulos de amido varia de acordo com a fonte botânica e é afetado pelas condições climáticas e do solo durante o crescimento. A quantidade de amilose no milho varia de 22,4 a 32,5% (MORRISON; MILLIGAN; AZUDIN, 1984). E, segundo Defloor, Dehing, Delcour (1998), a quantidade de amilose para o amido de mandioca fica na faixa de 18,6 a 23,6%.

3.2.2. Amilopectina

A amilopectina é uma molécula muito grande e altamente ramificada que possui as maiores massas moleculares conhecidas entre os polímeros de ocorrência natural, com peso molecular da ordem de 10^7 - 10^9 Da (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000). É formada por várias cadeias constituídas de 20-25 unidades de α -D-glicose ligadas em α (1 $\rightarrow$ 4); essas cadeias, por sua vez, estão unidas entre si por ligações α (1 $\rightarrow$ 6), constituindo de 4-5% do total de ligações glicosídicas (Figura 2) (WHISTLER; BeMILLER, 1997; BULÉON *et al.*, 1998; FRANCO *et al.*, 2001; HOOVER, 2001).

As ligações ramificadas da amilopectina formam duplas hélices que são arranjadas em domínios cristalinos (SARKO; WU, 1978). A ordem molecular no grânulo de amido consiste em dois tipos de hélices das cadeias laterais (ATICHOKUDOMCHAI; VARAVITNIT; CHINACHOTI, 2002). Hélices que são empacotadas em disposições irregulares formam domínios cristalinos, que podem ser medidos por Difração de Raio-X e hélices fora da região cristalina não detectadas por Difração de Raio-X, mas podem ser medidas por Ressonância Magnética Nuclear (^{13}C CP/MAS NMR) (GIDLEY; BOCIEK, 1985).

Hizukuri (1986) e Kobayashi, Schwartz, Lineback (1986) têm mostrado que a molécula de amilopectina contém várias distribuições de cadeias (A, B, C) que diferem em seus comprimentos. As cadeias A (desramificadas) são ligadas às cadeias B e não se ligam a nenhuma outra cadeia; as cadeias B ligam-se a uma ou mais cadeias A e/ou cadeias B; e as cadeias C, que carregam o grupo redutor da molécula. Amilopectinas de tuberosas contém

poucas cadeias curtas e mais cadeias longas do que as amilopectinas de cereais (HIZUKURI, 1985; HIZUKURI, 1986).

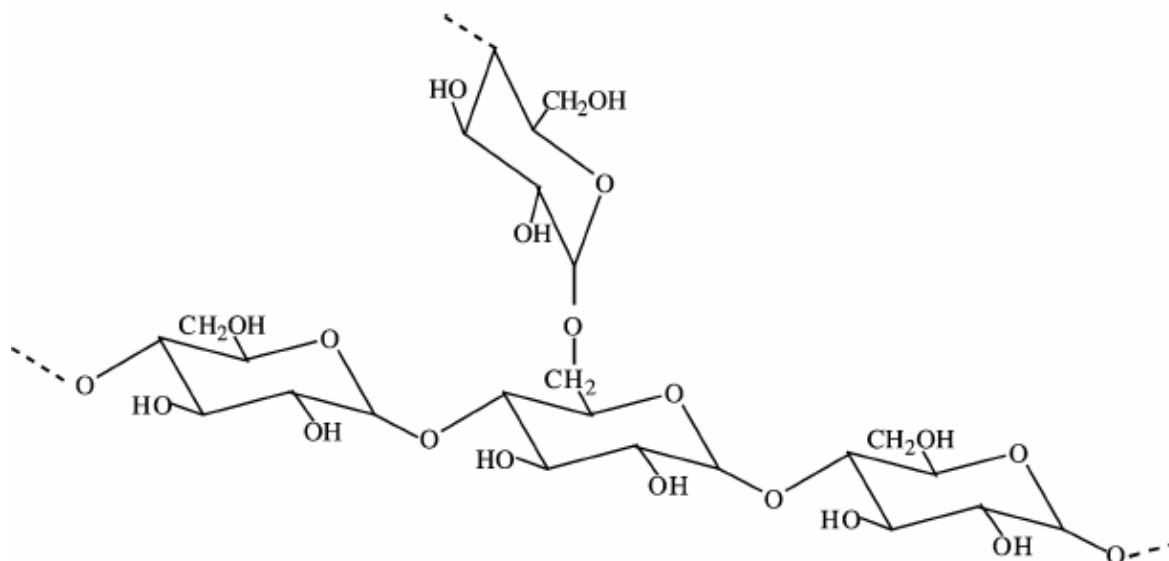


Figura 2 - Estrutura química da amilopectina

Fonte: MURALIKRISHNA; NIRMALA, 2005

3.3. O Grânulo de Amido

3.3.1. Características Morfológicas

Características morfológicas dos amidos de diferentes fontes botânicas variam de acordo com práticas genéticas e culturais e a variação no tamanho e na forma dos grânulos de amido é atribuída à origem botânica (SVEGMARK; HERMANSSON, 1993). A morfologia dos grânulos de amido depende da bioquímica dos cloroplastos ou amiloplastos, assim como da fisiologia da planta (BADENHUIZEN, 1969).

Os amidos de diferentes fontes botânicas apresentam grânulos de forma e tamanho distintos, além de outras particularidades superficiais, como posição do hilum e temperatura de gelatinização (FRANCO *et al.*, 2001). O amido de mandioca, uma vez purificado e examinado ao microscópio, apresenta grânulos

de diâmetros que variam de 8 a 22 μm . Já as formas encontradas para este amido variam de redonda, oval, truncada, poligonal e cilíndrica, de acordo com Rickard, Asaoka, Blanshard (1991). A superfície do grânulo apresenta-se lisa, sem presença de poros (ATICHOKUDOMCHAI; SHOBSNGOB; VARAVINIT, 2000) e os hilos, centrais ou subcentrais apresentam eventualmente pequenas rachaduras (ZAMBRANO; CAMARGO, 2001). O amido de milho nativo apresenta grânulos com formas esféricas irregulares e diâmetros que variam de 7 a 18 μm ; somente alguns grânulos apresentam poros em sua superfície (JAYAKODY; HOOVER, 2002). Os poros na superfície de grânulos de amido de milho são abertos por canais que penetram em sentido radial através do grânulo (HUBER; BeMILLER, 1997). Os hilos são centrados e usualmente fissurados, sem estrias (TRUBELL, 1944).

Informações sobre a estrutura dos grânulos de amido têm sido obtidas usando uma combinação de técnicas microscópicas. A escolha da técnica e do microscópio, para uma visualização de alta resolução da estrutura dos grânulos de amido depende do tipo de informação requerida, ou seja, superfície ou estrutura interna. Informações sobre a superfície dos grânulos podem ser conseguidas, tanto com a microscopia eletrônica de varredura (SEM), como por microscopia de força atômica (AFM). Já informações sobre estrutura interna requerem o uso da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997).

3.3.2. Características Estruturais

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

De acordo com Cui e Oates (1999) e Parker e Ring (2001), os grânulos estão organizados em regiões cristalinas e amorfas, sendo a transição entre estas gradual. Estudos mostram que a amilopectina é a responsável pela cristalinidade do amido, não existindo evidências de que a amilose participe destas 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 (SERRANO, 2004).

Segundo estudos realizados por Gallant *et al.* (1982) e Hoover (2001), a constituição estrutural das regiões amorfas e cristalinas do grânulo de amido pode ser estudada por Difractometria de Raios-X, sendo este método o melhor para investigação das regiões cristalinas. Por este método, o grânulo de amido pode ser dividido em dois grupos: no primeiro encontram-se os amidos de cereais, produzindo um padrão de raio-X tipo A que são constituídos de duplas hélices dispostas em arranjo monocíclico. No segundo grupo estão presentes os amidos de tubérculos e raízes tropicais produzindo padrões de raio-X do 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.*, 2000; PARKER; RING, 2001; CROCHET *et al.*, 2005). Já os amidos de legumes apresentam um padrão tipo C, que segundo Gallant *et al.* (1992), pode ser formado pela mistura de grânulos com padrões cristalográficos A e com padrão cristalográfico B; ou ainda existe a possibilidade da coexistência, internamente nos grânulos, dos dois padrões citados. Os modelos A, B, C são formas poliméricas do amido que diferem no empacotamento das duplas hélices de amilopectinas (SINGH *et al.*, 2003).

Segundo Jane, Wong, Mcpherson (1997), nos amidos do tipo A, as ligações ramificadas α (1 $\rightarrow$ 6) estão localizadas dentro das regiões cristalinas e amorfas, enquanto que nos de tipo B, estas ligações estão localizadas somente dentro da área amorfa. Os autores também mostraram que ligações ramificadas dentro da área cristalina são protegidas contra hidrólise ácida.

Muito do que é conhecido sobre a estrutura interna do grânulo de amido é o resultado das avaliações microscópicas de grânulos parcialmente degradados. Comparados com áreas cristalinas, as áreas amorfas dos grânulos são geralmente degradadas mais facilmente por enzimas, como a α -amilase (THOMAS; ATWELL, 1999) e ácidos (JAYAKODY; HOOVER, 2002 e ATICHOKUDOMCHAI; VARAVITNIT; CHINACHOTI, 2002). Nas regiões amorfas, as cadeias poliméricas estão menos ordenadas e, portanto, mais susceptíveis ao ataque ácido ou enzimático (GALLIARD; BOWLER, 1987).

3.4. Propriedades Gerais do Amido

3.4.1. Gelatinização

Durante o aquecimento do amido em excesso de água, as pontes de hidrogênio mais fracas nas regiões amorfas do grânulo são rompidas e este absorve água resultando em seu entumescimento. As áreas mais ordenadas permanecem intactas mantendo a estrutura do grânulo. A birrefringência é perdida e o grânulo continua inchando e absorvendo água, com conseqüente aumento de viscosidade. As moléculas de amilose são solubilizadas e passam para a solução. Se nesta etapa houver aplicação de atrito, os grânulos se rompem e uma pasta é formada. Este fenômeno é chamado de gelatinização e, de acordo com Atwell *et al.* (1988), é definida como o colapso da ordem molecular dentro do grânulo de amido, manifestada através de mudanças irreversíveis em propriedades como inchaço granular, fusão de cristais, perda da birrefringência e solubilização do amido.

A gelatinização começa no hilum do grânulo e segue rapidamente para a periferia. Ocorre inicialmente na região amorfa do grânulo porque as pontes de hidrogênio são enfraquecidas nesta área (KIM *et al.*, 1995)

Tester (1997) postulou que a intensidade da perfeição cristalina é refletida na temperatura de gelatinização. As propriedades de gelatinização e inchamento são controladas em parte: pela estrutura molecular da amilopectina (comprimento de cadeias unitárias, extensão da ramificação e peso molecular), composição do amido (proporção entre amilose e amilopectina) e arquitetura do grânulo (proporção entre região amorfa e cristalina).

3.4.2. Retrogradação

As interações moleculares (principalmente pontes de hidrogênio entre cadeias de amido) que ocorrem após a gelatinização com o resfriamento

podem ser chamadas de retrogradação. Estas interações são dependentes do tempo e da temperatura (HOOVER, 2001).

Durante a retrogradação, a amilose forma associações de dupla hélice de 40-70 unidades de glicose (JANE; ROBIT, 1984) enquanto que a cristalização da amilopectina ocorre pela associação de pequenas ramificações externas (RINGH *et al.*, 1987).

Entalpias de amidos retrogradados são usualmente 60-80% menores do que entalpias de gelatinização e as temperaturas de transição na retrogradação são 10-26 °C menores do que aquelas para gelatinização dos grânulos de amido (YUAN; THOMPSON; BOYER, 1993). Amidos retrogradados mostram menores temperaturas de gelatinização e entalpia do que amido nativos porque têm cristalinidade mais fraca (SASAKI; YASUI ; MATSUKI, 2000).

3.4.3. Propriedades de Pasta

As mudanças que ocorrem nos grânulos de amido durante a gelatinização e retrogradação são os principais determinantes do comportamento de pasta desses amidos. Essas transições de pasta têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido usando equipamentos como o Viscoamilógrafo Brabender e mais recentemente, o Rápido Visco Analisador (RVA). Este último está se tornando mais popular para análise das propriedades de pasta em função das menores quantidades de amostra utilizada, além do curto tempo de análise (25-30 minutos em relação a 45-90 minutos do viscoamilógrafo (THOMAS; ATWELL, 1999), durabilidade e facilidade de operação do equipamento e versatilidade dos procedimentos de teste (SERRANO, 2004).

Comportamento das propriedades de pasta em sistemas aquosos dependem de características físicas e químicas dos grânulos de amido, tais como tamanho do grânulo, distribuição do tamanho do grânulo, proporção de amilose/amilopectina e conteúdo mineral (MADSEN; CHRISTENSEN, 1996).

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 dos reagentes ou processos que modificam os amidos sobre as suas propriedades de pasta (PERONI, 2003).

O amido de mandioca natural, estudado por Rickard, Asaoka e Blanshard (1991), mostrou alto grau de inchamento, resultando em alto pico de viscosidade seguido de rápida quebra do gel. Durante o período de resfriamento, sua consistência aumenta muito pouco, indicando baixo potencial para formação do gel. A tendência à 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 sua baixa tendência à retrogradação pode ser devido à massa molecular destas moléculas.

3.4.4. Propriedades Térmicas

Segundo Jenkins (1994), a transição de ordem/desordem que ocorre no aquecimento de suspensões aquosas de grânulos de amido tem sido extensivamente investigada pelo uso de um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC).

O DSC mede as entalpias de transição que ocorrem com os grânulos na gelatinização e suas respectivas temperatura inicial (T_0), pico (T_p) e final (T_f) e de fusão do complexo formado com os lipídios. Noda *et al.* (1998) postularam que os parâmetros de DSC (T_0 , T_p , T_f e ΔH) são influenciados pela arquitetura molecular da região cristalina, que corresponde à distribuição das cadeias curtas de amilopectina (DP 6-11) e não pela proporção da região cristalina que corresponde a proporção de amilose/amilopectina.

Comparando com grânulos de amido do tipo-A, grânulos de amido do tipo-B iniciam a gelatinização a T_0 mais baixa, porém com altas T_p e T_c (Seib, 1994). Os tipo-A têm valores de ΔH_{gel} mais altos do que os do tipo-B (SINGH *et al.*, 2003).

Entalpia de gelatinização (ΔH) reflete a perda da ordem molecular (duplas hélices) e não necessariamente a perda do domínio cristalino (COOKIE; GIDLEY, 1992). As diferenças de ΔH entre diferentes amidos nativos reflete a interação de uma variedade de fatores: (1) diferenças no comprimento das cadeias longas de amilopectina, pois uma grande quantidade de energia é requerida para gelatinizar cristais de cadeias longas; (2) interação de lipídios livres com amilose durante a gelatinização que é um processo exotérmico. O processo endotérmico é determinada pelo DSC e a energia (ΔH) requerida para formar esta endoterma é menor quando lipídios livres estão presentes no sistema água-amido.

Garcia *et al.* (1996) estudaram as transições térmicas de amidos de mandioca linterizados em excesso de água e encontraram que a endoterma de gelatinização aparece acima e com mais larga faixa de temperatura. A temperatura inicial e temperatura de pico se tornam mais altas quando comparado com endotermas de amido nativo. A explicação para o aumento das temperaturas inicial e de pico é o seguinte: desde que a modificação preferencialmente ataca a região amorfa do grânulo, os cristais são rompidos e logo desestabilizados nas partes amorfas. Conseqüentemente, os cristais do amido modificado fundem à temperatura mais alta e a faixa de temperatura fica mais larga.

Segundo Perera *et al.* (2001), as temperaturas de gelatinização parecem estar associados ao conteúdo de amilose parcialmente hidrolisada. No primeiro estágio da modificação, muitas das amiloses parcialmente hidrolisadas permanecem no grânulo. Estas poderiam retrogradar ou interagir com as dextrinas e aumentar a temperatura de gelatinização. Isto pode ser verificado pelo aumento da entalpia, que primariamente reflete a perda da ordem molecular (COOKIE; GIDLEY, 1992) no primeiro estágio do tratamento (ATICHOKUDOMCHAI; VARAVITNIT; CHINACHOTI, 2002).

A modificação ácida causa deslocamento do perfil de distribuição dos comprimentos de cadeia: menos cadeias longas e mais cadeias curtas (JANE; WONG; McPHERSON, 1997). Jane *et al.* (1999) estudaram o efeito do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina por DSC e encontraram

que as temperaturas de gelatinização decresceram com o decréscimo do comprimento da cadeia de amilopectina.

3.5. Modificação Ácida

As modificações efetuadas no grânulo de amido têm como objetivo, moldar o amido para determinadas finalidades e aplicações industriais. Muitas vezes, para se alcançar o sucesso desejado, é necessário realizar mais de um tipo de modificação no amido. As modificações efetuadas nos grânulos visam, fundamentalmente, reduzir a retrogradação, modificar as características de cozimento e melhorar a textura das pastas ou géis (BORTOLO, 1998).

A principal vantagem da modificação ácida é que ela altera as propriedades funcionais do amido sem afetar significativamente a forma dos grânulos (JONH *et al.*, 2002). O produto obtido possui a aparência do amido natural, porém fragmenta-se mais, incha menos durante a gelatinização e possui maior temperatura de pasta. A viscosidade final e a rigidez também são diminuídas (CIACCO; CRUZ, 1982).

Robin *et al.* (1974), Robin *et al.* (1975), Jayakody e Hoover (2002), Atichokudomchai, Varavinit, Chinachoti, 2002 e Franco, Cabral e Tavares (2002) investigaram a estrutura do grânulo de amido submetido à modificação ácida. De acordo com estes autores a hidrólise dos grânulos ocorre em duas etapas; a primeira com uma alta velocidade de hidrólise atribuída à hidrólise da região amorfa do grânulo de amido, e a segunda com uma velocidade lenta de hidrólise, à região mais organizada do grânulo.

No estágio inicial, a taxa de hidrólise ácida é influenciada pela interação dos seguintes fatores: (1) quantidade de lipídios complexados com as cadeias de amilose (quanto maior a quantidade, maior resistência), (2) tamanho do grânulo (quanto menor, maior susceptibilidade), (3) presença de poros na superfície do grânulo (Planchot, Colonna, Roger (2000), utilizando Cromatografia de Troca Iônica de Alta Eficiência com Detector de Pulso Amperométrico (HPAEC-PAD) e ponta de prova de polietilenoglicol mostraram que os grânulos de amido podem ser considerados como substrato permeável

a solutos de baixo peso molecular, tais como maltooligossacarídeos e pequenos polietilenoglicóis) e (4) conteúdo de amilose. Na segunda fase da hidrólise, as diferenças de velocidade de hidrólise podem ser decorrentes da interação do seguintes fatores: (1) extensão da distribuição das ramificações α (1 $\rightarrow$ 6) entre as regiões cristalinas e amorfas da amilopectina, (2) conteúdo de amilopectina e (3) grau de empacotamento das duplas hélices dentro da região cristalina (JAYAKODY; HOOVER, 2002). Estes autores citam ainda que a interação de dois fatores podem anular outro na tendência à susceptibilidade ou resistência à hidrólise.

Para explicar a baixa velocidade de hidrólise no domínio cristalino do grânulo de amido, Kainuma e French (1971), French (1984) e Atichokudomchai, Varavitnit, Chinachoti, (2002), propuseram duas hipóteses: primeiro, o denso empacotamento das cadeias dentro dos cristais de amido não permite rápida penetração de H_3O^+ nestas regiões e segundo, a transformação em cadeias menores (que ocorre por hidrólise de ligações glucosídicas) ocorrem muito devagar devido à imobilização do açúcar dentro dos cristais de amido.

Algumas modificações por ácido ficaram conhecidas porque a seus produtos foram dados os nomes dos seus pesquisadores. Por exemplo, as amilodextrinas Näegeli é o produto resultante da hidrólise de amidos em água com 15% de H_2SO_4 por 30 dias, resultando em fração ácido-resistente (Näegeli, 1874) e amidos lintnerizados são amidos obtidos do tratamento com HCl 2,2 N a temperaturas de 30-40 °C (Lintner, 1886).

Singh e Ali (2000) estudaram o efeito de diferentes ácidos (HCl, HNO_3 , H_3PO_4 e H_2SO_4) em amidos de cereais (milho e trigo), de leguminosas (ervilha e feijão verde), de tuberosas (batata) e de raiz (mandioca) e sugeriram que as diferenças no efeito dos tratamentos ácidos refletem as diferenças na organização granular e na estrutura molecular desses diferentes amidos. A maior susceptibilidade encontrada para os amidos de cereais sugerem que estes contêm mais ligações α (1 $\rightarrow$ 6) e que no estado granular, a porção amorfa é atacada preferencialmente. Estas regiões são conhecidas por conter mais pontos de ramificação α (1 $\rightarrow$ 6) do que as regiões cristalinas.

Após estudo da hidrólise ácida do amido de mandioca (solução 6% de HCl à temperatura e secagem em estufa a temperatura ambiente ou em spray dryer a 160 °C), Atichokudomchai, Shobsngob, Varavinit (2000) verificaram que o ataque nos grânulos foi evidente na forma de erosão superficial, sem a aparente formação de poros. Devido à redução no conteúdo de amilose, após 12, 24, 48, 96, 192, 348 e 762h, verificou-se que houve endocorrosão nos grânulos e foi sugerido que estudos da morfologia interna seriam necessários para um melhor entendimento da endocorrosão pela hidrólise ácida. Foi verificado também que após secagem em spray dryer, os grânulos de amido ficaram unidos em formatos esféricos, o que proporcionou boa fluidez, essencial na preparação de comprimidos para indústria farmacêutica.

Estudos da hidrólise ácida de amido de mandioca (ZAMBRANO e CAMARGO 1999a; ZAMBRANO e CAMARGO, 1999b; ZAMBRANO e CAMARGO, 2001) e milho (BORTOLO, 1998; CASTRO, 2000), para obtenção de substitutos de gorduras apresentaram bons resultados quanto às propriedades físico-químicas, funcionais e na aplicação em produtos como bolos, biscoitos e maionese.

3.6. Modificação Ácido-Alcoólica

A modificação ácido-alcoólica tem sido estudada principalmente por proporcionar alta recuperação dos amidos após modificação e proporcionar alta solubilidade aos amidos modificados. Em pesquisas recentes feitas por Lin, Lee, Chang (2003); Chang, Lin, Lii (2004); Lin, Lii, Chang (2005); Chang, Lin, Chang (2006) as recuperações ficaram na faixa de 91-100%, 96-100%, 80,5-94,4% e 96-98%, respectivamente. A solubilidade resultou extremamente maior quando comparada com a dos amidos nativos. Isso também foi comprovado pela baixíssima viscosidade de pasta apresentada.

Um estudo realizado por Lin, Lee, Chang (2003), sugeriu, a partir de resultados obtidos após modificação ácido-metanólica de amidos de milho (padrão de raio-x tipo A) e batata (padrão de raio-x tipo B), que o mecanismo de hidrólise ácido-alcoólica é diferente da hidrólise em ácido-água, pois

segundo Robin et al. (1974), em estudo anterior, amidos do tipo B são menos susceptíveis à hidrólise do que os do tipo A. Entretanto, neste estudo o padrão tipo A foi menos susceptível. O mesmo fato foi constatado por Chang, Lin e Lii (2004), que na verificação da porcentagem de ácido dentro do grânulo após modificação ácido-alcoólica (50, 70 e 90% de etanol com 0,36 ou 1,39% de HCl a 65 °C por 1 hora), obtiveram resultados que discordaram com os de Ma e Robyt (1987), em que foi utilizado a modificação ácido-alcoólica com diferentes álcoois anidros (<0,05%). No primeiro tratamento, a porcentagem de ácido dentro do grânulo não mostrou correlação com peso molecular dos amidos tratados.

Seguindo a mesma idéia, Lin, Lii e Chang (2005) também indicaram, a partir dos resultados de propriedades de pasta, estrutura dos grânulos e distribuição do peso molecular de amidos de milho ceroso (padrão tipo A) e de batata (padrão tipo B) modificados por ácido-álcool, que a susceptibilidade à hidrólise foi menor para o amido de milho ceroso. Isto indica que a estrutura cristalina do amido desempenha um importante papel na degradação do amido quando tratado por ácido-álcool.

A alta extensão da degradação na amilose e nas cadeias longas da amilopectina do amido tratado por ácido-álcool implica que a degradação do grânulo de amido ocorre preferencialmente na região amorfa (LIN; LEE; CHANG, 2003; LIN; LII; CHANG, 2005; CHANG; LIN; CHANG, 2006).

A reação de hidrólise das ligações glicosídicas dentro do grânulo, de acordo com Chung e Lai (2005), é influenciada por três principais fatores: disponibilidade de moléculas de água (atividade de água), o ácido utilizado na hidrólise (quanto maior o tamanho do ânion, menor a ocorrência de hidrólise) e disponibilidade e reatividade das ligações glicosídicas.

Ma e Robyt (1987) mostraram que amidos de batata e milho ceroso tratados com diferentes álcoois anidros (metanol, etanol, 2-propanol e 1-butanol) contendo 0,36% de HCl a 65,0 °C por 60,0 min, produziram amidos com diferentes valores de grau de polimerização (DP) com o mais alto valor sendo obtido com metanol e o mais baixo com 1-butanol. Quanto maior o

número de carbonos do álcool usado durante a hidrólise, maior a degradação ocorrida no amido (CHANG; LIN; CHANG, 2006).

Jane *et al.* (1986) produziram amido solúvel em água fria através da utilização de alta temperatura, num sistema com álcool e água. Segundo os autores este amido é desejável, pois proporciona uma pasta de amido “instantânea”, sem aquecimento. Após modificação, o amido perdeu a estrutura cristalina-A e formou uma estrutura com as mesmas linhas de difração do tipo-V, uma estrutura conhecida por ser solúvel em água. Quando submetida à umidade atmosférica, a estrutura se reverteu, dando um modelo tipo A ao invés do modelo tipo B de amidos retrogradados.

Para obtenção de amilodextrinas de alta cristalinidade para serem utilizados como substitutos de gorduras, Chun *et al.* (1997) realizaram refluxo de grânulos de amido de arroz em diferentes concentrações (70 – 99%) de solução de etanol contendo de 2-4% de HCl a 78-80 °C por 1-5 horas. Os resultados mostraram que o grau de hidrólise e a média de DP dos amidos modificados decresceram com o aumento da concentração de etanol à mesma concentração de ácido. Isto implica que a susceptibilidade de amidos à degradação por HCl em diferentes concentrações de álcool foi diferente.

Para compreensão das mudanças nas estruturas granular e molecular do amido tratado por ácido-álcool, Lin, Lii, Chang (2005), estudaram a diferença das estruturas de amidos tratados com álcool e ácido-álcool e de acordo com Polaczek, Starzyk, Tomasik (1999) indicaram que o álcool pode penetrar no grânulo e destruir o conteúdo amorfo do grânulo através do hile e por isso a “cruz de malta” em alguns grânulos de amido desapareceu. Também foi verificado que o tratamento ácido-alcoólico provocou rachaduras em alguns grânulos e por isso a excreção amorfa pode ser mais profunda.

A preparação e as propriedades de partículas pequenas de amido para utilização como substituto de gorduras foram estudadas por Jane (1992). Para tanto, foram utilizadas três tipos de soluções: ácido-alcoólica, aquosa com álcool e ácido e aquosa com ácido, sendo que a concentração de ácido, tempo e temperatura de hidrólise diferia em cada uma das soluções. Como resultado, obtiveram tamanhos desejáveis de partículas, cujo tamanho e rendimento dependiam das condições de hidrólise adotadas.

Muitos estudos da modificação ácido-alcoólica no amido relacionaram os efeitos da concentração do ácido, tipos e concentrações de amido e tipos e concentrações de álcoois no Grau de Polimerização (GP) dos amidos modificados (FOX; ROBYT, 1992; ROBIT *et al.*, 1996a; ROBYT *et al.*, 1996b), tamanho do grânulo e morfologia dos amidos modificados (JANE, 1992; LIN; LEE; CHANG, 2003; CHANG; LIN; LII, 2004; LIN; LII; CHANG, 2005) e viscosidade e estabilidade de emulsões feitas com este tipo de modificação (CHUN *et al.*, 1997). Alguns trabalhos também relacionaram o efeito da modificação ácido-alcoólica na estrutura do grânulo e na distribuição de tamanho molecular do amido modificado (MA e ROBYT, 1987; LIN; LEE; CHANG, 2003; CHANG; LIN; LII, 2004; LIN; LII; CHANG, 2005; CHANG; LIN; CHANG, 2006).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Foram modificados quimicamente os amidos comerciais de milho e mandioca, ambos fornecidos pela empresa Cargill. Todos os reagentes são puros para análise e foram usados sem qualquer modificação.

4.2. Métodos

4.2.1. Caracterização dos Amidos

4.2.1.1. Teor de Umidade

Segundo o método nº 44-15A da American Association of Cereal Chemists - AACC (1995).

4.2.1.2. Teor de Proteína

Segundo método nº 46-12 da AACC (1995). O fator 6,25 foi utilizado para a conversão do nitrogênio em proteína bruta.

4.2.1.3. Teor de Minerais

De acordo com o método nº 8-3 da AACC, 1995.

4.2.1.4. Teor de Lipídios

Através do método 4.10 das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985; p.42-43), após extração no aparelho de Soxhlet.

4.2.2. Modificação Ácido-Alcoólica dos Amidos de Milho e Mandioca

Os amidos modificados de milho e mandioca foram preparados de acordo com a metodologia descrita por Lin, Lii, Chang (2005). Vinte e cinco gramas (b.s.) do amido nativo foram dispersos em 100,0 mL de metanol anidro (<0,3% de água). A reação se iniciou pela adição de 1,0 mL de HCl concentrado (0,36% por peso) e deixado reagir a 54,0 °C por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 h. A reação foi finalizada pela adição de 14 mL de NaHCO₃ 1M. A suspensão de amido após tratamento ácido-alcoólico foi resfriada em banho de gelo por 5,0 min e centrifugada a 4500 rpm por 10,0 min. O precipitado foi lavado com etanol 50,0% até completa eliminação de NaCl (detectado pela adição de AgNO₃ 1,0%) no sobrenadante e em seguida seco em estufa a 40,0 °C por 24,0 h. Depois de obtidos, os amidos modificados foram moídos em almofariz e armazenados sob refrigeração para as análises posteriores. O rendimento foi calculado através da divisão do peso de amido recuperado pelo peso inicial do amido seco.

4.2.3. Solubilidade

As solubilidades dos amidos de mandioca e milho naturais e modificados foram determinadas de acordo com o método descrito por Lin, Lee, Chang (2003), com algumas modificações. O procedimento consistiu na pesagem de 0,1g (b.s.) de amido em tubos de centrifuga de 50mL com tampa, previamente tarados e adição de 40,0 ml de água destilada. A suspensão foi agitada durante 30,0 segundos e levada ao banho com agitação constante por 30,0 minutos às temperaturas de 65,0, 75,0, 85,0 e 95,0 °C. Os tubos foram então centrifugados a 4500 rpm por 20,0 minutos. Cinco ml de sobrenadante foram colocados em béqueres previamente tarados e levados à estufa a 130,0 °C por 12,0 h e pesados. A solubilidade foi medida pelo quociente do peso do sobrenadante seco pelo peso inicial do amido (b.s.).

4.2.4. Microscopia Óptica de Luz Normal e Polarizada e Distribuição do Tamanhos dos Grânulos

A microscopia óptica dos grânulos de amido naturais e modificados de mandioca e milho foi realizada através de um Microscópio Óptico de Luz Olympus acoplado a um sistema de análise de imagem “IMAGE-PRÓ-PLUS” (MÉDIA CYBERNETICS). Uma pequena quantidade de amostra foi colocada sobre uma lâmina. Adicionou-se sobre a amostra uma gota de solução de glicerol:água (1:1) colocando-se em seguida uma lamínula sobre o material. Para um mesmo campo visualizado foram obtidas imagens sob luz normal e polarizada.

4.2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia do Grânulo

Realizada através de um microscópio eletrônico de varredura, modelo DSM 960 ZEISS – *Digital Scanning Microscope*. Uma pequena quantidade de amostra de amido foi colocada sobre uma fita adesiva de carbono, aderida a

um disco metálico e conduzida a um Metalizador *Balzers*, modelo SCD 050, para aplicação de uma camada de ouro de 20 nm. As amostras assim preparadas foram observadas no microscópio eletrônico de varredura e imagens com aumentos de 3500X foram obtidas.

4.2.6. Difração de Raio-X

Através dos difractogramas de raios-X, utilizando uma unidade INT2000 Wide Angle Goniometer, com radiação de Cu, linha K, $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$. A velocidade de varredura foi de $1^\circ/\text{min}$. E as condições de uso foram 50 Kv e 100mA.

O índice de cristalinidade relativa (IC) foi quantitativamente estimado de acordo com o método proposto Hermans e Weindiger (1948 citado por SEBIO, 2003) e modificado por Rabek (1980 citado por SEBIO, 2003). O Índice de Cristalinidade é definido como a razão entre a área da região cristalina (A_c) e a área total coberta pela curva ($A_c + A_a$), composta pela região cristalina (A_c) e a área da região amorfa (A_a), conforme a equação a seguir:

$$I_c = \frac{A_c}{A_c + A_a}$$

Onde,

I_c : Índice de Cristalinidade Relativa

A_c : Área da região cristalina da curva

A_a : Área da região amorfa da curva

4.2.7. Teor de amilose

O teor de amilose total foi determinado de acordo com a metodologia ISO 6647 (International Organization for Standardization, 1987). As amostras de amido foram previamente desengorduradas, de acordo com a metodologia de Kasemsuwan *et al.* (1995), onde 0,5 g de amido (b.s.) foram dispersas em

25,0 mL de solução de dimetilsulfóxido (DMSO) 90,0% e aquecidas sob agitação em banho de água em ebulição durante 1,0 hora à temperatura ambiente, por outras 24,0 horas. O amido foi precipitado da solução de DMSO com 75,0 mL de etanol absoluto e recuperado através de centrifugação a 4200 rpm por 20,0 minutos. O amido precipitado foi lavado com etanol, recuperado por filtração e seco em estufa à 38,0 °C por 24,0 horas.

Na determinação do teor de amilose, adicionou-se 1,0 mL de etanol 95,0% e 9,0 mL de NaOH 1 M em 0,1 g de amido, previamente tratado com DMSO, que foi aquecido em banho-maria em ebulição por 10,0 minutos. Em seguida, a solução foi resfriada, transferida para balão volumétrico de 100,0 mL completando-se o volume com água destilada. Retirou-se uma alíquota de 18,0 mL, que foi transferida para tudo de ensaio de 50,0 mL que continha 2,0 mL de NaOH 0,09 N. Uma alíquota de 5 mL foi transferida para balão volumétrico coberto com papel alumínio de 100,0 mL contendo 50,0 mL de água destilada e 1,0 mL de ácido acético 1 M. Foram adicionados 2,0 mL da solução de iodo e após 20,0 minutos, completando-se o volume com água destilada. Foram realizadas quatro replicatas para cada tempo de tratamento. Em seguida foi determinada a transmitância das amostras a 620,0 nm em espectrofotômetro, para o cálculo do teor de amilose.

4.2.8. Distribuição do Peso Molecular dos Componentes do Amido

A distribuição do peso molecular dos amidos naturais e modificados foi determinada segundo a metodologia descrita por Lin, Lee, Chang (2003), com modificações. A solução do amido nativo foi preparado pela solubilização de 0,075 g (b.s.) de amido com 15,0 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) 90% em banho com água em ebulição por 1,0 hora com agitação constante por 24,0 horas à temperatura ambiente. O amido foi precipitado da solução de DMSO com excesso de etanol absoluto e centrifugado a 4500 rpm por 10,0 minutos. As amostras foram dissolvidas em água MilliQ na concentração de 1,0 mg/mL e filtradas em filtros (Millipore) individuais com poros de 0,45 µm. 250 µL de cada amostra foi injetada no Cromatógrafo de Exclusão por Tamanho de Alta Performance (HPSEC), com quatro colunas Waters Ultrahydrogel

2000/500/250/120 conectadas em série acopladas a um refratômetro diferencial (RI) e a um Wyatt Technology Dawn-F Multi-Angle Laser Light Scattering (MALLS). A eluição foi realizada com NaNO_3 100,0 mM contendo 200,0 ppm de nitrito de sódio (NaN_3). O fluxo foi de 0,5 mL/min. As análises foram realizadas em duplicata para cada amostra.

4.2.9. Viscosidade Intrínseca

Soluções de amido foram preparadas segundo Lansky, Kooi e Schoch (1949). Dispersões de 0,4, 0,3, 0,2 e 0,1% (p/v) preparadas com KOH 1N foram mantidas em banho com água fervente e sob agitação por 30,0 minutos. Posteriormente, foram resfriadas, ainda sob agitação a temperatura ambiente, e centrifugadas a 2500 rpm durante 5,0 minutos.

A viscosidade intrínseca das soluções de amido foi determinada segundo Leach (1963), com a utilização de um viscosímetro Cannon Funske nº 50. Para determinar o tempo de escoamento do solvente (KOH 1N) e das soluções de amidos em diferentes concentrações, 12,0 ml do solvente ou solução de amido foram transferidos para o viscosímetro com auxílio de bomba a vácuo. O viscosímetro contendo a amostra foi mantido em banho de água com temperatura constante à 35,0 °C por 5,0 minutos, então a amostra foi escoada pelo capilar até o menisco atingir a primeira marca onde era iniciada a contagem do tempo. A viscosidade específica foi calculada como segue:

$$\eta_{sp} = \left(\frac{\eta}{\eta_0} - 1 \right) = \left(\frac{t}{t_0} - 1 \right)$$

Onde:

η = viscosidade intrínseca

t = tempo de escoamento da solução pelo viscosímetro

As variáveis com índice 0 indicam o solvente KOH 1N e as variáveis sem índice se referem a solução com o amido.

A determinação da viscosidade intrínseca foi baseada na extrapolação, a concentração zero, da reta obtida por ajuste matemático dos pontos

experimentais da curva de viscosidade específica em função da concentração da solução.

4.2.10. Propriedades de Pasta

Determinadas utilizando um Rápido Viscoanalisador (Modelo RVA-4, Newport Scientific, Austrália), de acordo com procedimento descrito por Franco *et al.* (2002), com modificações. Foram utilizadas suspensões de amido (28g peso total, 9,0% p/p, (base seca) para amidos nativos e 18,0% para os amidos modificados).

4.2.11. Propriedades Térmicas

As propriedades térmicas do amido comercial e dos hidrolisados foram determinadas utilizando um calorímetro diferencial de varredura (DSC) de acordo com método descrito por Franco *et al.* (2002), com modificações.

4.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O efeito dos diferentes tempos de hidrólise ácido-metanólica sobre as propriedades funcionais e físico-químicas dos amidos de mandioca e milho será analisado utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado, que inclui duas fontes de amido e cinco tempos de hidrólise, perfazendo-se um total de dez tratamentos.

A maior parte das análises físico-químicas foram feitas no mínimo com 3 repetições e a significância da influência de cada tratamento e suas interações com outros tratamentos nas características físico-químicas e funcionais dos amidos serão avaliadas através da análise de variância (Programa ESTAT) e da comparação de médias (Tukey) dos resultados obtidos, com nível de significância de 5,0% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização dos Amidos

A caracterização dos amidos naturais de milho e mandioca está descrita na Tabela 1 e suas composições estão de acordo com a literatura (MOORTHY (2001); HOOVER (2002); PERONI (2003)).

Tabela 1 - Caracterização dos amidos de milho e mandioca usados neste trabalho.

<i>Amostra</i>	<i>Umidade (%)</i>	<i>Proteína (%)</i>	<i>Cinzas (%)</i>	<i>Lipídios (%)</i>
<i>Amido mandioca</i>	9,49 ± 0,4	0,20 ± 0,05	0,07 ± 0,01	0,15 ± 0,03
<i>Amido milho</i>	11,43 ± 0,7	0,15 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,75 ± 0,09

Cada valor representa a média de duas repetições

5.2. Porcentagem de Recuperação dos Amidos

Na Tabela 2 estão apresentados os rendimentos dos amidos de milho e mandioca tratados com 0,36% de HCl em metanol anidro à 54 °C por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas.

O tratamento ácido-metanólico para os amidos de milho e mandioca por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas resultou em amidos modificados que apresentaram cor, aparência e consistência similares às do amido natural.

Os rendimentos dos amidos de milho após modificação ácido-metanólica foram altos, situando-se em termos de 97,0%. O Teste de Tukey aplicado às médias dos resultados mostrou que não houve diferença significativa nos rendimentos obtidos para os tempos de 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas, a 5,0% de probabilidade. Para o amido de mandioca a recuperação média foi de 96,0% e também não houve diferença significativa no rendimento quando hidrolisado por diferentes tempos. Ao comparar o rendimento das duas fontes de amido após a modificação ácido-metanólica, também foi possível observar que não houve diferença significativa entre os mesmos. Isto indica que este tipo de tratamento provocou modificações similares com relação à formação de

dextrinas de baixo peso molecular nas diferentes fontes de amido (milho e mandioca).

Os resultados apresentaram-se coerentes com aqueles obtidos por Lin, Lii, Chang, (2005) que moificaram amido de milho a 65,0 °C por 1,0h com metanol e HCl e a recuperação foi de 94,4%. Lin, Lee e Chang (2003) conseguiram recuperação de 91,0 a 100,0% quando trataram amidos de milho e batata a 25,0 °C em HCl e metanol por 1,0 a 15,0 dias, enquanto Chang, Lin e Lii (2005) obtiveram no mínimo 95% de recuperação quando modificaram amido de milho em 50,0-90,0% de etanol contendo 0,36 ou 1,39% HCl a 65 °C por 1,0 hora. A recuperação mínima obtida por Chang, Lin e Chang (2006) foi de 96,0% após tratar amidos de milho normal e ceroso com diferentes tipos de álcoois e ácido clorídrico a 45 °C por 1,0 hora.

Todos os valores de recuperação foram elevados, sugerindo que a modificação ácido-metanólica degrada o amido com produção mínima de dextrinas de baixo peso molecular.

Tabela 2 - Rendimento dos amidos de milho e mandioca modificados por tratamento ácido-metanólico.

<i>Tempo (h)</i>	<i>Rendimento (%)*</i>	
	<i>Milho</i>	<i>Mandioca</i>
1	98,54 ± 1,21 ^{aB}	98,02 ± 1,60 ^{aB}
3	97,61 ± 1,76 ^{aB}	96,73 ± 2,15 ^{aB}
5	97,32 ± 1,17 ^{aB}	96,72 ± 1,16 ^{aB}
8	97,26 ± 2,83 ^{aB}	96,17 ± 0,40 ^{aB}

Cada valor representa a média de três repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna (letra minúscula) e na mesma linha, (letra maiúscula) não são significativamente diferentes (P<0.05)

*(peso do amido após tratamento ácido-metanólico (b.s))/(peso do amido antes do tratamento(b.s)) x 100%

5.3. Solubilidade

A baixa solubilidade dos amidos de milho e mandioca nativos em temperaturas próximas a 20 °C pode ser atribuída à estrutura semi-cristalina do grânulo e às ligações de hidrogênio formadas entre grupos hidroxilas em suas moléculas (ELIASSON; GUDMUNDSSON, 1996).

Os valores de solubilidade, nas temperaturas de 65,0, 75,0, 85,0 e 95,0 °C dos amidos de milho e mandioca naturais e submetidos à modificação ácido-metanólica nos tempos de 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas estão apresentados na Tabela 3 e nas Figuras 3 e 4, respectivamente. Os resultados mostraram que a solubilidade de todos os amidos tratados com ácido e metanol foram evidentemente maiores do que seus amidos nativos, independente das temperaturas utilizadas (CHANG; LIN; LII, 2004), para ambas fontes de amido.

Ao analisar os resultados estatisticamente, nota-se que para o amido de milho, apenas a 95 °C os tempos de 3,0, 5,0 e 8,0 horas não apresentaram diferença significativa, indicando que para diferentes condições de tratamento, diferentes % de solubilidade foram obtidas. No caso do amido de mandioca, as diferentes condições de tratamento, muitas vezes forneceram valores de solubilidade estatisticamente iguais.

Com 8 horas de tratamento, a solubilidade do amido de milho a 85,0 °C e a do amido de mandioca a 75 °C foram 93,95% e 93,11%, respectivamente. Isto indica que com uma diferença de 10 °C a menos, o amido de mandioca atingiu valores de solubilidade semelhante ao obtido pelo amido de milho. Este resultado pode ser atribuído à maior quantidade de amilose presente no amido de milho (CHANG; LIN; CHANG, 2006), pois segundo Jane (2006), durante a transição térmica, a amilose associa-se às moléculas de amilopectina e consequentemente preserva a integridade dos grânulos de amido.

Na temperatura de 85,0 °C, a solubilidade do amido de mandioca hidrolisado por 8 horas atingiu o valor de 99,04%, demonstrando que os grânulos de amido foram praticamente dissolvidos por completo. Para 5,0 horas de tratamento a 95°C

Tabela 3 - Solubilidade à 65, 75, 85 e 95°C dos amidos de milho e mandioca nativos e modificados por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas.

Tempo de hidrólise (h)	Solubilidade			
	65°C	75°C	85°C	95°C
MILHO				
Nativo	5,3 ± 0,1 ^{eC}	7,6 ± 0,3 ^{eB}	11,9 ± 1,4 ^{eA}	15,7 ± 1,0 ^{cA}
1h	21,0 ± 0,8 ^{dD}	40,7 ± 0,4 ^{dC}	60,5 ± 0,6 ^{dB}	86,1 ± 2,9 ^{bA}
3h	34,2 ± 1,2 ^{cD}	69,1 ± 1,1 ^{cC}	81,4 ± 2,1 ^{cB}	93,3 ± 0,3 ^{aA}
5h	55,2 ± 1,0 ^{bD}	72,7 ± 1,4 ^{bC}	87,7 ± 2,2 ^{bB}	94,6 ± 0,6 ^{aA}
8h	73,2 ± 1,3 ^{aC}	80,1 ± 1,4 ^{aB}	93,9 ± 0,7 ^{aA}	96,6 ± 1,8 ^{aA}
MANDIOCA				
Nativo	17,4 ± 0,1 ^{cD}	24,4 ± 0,7 ^{dC}	30,9 ± 0,7 ^{dB}	44,6 ± 1,9 ^{cA}
1h	58,9 ± 3,2 ^{bD}	76,0 ± 3,7 ^{cC}	87,4 ± 1,8 ^{cB}	94,5 ± 0,5 ^{bA}
3h	74,5 ± 0,5 ^{aC}	80,8 ± 1,0 ^{bcB}	92,8 ± 0,3 ^{bA}	97,4 ± 2,6 ^{abA}
5h	76,9 ± 0,2 ^{aD}	83,6 ± 2,2 ^{bC}	94,5 ± 2,4 ^{bB}	100,6 ± 1,3 ^{aA}
8h	78,1 ± 0,3 ^{aC}	93,1 ± 0,7 ^{aB}	99,0 ± 0,3 ^{aA}	99,8 ± 1,8 ^{aA}

Cada valor representa a média de três repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna (letra minúscula) e na mesma linha (letra maiúscula) não são significativamente diferentes (P<0.05).

o amido de mandioca atingiu valor mais alto que 100,0%. Resultados semelhantes foram obtidos por Chang, Lin e Chang (2006), com amido de milho ceroso. No caso do amido de milho, o mais alto valor de solubilidade atingido (95 °C, 8,0 horas de hidrólise) foi de 96,61%.

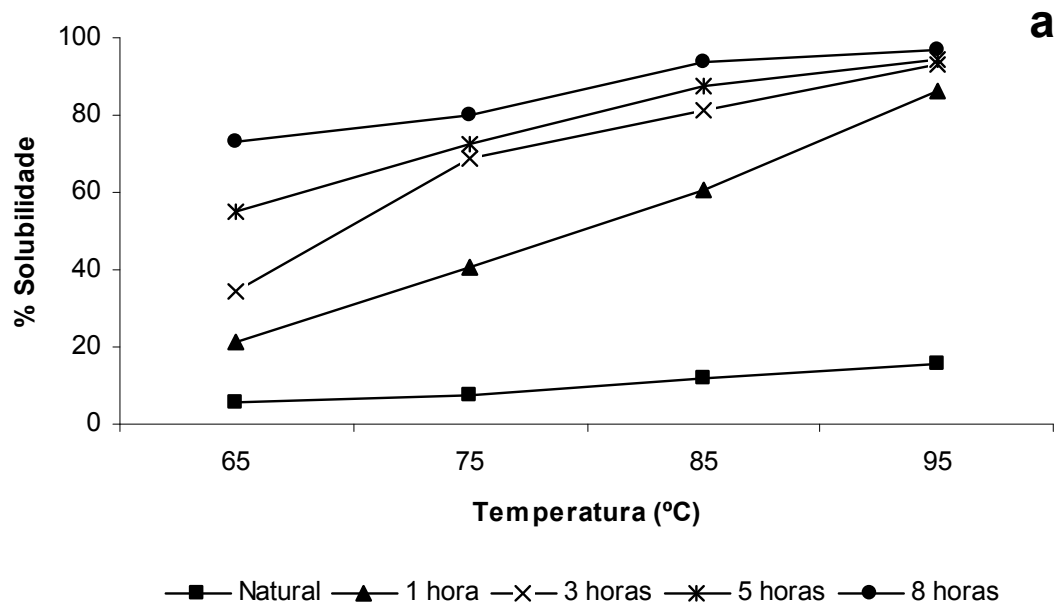


Figura 3 - Solubilidade dos amidos de milho nativo e após modificação ácido-metanólica.

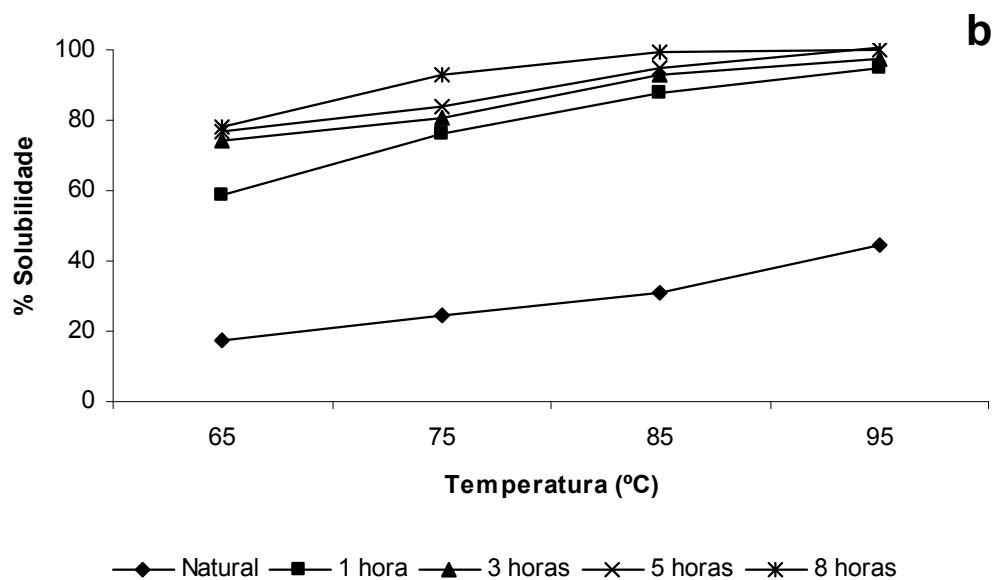


Figura 4 - Solubilidade dos amidos de mandioca nativo e após modificação ácido-metanólica.

Apesar dos mesmos valores de rendimento obtidos para as diferentes fontes de amidos em diferentes tempos de modificação ácido-metanólica, os resultados mostraram que as forças internas dos grânulos do amido de mandioca e milho são diferentes. A diferente maneira de compactação dos cristais sugere que as ligações nos grânulos de amido de mandioca são mais fracas que aquelas nos amidos de milho.

Isto comprova que o tratamento ácido-metanólico torna os amidos mais solúveis, principalmente o amido de mandioca, favorecendo aplicações específicas para a indústria alimentícia e farmacêutica, entre outras.

5.4. Microscopia Óptica de Luz Normal, Polarizada e Distribuição do Tamanho dos Grânulos

Através das micrografias obtidas em microscópio óptico comum sob luz normal, o amido de milho nativo mostrou forma poligonal e irregular (Figura 5 a-e), enquanto o amido de mandioca natural apresentou o formato redondo com alguns grânulos apresentando uma extremidade truncada (Figura 6 a-e). Foi verificada a presença de hilo, na forma de pontos ou de pequenas linhas no centro dos grânulos de amidos nativos e modificados de milho e mandioca. Não foi possível observar, a partir das micrografias, qualquer diferença no formato ou tamanho dos grânulos antes e após hidrólise.

Como pode ser observado nas Figuras 7 (a - e) e 8 (a - e), tanto os amidos nativos de milho e mandioca como seus respectivos amidos hidrolisados apresentaram a típica cruz de malta quando observados ao microscópio óptico sob luz polarizada. Isto mostra que a modificação ácido-metanólica (por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas) não destruiu a estrutura cristalina destes amidos.

O diâmetro médio dos grânulos foi de 11,82 μm para o amido de milho nativo e para os amidos modificados por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas, 11,86, 11,85, 11,51, 11,27 μm , respectivamente (Tabela 4). A partir dos resultados da análise estatística foi possível notar que não houve diferença significativa (5% de probabilidade) na média dos tamanhos dos grânulos quando modificados em diferentes tempos.

No caso do amido de mandioca, o diâmetro médio dos grânulos nativos foi de 11,67 μm , concordando com resultados encontrados por Defloor, Dehing e Delcour (1998). Para os amidos tratados por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas as médias foram de 11,39, 10,83, 10,20 e 9,93 μm , respectivamente. Neste caso, houve diferença significativa para os tempos de 5,0 e 8,0 horas, sugerindo que o ácido tenha tido um efeito mais pronunciado no amido de mandioca, quando comparado ao de milho. Atichokudomchai *et al.* (2001) não observaram redução do tamanho dos grânulos de amido de mandioca em relação ao amido nativo, quando estes foram modificados com HCl em água por 12,0 a 768,0 horas.

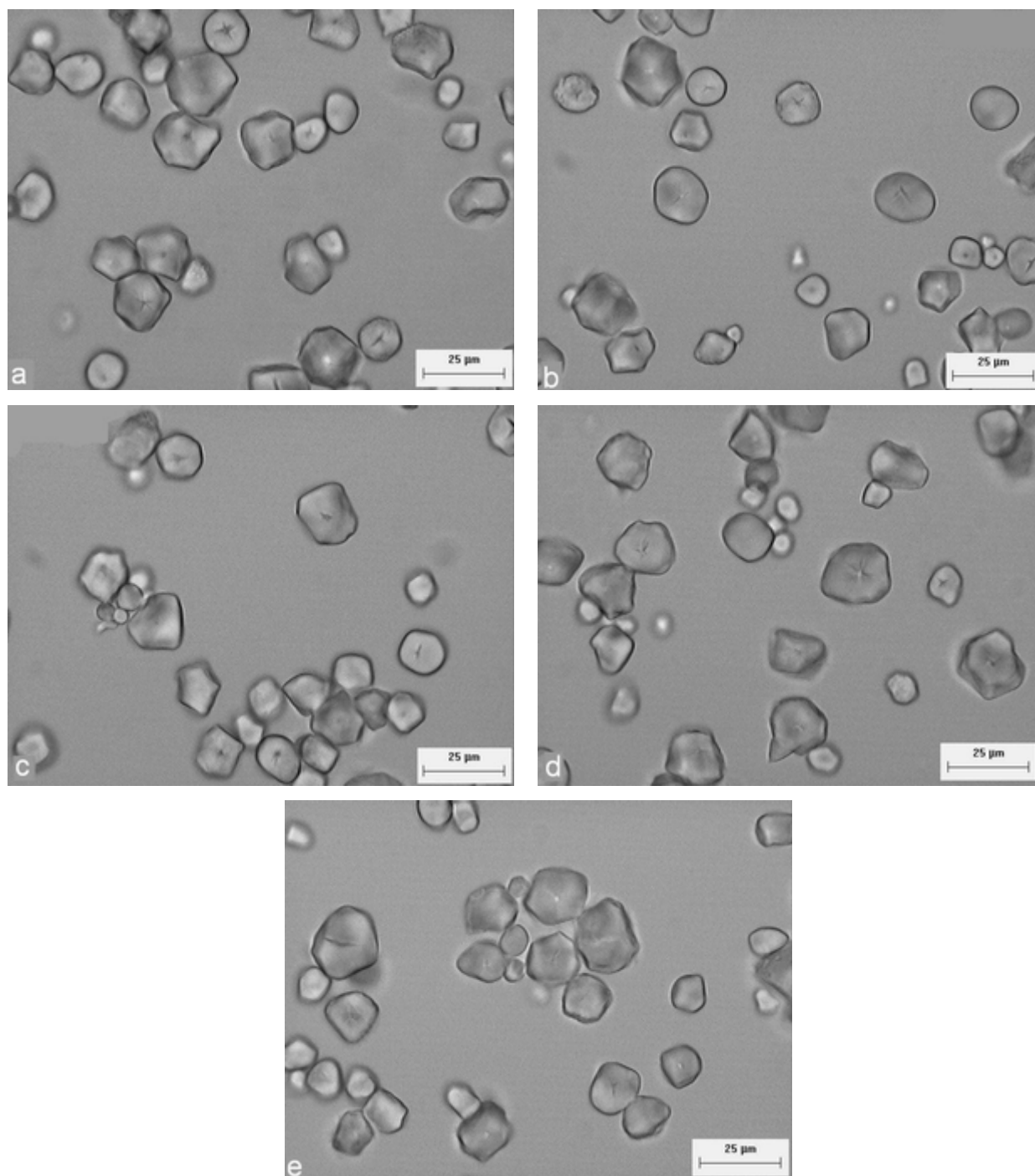


Figura 5 – Micrografias dos amidos de milho, observados em microscópio óptico comum sob luz normal – a: amido de milho nativo; b: amido de milho modificado por 1,0 hora; c: amido de milho modificado por 3,0 horas; d: amido de milho modificado por 5,0 horas; e: amido de milho modificado por 8,0 horas.

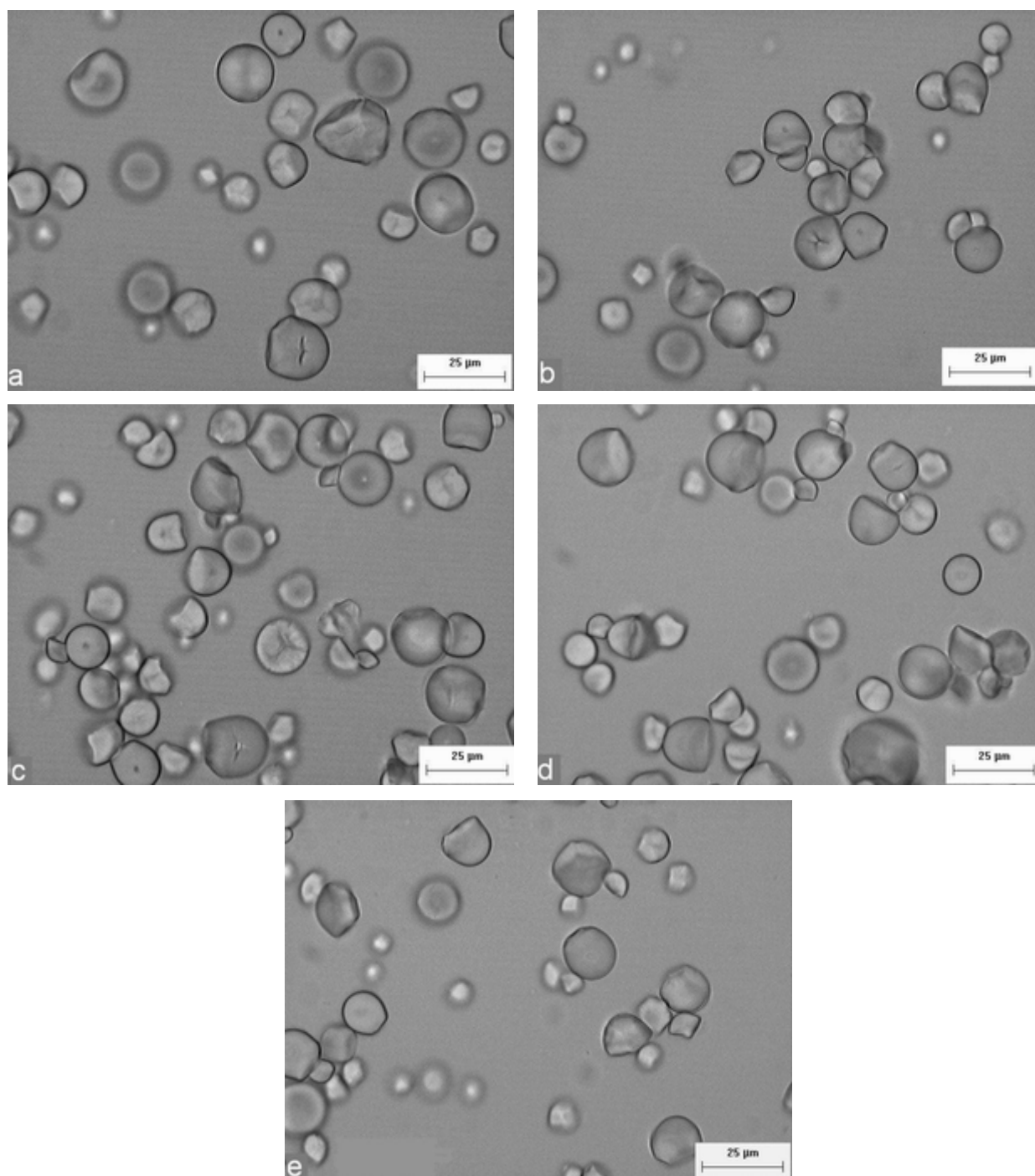


Figura 6 – Micrografias dos amidos de mandioca, observados em microscópio óptico comum sob luz normal – a: amido de mandioca nativo; b: amido de mandioca modificado por 1,0 hora; c: amido de mandioca modificado por 3,0 horas; d: amido de mandioca modificado por 5,0 horas; e: amido de mandioca modificado por 8,0 horas.

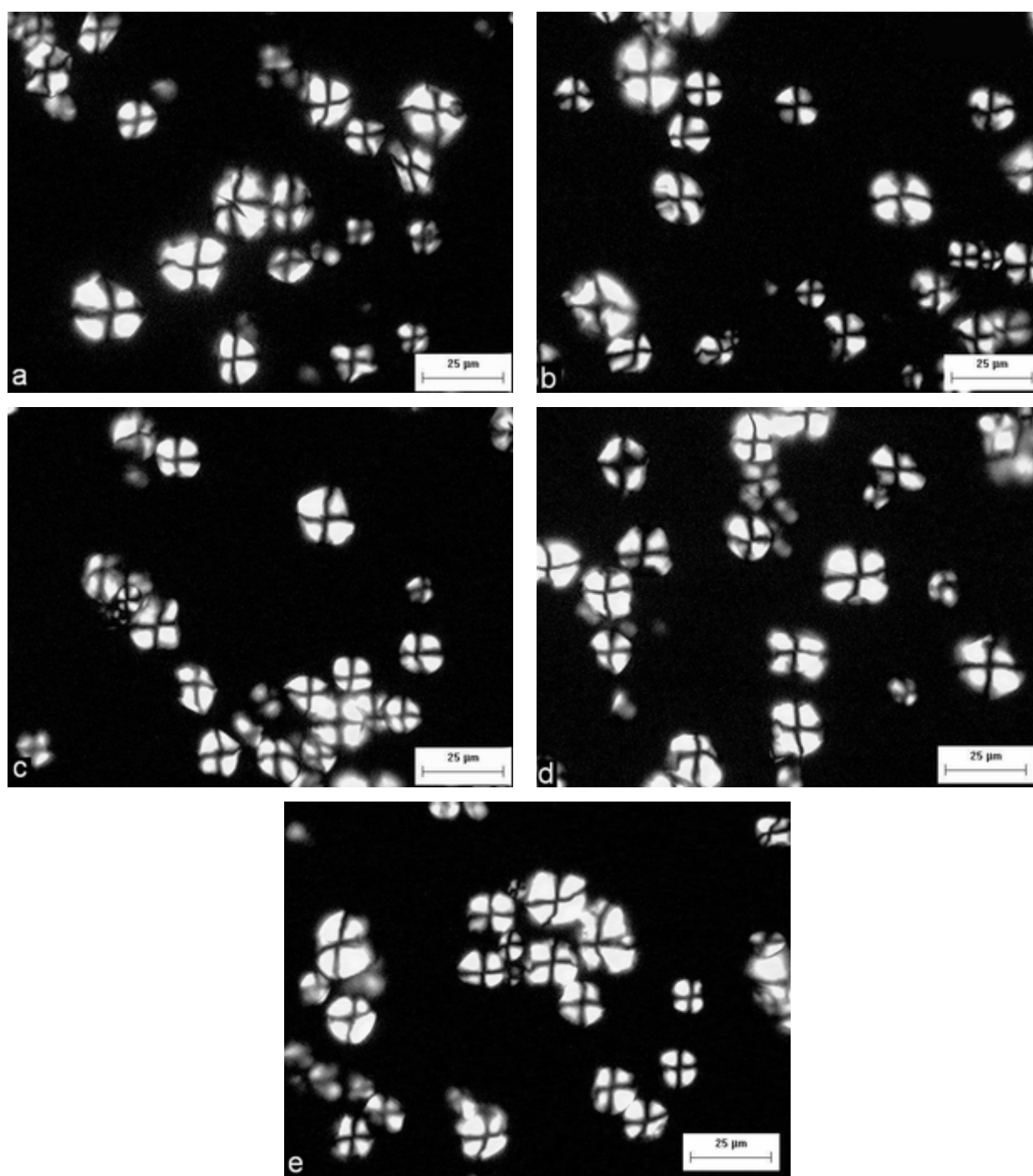


Figura 7 – Micrografias dos amidos de milho, observados em microscópio óptico comum sob luz polarizada – a: amido de milho nativo; b: amido de milho modificado por 1,0 hora; c: amido de milho modificado por 3,0 horas; d: amido de milho modificado por 5,0 horas; e: amido de milho modificado por 8,0 horas.

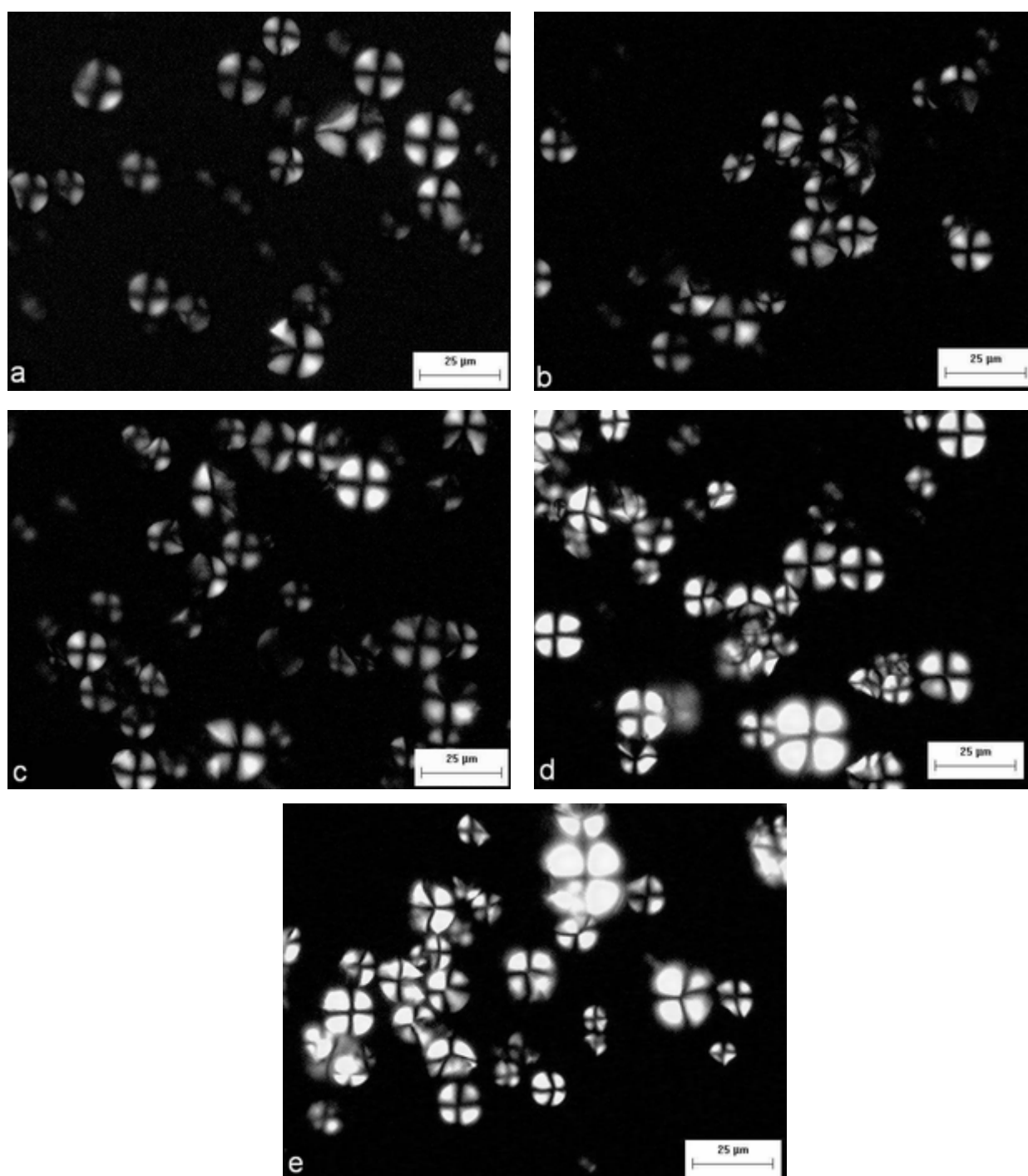


Figura 8 – Micrografias dos amidos de mandioca, observados em microscópio óptico comum sob luz polarizada – a: amido de mandioca nativo; b: amido de mandioca modificado por 1,0 hora; c: amido de mandioca modificado por 3,0 horas; d: amido de mandioca modificado por 5,0 horas; e: amido de mandioca modificado por 8,0 horas.

Tabela 4. Tamanhos médio dos grânulos de amidos de milho e mandioca nativos e modificados por 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas.

<i>Tempo (h)</i>	<i>Tamanho médio dos grânulos (µm)</i>	
	<i>Mandioca</i>	<i>Milho</i>
Nativo	11,67 ± 0,7 ^{aA}	11,82 ± 0,4 ^{aA}
1	11,39 ± 0,9 ^{aA}	11,86 ± 0,6 ^{aA}
3	10,83 ± 0,1 ^{abA}	11,85 ± 1,3 ^{aA}
5	10,20 ± 0,9 ^{bB}	11,51 ± 1,4 ^{aA}
8	9,93 ± 1,2 ^{bB}	11,27 ± 0,7 ^{aA}

Cada média representa o valor de três repetições

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna (letra minúscula) e na mesma linha (letra maiúscula) não são significativamente diferentes (P<0.05).

As distribuições dos tamanhos dos grânulos de amido de milho e mandioca apresentadas nas Figuras 9 e 10, respectivamente, demonstram que houve pouca variação de tamanho quando os amidos foram submetidos à modificação ácido-metanólica, principalmente para o amido de milho que não mostrou diferença significativa nos diâmetros médios para os diferentes tempos de tratamento. Para o amido de mandioca percebeu-se uma redução do número de grânulos na faixa de 15-20µm e aumento da faixa de 5-10µm. Os tempos de 3,0, 5,0 e 8,0 horas mostram melhor esta tendência, comprovada pelas diferenças estatísticas apresentadas para o diâmetro médio dos grânulos (Tabela 4). Estes resultados sugerem que o ácido atacou de forma diferente ambas fontes de amido.

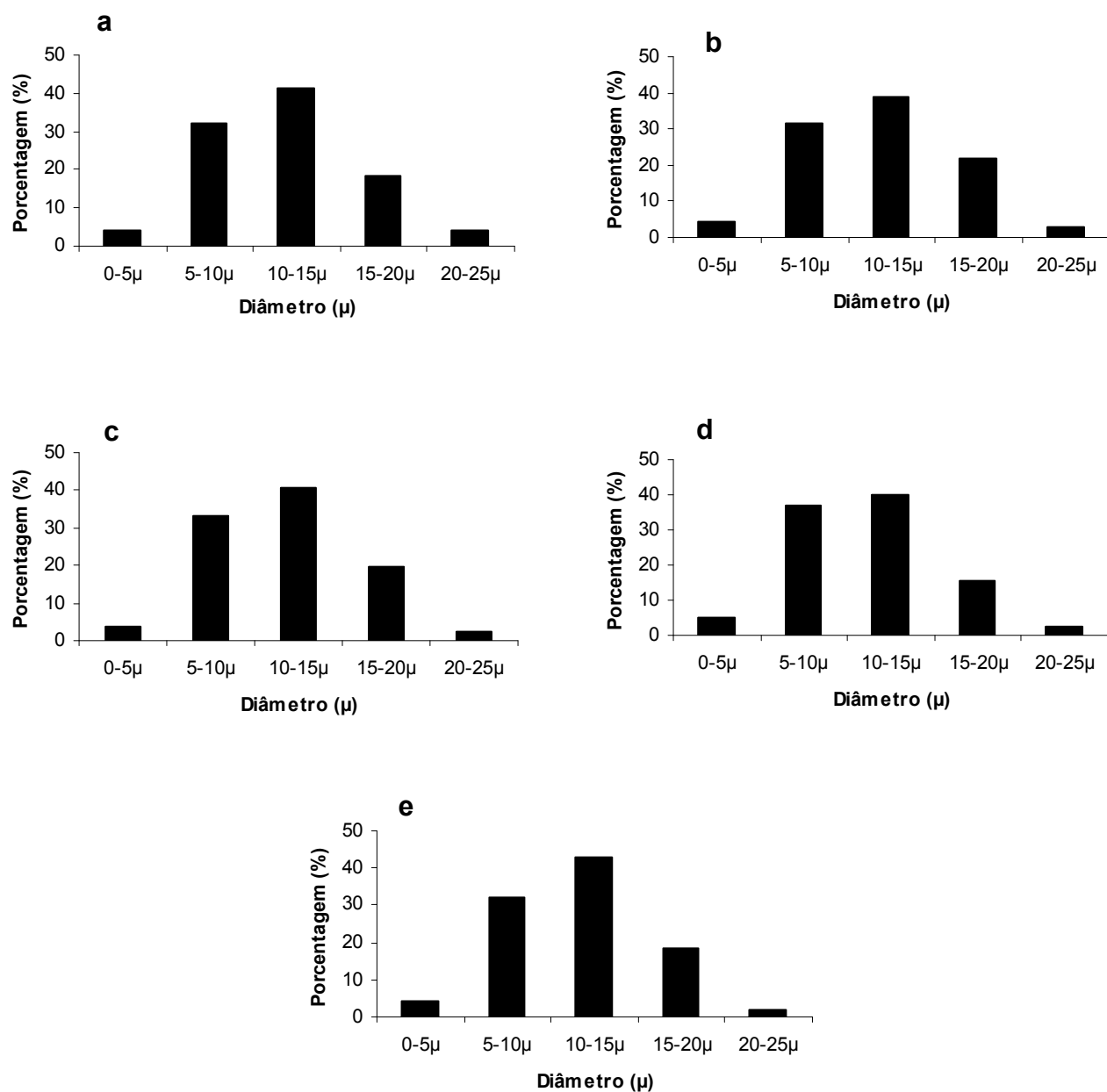


Figura 9 – Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de milho – a: amido de milho nativo; b: amido de milho modificado por 1,0 hora; c: amido de milho modificado por 3,0 horas; d: amido de milho modificado por 5,0 horas; e: amido de milho modificado por 8,0 horas.

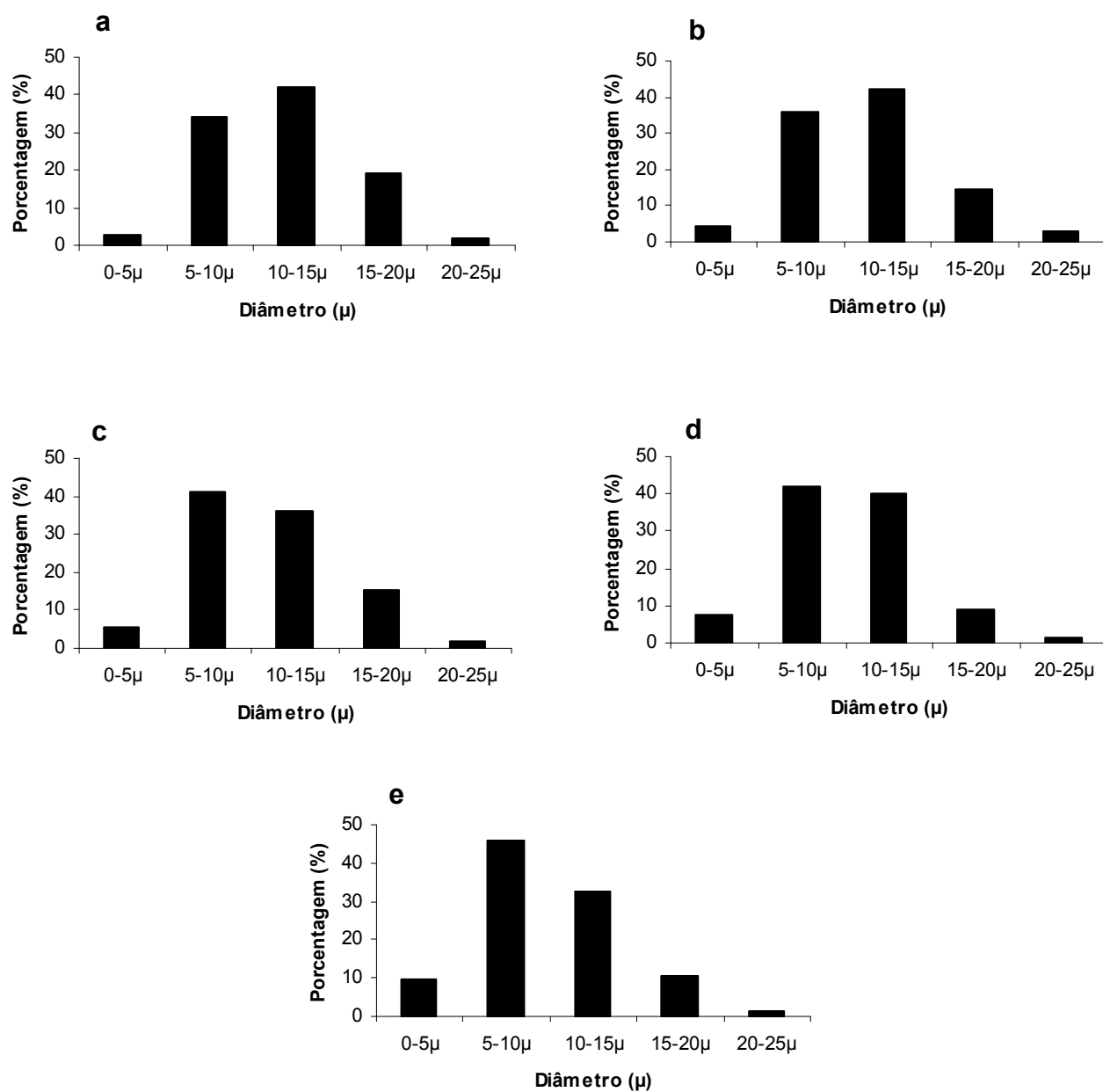


Figura 10 – Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de mandioca – a: amido de mandioca nativo; b: amido de mandioca modificado por 1,0 hora; c: amido de mandioca modificado por 3,0 horas; d: amido de mandioca modificado por 5,0 horas; e: amido de mandioca modificado por 8,0 horas.

5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia do Grânulo

A Figura 11 (a - e) mostra as micrografias de amidos de milho nativo e modificados por tratamento ácido-metanólico em diferentes tempos de tratamento, observados ao microscópio eletrônico de varredura (MEV) ao aumento de 3500 X. As micrografias do amido de mandioca natural e modificados estão apresentadas na Figuras 12 (a - e).

O amido de milho nativo mostrou forma poligonal e irregular como já verificado nas micrografias de microscopia óptica, assim como nos trabalhos apresentados por Lin, Lee e Chang (2003); Chang, Lin e Lii (2004) e Chang, Lin e Chang (2006), além de superfície lisa com alguns poros superficiais. O amido de mandioca nativo apresentou superfície lisa e o formato redondo com alguns grânulos apresentando uma extremidade truncada (MISHRA; RAI, 2005). Estes autores também encontraram algumas pequenas cavidades no amido de mandioca nativo.

Para os grânulos de amido de milho modificados é possível notar que os poros ou depressões ficaram mais evidentes, após tratamento ácido-alcoólico. Nos tempos de 5,0 e 8,0 horas (d-e), não foram mostrados grânulos com poros (conforme mostrado nos tempos de 1,0 e 3,0 horas), porém foram evidenciados os grânulos com depressões (indicadas por setas).

No caso do amido de mandioca a superfície ficou mais áspera quanto maior o tempo de tratamento, indicando erosão seguida de solubilização, o que explicaria a alta solubilidade observada para estes grânulos.

Segundo Franco, Ciacco e Tavares (1988), amidos que naturalmente apresentam superfície porosa como o de milho são degradados com maior facilidade, devido à existência dos canais radiais; enquanto aqueles cuja superfície é lisa, como por exemplo o de mandioca, sofrem principalmente uma exocorrosão com solubilização de sua superfície, o que poderia explicar a redução do número de grânulos grandes para este amido.

De acordo com Fannon, Hauber e BeMiller (1992) e Lin, Lee e Chang (2003), foi observada exocorrosão na superfície dos grânulos, tornando-se áspera e rugosa e os poros aleatórios, naturalmente existentes no amido de milho, podem se tornar mais evidentes. Para o amido de mandioca, a modificação ácida atacou os grânulos de amido e foi evidente na forma de

erosão superficial, sem a aparente formação de poros (ATICHOKUDOMCHAI; SHOBSNGOB; VARAVINIT, 2000).

Chang, Lin e Chang (2006) utilizando microscopia de varredura a laser confocal, observaram que após tratamento ácido–alcoólico de amido de milho ceroso utilizando diferentes álcoois, o grânulo manteve sua forma, entretanto alterações na estrutura granular foram observadas. Além disso, a alteração na estrutura do grânulo dos amidos tratados com ácido-álcool aumentou com o aumento do número de carbonos do álcool utilizado.

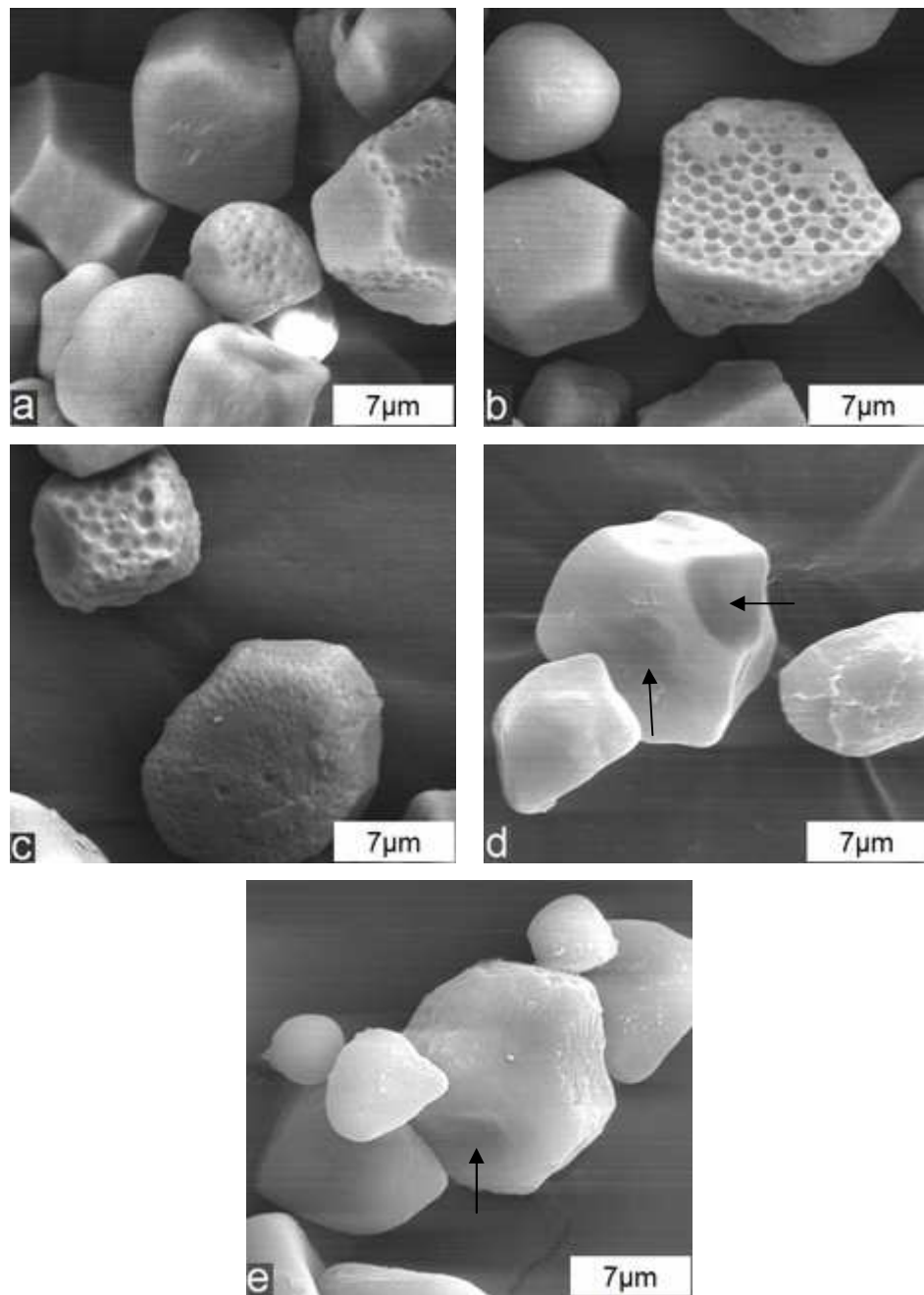


Figura 11 – Grânulos de amido de milho observados ao microscópio eletrônico de varredura, com aumento de 3500X – a: amido de milho nativo; b: amido de milho modificado por 1,0 hora; c: amido de milho modificado por 3,0 horas; d: amido de milho modificado por 5,0 horas; e: amido de milho modificado por 8,0 horas.

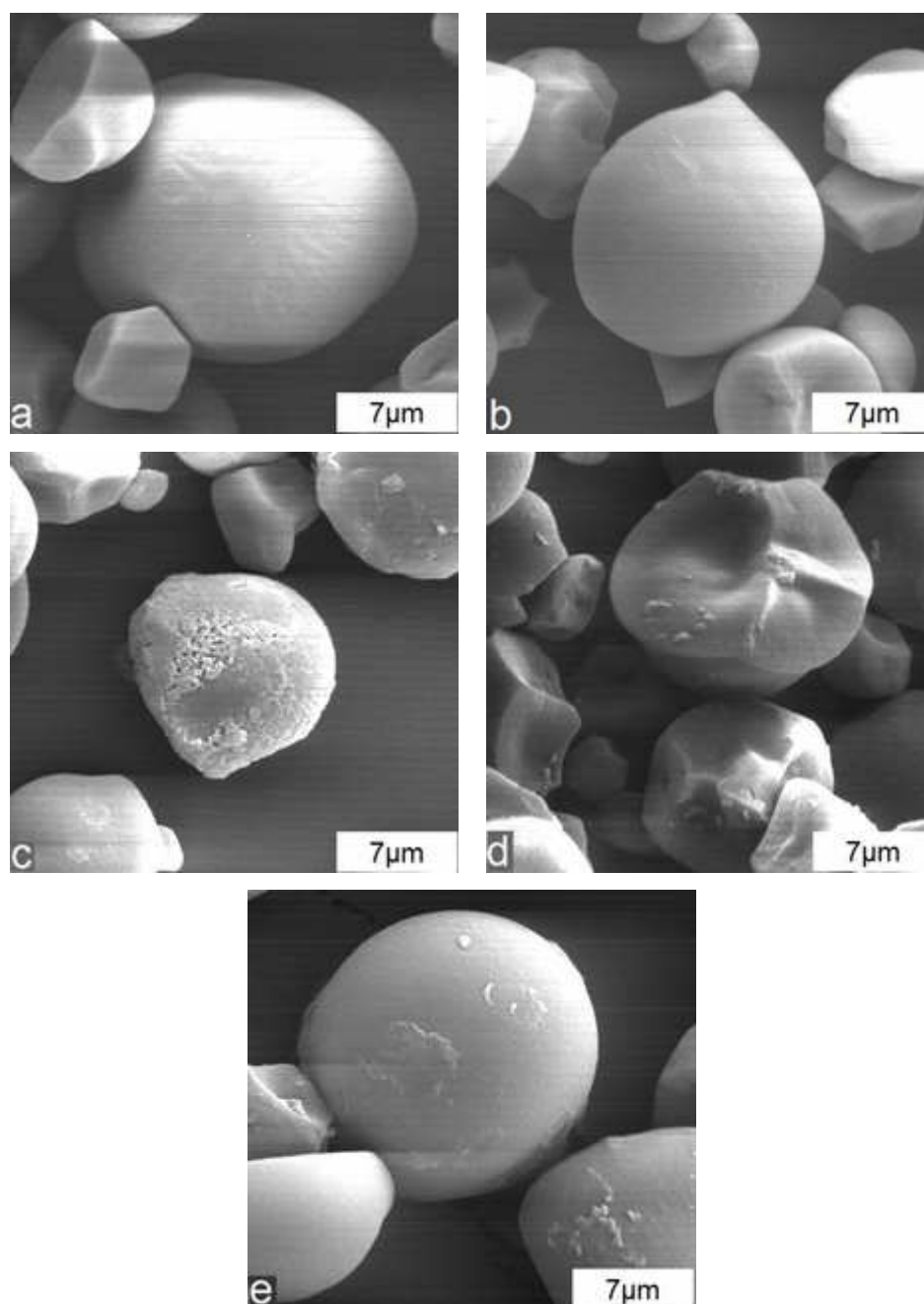


Figura 12 – Grânulos de amido de mandioca observados ao microscópio eletrônico de varredura, com aumento de 3500X – a: amido de mandioca nativo; b: amido de mandioca modificado por 1,0 hora; c: amido de mandioca modificado por 3,0 horas; d: amido de mandioca modificado por 5,0 horas; e: amido de mandioca modificado por 8,0 horas.

5.6. Difração de Raio-X

As Figuras 13 e 14 mostram os difractogramas de raios-X dos amidos de milho e mandioca nativos e modificados, respectivamente. Os valores dos maiores picos mostrados nos difratogramas estão listados na Tabela 5. Esta tabela mostra também os valores de intensidade, medidos em Contagens por Segundo (CPS), para cada pico, além do Índice de Cristalinidade Relativa de cada amido.

Os amidos de milho e mandioca nativos apresentaram modelos padrões de difração de Raio-X tipo A, com picos 2θ sobre 15,0, 17,0, 18,0 e 23,0° (HOOVER, 2001). Os valores do índice de cristalinidade encontrados para o amido de milho e mandioca nativos foram 24,41 e 25,24%, respectivamente. O mesmo padrão tipo A também foi citado no estudo feito por Srichuwong *et al.* (2005), porém estes autores encontraram cristalinidade relativa de 35,8 e 31,0% para amidos nativos de milho e mandioca, respectivamente, ou seja, valores mais altos que os encontrados neste trabalho.

A formação do estado cristalino dos grânulos de amido é determinada pelos comprimentos das cadeias laterais de amilopectina, sendo que as amilopectinas de amidos com padrão tipo A possuem maior proporção de cadeias curtas quando comparadas àquelas do amido do tipo B (JANE *et al.*, 1999).

Os modelos de difração dos amidos ácido-metanólicos tratados em diferentes tempos foram similares aos seus respectivos amidos nativos, revelando que os amidos de milho e mandioca permaneceram com sua estrutura cristalina após a modificação, assim como já observado nos resultados de microscopia óptica sob luz polarizada. Para ambas fontes de amidos modificados houve um aumento da intensidade dos picos e um aumento gradativo do índice de cristalinidade relativa (IC), quanto maior o tempo de tratamento.

Tabela 5 – Intensidade dos principais picos dos difratogramas de raios-X e Índice de cristalinidade dos amidos naturais e modificados de amido de milho e mandioca.

Milho e mandioca.					
Amostras de Amido	Intensidade				IC
	1	2	3	4	(%)
MILHO					
Nativo	5836	7373	7665	7124	24,41
1h	7441	9335	9380	8364	25,50
3h	7367	9289	9226	8364	25,32
5h	6244	7904	7927	7410	27,15
8h	6721	8389	8550	7909	27,61
MANDIOCA					
Nativo	6467	8062	8084	7411	25,24
1h	7818	9822	9803	8514	26,59
3h	6707	8515	8554	7762	28,00
5h	7242	9217	8975	8184	29,08
8h	6907	8974	8694	8065	29,17

Esse aumento de cristalinidade sugere um rearranjo das moléculas de amido com fortalecimento das ligações internas dos grânulos e, consequentemente maior grau de associação das cadeias de amido.

Num estudo feito por Atichokudomchai, Varavinit e Chinachoti (2002) foi observado que a cristalinidade aumentou com aumento do tempo de tratamento quando modificaram amido de mandioca com HCl a 6 e 12%. Atichokudomchai *et al.* (2001), demonstraram que paralelamente ao aumento de cristalinidade relativa, houve redução no conteúdo de amilose, quanto maior o tempo de modificação ácida. Estes resultados indicaram ainda que a amilose distribuída na região amorfa foi preferencialmente atacada pelo ácido, resultando na alta % de cristalinidade relativa. Os grânulos modificados mostraram curvas com picos melhores definidos do que o amido nativo,

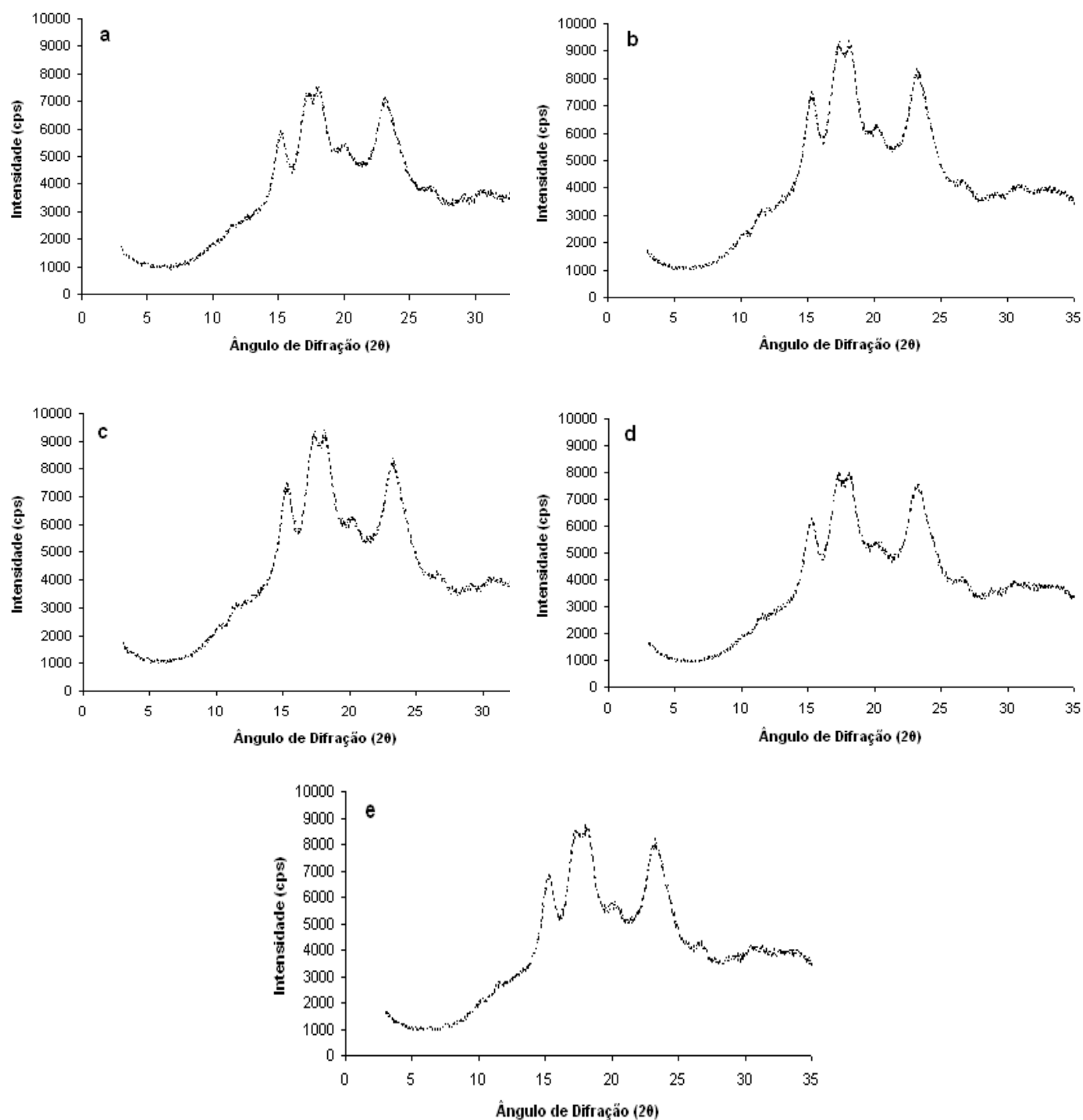


Figura 13 – Difractogramas de amidos de milho nativo e submetidos à modificação ácido-metanólica; a: amido nativo; b: amido modificado por 1,0 hora; c: amido modificado por 3,0 horas; d: amido modificado por 5,0 horas; e: amido modificado por 8,0 horas.

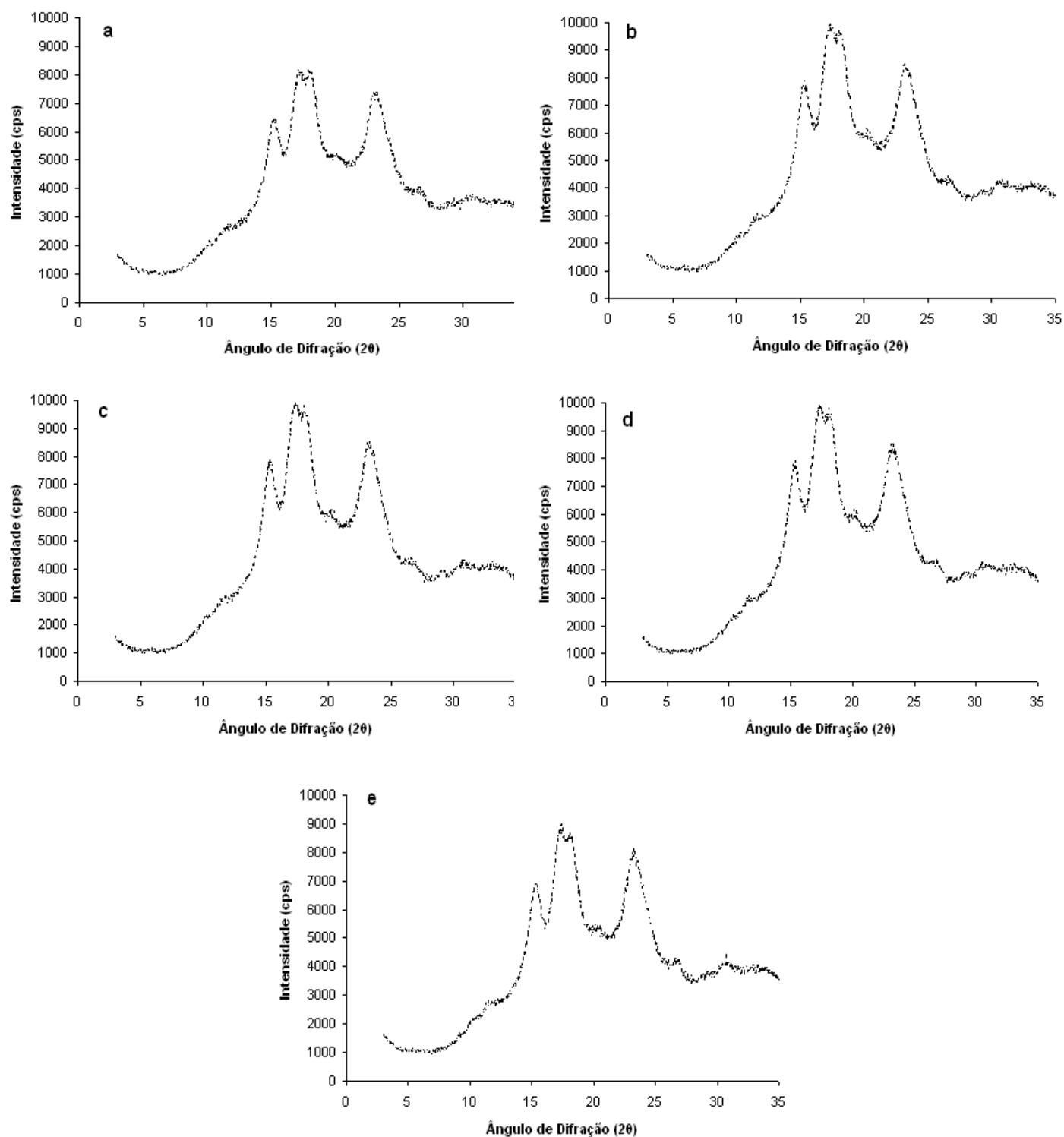


Figura 14 – Difrátogramas de amidos de mandioca nativo e submetidos à modificação ácido-metanólica; a: amido nativo; b: amido modificado por 1,0 hora; c: amido modificado por 3,0 horas; d: amido modificado por 5,0 horas; e: amido modificado por 8,0 horas.

sugerindo que a área amorfa do grânulo foi levemente modificada pela modificação ácido-metanólica. Os amidos nativos mostraram intensidade de pico menores do que os modificados. Sugere-se que possivelmente a cristalinidade aumentou ou as áreas menos organizadas foram atacadas neste nível de modificação.

5.7. Teor de Amilose

O teor de amilose está diretamente relacionado com a constituição estrutural das regiões cristalinas e amorfas do grânulo de amido (GALLANT *et al.*, 1982). É conhecido por afetar as propriedades funcionais, retrogradação, inchamento e susceptibilidade à hidrólise (GÉRARD; BARRON; PLANCHOT, 2001; YOU; IZYDORCZYK, 2002).

Os resultados de teor de amilose obtidos para os amidos de milho e mandioca nativos e modificados estão apresentados na Tabela 6.

O teor de amilose encontrado para o amido de milho foi de 26,17% e está de acordo com os estudos de Srichuwong *et al.* (2005), porém um pouco mais alto do que o encontrado por Singh e Singh (2003). O teor de amilose reduziu de 26,27 para 23,01% para os amidos nativo e hidrolisado a 8 horas, respectivamente.

Para o amido de mandioca nativo o teor de amilose encontrado foi de 21,41% e está de acordo com os estudos de Defloor, Dehing e Delcour (1998), porém mais alto do que o encontrado por Srichuwong *et al.* (2005). Quanto maior o tempo de tratamento, menor a % de amilose, ou seja, com 8 horas de tratamento, o teor de amilose caiu para 18,81%.

O tratamento ácido-metanólico provocou a redução no teor de amilose dos amidos modificados quanto maior o tempo de tratamento. Para o amido de mandioca a redução ocorreu na primeira hora de tratamento e a partir deste

Tabela 6 – Teor de amilose dos amidos de mandioca e milho naturais e modificados.

Amido de mandioca	% Amilose	Amido de milho	% Amilose
Natural	21,41 ± 0,08 ^a	Natural	26,27 ± 0,80 ^a
1 hora	19,75 ± 0,52 ^b	1 hora	25,70 ± 0,45 ^a
3 horas	19,56 ± 0,36 ^b	3 horas	24,78 ± 0,57 ^b
5 horas	19,47 ± 0,21 ^b	5 horas	24,29 ± 0,05 ^b
8 horas	18,81 ± 0,49 ^b	8 horas	23,01 ± 0,30 ^c

Cada valor representa a média de quatro repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes (P<0.05)

período não apresentou diferença significativa no teor de amilose para os tempos de 1,0, 3,0, 5,0 e 8,0 horas. No caso do amido de milho a diferença significativa na redução do teor de amilose ocorreu a partir de 3,0 horas de tratamento, porém foi semelhante para o tempo de 5,0 horas. Com 8,0 horas de tratamento, a redução foi significativa novamente.

De acordo com Atichokudomchai *et al.* (2001), embora a modificação ácida não reduza drasticamente o tamanho do grânulo, a perda de amido na modificação pode ser determinada. Os mesmos autores observaram também que no primeiro estágio da modificação ácida, ocorreu uma perda rápida de amido, devido ao ataque do ácido na região amorfa do grânulo, principalmente na superfície do grânulo. Como já foi citado, na região amorfa há concentração predominante de amilose e por isso quanto maior o tempo de tratamento, maior a redução do teor de amilose.

Segundo Atichokudomchai, Shobsngob e Varavinit (2000), a cristalinidade dos grânulos de amido aumentou com o decréscimo do conteúdo de amilose. O conteúdo de amilose decresceu com a modificação ácida, pois as moléculas de amilose são mais facilmente quebradas do que as moléculas de amilopectina. Estes autores também afirmam que a exocorrosão (detectada por MEV no mesmo estudo) que apareceu por toda a superfície do grânulo, sugere que a amilose está distribuída por toda superfície. Isto levaria a formação de poros eventualmente distribuídos na superfície dos grânulos

modificados por ácido. A modificação da amilopectina poderia então ocorrer depois que a maioria das moléculas de amilose foram degradadas.

5.8. Distribuição do Peso Molecular dos Componentes do Amido

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 amidos de milho e mandioca nativos e modificados por tratamento ácido-metanólico analisados por Cromatografia de Exclusão por Tamanho de Alta Performance (HPSEC) estão representadas nas Figuras 15 e 16, respectivamente. Os picos apresentados correspondem a carboidratos de alto peso molecular, principalmente amilopectina. Uma segunda fração que corresponderia a carboidratos de baixo peso molecular, principalmente amilose, não está demonstrada no gráfico. As figuras 15 e 16 mostraram a mesma tendência: os picos dos amidos modificados deslocaram para um maior tempo de retenção quanto maior o tempo de tratamento, indicando que o tamanho molecular da amilopectina decresceu quanto maior o tempo de tratamento.

Os resultados obtidos sugerem que a amilose e amilopectina não estão presentes em diferentes regiões, mas dispostas adjacientemente dentro do grânulo de amido, particularmente na região amorfa; isto porque apesar de não demonstrado neste gráfico, foi comprovada no item 5.7 que houve redução do teor de amilose, demonstrando que ambas amilose e amilopectina são atacadas durante a hidrólise.

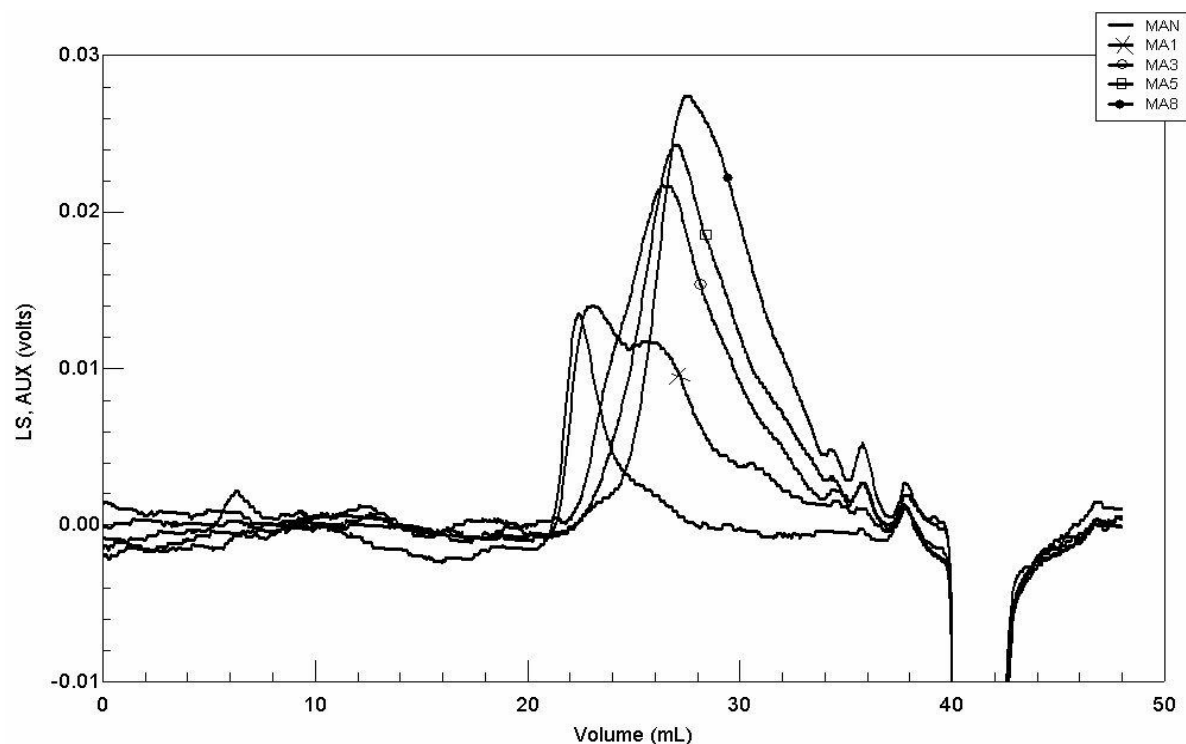


Figura 15 – Cromatogramas de alta performance de exclusão de tamanho de amidos de milho nativo e modificados com HCl-metanol por 1, 3, 5 e 8 horas (mostrado apenas o pico de amilopectina).

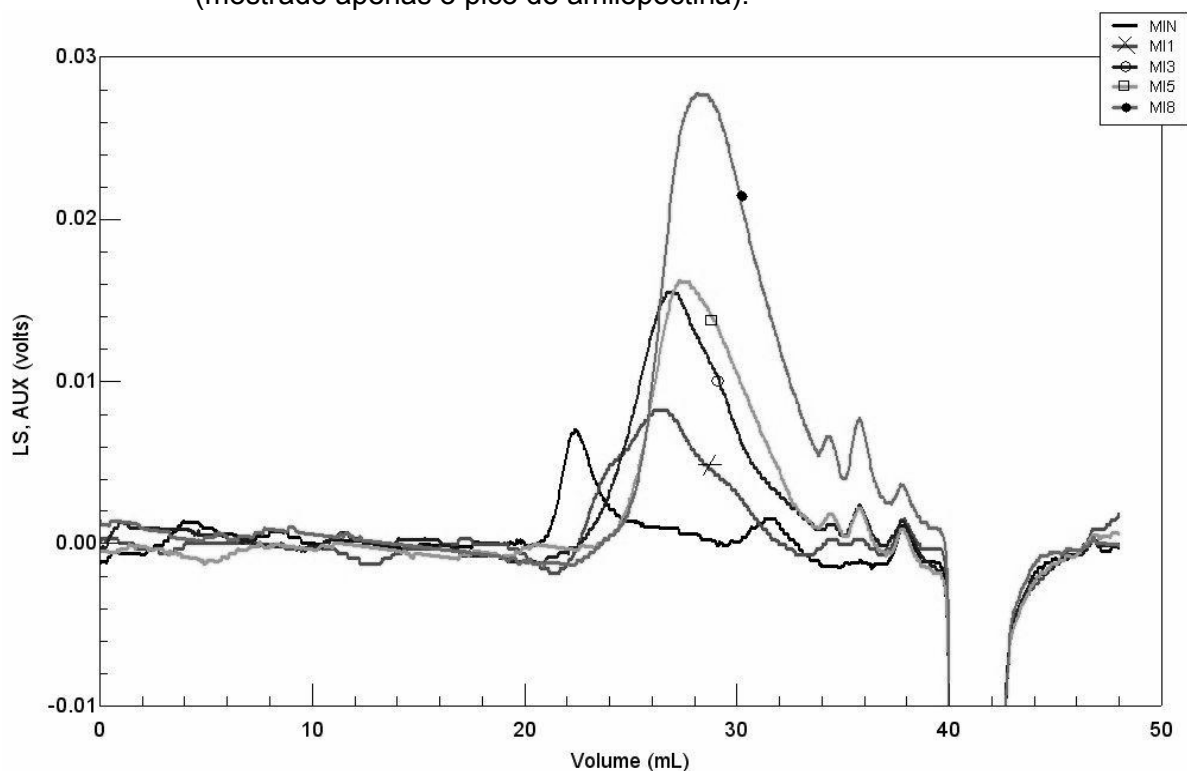


Figura 16 - Cromatogramas de alta performance de exclusão de tamanho de amidos de mandioca nativo e modificados com HCl-metanol por 1, 3, 5 e 8 horas (mostrado apenas o pico de amilopectina).

5.9. Viscosidade Intrínseca

A viscosidade é essencialmente uma medida da fricção interna ou resistência ao deslocamento de moléculas altamente poliméricas em solução (FRANCO; CABRAL; TAVARES, 2002).

Através dos tempos de escoamentos obtidos, primeiramente foram determinadas as viscosidades específicas e posteriormente a viscosidade intrínseca para os amidos de milho e mandioca nativos e modificados. Os resultados de viscosidade intrínseca estão demonstrados na Tabela 7 e nas Figuras 17 e 18.

O valor de viscosidade intrínseca de 2,36 obtido para o amido de mandioca foi semelhante ao encontrado por Ciacco e D'appolônia (1976) que obtiveram o valor de 2,45. Mishra e Tai (2005) obtiveram o valor de 1,88 para a viscosidade intrínseca determinada a 20 °C para o amido de milho nativo, semelhante ao encontrado neste trabalho, que foi de 1,85.

A viscosidade intrínseca diminuiu para todos os amidos modificados; para o amido de milho a redução foi de 1,85 para 0,04 quando modificado por 8 horas. No caso do amido de mandioca a redução ocorreu de 2,36 para 0,19, nessas mesmas condições. Isto indica que apesar da produção de dextrinas

Tabela 7 - Viscosidade Intrínseca de amidos de mandioca e milho naturais e modificados.

<i>Tempo (h)</i>	<i>Viscosidade Intrínseca</i>	
	<i>Mandioca</i>	<i>Milho</i>
Nativo	2,36 ± 0,08 ^a	1,85 ± 0,01 ^a
1	0,96 ± 0,03 ^b	0,88 ± 0,00 ^b
3	0,49 ± 0,05 ^c	0,44 ± 0,04 ^c
5	0,29 ± 0,02 ^d	0,38 ± 0,02 ^d
8	0,19 ± 0,04 ^d	0,04 ± 0,01 ^e

Cada valor representa a média de quatro repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes (P<0.05).

de baixo peso molecular ser mínima, houve uma redução do peso molecular dos componentes dos amidos de milho e mandioca, quanto maior o tempo de tratamento, assim como verificado nos resultados de HPSEC.

Resultados semelhantes foram observados por Franco, Cabral e Tavares (2002), que analisaram a viscosidade intrínseca do amido de mandioca nativo antes e após modificação ácida e observaram que houve uma extensiva degradação dos grânulos de amido. Estes mesmos autores relataram que os resultados de viscosidade intrínseca e teor de amilose sugerem que o ácido atacou todo amido da mesma forma e a modificação seguiu duas distintas etapas: primeiramente a alta taxa de modificação, foi caracterizada pela rápida degradação das áreas amorfas dos grânulos de amido; na segunda etapa, a taxa mais lenta foi caracterizada pela alta resistência ao ácido das zonas mais organizadas destes grânulos.

Para os diferentes tempos de modificação ácido-metanólica, em ambas fontes de amido, os valores de viscosidade intrínseca apresentaram diferença significativa, com exceção dos tempos de 5,0 e 8,0 horas para o amido de mandioca. A degradação parece ter sido maior na primeira hora para o amido de mandioca; a mesma tendência foi observada para o teor de amilose.

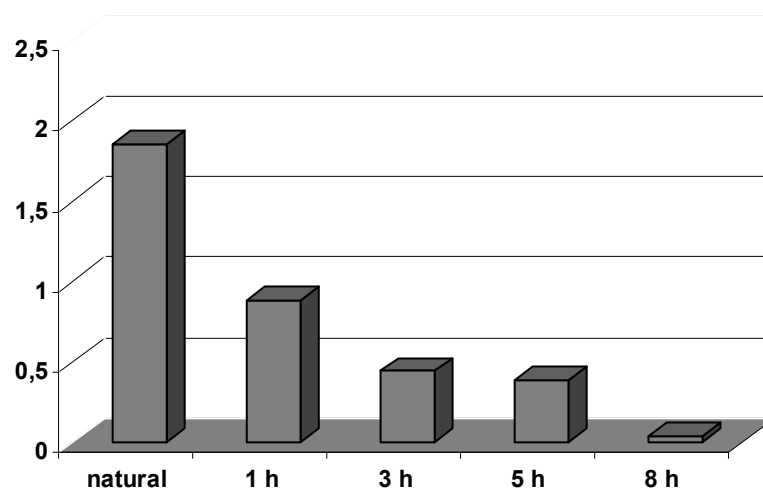


Figura 17 - Viscosidade intrínseca dos amidos de milho nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas.

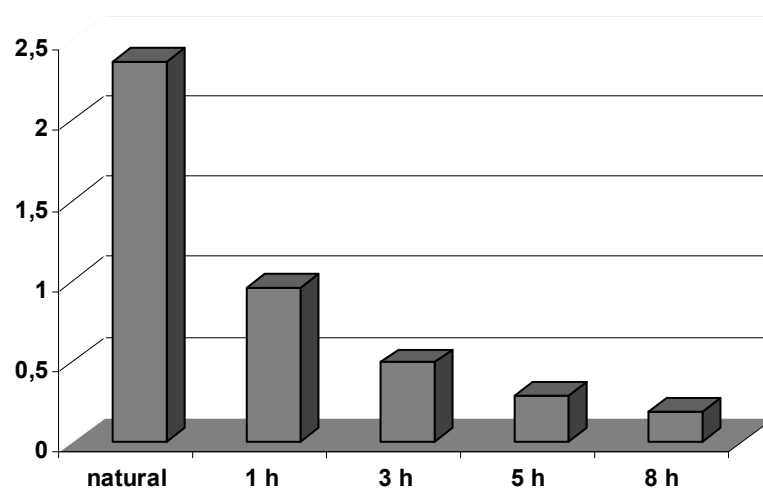


Figura 18 - Viscosidade intrínseca dos amidos de mandioca nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas.

5.10. Propriedades de Pasta

As propriedades de pasta e os perfis viscoamilográficos dos diferentes amidos de milho e mandioca nativos e modificados estão apresentados na Tabela 8 e Figuras 19 e 20.

O amido de milho natural apresentou uma curva típica para este amido, com pico de viscosidade (280 RVU) inferior ao encontrado para o amido de mandioca, alta temperatura de pasta (79,72 °C) e alta tendência à retrogradação (103 RVU).

O perfil de viscosidade obtido para o amido de mandioca natural também apresentou uma curva típica para esse amido, com baixa temperatura de pasta (62,65 °C), aumento acentuado de viscosidade até seu pico máximo (380 RVU), seguido da queda rápida da mesma. Apresentou também baixa tendência à retrogradação (83 RVU). O amido de mandioca apresentou maior pico de viscosidade e mais baixa temperatura de pasta quando comparado com o amido de milho.

Estes comportamentos sugerem que há existências de forças associativas mais fracas no amido de mandioca que no amido de milho, sendo que este último apresenta maior resistência à agitação mecânica. De acordo com Swinkels (1985), os baixos teores de amilose de grande peso molecular seriam responsáveis pela baixa tendência à retrogradação do amido de mandioca.

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 à retrogradação que podem ser atribuídos ao complexo amilose-lipídio (FRANCO *et al.*, 2002).

Comparando com amidos de cereal normal, os amidos de raízes e tubérculos apresentam baixas temperaturas de pasta, baixa resistência ao atrito mecânico e baixa tendência à retrogradação (PERONI, ROCHA; FRANCO, 2006). Segundo Lin *et al.* (1994) essas propriedades foram atribuídas à ausência de lipídios e fosfolipídios nesses amidos. Mishra e Tai

(2005) atribuem esta diferença à cristalinidade mais alta do amido de mandioca em relação ao amido de milho.

Após tratamento ácido-metanólico, a viscosidade de pasta decresceu para ambos amidos. As suspensões de amidos modificados a 9% apresentaram viscosidade de pasta muito baixas (dados não mostrados) para serem detectados pelo RVA. Mesmo à concentração de 18%, que corresponde ao dobro da concentração utilizada para os amidos nativos, apenas o amido de mandioca tratado por 1,0 hora apresentou pico de viscosidade. Nas outras amostras, a viscosidade de pico foi muito baixa para ser detectada no perfil amilográfico (Figura 20). Para o amido de milho à concentração de 18%, o tempo de 1,0 hora apresentou pico de viscosidade maior que o correspondente ao amido nativo (9% de concentração), porém com o tempo de tratamento de 3,0 horas ou mais, a viscosidade diminuiu.

Pelo Teste de Tukey é possível verificar que para o amido de milho, praticamente todas as medidas apresentaram diferenças estatísticas para diferentes tempos de tratamento, mostrando que maiores tempos influenciam nas propriedades de pasta. Já para o amido de mandioca, alguns tempos de modificação apresentaram igualdade estatística; a partir de 3,0 horas de tratamento as viscosidades de pico e quebra tornaram-se tão baixas que não houve alteração dos valores para maiores tempos de tratamento.

O pico de viscosidade para os amidos de milho e mandioca tratados com ácido-metanol decresceu com o aumento do tempo de tratamento. Este resultado confirma a alta solubilidade dos mesmos e implica que os amidos tratados em ácido-álcool foram facilmente rompidos quando aquecidos em água (CHANG; LIN; LII, 2004). O amido de mandioca mostrou maior decréscimo na viscosidade de pasta quando comparado com o amido de milho, indicando que foi mais afetado pelo tratamento. Isto pode estar relacionado com as forças de ligação desses amidos. O decréscimo na viscosidade de pasta pode também estar relacionado com a alta solubilidade destes tipos de amido (FRANCO; CABRAL; TAVARES, 2002).

Para o amido de milho, as temperaturas de pasta dos amidos modificados foram menores quando comparadas com a do amido natural. Tal

efeito pode estar relacionado à concentração de 18% utilizada no RVA para os amidos modificados (dobro da utilizada para o amido natural), o que resultou em menor temperatura de pasta, principalmente para os tempos de 1,0 e 3,0 horas. As temperaturas de pasta para o amido de mandioca apresentaram leve aumento, quanto maior o tempo de tratamento, porém para o amido nativo e o amido modificado por 1,0 hora foram praticamente iguais, mesmo a concentrações diferentes.

Segundo estudos feitos por Atichokudomchai *et al.* (2001), a modificação ácida (HCl) diminuiu o pico de viscosidade dos amidos de mandioca modificados, quanto maior o tempo de hidrólise. O pico de viscosidade teve uma forte correlação com o a cristalinidade e quando o pico de viscosidade diminuiu, a cristalinidade aumentou. A queda na viscosidade resultou da modificação parcial da região amorfa (COCK, 1996) e então a cristalinidade aumentou, confirmando os resultados deste trabalho.

Tabela 8 - Propriedades de pasta dos amidos de mandioca e milho nativos e modificados.

Tempo de hidrólise	Viscosidade (RVU)*				Temp. Pasta	Tempo de
	Pico	Breakdown	Final	Set back	(°C)	pico (min)
MILHO						
Nativo	286 ± 20 ^a	123 ± 0,5 ^a	259 ± 1 ^a	495 ± 0 ^a	79,7	8,4 ± 0,1 ^a
1h	226 ± 3 ^b	27 ± 2 ^b	103 ± 50 ^b	241± 50 ^b	70,9	6,1± 0,5 ^b
3h	53 ± 3 ^c	6 ± 1 ^c	46 ± 20 ^b	226 ± 20 ^b	71,6	6,1 ± 0,1 ^c
5h	12± 2 ^d	2 ± 0 ^d	10 ± 3 ^c	103 ± 2 ^c	72,7	6,0 ± 0,1 ^{cd}
8h	5 ± 2 ^e	1 ± 2 ^e	5 ± 4 ^c	47 ± 4 ^d	75,6	5,7 ± 0,0 ^d
Mandioca						
Nativo	380 ± 1 ^a	269 ± 2 ^a	194 ± 2 ^a	95 ± 2 ^a	62,6	5,9 ± 0,1 ^a
1h	69 ± 5 ^b	54 ± 3 ^b	109 ± 5 ^b	83 ± 16 ^b	62,6	5,2 ± 0,1 ^b
3h	9 ± 2 ^c	5 ± 1 ^c	85 ± 4 ^c	81 ± 4 ^b	63,2	5,2 ± 0,5 ^b
5h	6 ± 1 ^c	3 ± 0,5 ^c	30 ± 2 ^d	27 ± 2 ^c	64,6	5,0 ± 0,3 ^b
8h	4 ± 1 ^c	2 ± 0,4 ^c	6 ± 2 ^e	3 ± 1 ^d	67,4	4,7 ± 0,5 ^b

Cada valor representa a média de quatro repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes (P<0.05)

Nativos: Suspensão de amido medida a 9% (b.s.)

1, 3, 5 e 8h: Suspensão de amido medida a 18% (b.s.)

*Viscosidade: Unidade RVU

As reduções de viscosidade intrínseca dos amidos modificados e das viscosidades de pico obtidas por RVA desses amidos, bem como o deslocamento dos picos observados nos cromatogramas de HPSEC indicam que as moléculas de amilopectina presentes nas regiões amorfas dos grânulos também foram degradadas durante o tratamento, uma vez que a viscosidade máxima obtida a partir do RVA está principalmente relacionada ao inchamento dessas moléculas.

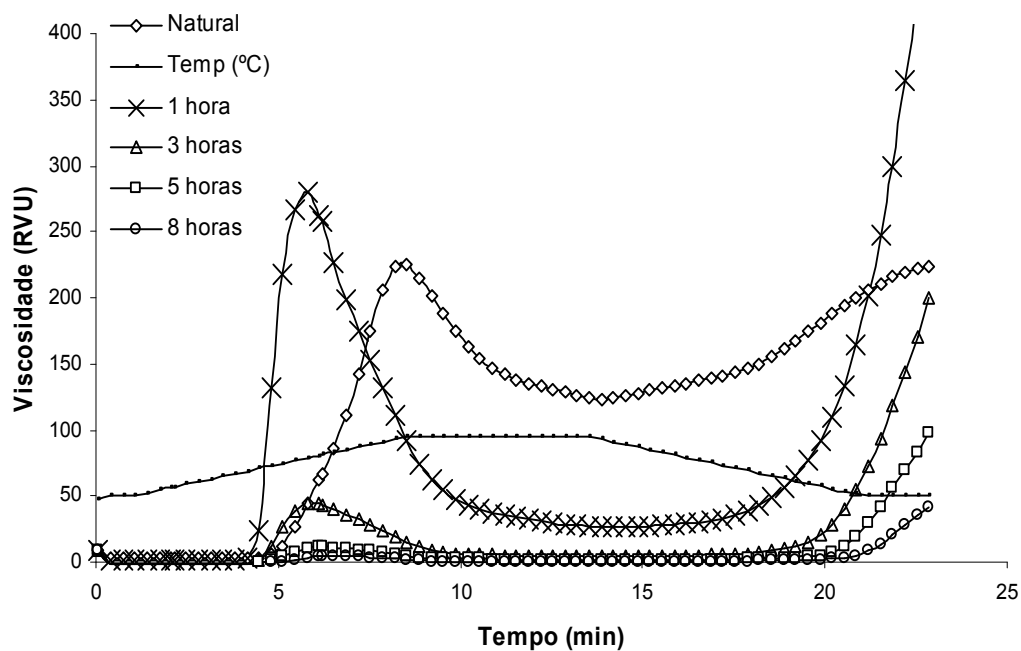


Figura 19 - Perfil Viscoamiliográfico dos amidos de milho nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas

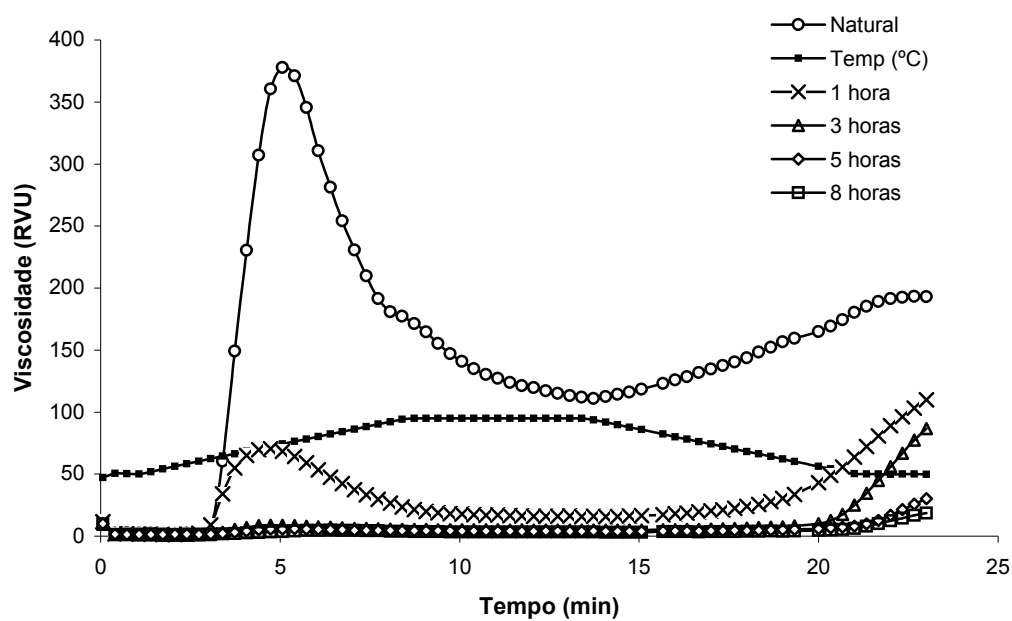


Figura 20 - Perfil Viscoamiliográfico dos amidos de mandioca nativo e modificados por 1, 3, 5 e 8 horas.

5.11. Propriedades Térmicas

As propriedades térmicas de gelatinização dos amidos de milho e mandioca nativos e modificados por ácido-metanol estão apresentados na Tabela 9.

O amido de milho apresentou temperaturas de gelatinização inicial, de pico e final de 65,7°C, 70,5°C, 74,5°C, respectivamente e a variação de entalpia de 10,5J/g. Já o amido de mandioca natural apresentou temperaturas de gelatinização inicial, de pico e final de 56,5°C, 63,6°C, 75,0°C, respectivamente e a variação de entalpia de 9,3/g.

Os amidos de milho e mandioca tratados por ácido-metanol mostraram, através de análise estatística (5% de probabilidade), que de uma forma geral as temperaturas de gelatinização inicial (T_0), de pico (T_p) e final (T_f) aumentaram gradualmente quanto maior o tempo de modificação ácido-metanólica, principalmente para o amido de milho. No caso do amido de mandioca, T_f foi igual para os tempos de 1 a 3 horas e também 5 e 8 horas.

Estes resultados foram coerentes com os obtidos por Lin, Lee, Chang (2003) e Chang, Lin e Lii (2004) que realizaram modificação ácido-metanólica em amidos de milho e batata e ácido-etanólica em amido de milho ceroso, respectivamente. Obtiveram aumento nas temperaturas de gelatinização, quando foram analisadas as propriedades térmicas de tais amidos em DSC, exceto T_0 para o amido de milho que diminuiu. No trabalho realizado por Chang, Lin e Chang (2006) não houve diferenças significativas entre T_0 do amido de milho nativo e seus respectivos amidos modificados com HCl em diferentes tipos de álcoois.

O aumento de T_0 , T_p e T_f ocorreu de acordo com o aumento da cristalinidade relativa do amido (conforme verificado pelos resultados de difração). Foi proposto que neste período, a região amorfa do grânulo foi rapidamente modificada pelo ácido e em consequência, os cristais são separados e não mais desestabilizados nas regiões amorfas (Atichokudomchai, Varavinit e Chinachoti, 2002).

A faixa de gelatinização aumentou para o amido de milho quanto maior o tempo de hidrólise. Para o amido de mandioca, houve aumento de faixa de

gelatinização de uma forma geral, porém com um aumento maior para o tempo de 1,0 hora, variando muito pouco a partir deste período.

A temperatura de gelatinização pareceu correlacionar-se com o conteúdo de amilose remanescente parcialmente modificado. No estudo feito por Perera *et al.* (2001), no primeiro estágio, grande parte da amilose parcialmente degradada permanece no grânulo. Esta amilose remanescente pode retrogradar ou interagir com dextrinas e aumentar a temperatura de gelatinização.

Tabela 9 - Propriedades térmicas dos amidos de mandioca e milho nativos e modificados.

Tempo de hidrólise	Temperatura de gelatinização (°C)			Faixa (°C)	AH (J/g)
	T ₀	T _p	T _f		
Milho					
Nativo	65,8 ± 0,5 ^c	70,6 ± 0,2 ^d	74,3 ± 0,1 ^e	8,5	8,7 ± 0,1 ^b
1h	65,2 ± 0,4 ^d	70,8 ± 0,3 ^d	76,2 ± 0,2 ^d	11,0	11,4 ± 1,0 ^{ab}
3h	65,8 ± 0,0 ^c	72,4 ± 0,2 ^c	78,7 ± 0,4 ^c	12,9	11,4 ± 0,6 ^{ab}
5h	66,7 ± 0,1 ^b	74,4 ± 0,4 ^b	82,4 ± 0,7 ^b	15,7	12,5 ± 2,0 ^a
8h	67,6 ± 0,1 ^a	75,8 ± 0,0 ^a	83,9 ± 0,5 ^a	16,3	11,3 ± 1,0 ^{ab}
Mandioca					
Nativo	56,7 ± 0,6 ^d	63,1 ± 0,3 ^d	73,2 ± 0,3 ^b	16,5	11,1 ± 0,9 ^a
1h	56,8 ± 0,4 ^d	63,5 ± 0,6 ^d	75,9 ± 0,9 ^b	19,1	10,9 ± 0,8 ^a
3h	58,4 ± 0,1 ^c	65,7 ± 0,3 ^c	80,2 ± 1,0 ^a	21,8	10,4 ± 0,6 ^a
5h	60,0 ± 0,2 ^b	66,7 ± 0,4 ^b	81,5 ± 1,0 ^a	21,5	11,3 ± 2,0 ^a
8h	61,0 ± 0,6 ^a	68,0 ± 0,7 ^a	82,2 ± 2,0 ^a	21,2	9,8 ± 0,2 ^a

Cada valor representa a média de quatro repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes (P<0.05)

(T₀), (T_p), (T_f): Temperaturas inicial, de pico e final, respectivamente; ΔH: variação de entalpia; T_f-T₀: Faixa de temperatura de gelatinização.

A entalpia de gelatinização aumentou de 10,5 para 12,6 J/g para o amido de milho natural e o hidrolisado por 8,0 horas, respectivamente. Para o amido de mandioca houve um leve aumento da entalpia quando se compara o amido nativo com os modificados, com exceção do tratamento por 8,0 horas em que houve diminuição da entalpia. Estes resultados, de acordo com Chang, Lin, Lii (2004), indicam que o tratamento com ácido-álcool aumentou a cristalinidade dos grânulos de amido, tornando-o mais homogêneos do que o amido nativo. Para a diminuição da entalpia no tempo de 8,0 horas para o amido de mandioca, Chang, Lin, Lii (2004), realizaram modificação ácido-etanólica com amido de milho ceroso a 65 °C por 1,0 hora e atribuíram esta diminuição de entalpia a uma possível gelatinização parcial do amido.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos deste trabalho permitiram concluir que:

- A modificação ácido-metanólica proporcionou alta recuperação dos amidos de milho e mandioca, indicando baixa formação de dextrinas de baixo peso molecular.
- A solubilidade dos amidos aumentou com o tempo de hidrólise, o que mostra que este tipo de modificação torna o amido altamente solúvel, permitindo maior aplicação industrial (farmacêutica e alimentícia).
- Não foram observadas variações na forma e no tamanho dos grânulos de amido de milho e mandioca, nem perda da estrutura cristalina dos amidos.
- A superfície dos grânulos após 3,0 horas de modificação ácido-metanólica apresentou exocorrosão, mais especificamente o amido de milho, exibindo poros naturalmente existentes nos grânulos mais evidentes.
- A cristalinidade dos amidos de milho e mandioca parece ter aumentado com o tempo de tratamento utilizado, demonstrado pelos picos maiores e mais bem definidos.

- A viscosidade intrínseca foi reduzida consideravelmente à medida que se aumentou o tempo de modificação ácido-metanólica, sugerindo que as moléculas de amilose e amilopectina foram atacadas durante a modificação.
- O tamanho molecular das amilopectinas presente nas regiões amorfas dos grânulos diminuiu após o tratamento de ambas fontes de amido, de acordo com o aumento do tempo de tratamento.
- A região amorfa do grânulo foi atacada principalmente pelo ácido, devido à redução do teor de amilose dos grânulos, sendo mais pronunciada quando se aumentou o tempo de tratamento.
- Após 3 horas de modificação ácido-metanólica os picos de viscosidade e as viscosidades de pasta dos amidos de milho e mandioca reduziram drasticamente.
- As temperaturas de gelatinização dos amidos de milho e mandioca aumentam para os diferentes tempos de tratamento, principalmente para o amido de milho.

7. SUGESTÕES DE TRABALHOS

- Estudar aplicações para os amidos modificados por ácido-álcool.
- Comparar os efeitos da modificação ácido-metanólica e modificação ácida em diferentes fontes de amido.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9 ed. AACC, v.1 e 2, 1995.
- ABAM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA. Disponível em: <http://www.abam.com.br>. Acesso em: jun/2006.
- ABIMILHO – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS MOAGEIRAS DE MILHO. Acesso em: <http://www.abimilho.com.br>>. Acesso em jul/2006.
- AHMAD, F. B. *et al.* Physicochemical characterization of sago starch. **Carbohydrate Polymer**, v. 38, p.361-370, 1999.
- 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.
- ATICHOKUDOMCHAI, N.; SHOBSNGOB, S.; VARAVINIT, S. Morfological properties of acid-modified tapioca starch. **Starch / Stärke**, v. 52, p.283-289, 2000.
- ATICHOKUDOMCHAI, N. *et al.*, A study of some physicochemical properties of high-crystalline tapioca starch. **Starch / Stärke**, v. 53, p. 577-581, 2001.
- ATICHOKUDOMCHAI, N.; VARAVINIT, S.; CHINACHOTI, P. Gelatinization transitions of acid-modified tapioca starches by Differential Scanning Calorimetry. **Starch / Stärke**, v. 54, p.296-302, 2002.
- ATWELL, W. A. *et al.* The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. **Cereal Foods Word**, v. 33, p.306-311, 1988.
- BADENHUIZEN, N. P. **The biogenesis of starch granules in higher plants**. New York: Appleton Crofts, 1969.
- 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, 2000.
- BORTOLO, V. F. **Utilização de amidos de milho ceroso pré-gelatinizado e gomas xantana e guar como substitutos de gorduras em bolos**.1998.138f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Aliemntos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- BULEON, A. *et al.* Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.

- CASTRO, G. A. de. **Estudo da utilização de amido de milho ceroso hidrolisado por Alfa-amilase como substituto de gordura de bolos**. 2000. 198f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. Fundação Cargill: Campinas, v.1, p.224, 2001.
- CEREDA, M. P. *et al.* Modificação de fécula por fermentação. In: SCHMIDELL, W. ET AL. **Biotecnologia Industrial**, São Paulo: Edgard blücher, 2001. cap.20.
- CHANG, Y. H.; LIN, J. H.; LII, C. Y. Effect of ethanol concentration on the physicochemical properties of waxy corn starch treated by hydrochloric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p. 89-96, 2004.
- CHANG, Y. H.; LIN, J. H.; CHANG, S. Y. Physicochemical properties of waxy and normal corn starches treated in different anhydrous alcohols with hydrochloric acid. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 332-339, 2006.
- CHUN, J. *et al.* Properties of High-Crystalline Rice Amylodextrins Prepared in Acid-Alcohol Media as Fat Replacer. **Cereal Foods World**, v. 42, p. 813-819, 1997.
- CHUNG, Y.; LAI, H. Molecular and granular characteristics of corn starch modified by HCl-metanol at different temperatures. **Carbohydrate Polymers**, p. 1-8, 2005.
- CIACCO, C. F.; CRUZ, R. **Fabricação do amido e sua utilização**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e tecnologia do Estado de São Paulo, p.152, 1982.
- COCK, P. D. Functional properties of starch: methods and applications. **Agro-Food-Industry Hi Tech**, jul-aug, p. 18-22, 1996.
- COOKIE, D.; GIDLEY, M. J.: Loss of cristallinity and molecular order during starch gelatinization: origin of the enthalpic transition. **Carbohydrates Research**, v. 227, p.103-112, 1992.
- CROCHET, P. *et al.* Starch crystal solubility and starch granule gelatinization. **Carbohydrates Research**, v. 340, p.107-113, 2005.

- CUI, R.; OATES, C. The effect of the amylose-lipid complex formation on enzyme susceptibility of sago starch. **Food Chemistry**, v.65, p.417-425, 1999.
- ELIASSEN, A. C.; GUDMUNDSSON, M. Starch: Physicochemical and functional aspects. In A. C. Eliasson (Ed), **Carbohydrates in food**, p. 431-503. New York: Marcel Dekker, 1996.
- ELLIS, R. P. Starch production and industrial use. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.77, p.289-311, 1998.
- DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J. Physicochemical properties of cassava starch. **Starch / Stärke**, v. 50, p.58-64, 1998.
- FANNON, J. F.; HAUBER, R. J.; BeMILLER, J. N. Surface pores of starch granules. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 284-288, 1992.
- FOX, J. D.; ROBYT, J. F. Modification of starch granules by hydrolysis with hydrochloridric acid in various alcohols, and the formation of new kinds of limit dextrans. **Carbohydrate Polymers**, v.227, p. 163-170, 1992.
- FRANCO, C. M. L. *et al.* **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**: Propriedades Gerais do amido. Campinas, Fundação Cargill, v.1, p.224, 2001
- FRANCO, C. M. L. *et al.* Structural and Functional Characteristics of Selected Soft Wheat Starches. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 243-248, 2002.
- 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, 2002.
- FRENCH, D. Organization of starch granules. In: WHISTLER, R.L.; BeMILLER, J.N.; PASCHALL, E.F. (Eds) **Starch: Chemistry and Technology**. London: Academic Press, cap.7, p.183-247, 1984.
- GALLANT, D. J. *et al.* On ultrastructural and nutritional aspects of some tropical tuber starches. **Starch / Stärke**, v. 34, p.255-262, 1982.
- GALLANT, D. J. *et al.* Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal Clinical Nutrition**, v. 46, p.3-16, 1992.

- 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.
- GALLIARD, T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: T. GALLIARD -(Ed), **Starch properties and potencial**. Chichester: Wiley, p. 57-78, 1987.
- GARCIA, V. *et al.* Thermal transitions of cassava starch at intermediate water contents. **Journal Therm. Anal.**, v. 47, p.1213-1228, 1996.
- GÉRARD, C.; BARRON, C. P.; PLANCHOT, V. Amylose determinations in genetically modified starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 44, p. 19-27, 2001.
- GIDLEY, M. J.; BOCIEK, S. M. Molecular organization in starches : A C CP/MAS NMR study. **Journal Am. Che. Society**, v. 107, p.7040-7044, 1985.
- GRAY, J. A.; BeMILLER, J. N. Development and utilization of reflectance confocal laser scanning microscopy to locate reaction sites in modified starch granules. **Cereal Chemistry**, v. 81, p. 278-286, 2004.
- HERMANSSON, A.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, p. 245-253, 1996.
- HIZUKURI, S. Relationship between the distribution of the chainlength of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. **Carbohydrate Research**, v. 141, p.295-306, 1985.
- HIZUKURI, S. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins and its significance. **Carbohydrate Research**, v. 147, p.342-347, 1986.
- HIZUKURI, S. *et al.* Analytical developments: molecular and microstructural characterization. In: FRAZIER, P.J.; RICHMOND, P.; DONALD, A.Mm. (Ed) **Starch: structure and functionality**. Royal society of Chemistry, p.121-128, 1997.
- HOOVER, R. Composition, molecular structure and physicochemical properties of tuber and roots starches: a review. **Carbohydrates Polymers**, v.45, n.3, p.253-267, 2001.

HUBER, K. C.; BeMILLER, J. N. Visualization of channels and cavities of corn and sorghum starch granules. **Cereal Chemistry**, v. 74, p. 537-541, 2001.

IEA – Instituto de Economia Agrícola. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=280>. Acesso em: maio, 2005.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Norme internationale: Riz-détermination de la teneur en amylose**. S.I., 1987. 5p. (ISO 6647).

JACOBS, H.; DELCOUR, J. A. Hydrothermal modifications of granular starch. With retention of the granular structure: a review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.46, n.8, p.2895-2905, 1998.

JANE, J.; ROBYT, J. F. Structures studies of amylose V complexes and retrogradated amylose by action of alpha amylase, a new method for preparing amyloextrins. **Carbohydrate Research**, v. 132, p. 105-110, 1984.

JANE, J. *et al.* Characterization of granular cold water soluble. **Starch/Stärke**, v. 38, n.8, p.258-263, 1986.

JANE, J. *et al.* Preparation and food applications of physically modified starches. **Trends in Food Science and Technology**, v.3, n.6, p.145-8, 1992.

JANE, J.; WONG, K. S.; McPHERSON, K. S.: Branch-structure difference in starches of A and B types x-ray patterns revealed by their Naegeli dextrans. **Carbohydrates Research**, v. 300, p. 219-227, 1997.

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, p.629-637, 1999.

JANE, J. Current understanding on starch granule structures. **J. Appl. Glycosci.**, v. 53, p. 205-213, 2006.

JENKINS, P. **X-Ray and neutron scattering studies on starch granule structure**. PhD thesis, University of Cambridge, 1994.

JAYAKODY, L.; HOOVER, R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. **Food Research International**, v. 35, p.665-680, 2002.

- JOHN, J. K. *et al.* Properties of arrowroot starch treated with aqueous HCl at ambient temperature. **Journal of Food Science**, v.67, n.1, p.10-14, 2002.
- KAINUMA, K; FRENCH, D. Näegeli Amylodextrin and its relationship to starch granule structure: I. Preparation and properties of amyloextrins from various starch types. **Biopolymers**, v.10, p.1673-1680, 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. *et al.* Characterization of the dominant mutant amylose-extender (Ac1-5180) maize starch. **Cereal Chemistry**, v.72, n.5, p.457-464, 1995.
- KIM, S. Y. *et al.* Screening potato starch for novel properties using differential scanning calorimetry. **Journal of Food Science**, v. 60, p.1060-1065, 1995.
- KOBAYASHI, S.; SCHWARTZ, S. J.; LINEBACK, D. R. Comparison of the structure of amylopectins from different wheat varieties. **Cereal Chemistry**, v. 68, p.71-74, 1986.
- LANSKY, S.; KOOL, M.; SCHOCH, T. J. Properties of the Fractions and Linear Subfraction from Various Starches. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 71, n.12, p. 4066-4075, 1949.
- LEACH, H. W. Determination of Intrinsic Viscosity of Starches. **Cereal Chemistry** v. 40, n.6, p. 593-600, 1963.
- 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.
- LIN, J. H. ; LEE, S. Y.; CHANG, Y. H. Effect of acid-alcohol treatment on the molecular structure and physicochemical properties of maize and potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, p. 475-482, 2003.
- LIN, J. H.; LII, C. Y.; CHANG, Y. H. Change of granular and molecular structures of waxy maize and potato starches after treated in alcohols with or without hydrochloric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 507-515, 2005.
- LINTNER, C. J. Studien uber diastase. **J. Prakt Chem**, v. 34, p. 378-386, 1886.
- MA, W. P.; ROBYT, J. F. Preparation and characterization of soluble starches having different molecular sizes and composition by acid hydrolysis in different alcohols. **Carbohydrate Research**, v. 166, p. 283-297, 1987.

- MADSEN, M. H.; CHRISTENSEN, D. H. Changes in viscosity properties of potato during growth. **Starch**, v. 48, p. 245-249, 1996.
- MISHRA, S.; RAI, T. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. **Food Hydrocolloids**, p. 1-10, 2005.
- MORRISON, W. R.; MILLIGAN, T. P.; AZUDIN, M. N. A relationship between the amylose and the lipids contents of starches from diploid cereal. **Journal of Cereal Science**, v. 2, p.257-260, 1984.
- MOORTHY, S. N. **Tuber Crop Starches**. 2 ed. Thiruvananthapuram: Central Tuber Crops Research Institute, p.52, 2001.
- MURALIKRISHNA, G.; NIRMALA, M. Cereal amylases – a overview. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 163-173, 2005.
- NÄGELI, W. Beiträge zur näheren kenntniss der starke grupe. **Liebigs Annalen der Chemie**, v. 173, p. 218-227, 1874.
- NODA, T. *et al.* Relationship between chain length distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, p. 153-158, 1998.
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 3 ed. São Paulo: O Instituto, v.1, p.533, 1985.
- PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v.34, p.1-17, 2001.
- PERERA, C. *et al.* Comparasion of Physicochemical properties and structures of sugary –2 cornstarch with normal and waxy cultivars. **Cereal Chemistry**, v.78, p.249-256, 2001.
- PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes botânicas**. 2003. 118p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2003.

- PERONI, F. H. G.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology International**, v. 12, 2006.
- PLANCHOT, V.; COLLONA, P.; ROGER, P. Suitability of starch granule porosity with regard to starch biosynthesis and susceptibility towards amylolysis. **Starch / Stärke**, v. 52, p. 333-339, 2000.
- POLACZEK, E.; STARZYK, F.; TOMASIK, P. Starch-alcohol complexes. **Carbohydrate Polymers**, v.39, p.37-42, 1999.
- RICKARD, J. E.; ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V. The physicochemical properties of cassava starches. **Tropical Science**, v. 31, p.189-207, 1991.
- RING, S. G. *et al.* The gelation and crystallization of amylopectin. **Carbohydrate Research**, v. 162, p.277-293, 1987.
- ROBIN, J. P. *et al.* Lintnerized starches gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chemistry**, Minnesota, v. 51, n.3, p.389-406, 1974.
- ROBIN, J. P.; *et al.* Lintnerized starches. Chromatographic and enzymatic studies of insoluble residues from acid hydrolysis of various cereal starches, particularly waxy maize starch. **Starch**, v. 27, p.525-529, 1975.
- ROBYT *et al.* Acid modification of starch granules in alcohols: reactions in mixtures of two alcohols combined in different ratios. **Carbohydrate Research**, v. 283, p. 141-150, 1996a.
- ROBYT *et al.* Acid modification of starch granules in alcohols: effects of temperature, acid concentration and starch concentration. **Carbohydrate Research**, v. 281, p. 203-218, 1996b.
- SARKO, A.; WU, H. C. H. The crystal structures of A-, B- and C-polymorphs of amylose and starch. **Starch / Stärke**, v. 30, p.73-78, 1978.
- SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of starches from waxy and non-waxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v. 77, p.58-63, 2000.

- SEBIO, L. **Desenvolvimento de plásticos Biodegradável a base de amido de milho e gelatina pelo processo de extrusão** – Avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de barreira. 2003. 182p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- SEIB, P. A. Wheat Starch: isolation, structure and properties. **Oyo Toshitsu Kagaku**, v. 41, p. 49-56, 1994.
- SERRANO, P. O. **Anelamento e hidrólise enzimática do amido de mandioca**. 2004. 83p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2004.
- SINGH, S. K. *et al.* Comparison of laboratory and pilot-plant corn wet-milling procedures. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.74, p.40-48, 1997.
- SINGH, V.; ALI, S. Z. Acid degradation of starch. The effect of acid and starch type. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p.191-195, 2000.
- SINGH, N. *et al.* Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p.219-231, 2003.
- SING, J.; SING, N. Studies on the morphological and rheological properties of granular cold water soluble corn and potato starches. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p.63-72, 2003.
- SMALL, J. C. A method for the preparation of soluble starch. **Journal of American Chemical Society**, v. 283, p. 141-150, 1919.
- SRICHUWONG *et al.* Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 529-538, 2005.
- SVEGMARK, K.; HERMANSSON, A. M. Microstructure and rheological properties of composites of potato starch granules and amylose: a comparison of observed and predicted structure. **Food Structure**, v.12, p.181-193, 1993.
- SWINKELS, J. J. M. Sources of starch, its chemistry and physics. In: VANBEYNUM, G. M. A.; ROELS, J. A. **Starch Conversion Technology**. New York: Marcel Dekker, cap. 2, p. 15-46, 1985.
- TESTER, R. F. Starch: the polysaccharide fractions. In: P.J. FRAZIER, P. RICHMOND, A.M. DONALD (Eds.), **Starch, structure and functionality** (pp.163-171). Royal Society of Chemistry, 1997.

- THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches Practical guides for the food industry**. Saint Paul: Eagan Press, p.94, 1999.
- ZALLIE, J. P. The role and the function of specialty starches in the confectionary industry. National Starch and Chemical's diverse line of specialty starches. 2005. Disponível em: www.foodstarch.com/products_services/pdf/rolefunct.pdf. Acesso em: julho, 2005.
- ZAMBRANO, F. M.; CAMARGO, C. R. O. Substitutos de gordura: Efeito da concentração de ácido e do tempo de hidrólise de amido de mandioca em algumas características dos hidrolisados. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.2, n.1,2, p.155-9, 1999a.
- ZAMBRANO, F. M.; CAMARGO, C. R. O. Substitutos de gordura derivados de amido utilizados em panificação. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.33, n.2, p.234-244, 1999b.
- ZAMBRANO, F. M.; CAMARGO, C. R. O. Otimização das condições de hidrólise ácida de amido de mandioca para obtenção de substitutos de gordura. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, n. 71, p.147-154, 2001.
- ZIEGLER, G. R.; CREEK, J. A. Spherulitic crystallization in starch as a model for starch granule initiation. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 1547-1554, 2005.
- ZOBEL, H. F. Starch crystal transformations and their industrial importance. **Starch / Stärke**, v. 40, p. 1-7, 1988.
- WANG, Y.; TRUONG, V.; WANG, L. Structures and rheological properties of corn starches as affected by acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, p. 327-333, 2003
- WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. Starch. In: WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. **Carbohydrate Chemistry for food Scientists**. AACC. St. paul: Eagan Press, p.117-151, 1997.
- YOU, S.; IZYDORCZYK, M. S. Molecular characteristics of barley starches with variable amylase content. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 33-42, 2002
- 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.
- YOO, S. H.; JANE, J. L. 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, p. 307-314, 2002.