

**CAROLINA MELKI CAVALLINI**

**ESTUDO DA MODIFICAÇÃO ÁCIDO-ETANÓLICA DO  
AMIDO DE MANDIOCA SEGUIDA DE MOAGEM**

São José do Rio Preto - SP  
2009

**CAROLINA MELKI CAVALLINI**  
Engenheira de Alimentos

**ESTUDO DA MODIFICAÇÃO ÁCIDO-ETANÓLICA DO AMIDO  
DE MANDIOCA SEGUIDA DE MOAGEM**

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<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Célia Maria Landi Franco

São José do Rio Preto - SP  
2009

Cavallini, Carolina Melki.

Estudo da modificação ácido-etanólica do amido de mandioca seguida de moagem / Carolina Melki Cavallini . - São José do Rio Preto : [s.n.], 2009.

88 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 . Ácido etanol - Modificação. 6. Amido - Moagem. I. Franco, Célia Maria Landi. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III.Título.

CDU - 664.27

CAROLINA MELKI CAVALLINI

**ESTUDO DA MODIFICAÇÃO ÁCIDO-ETANÓLICA DO AMIDO  
DE MANDIOCA SEGUIDA DE MOAGEM**

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.**

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Célia Maria Landi Franco  
Universidade Estadual Paulista  
São José do Rio Preto, SP.

Profª Drª Magali Leonel  
Universidade Estadual Paulista  
Botucatu, SP.

Profª Drª Mioko Kimura  
Universidade Estadual Paulista  
São José do Rio Preto, SP.

São José do Rio Preto, 13 de Agosto de 2009.

Dedico este trabalho à minha família, em especial aos meus pais,  
José Antônio e Cleire e minha irmã, Érica, pelo amor,  
compreensão e incentivo, em todos os momentos de minha vida.  
Ao Luiz Henrique pelo amor, companheirismo e auxílio em todas  
as horas.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter acompanhado meus passos nesta jornada e por me amparar nos momentos mais difíceis;

À minha família, por torcerem pelo meu sucesso e incentivar a minha escolha;

Ao meu noivo, Luiz Henrique, pelo amor, incentivo e colaboração na execução do trabalho;

Aos meus pais que dedicaram suas vidas à minha educação e minha felicidade sempre me dando muito amor, confiança e força. Em especial a minha mãe, Cleire, por ter ficado ao meu lado sempre, até mesmo nos momentos mais difíceis;

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

Ao curso e aos professores da pós-graduação pelos auxílios prestados;

Às minhas amigas Renata e Thaís que sempre estiveram comigo nos momentos alegres e tristes;

Às meninas do laboratório, em especial a Thaís, Fernanda, Denise e Raquel, pela amizade, companheirismo e ensinamentos;

Aos professores membros da banca de qualificação que enriqueceram o trabalho com suas sugestões;

Aos professores membros da banca examinadora, pela disposição em corrigir este trabalho;

A CAPES, pelo auxílio financeiro concedido;

Enfim, a todos que direta ou indiretamente tornaram possível o cumprimento de mais esta etapa.

MUITO OBRIGADA!

“Sou livre quando amo o que faço. Sou livre quando aceito que o mais importante é a minha consciência. Sou livre quando sei que, na hora do fracasso é sempre tempo de começar outra vez. Sou livre quando sou capaz de amar o instante da vida que eu tenho nas mãos.”

(Juan Arias)

## RESUMO

O tratamento ácido-alcoólico tem sido proposto para modificar a estrutura do grânulo de amido e obter a máxima conversão de amido nativo em amido solúvel. Este amido modificado torna-se frágil quando submetido à moagem em moinho de bola produzindo pequenos cristais que podem ser usados como substitutos de gordura. Neste trabalho, características físico-químicas, estruturais e morfológicas de amidos tratados com ácido-etanol (0,36% HCl em etanol anidro por 1 e 12 h a 30, 40 e 50°C) submetidos ou não a moagem em moinho de bola por 1 h foram analisados e comparados. A recuperação dos amidos foi alta atingindo em média 98%, independente do tempo e temperatura de tratamento. A solubilidade aumentou com o aumento da temperatura e tempo de tratamento e os amidos tratados a 40°C/12h e 50°C/12h tornaram-se totalmente solúveis a 95°C. O tamanho médio dos grânulos de amido de mandioca reduziu com o aumento do tempo e da temperatura de modificação, passando de 25,2 µm para 20,0 µm após 12 h de tratamento a 50°C. A moagem reduziu o tamanho médio dos grânulos de amido nativo e daqueles submetidos a tratamentos ácido-alcoólicos mais brandos (1 h a 30 ou 40°C), enquanto o tamanho médio dos grânulos tratados por 12 h, independente da temperatura, permaneceu inalterado. Os grânulos de amido de mandioca, observados em microscópio eletrônico de varredura, apresentaram forma arredondada e após tratamento com ácido-álcool a 50°C por 12h antes e após moagem, mostraram superfície áspera e rugosa sugerindo erosão com conseqüente solubilização das camadas mais externas dos grânulos. Alguns grânulos mostraram-se disformes sugerindo gelatinização parcial que foi mais intensa após moagem. O índice de cristalinidade relativa (IC) dos amidos, determinados por difração de raios-X, aumentou quanto maior o tempo e temperatura de tratamento, enquanto o teor de amilose, viscosidade intrínseca e viscosidade de pasta diminuíram. Após moagem, o IC reduziu, enquanto o teor de amilose e viscosidade intrínseca e de pasta permaneceram inalterados. As temperaturas de gelatinização aumentaram com o aumento do tempo e temperatura de tratamento e as entalpias aumentaram para amidos tratados a 30 e 40°C e diminuíram com o tratamento a 50°C. A moagem reduziu as temperaturas de gelatinização dos amidos. Estes resultados sugerem que o tratamento ácido-etanolico degradou preferencialmente as áreas amorfas, localizadas na periferia do grânulo de amido e compostas principalmente por

amilose. A moagem provocou rompimento das pontes de hidrogênio intermoleculares que mantinham a estrutura granular, reduzindo sua cristalinidade e provocando gelatinização parcial dos grânulos submetidos a tratamentos mais intensos (50°C/12h).

Palavras-chaves: mandioca, amido modificado, tratamento ácido-etanólico, moagem.

## Abstract

Acid-alcohol treatment has been proposed to modify starch granule structure and obtain maximum conversion of raw starch into soluble starch. Acid-alcohol starch becomes fragile when submitted to the milling in ball mill producing small crystals, which can be used as fat substitute. In this work, physicochemical, structural and morphological characteristics of acid-ethanol cassava starch (0,36% HCl in anhydrous ethanol during 1 and 12 h at 30, 40 e 50°C) followed by milling in ball milling for 1 h were analyzed and compared. The recovery of the modified starches was high reaching 98% independent of time and temperature. The solubility increased with increasing of the treatment temperature and time, and after 1 h at 50°C the modified starch became totally soluble to 95°C. The average size of the cassava starch granules decreased with increasing of the treatment time and temperature from 25.2 µm to 20.0 µm after 12 hours of treatment at 50°C. The milling decreased the average size of the native starch granules and those submitted to milder treatments (1 h at 30 or 40°C), while the average size of the starch granules treated for 12 h, independent of temperature, kept unchanged. From scanning electron microscopy, the native cassava starch granules presented round shape and smooth surface. After acid-ethanol treatment at 50°C for 1h, before and after milling, the granules displayed rough and exfoliated surfaces suggesting erosion with solubilization of the outer layer of the granules. Some granules treated at 50°C during 12 h showed deformed surfaces suggesting partial gelatinization of the starch that was more intense after milling. Relative crystalline index (CI) of the starches, determined from X-ray diffraction, increased with increasing of the treatment time and temperature, while the amylose content, intrinsic viscosity and pasting viscosities decreased. After milling, the CI reduced while amylose content, intrinsic viscosity and pasting viscosities kept unchanged. The gelatinization temperatures increased with increasing of the treatment time and temperature, and the enthalpies increased for starches treated at 30 and 40°C and decreased with the treatment at 50°C. The milling reduced the gelatinization temperatures and enthalpy. These results suggest that acid-ethanol treatment degraded preferentially the amorphous areas, located in the periphery of the granules, and composed of amylose and amylopectin. The milling provided rupture of intermolecular hydrogen bonds that maintained the

granular structure, reducing its cristallinity and providing partial gelatinization of the granules submitted to more intense treatment (50°C/12h).

Key words: cassava, modified starch, acid-ethanol treatment, ball milling.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura química da amilose. Adaptado de Lajolo e Menezes (2006).....	21
<b>Figura 2:</b> Estrutura helicoidal da amilose. Adaptado de Campbell (2000).....	22
<b>Figura 3:</b> Estrutura química da amilopectina Adaptado de Lajolo e Menezes (2006).....	23
<b>Figura 4:</b> Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. Adaptado de Parker e Ring (2001).....	24
<b>Figura 5:</b> Difractogramas de raios- x, padrões tipo A, B e $V_h$ . Adaptado de Buléon et al. (1998).....	28
<b>Figura 6:</b> Representação esquemática da transformação do grânulo de amido aquecido em água em relação à viscosidade. Adaptado de Thomas e Atwell (1999).....	30
<b>Figura 7:</b> Micrografias dos grânulos de amido de mandioca nativo, antes e após moagem, observados em microscópio óptico comum sob luz normal e sob luz polarizada.....	49
<b>Figura 8:</b> Micrografias dos grânulos de amido de mandioca modificados quimicamente, observados em microscópio óptico comum sob luz normal.....	50
<b>Figura 9:</b> Micrografias dos grânulos de amidos de mandioca modificados quimicamente, após moagem, observados em microscópio óptico comum sob luz normal.....	51
<b>Figura 10:</b> Micrografias dos grânulos de amido de mandioca modificados quimicamente, observados em microscópio óptico, sob luz polarizada.....	52
<b>Figura 11:</b> Micrografias dos grânulos de amido de mandioca modificados quimicamente, após moagem, observados em microscópio óptico, sob luz polarizada.....	53
<b>Figura 12:</b> Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de mandioca nativo antes e após moagem.....	56
<b>Figura 13:</b> Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de mandioca, modificados quimicamente.....	57

<b>Figura 14:</b> Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de mandioca modificados quimicamente, após moagem.....	58
<b>Figura 15:</b> Grânulos de amido de mandioca nativo e modificado quimicamente antes e após moagem, observados ao microscópio eletrônico de varredura, com aumentos de 1500 X e 3000 X.....	60
<b>Figura 16:</b> Difractogramas dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente.....	63
<b>Figura 17:</b> Difractograma dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificado quimicamente, após moagem.....	64
<b>Figura 18:</b> Viscosidade Intrínseca do grânulo de amido de mandioca nativo e modificado por 1 e 12 horas nas temperaturas de 30, 40 e 50°C.....	68
<b>Figura 19:</b> Perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados por 1 hora nas temperaturas 30, 40 e 50°C.....	71
<b>Figura 20:</b> Perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados por 12 horas nas temperaturas de 30, 40 e 50°C.....	71
<b>Figura 21:</b> Perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados por 1 hora nas temperaturas de 30, 40 e 50°C, após moagem.....	72
<b>Figura 22:</b> Perfil Viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados, por 12 horas nas temperaturas de 30, 40 e 50°C, após moagem.....	72

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Composição química do amido de mandioca.....	45
<b>Tabela 2:</b>	Rendimento dos amidos de mandioca modificados por ácido-etanol em diferentes temperaturas e tempos.....	47
<b>Tabela 3:</b>	Solubilidade a 75, 85 e 95°C dos amidos de mandioca nativo e tratados com 0,36% HCl a 30, 40 e 50°C durante 1 e 12 horas seguidos ou não de moagem.....	48
<b>Tabela 4:</b>	Tamanho médio dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente, por 1 e 12 horas, em diferentes temperaturas antes e após a moagem.....	55
<b>Tabela 5:</b>	Índice de cristalinidade dos amidos de mandioca nativo e modificados antes e após a moagem.....	62
<b>Tabela 6:</b>	Teor de amilose dos amidos de mandioca nativo e modificados antes e após moagem.....	66
<b>Tabela 7:</b>	Viscosidade Intrínseca dos amidos de mandioca nativo e modificados antes e após moagem.....	67
<b>Tabela 8:</b>	Propriedades de pasta dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente, antes e após moagem.....	69
<b>Tabela 9:</b>	Propriedades térmicas dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente, antes e após moagem.....	73
<b>Tabela 10</b>	Propriedades térmicas dos grânulos de amido retrogradados de mandioca nativo e modificados.....	75

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Amido.....</b>	<b>19</b>
3.1.1	Amilose e Amilopectina.....	20
3.1.2	Constituintes Menores.....	25
<b>3.2</b>	<b>Propriedades Morfológicas e Estruturais.....</b>	<b>26</b>
3.2.1	Microscopia dos Grânulos.....	26
3.2.2	Difração de Raio-X.....	27
<b>3.3</b>	<b>Propriedades Funcionais.....</b>	<b>28</b>
3.3.1	Gelatinização.....	28
3.3.2	Retrogradação.....	31
<b>3.4</b>	<b>Amido Modificado.....</b>	<b>32</b>
3.4.1	Amido Modificado por Ácido.....	33
3.4.2	Amido Modificado por Ácido – Álcool.....	34
3.4.3	Amido Modificado Fisicamente.....	36
<b>4.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiais.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2</b>	<b>Métodos.....</b>	<b>39</b>
4.2.1	Composição Centesimal do Amido de Mandioca.....	39
4.2.2	Modificação Ácido-Etanólica dos Amidos de Mandioca.....	39
4.2.3	Solubilidade.....	40
4.2.4	Distribuição do Tamanho dos Grânulos.....	40
4.2.5	Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia do Grânulo.....	41
4.2.6	Difração de Raio-X.....	41
4.2.7	Viscosidade Intrínseca.....	41
4.2.8	Teor de Amilose.....	42
4.2.9	Propriedades de Pasta.....	43
4.2.10	Propriedades Térmicas.....	44
4.2.11	Análise Estatística.....	44
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>

5.1	Composição Centesimal.....	45
5.2	Rendimento dos Amidos Modificados.....	46
5.3	Solubilidade.....	47
5.4	Forma e Tamanho dos Grânulos de Amido.....	49
5.5	Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia dos Grânulos.....	59
5.6	Difração de Raio-X.....	61
5.7	Teor de Amilose.....	65
5.8	Viscosidade Intrínseca.....	66
5.9	Propriedades de Pasta.....	68
5.10	Propriedades Térmicas.....	73
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>76</b>
<b>7</b>	<b>SUGESTÕES DE TRABALHOS.....</b>	<b>77</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>78</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A constante mudança nos hábitos alimentares e a procura por alimentos diferenciados de fácil preparo tem levado as indústrias de alimentos a dar mais atenção ao desenvolvimento de novos produtos. O amido vem se tornando um ingrediente cada vez mais importante nos alimentos, principalmente por apresentar características físico-químicas e qualidade nutricional superior quando comparado a outros carboidratos e possuir características tecnológicas desejáveis. Além disso, ele pode ser utilizado “in natura” ou pode, através de processamentos adicionais, dar origem a amidos modificados com propriedades específicas (MAY, 1987; ELLIS et al., 1998).

Na sua forma natural, o amido nem sempre possui as propriedades físico-químicas adequadas para atender as exigências industriais, assim os grânulos de amido são submetidos a modificações com o objetivo de moldá-lo para determinadas finalidades e aplicações. 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).

Os amidos, nativos ou modificados, são importantes ingredientes na indústria de alimentos e podem, de acordo com suas propriedades funcionais, serem usados como espessante para obtenção de alta viscosidade e adoçante na fabricação de bebidas em geral, também pode ser adicionado como ingrediente funcional em muitos produtos como sopas instantâneas, pudins, balas, produtos em pó a base de carnes e peixes, em grande variedade de produtos com baixo teor de gorduras melhorando a estabilidade, cremosidade e retenção de água nos alimentos além de ter aplicações em um grande número de processos industriais destacando seu uso pela indústria de papel e têxtil (LUCCA; TEPPER, 1994; HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; FRANCO et al., 2001).

As modificações realizadas no grânulo de amido podem ser físicas, químicas, enzimáticas ou biológicas. As modificações químicas são as mais utilizadas devido a sua versatilidade, permitindo a obtenção de diversas propriedades necessárias a determinados processos (DEMIATE, 2003). As modificações físicas dos grânulos de amido podem ser aplicadas sozinhas ou em combinação com reações químicas para

modificar a estrutura granular e converter amido nativo em amido solúvel em água fria ou em grânulos de amidos de tamanhos pequenos (JANE, 1992).

De forma genérica, denominam-se amidos modificados por ácidos aqueles que foram tratados com ácido a temperatura abaixo do seu ponto de gelatinização. A modificação ácida produz aumento da taxa de retrogradação e aumento da temperatura de gelatinização. Aumenta também a solubilidade e a força do gel diminuindo o poder de inchamento e o grau de viscosidade do amido (WHISTLER; BeMILLER; PASCHALL, 1984; WANG; TRUONG; WANG, 2003; THIRATHUMTHAVORN; CHAROENREIN, 2005).

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 eram tratados com ácido em álcool anidro. Esse tratamento tem sido estudado, principalmente, por proporcionar alta recuperação e alta solubilidade aos amidos após modificação.

Vários métodos relatados na literatura utilizam a combinação da modificação ácida ou enzimática do amido com algum tratamento físico para obtenção de substitutos de gordura que apresentem grânulos de menor diâmetro. Embora existam grânulos de amidos com diâmetro bem pequeno, eles são mais difíceis de isolar que os grânulos maiores, devido aos custos envolvidos na sua produção, o que os tornam menos viáveis economicamente como substituintes de gordura. Por esta razão, pequenas partículas de amido têm sido obtidas por combinação de hidrólise ácida e atrito mecânico. Os grânulos de maior diâmetro modificados tornam-se frágeis e quando submetidos à moagem se quebram produzindo partículas de menor diâmetro (CASTRO, 2000; JANE, 1992).

Atualmente, as fontes comerciais de amidos são: milho, mandioca, batata, trigo e arroz, das quais quatro são de origem tropical. A mandioca é uma fonte de amido de origem tropical que merece destaque, pois segundo o Instituto de Economia Agrícola (IEA, 2008), o Brasil é o terceiro maior produtor de fécula de mandioca do mundo, ficando atrás da Tailândia e Indonésia. O amido de mandioca tem pouca influência no “flavor”, ao contrário do amido de milho que possui um forte odor de cereal e os agentes químicos utilizados nas modificações são adicionados em pequenas quantidades para que sua contribuição ao “flavor” seja insignificante (WURZBURG, 1986).

## **2. OBJETIVO GERAL**

O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da modificação ácido-etanólica seguida de moagem em moinho de bola sobre as características morfológicas, estruturais e físico-químicas do amido de mandioca.

### **2.1 Objetivo Específico**

- Estudar as características físico-químicas do amido de mandioca nativo.
- Estudar o efeito do tratamento ácido-etanol sobre as características morfológicas, estruturais e físico-químicas do amido de mandioca.
- Estudar o efeito do tratamento ácido-etanólico seguido de moagem em moinho de bola sobre as características morfológicas, estruturais e físico-químicas do amido de mandioca.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Amido

Amidos são carboidratos de reserva de plantas superiores que fornecem 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem e estão presentes nas folhas verdes das plantas, raízes, tubérculos, grãos de cereais, sementes, castanhas e frutas. Em geral são sintetizados em organelas celulares chamadas amiloplastos e formam grânulos pequenos, em média de 1 a 100  $\mu\text{m}$ , com formatos que variam do esférico ao poliédrico (WHISTLER; BeMILLER, 1997; MUKERJEA; SLOCUM; ROBYT, 2007).

Os amidos são compostos basicamente por dois polímeros: amilose, essencialmente linear e amilopectina, altamente ramificada (BULÉON et al., 1998; SINGH et al., 2003). A maioria dos amidos contém de 20-30% de amilose e 70-80% de amilopectina; essa porcentagem varia de acordo com a fonte botânica do amido. Algumas variedades de amidos de milho, sorgo, cevada e arroz denominado “waxy” ou ceroso consistem de amidos compostos quase que integralmente de amilopectina; existem também amidos de milho com alto teor de amilose (50-70%), que são chamados de amilomilho (WHISTLER; BeMILLER, 1997; JANE et al., 1999).

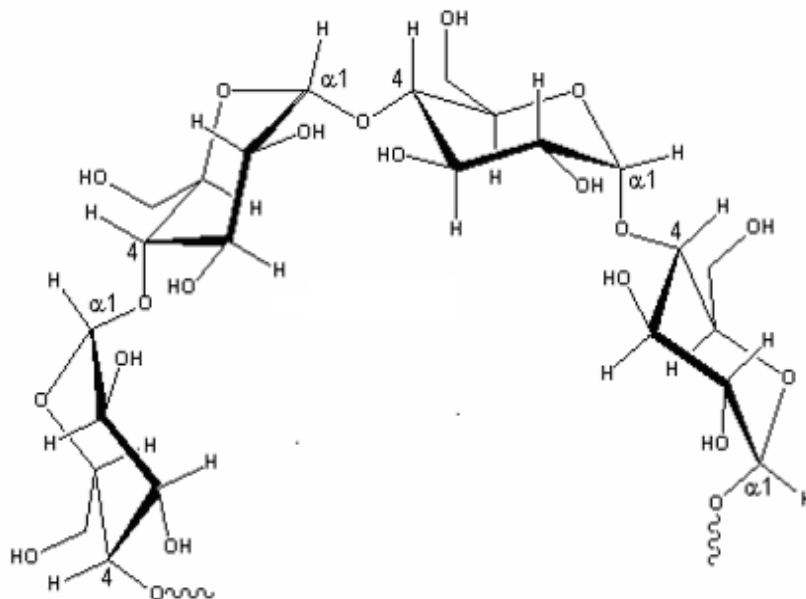
Os grânulos de amido são estruturas semicristalinas formadas pelo arranjo, na direção radial, das macromoléculas de amilose e amilopectina. Essas moléculas formam pontes de hidrogênio, pois estão associadas paralelamente, resultando no aparecimento de regiões cristalinas ou micelares. Com isso, os grânulos são birrefringentes apresentando uma típica “cruz de malta” quando observados sob luz polarizada. A birrefringência indica um alto grau de organização no grânulo de amido. Um menor grau de organização foi encontrado nas regiões mais internas do grânulo e no hilum (FRANCO et al., 2001; SRICHUWONG et al., 2005).

Dentre as principais fontes de amidos comerciais encontram-se os cereais, raízes e tubérculos, com forma, tamanho, composição, posição do hilum e temperatura de gelatinização diferentes de acordo com a fonte botânica. Grânulos de amidos de cereais são menores e contém mais resíduos de proteínas e lipídios que os amidos de raízes e tubérculos (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; LINDEBOOM; CHANG; TYLER, 2004).

Segundo Parker e Ring (2001), amidos provenientes de raízes e tubérculos têm a região cristalina formada a partir das frações lineares da amilopectina, enquanto que os pontos de ramificação e a amilose são os principais componentes das regiões amorfas. Já em amidos provenientes de cereais a amilopectina é a parte mais importante da estrutura cristalina, enquanto moléculas de amilose aparecem ligadas com substâncias lipídicas, formando uma estrutura cristalina fraca. A caracterização da cristalinidade do grânulo de amido é feita através de difração de raios-X (HOOVER, 2001; MOORTHY, 2002).

### **3.1.1 Amilose e Amilopectina**

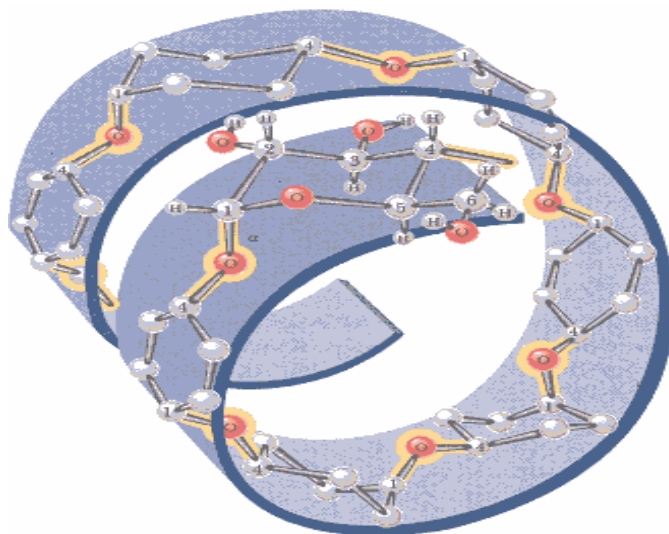
O amido deve muito de sua funcionalidade e organização física dentro da estrutura granular, à amilose e à amilopectina (BILIADERIS, 1991). A amilose é uma molécula essencialmente linear formada por unidades de glicose ligadas em  $\alpha$  (1-4) (Figura 1) e com um pequeno número de ramificações. As ramificações são separadas por grandes distâncias, permitindo a esta molécula agir como se fosse essencialmente linear, não alterando significativamente algumas de suas propriedades como massa molecular e capacidade de se complexar com o iodo, álcoois ou lipídios (BULÉON et al., 1998; HOOVER, 2001). De acordo com Defloor, Dehing e Delcour (1998), a quantidade de amilose do amido de mandioca está entre 18,6 a 23,6%.



**Figura 1** - Estrutura química da amilose (Adaptado de LAJOLO; MENEZES, 2006).

Esta macromolécula possui facilidade para adquirir uma conformação helicoidal, pois suas cadeias costumam enrolar-se em espiral, formando uma estrutura na qual a hélice é formada por pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxilas das moléculas (Figura 2). O interior da hélice é hidrofóbico contendo predominantemente átomos de hidrogênio, enquanto os grupos hidroxil permanecem na parte externa da mesma. A hélice consiste, em média, de 6 resíduos de glicose por volta (0,8 nm) e uma cavidade hidrofóbica com diâmetro de 0,5nm. Em função da forma helicoidal da amilose, os filmes e fibras, formados por esta molécula, são mais elásticos que aqueles formados por celulose (HOOVER, 2001).

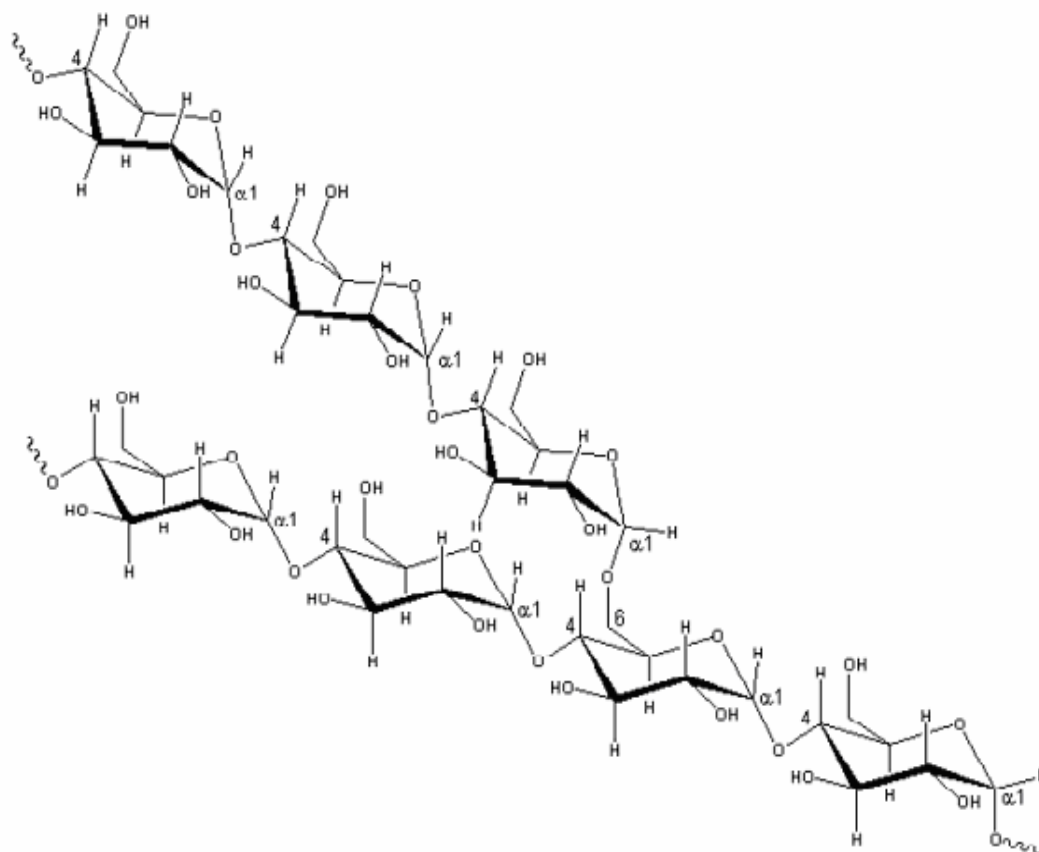
Dentro desta estrutura helicoidal podem se acomodar moléculas de iodo, fazendo com que a amilose, instável em soluções aquosas diluídas, formem complexos com o iodo, dando coloração azul intensa. Esta reação é usada na determinação quantitativa do teor de amilose, e como indicadora da presença de amido. Devido a esta estrutura helicoidal, a amilose também é capaz de se ligar com moléculas de álcoois e lipídios através da formação de complexos (HOOVER, 2001; FRANCO et al., 2001).



**Figura 2-** Estrutura helicoidal da amilose (Adaptado de CAMPBELL, 2000).

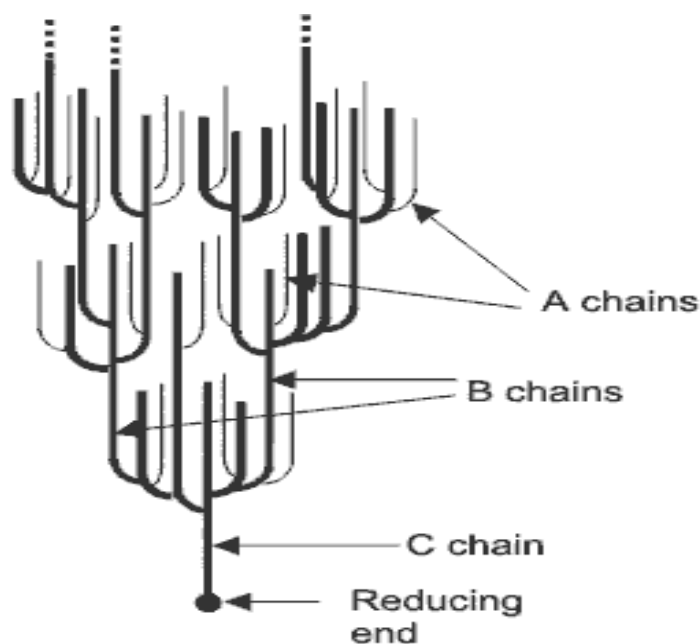
O grau de polimerização (DP) desta macromolécula está usualmente na faixa de 500-6000 unidades de glicose. Somente poucas ligações  $\alpha$  (1-6) estão presentes, em média de 09 a 20 pontos de ramificação (JACOBS; DELCOUR, 1998; AHMAD et al., 1999; HOOVER, 2001). De acordo com Hizukuri (1997) e Jacobs et al. (1998), a maioria das moléculas de amilose está localizada nas camadas amorfas dos anéis de crescimento e o conteúdo de amilose aumenta do centro para a periferia do grânulo.

A amilopectina é uma molécula muito grande e altamente ramificada, com massa molecular média em torno de  $10^7$ -  $10^9$ . É formada por várias cadeias constituídas de 20- 25 unidades de glicose ligadas em  $\alpha$  (1,4) e com 4 - 6% de ligações  $\alpha$  (1,6) nos pontos de ramificação (Figura 3). As ramificações da amilopectina consistem de duplas hélices fortemente empacotadas formando regiões cristalinas, enquanto os pontos de ramificação ficam nas áreas amorfas. A amilopectina é estável em soluções aquosas diluídas e apresenta coloração avermelhada na presença de iodo (BILIADERIS, 1991; WHISTLER; BeMILLER, 1997; BULÉON et al., 1998; JACOBS et al., 1998; HOOVER, 2001).



**Figura 3** - Estrutura química da amilopectina (Adaptado de LAJOLO; MENEZES, 2006).

A organização básica das cadeias de amilopectina é descrita em termos de cadeias A, B e C (Figura 4). Uma cadeia principal C carrega o grupo redutor da molécula, e as numerosas cadeias ramificadas são denominadas cadeias A e B. As cadeias A são aquelas conectadas a outras cadeias, via ligações  $\alpha$  (1-6), mas não carregam qualquer ramificação. Cadeias B são aquelas conectadas a outras cadeias, também via ligações  $\alpha$  (1-6), e que possuem uma ou mais cadeias A ou B, ligadas a ela, através de ligações  $\alpha$  (1-6) (BULÉON et al., 1998; HOOVER, 2001).



**Figura 4** - Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C (Adaptado de PARKER; RING, 2001).

Diversos modelos de estrutura para a amilopectina foram postulados com relação ao modo como as cadeias estão arranjadas para formar uma estrutura altamente ramificada. O modelo mais aceito foi o proposto por French (1973) e Robin et al. (1974), denominado modelo de “clusters”, onde os “clusters” ou cachos, formados por cadeias A e B de 60 Å de comprimento passariam a constituir uma camada cristalina com 60Å de espessura na direção do eixo da cadeia. Estes “clusters” associados constituem a fração dos grânulos de amido resistentes ao ácido. A maior parte das ligações  $\alpha$  (1-6) presentes nas regiões intercristalinas entre os clusters sucessivos são mais suscetíveis ao ácido (WHISTLER; BeMILLER, 1997; PARKER; RING, 2001). Segundo Buléon et al. (1998), a estrutura em “cluster” da amilopectina tem tido ampla aceitação, e várias evidências comprovam esse modelo.

De acordo com Smith, Denyer e Martin. (1997), cada cluster contém uma região com pontos de ramificação que são áreas amorfas, e uma região com segmentos curtos de cadeias de amilopectina que formam duplas hélices que são as áreas cristalinas. Gallant, Bouchet e Baldwin (1997) sugeriram que as camadas cristalinas e amorfas da amilopectina são organizadas dentro de estruturas maiores mais ou menos esféricas chamadas bloquetes. O diâmetro desses bloquetes seria de 20 a 500 nm dependendo do tipo de amido e sua localização no grânulo e teria

um papel importante na maior ou menor resistência dos amidos à ação enzimática. Assim, a amilopectina estaria localizada no grânulo em regiões cristalinas e semicristalinas e nesta última os bloquetes seriam menores, e a cristalinidade da amilopectina seria reduzida, principalmente devido a seu maior envolvimento com a amilose.

### **3.1.2 Constituintes Menores**

Os grânulos apresentam em sua composição, outros constituintes além da amilose e da amilopectina, considerados como constituintes menores. Dentre eles, os constituintes menores mais comuns são lipídios, cinzas e sais minerais. É importante que a matéria prima fonte de amido tenha baixos teores destes constituintes e altos teores de amido, pois eles interferem no processo de extração do amido alterando o rendimento final. Nos amidos de raízes e tubérculos as proteínas aparecem em menor quantidade, não influenciando suas propriedades funcionais (HOOVER, 2001).

Os constituintes menores que mais influenciam as propriedades dos amidos são os lipídios e o fósforo. Os lipídios afetam a gelatinização, modificam o comportamento reológico das pastas reduzindo dessa forma a retrogradação. Os lipídios de superfície inibem o movimento de água dentro dos grânulos, enquanto o inchamento e a lixiviação da amilose são reduzidos na presença de complexo amilose-lipídios (RAEKER et al., 1998; WANG; WHITE, 1994).

O fósforo pode ser encontrado nos grânulos de amido nas formas de monoésterfosfato, fosfolipídios e fosfato inorgânico (TESTER; KARKALAS; QI, 2004) e sua presença modifica as propriedades funcionais (LIM; KASEMSUWAN; JANE, 1994). O fósforo, nas diversas forma em que pode ocorrer, aparece ligado covalentemente aos grânulos nativos, alterando algumas propriedades reológicas como pastas muito claras, aumento na viscosidade e na consistência (BLENNOW, 2000). O monoésterfosfato em amidos de raízes e tubérculos promove a natureza hidrofílica do amido, por introduzir nas cadeias de amido os grupos fosfatos carregados negativamente que aumentam a capacidade de ligação com a água e o poder de inchamento do amido, sendo uma vantagem para muitas aplicações

industriais. As maiores fontes de fósforo estão nos amidos de cereais, onde os lisofosfolipídios são complexados pelas hélices de amiloses, reduzindo a capacidade de ligação do amido com a água e tornando suas pastas mais opacas e menos viscosas (TESTER; MORRISON, 1990; HOOVER, 2001).

### **3.2 Propriedades Morfológicas e Estruturais**

#### **3.2.1 Microscopia dos Grânulos**

A microscopia é uma ferramenta importante nos estudos das características estruturais de grânulos de amido, no acompanhamento do desenvolvimento de plantas amiláceas, na análise de produtos, no acompanhamento de processos, e na caracterização de resíduos, entre outros. Grânulos de amido têm sido submetidos a investigações estruturais desde a invenção do microscópio. A microscopia ótica e eletrônica de varredura possibilita a obtenção de informações sobre as características dos grânulos, como a sua distribuição e grau de inchamento, além do reconhecimento dos grânulos de diferentes fontes de amido através das formas e tamanhos característicos (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996).

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 (superfície ou estrutura interna). Com a microscopia eletrônica de varredura (SEM), ou por microscopia de força atômica (AFM) são obtidas informações sobre a superfície dos grânulos. Já informações sobre estrutura interna requerem o uso da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997).

A determinação da forma, do tamanho das partículas e sua distribuição têm sido também de grande interesse das indústrias alimentícias, devido à influência dessas características sobre as propriedades de processamento de pós (LEONEL; GARCIA; REIS, 2004). Os grânulos de amido de mandioca apresentam formas variadas como redonda, oval, truncada, poligonal e cilíndrica com diâmetros médios que variam de 8 a 22  $\mu\text{m}$  (RICHARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991).

Uma técnica de microscopia bastante utilizada no estudo da estrutura de grânulos de amido é o uso da luz polarizada. Como consequência da organização das moléculas, a maioria dos grânulos de amido apresenta a “cruz de malta” quando observados sob luz polarizada. Utilizando-se um filtro adicional, a luz polarizada revela uma birrefringência positiva dos grânulos, o que teoricamente indica uma orientação radial do eixo principal dos cristais (GALLIARD; BOWLER, 1987).

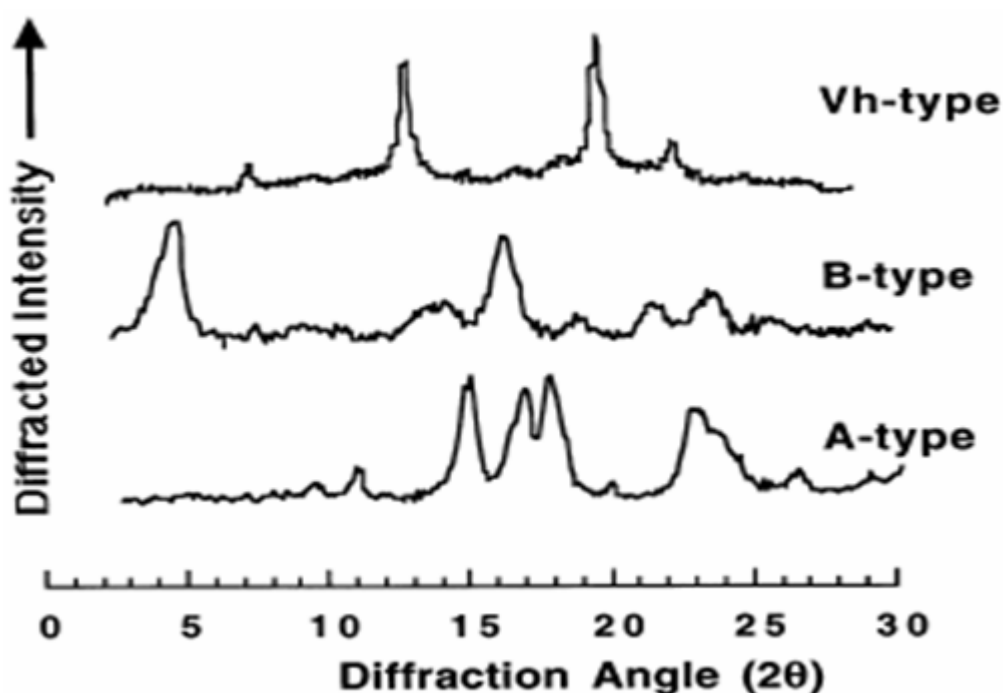
Através das microscopias ótica e eletrônica podem se observar moléculas de amilose e amilopectina formando uma estrutura de camadas no grânulo. As camadas correspondem às regiões alternadas de alto e baixo índice de refração, densidade, cristalinidade, resistência a ácidos e enzimas representando os anéis de crescimento. Geralmente essas camadas são identificadas como zonas claras e escuras, e quando os grânulos são tratados termicamente em meio aquoso essas camadas se distanciam devido à absorção de água. (FRENCH, 1984 apud JACOBS et al., 1998).

### **3.2.2 Difração de Raio - X**

A difratometria de raios-X tem sido considerada o melhor método para a investigação das regiões cristalinas dos grânulos de amido (HOOVER, 2001). Dependendo da origem botânica, os amidos nativos apresentam padrões de difração diferentes, denominados A, B, C em função do empacotamento das duplas hélices da amilopectina (SINGH et al., 2003).

O padrão tipo A (Figura 5), comum em amidos de cereais é característico de grânulos que são constituídos de duplas hélices dispostas em arranjo monocíclico e apresentam 2 picos principais entre 16 e 18°, e um pico nas proximidades de 20 a 23° em  $2\theta$ . O padrão tipo B, representado por amidos de tubérculos e cereais com alto teor de amilose é característico de grânulos que apresentam uma estrutura aberta e altamente hidratada, com duplas hélices dispostas em arranjo hexagonal, apresentando picos que são amplos e fracos com dois pontos principais centrados entre 5,5° e 17,2° em  $2\theta$  (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; BLENNOW et al., 2000; PARKER; RING, 2001; CROCHET et al., 2005). O padrão tipo C é considerado por muitos autores, uma mistura dos tipos A e B e caracteriza a maioria

dos amidos de legumes e cereais que cresceram em condições específicas de temperatura e hidratação (BULÉON et al., 1998). O padrão tipo V pode existir na forma anidra ( $V_a$ ) e hidratada ( $V_h$ ), e aparece quando a amilose está complexada com gorduras, monoglicerídeos, água ou iodo (GERNAT et al., 1993; BULÉON et al., 1998). De acordo com Imberty et al. (1988), as duplas hélices em ambos os tipos A e B são idênticas, mas o modo de empacotamento e o teor de água são diferentes.



**Figura 5** - Difrátogramas de raios- x, padrões tipo A, B e  $V_h$  (Adaptado de BULÉON et al., 1998).

### 3.3 Propriedades Funcionais

#### 3.3.1 Gelatinização

O amido quando aquecido na presença de suficiente quantidade de água, passa por um processo de transição de ordem e desordem conhecido como gelatinização que ocorre em uma faixa de temperatura de acordo com a fonte

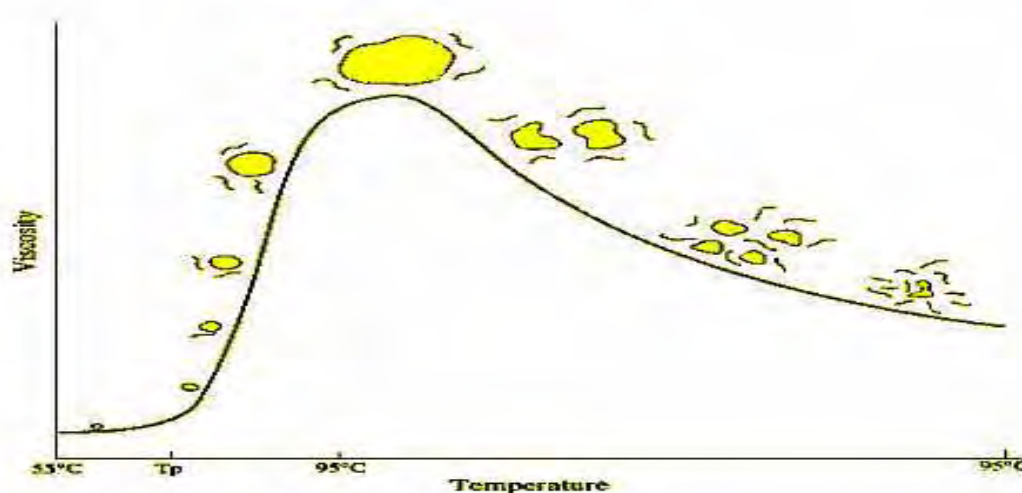
botânica de amido. Esse processo está associado à penetração da água no interior do grânulo. A água penetra primeiramente nas regiões amorfas, pois as pontes de hidrogênio por serem ligações mais fracas são rompidas mais facilmente, ocorrendo hidratação e inchamento do grânulo de amido. Conforme a temperatura vai aumentando, o grânulo continua inchando e absorvendo água, ocorrendo perda da birrefringência e da ordem cristalina (dissociação de duplas hélices nas regiões cristalinas) e lixiviação da amilose (BILIADERIS, 1991; JENKINS, 1994; HOOVER, 2001; SINGH et al., 2003).

De acordo com Thomas e Atwell (1999), durante a gelatinização alguns grânulos de amido continuam a inchar e outros se rompem. O grânulo mais frágil se rompe e parte da amilose é lixiviada para o meio aquoso. O inchamento predomina até uma determinada temperatura, aumentando a viscosidade e formando uma pasta de coloração transparente. Depois de algum tempo, todos os grânulos inchados apresentam-se rompidos e a viscosidade diminui. No ponto de viscosidade máxima o efeito do inchamento é contrabalançado pela quebra da estrutura granular (Figura 6), e a viscosidade começa a diminuir, devido ao rompimento da estrutura granular. Dependendo do tipo de amido, do nível de sólidos e do regime de aquecimento, vários perfis de gelatinização e empastamento podem ser gerados.

Segundo Jenkins (1994), o inchamento do grânulo de amido durante a gelatinização age para desestabilizar os cristais de amilopectina dentro da lamela cristalina, os quais são rompidos separadamente (cristais menores são destruídos primeiro). Este processo ocorre rapidamente para um cristal individual, mas sob uma faixa ampla de temperatura para o grânulo como um todo. A intensidade e perfeição das áreas cristalinas são refletidas na temperatura de gelatinização. O comportamento de inchamento do amido é uma propriedade do conteúdo de amilopectina e a ação da amilose ao mesmo tempo em que é diluente é inibidor do inchamento (SINGH et al., 2003). As propriedades de gelatinização e inchamento são controlados em parte pelo comprimento de cadeia, tamanho das ramificações, massa molecular da amilopectina, proporção entre a amilose e a amilopectina e entre as regiões amorfas e cristalinas. Amidos com alto conteúdo de amilose têm mais regiões amorfas e menos regiões cristalinas e, portanto, as temperaturas de gelatinização são menores (TESTER, 1997; SINGH et al., 2003).

A gelatinização do amido em meio aquoso é um processo que depende da quantidade de água do meio e, portanto, sofre influências de compostos que

competem pela água com o grânulo como açúcares e sais minerais. A gelatinização do amido torna o grânulo mais susceptível a hidrólise enzimática e a ação mecânica (GALVANI; CAMARGO; CIACCO, 1994).



**Figura 6** - Representação esquemática da transformação do grânulo de amido aquecido em água em relação à viscosidade (Adaptado de THOMAS; ATWELL, 1999).

Nos últimos anos a Calorimetria Diferencial de Varredura vem sendo muito utilizada, para fornecer informações sobre as transformações térmicas do amido durante seu aquecimento e resfriamento em presença de água, incluindo as temperaturas de gelatinização, retrogradação e cristalização (YU; CHRISTIE, 2001). A Calorimetria Diferencial de Varredura fornece medidas quantitativas do fluxo de calor associado à gelatinização, medindo a quebra das ligações (pontes de hidrogênio que estabilizam as duplas hélices) dentro dos grânulos quando aquecidos em água (TESTER, 1997; THIRATHUMTHAVORN; CHAROENREIN, 2005; MOORTHY et al., 2006). Esta técnica baseia-se nas determinações das temperaturas de gelatinização  $T_0$ ,  $T_p$  e  $T_f$  (temperaturas inicial, de pico e final, respectivamente) e sua variação de entalpia ( $\Delta H$ ). O intervalo de temperatura ( $T_f - T_0$ ) representa a faixa de temperatura de gelatinização. Depois de atingida a temperatura final ( $T_f$ ), toda dupla hélice é dissociada, embora a expansão da estrutura granular possa ser conservada até que temperaturas mais altas sejam atingidas sob cisalhamento. As temperaturas de gelatinização inicial e de pico

podem ser usadas como medida da estabilidade ou perfeição das regiões cristalinas, e a largura do pico endotérmico como estimativa da heterogeneidade da estrutura cristalina (BLENNOW et al., 2000).

As mudanças de viscosidade, 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 em viscoamilógrafos como o Brabender e o Rápido Viscoanalisador (RVA). Este último vem se tornando mais popular em função das menores quantidades de amostra utilizada, do curto tempo de análise, da facilidade de operação do equipamento, da versatilidade dos procedimentos de teste e da durabilidade. O perfil de viscosidade de amidos, obtidos pelo RVA, inclui pico de viscosidade, tempo para atingir este pico, viscosidade de quebra, viscosidade final e temperatura de pasta (THOMAS; ATWELL, 1999).

### **3.3.2 Retrogradação**

Após a gelatinização, os polímeros que formam o grânulo de amido, têm tendência a se reassociarem através de pontes de hidrogênio, formando zonas mais organizadas. A reassociações de amilose, amilopectina e grânulos inchados formam redes tridimensionais, constituídas por zonas mais organizadas. Essa reassociação das moléculas de amido é conhecida como retrogradação e sua intensidade levam à formação de géis, tendo influência na textura e solubilidade, entre outros (BILIADERIS,1992). Com o tempo, este gel formado se torna gomoso e tem a tendência de liberar água. Esta liberação de água é conhecida como sinérese e é comumente encontrada em alguns produtos como molhos em geral (HOOVER, 2001).

A retrogradação envolve dois processos separados, a lixiviação da amilose que durante a gelatinização foi solubilizada e a recristalinização da amilopectina no interior do grânulo gelatinizado. O índice de água e a temperatura de armazenamento são muito importantes porque eles controlam a taxa e a extensão da retrogradação. A rigidez do gel de amido continua aumentando durante o armazenamento. A retrogradação é potencializada em temperaturas de refrigeração

e por isso a sinérese é comum em produtos refrigerados e congelados. Amidos de diferentes fontes botânicas retrogradam em diferentes temperaturas (JAYAKODY; HOOVER, 2002).

As propriedades de gelatinização e retrogradação do amido variam em relação à razão amilose/amilopectina, cristalinidade, tamanho do grânulo, distribuição e quantidade de componentes menores (fósforo, lipídios, proteínas e enzimas) e influenciam decisivamente as propriedades sensoriais e reológicas dos alimentos (SAGUILÁN et al., 2006).

### **3.4 Amido Modificado**

O amido possui as mais variadas aplicações, na indústria de alimentos. Além de seu uso na sua forma nativo, o amido pode sofrer modificação que o molda de acordo com as necessidades tecnológicas. No desenvolvimento de novos produtos, amidos com propriedades específicas são utilizados para conferir funcionalidade desejável ao alimento (CIACCO; CRUZ, 1982; ALVES; GROSSMANN; SILVA, 1999). As razões que levam à modificação dos amidos são: modificar as características de cozimento, diminuir a retrogradação, reduzir a tendência das pastas em formar géis, aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e congelamento, aumentar a transparência, melhorar a textura das pastas ou géis, melhorar a formação de filmes, aumentar a adesividade, adicionar grupamentos hidrofóbicos e introduzir poder emulsificante (BeMILLER, 1997; BORTOLO, 1998).

No Brasil, ao contrário dos Estados Unidos, Europa e Japão, o consumo de amidos modificados no setor alimentar ainda é pequeno. O emprego desses amidos depende da modernização da economia, com a produção de pratos prontos, de conservas e de congelados. Com o crescimento da venda desses 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 ou enzimática. As modificações químicas são as mais utilizadas devido a sua versatilidade, permitindo a obtenção de diversas propriedades necessárias a determinados processos (DEMIATE, 2003). 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 (CHUNG; LAI, 2006).

### **3.4.1 Amido Modificado por Ácido**

Os amidos modificados por ácido são produzidos comercialmente pela adição controlada de ácidos diluídos (ácido clorídrico ou ácido sulfúrico) em uma suspensão aquosa de amido sob agitação, com temperatura variando da ambiente a poucos graus abaixo da temperatura de gelatinização típica do amido (25 – 55°C), até alcançar o apropriado grau de hidrólise, com a finalidade de produzir “amido solúvel”. A hidrólise pode ser controlada pela concentração do ácido, pelo tempo de reação ou pela temperatura (WANG; TRUONG; WANG, 2003), e pode ser paralisada por neutralização do ácido, quando a viscosidade ou o grau de conversão desejado é atingido. O principal objetivo deste tratamento 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).

A modificação ácida tem a vantagem de alterar as propriedades funcionais dos amidos sem afetar significativamente a forma dos grânulos (JONH et al., 2002). O amido após a modificação ácida possui a aparência do amido nativo, apresentando a mesma birrefringência e insolubilidade em água fria DONOVAN; BERKELEY (1980, apud ZAMBRANO; CAMARGO, 2001a), porém o grânulo fragmenta-se mais, incha menos durante a gelatinização, possui maior temperatura de pasta, a largura da endoterma de gelatinização e a taxa de retrogradação aumentam (WANG; TRUONG; WANG, 2003), e a viscosidade final e a rigidez diminuem (CIACCO; CRUZ, 1982).

Na modificação ácida, duas fases diferentes podem ser observadas: a primeira fase é atribuída a uma hidrólise relativamente rápida, principalmente do material amorfo, enquanto na segunda fase pode ocorrer uma hidrólise lenta do material cristalino (THIRATHUMTHAVORN; CHAROENREIN, 2005). De acordo com Jayakody e Hoover (2002), na primeira etapa, a taxa de hidrólise ácida é

influenciada pela interação de alguns fatores como o conteúdo de amilose e de complexo lipídio-amilose, o tamanho dos grânulos e a presença de poros na superfície granular. Já na segunda etapa, vários fatores relacionados à amilopectina como o conteúdo, distribuição das ramificações entre áreas amorfas e cristalinas, e as duplas hélices dentro de áreas cristalinas contribuem para uma taxa de hidrólise mais lenta. Essas alterações estruturais do amido diferem de acordo com sua origem e as condições da hidrólise (JACOBS; DELCOUR, 1998).

A modificação ácida do amido produz micro cristais, que quando hidratados e agitados dispersam-se, expondo grande área superficial. A água integralmente misturada com os cristais hidrofílicos é imobilizada ao redor e entre os cristais. Essa estrutura, formada pelos cristais e moléculas de água conferem ao sistema propriedades semelhantes às da gordura (HARRIS; DAY, 1993).

Amido de mandioca de alta cristalinidade pode ser modificado com ácidos clorídrico ou sulfúrico. Quando o tempo da reação é aumentado, a cristalinidade do amido aumenta, enquanto o conteúdo de amilose diminui. Sabe-se que o ácido ataca preferencialmente as regiões amorfas dos grânulos e as regiões de alta cristalinidade são pouco afetadas (JENKINS, 1994).

### **3.4.2 Amido Modificado por Ácido - Álcool**

A modificação ácida do amido altera a massa molecular, a viscosidade e as propriedades de pasta, e o rendimento diminui. Para aumentar a conversão de amido nativo em amido solúvel com uma mínima produção de dextrinas de baixo peso molecular e usando menor quantidade de ácido, Small (1919 apud Lin; Lii e Chang, 2005), propôs um método em que os grânulos de amido eram refluxados em 95 % de etanol contendo 0,2 – 1,6 % (p/v) HCl por 6 – 15 min. Os rendimentos foram altos e ficaram na faixa de 81 – 100 %, e a solubilidade dos amidos modificados foi maior quando comparada com a dos amidos nativos. Desde então a modificação ácido-alcoólica vem sendo investigada utilizando diferentes amidos tratados em diferentes concentrações de ácidos e diferentes álcoois (MA; ROBYT, 1987; CHANG; LIN; CHANG, 2006; FERRINI et al., 2008), estes autores obtiveram

rendimentos elevados (> 90%) dos amidos solúveis, utilizando a menor quantidade de ácido.

Mukerjea, Slocum e Robyt (2007), modificaram oito diferentes tipos de amido com 0,36% (p/v) HCl em metanol ou etanol, por 72 horas a 20°C e observaram que os amidos modificados tiveram seus tamanhos moleculares reduzidos e foram de 4 a 9 vezes mais solúveis em água que os amidos nativos. As transformações que ocorrem nos amidos modificados por ácido-álcool são dependentes do tipo de álcool usado, da quantidade de amido por unidade de volume, da temperatura e da concentração do ácido (MA; ROBYT, 1987; FOX; ROBYT, 1992; ROBYT et al., 1996a; ROBYT et al., 1996b).

Ma e Robyt (1987), estudando a modificação ácido-alcoólica de amidos com metanol, etanol, 2-propanol e 1-butanol, observaram que o metanol produzia amidos com maior grau de polimerização (DP), enquanto amidos com menor DP eram obtidos quando 1-butanol era utilizado. Os rendimentos e o tamanho dos grânulos de amido também diminuíram progressivamente seguindo a ordem decrescente do metanol > etanol > 2-propanol > 1-butanol.

Polaczek, Starzyk e Tomasik (1999), refluxaram amidos de batata por 24 horas em metanol, 1-propanol e 1-pentanol e observaram que o álcool penetrou no interior do grânulo de amido expulsando moléculas de água e conteúdos amorfos através do hilum, provocando perda de peso do amido e alterações irreversíveis na estrutura do grânulo. Lin, Lii e Chang (2005), observaram que amidos tratados com metanol e 2-propanol sem ácido tiveram perda do material amorfo pelo hilum do grânulo, e nenhuma degradação molecular foi observada, porém com o tratamento ácido-álcool o amido apresentou muitas fissuras dentro do grânulo e degradação molecular. Além disso, a amilose e as longas cadeias de amilopectina foram degradadas.

Chang, Lin e Chang (2006) modificaram grânulos de amido com metanol, etanol, 2-propanol ou 1-butanol contendo 0,36% de HCl a 45°C por 1 hora, e observaram fissuras internas ou cavidades em alguns grânulos, sendo que o número de grânulos com fissuras ou cavidades aumentou com o aumento do número de carbono do álcool. Esta degradação ocorre preferencialmente nas regiões amorfas, pois a hidrólise ácido-alcoólica ocorre com mais intensidade na amilose e nas cadeias longas de amilopectina (LIN; LEE; CHANG, 2003; LIN; LII; CHANG, 2005).

Estudos comparativos sobre a capacidade de complexação da amilose e amilopectina, mostraram que somente a amilose é capaz de formar complexos de inclusão helicoidais, em que moléculas de álcool seriam hospedadas na cavidade das hélices. Dessa forma a estrutura do álcool pode determinar o tipo de interação com o amido (JANE; ROBYT, 1984; POLACZEK; STARZYK; TOMASIK, 1998).

Apesar de vários estudos sobre modificações ácido-álcool em diversas fontes de amido (batata, milho normal e ceroso) já terem sido publicadas (FOX; ROBYT, 1992; ROBYT et al., 1996a; 1996b; LIN; LEE; CHANG, 2003; CHANG; LIN; LII, 2004; LIN; LII; CHANG, 2005; CHANG; LIN; CHANG, 2006; CHUNG; LAI, 2006), pouco se sabe sobre as alterações do amido de mandioca modificado em solução ácido-álcool (MUKERJEA; SLOCUM; ROBYT, 2007; FERRINI et al., 2008).

Ferrini et al. (2008) trataram amido de milho e mandioca com ácido metanol por até 8 horas a 54°C e observaram que o tratamento promoveu alto rendimento, alta solubilidade, aumento da cristalinidade, redução do teor de amilose, redução da viscosidade intrínseca e das propriedades de pasta, e aumento das temperaturas de gelatinização. De acordo com estes autores a ação do ácido-metanol, foi mais intensa para o amido de mandioca nas primeiras horas de tratamento e aconteceu preferencialmente nas regiões amorfas localizadas dentro da periferia dos grânulos, composta por amilose e amilopectina.

### **3.4.3 Amido Modificado Fisicamente**

As modificações físicas apresentam grande vantagem sobre as modificações químicas. Amidos modificados por processo físico não são limitados pela legislação quanto às quantidades utilizadas, sendo considerados como ingredientes. Apesar da vantagem dos amidos modificados fisicamente, são poucos os relatos da literatura sobre modificações físicas e existe um número muito maior de pesquisas e patentes sobre as modificações químicas (CEREDA; VILPOUX; DEMIATE, 2003).

O tamanho dos grânulos de amido varia de acordo com a fonte botânica. Para muitas aplicações, o mercado prefere grânulos de amido pequeno. Embora existam grânulos de amido com diâmetro bem pequeno, eles são mais difíceis de isolar que os grânulos maiores, devido aos custos envolvidos na sua produção, o que os

tornam menos viáveis economicamente. Assim, existe grande interesse em métodos destinados a modificar a estrutura ou diminuir o tamanho dos grânulos de amido. Modificações físicas a fim de diminuir o tamanho do grânulo de amido têm sido investigadas e utilizadas em uma variedade de aplicações novas, tais como substituição de gordura, filmes plásticos, e pó utilizado em cosméticos e produtos farmacêuticos (JANE et al., 1992; JANE, 1992; NIEMANN; WHISTLER, 1992).

A quebra mecânica do grânulo de amido por aplicação de uma força física através de moagem em moinho de bola tem mostrado ser efetiva na obtenção de grânulos de tamanho similar aos da micela de gordura, particularmente após um pré-tratamento para debilitar a estrutura granular, como a hidrólise enzimática, ou principalmente a hidrólise ácida (JANE et al., 1992; NIEMANN; WHISTLER, 1992; SANQUANPONG et al., 2003a; SANQUANPONG et al., 2003b). O grau de hidrólise é um fator fundamental para a obtenção de um amido com propriedades de substituto de gordura (LUCCA; TEPPER, 1994; ZAMBRANO; CAMARGO, 1999).

De acordo com Jane et al. (1992), o amido de milho nativo modificado por ácido forte (ácido clorídrico e sulfúrico) em meio aquoso, alcoólico ou aquoso alcoólico, produz grânulos bem frágeis, que podem ser quebrados em pequenas partículas pelo atrito com um pilão ou em um moinho de bola. Dessa forma a combinação da modificação química com a moagem produz amidos de pequenas partículas.

Sanguanpong et al. (2003a), estudaram a modificação ácida do amido de mandioca, seguida de moagem em moinho de bola, e revelaram que o dano mecânico provoca uma transformação na estrutura dos grânulos, de ordenada para desordenada (amorfa) por meio da quebra das ligações intermoleculares. Segundo esses autores, as fraturas observadas em algumas partes quebradas dos grânulos de amido eram radiais, ou seja, paralelas ao eixo de crescimento das cadeias de amilopectina, contrastando com a modificação ácida em que as ligações glicosídicas são quebradas preferencialmente no anel de crescimento. Grânulos quebrados em pequenos fragmentos contribuem com a região amorfa.

Battista (1967, apud Jane, 1992), patenteou um método em que utiliza a combinação dos tratamentos químico e físico para preparar géis estáveis a partir de dispersões de amilose ou de amido com 85% de amilose. O material foi primeiro hidrolisado por refluxo ácido e, depois, quebrado em pequenas partículas utilizando moinho de alta velocidade. A desintegração mecânica foi realizada em presença de

água. O produto finamente dividido caracterizou-se pela sua capacidade de formar suspensões estáveis em meio líquido. A suspensão continha suficientes partículas submícron que preveniam a separação das fases, resultando em uma suspensão estável.

Em trabalhos desenvolvidos por Jane et al. (1992), e por Niemann e Whistler (1992), o amido de milho hidrolisado por tratamento ácido e posteriormente submetido a atrito mecânico em um moinho de bola resultou em produtos com partículas cristalinas preservadas (cristalinidade do tipo A) e tamanho de grânulos menores do que 2  $\mu\text{m}$ . Todavia, pode-se observar a partir de trabalhos realizados por Chun et al. (1997) e Sanguanpong et al. (2003a), que apesar do moinho de bola poder efetivamente reduzir o tamanho dos grânulos, ele também pode acarretar em alguma perda da cristalinidade do grânulo, dependendo da fonte de amido utilizado, do pré-tratamento empregado e do tempo de tratamento.

Huang et al. (2008), trataram amidos de milho e mandioca em moinho de bola e observaram que a estrutura cristalina do amido foi destruída pela moagem. A temperatura e a entalpia de gelatinização do amido diminuíram com o aumento do tempo de moagem, e a fase de transição de pico desapareceu gradualmente durante a gelatinização. Verificou-se ainda que o amido de mandioca moído tinha menor conteúdo de amilose aparente, maior solubilidade em água fria e maior transparência do que o amido de milho.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Materiais**

Amido comercial de mandioca doado pela empresa Corn Products do Brasil foi utilizado neste trabalho. Todos os reagentes eram puros para análise e foram utilizados sem qualquer modificação.

### **4.2 Métodos**

#### **4.2.1 Composição Centesimal do Amido de Mandioca**

A umidade e o teor de cinzas, proteínas e lipídios foram determinados pelos métodos dos Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists - AACC (1995). O teor de carboidratos foi calculado pela diferença.

#### **4.2.2 Modificação Ácido-Etanólica dos Amidos de Mandioca**

O amido de mandioca modificado foi preparado em triplicata, de acordo com a metodologia descrita por Lin, Lii e Chang (2005). 75g (b.s.) de amido nativo foi dispersa em 300 mL de etanol absoluto (<0,3% de água). A reação se iniciou com a adição de 3 mL de HCl concentrado (0,36% por peso) à suspensão que foi incubada a 30, 40 e 50°C por 1 e 12 horas. A reação foi interrompida com a adição de 42 mL de NaHCO<sub>3</sub> (1M), seguido por banho de gelo de 5 minutos e centrifugação a 2200 g por 10 min. O precipitado foi lavado com etanol 50% até ausência de NaCl no sobrenadante (detectado pela adição de 1% AgNO<sub>3</sub>) e então foi seco em estufa a 40°C por 24h. O rendimento foi calculado através do peso de amido recuperado pelo

peso inicial do amido seco. Após secagem, metade do material obtido foi moído manualmente em almofariz e a outra metade moída em moinho de bola, durante 1 hora.

### **4.2.3 Solubilidade**

A determinação da solubilidade dos amidos nativo e modificados seguiu a metodologia descrita por Lin, Lee e Chang (2003). Amidos de mandioca natural e modificados (0,1g, b. s.) foram adicionados a 40 mL de água destilada e aquecidos às temperaturas de 75, 85 e 95°C durante 30 min. A formação de precipitado foi prevenida pela constante agitação. A mistura foi então centrifugada a 1500 g por 20 min. Alíquotas de 5 mL do sobrenadante foram colocadas em béqueres previamente tarados, e deixados evaporar a 130°C por 24 h antes da pesagem. A solubilidade foi calculada pelo quociente do peso do sobrenadante seco pelo peso inicial do amido.

### **4.2.4 Distribuição do Tamanho dos Grânulos**

O tamanho dos grânulos de amido de mandioca obtidos dos diferentes tratamentos foi determinado através de Microscópio Ótico de Luz Olympos, acoplado a um sistema de análise de imagem "Image-Pro-Plus" (Média Cybernetics). Uma pequena quantidade de amostra foi colocada sobre uma lâmina, adicionando-se uma gota de dispersão glicerol:água (1:1) e por fim, colocando-se uma lamínula sobre o material. Para um mesmo campo visualizado, foram obtidas imagens sob luz normal e polarizada. As imagens selecionadas foram analisadas pelo sistema. O parâmetro avaliado foi o diâmetro maior ( $\mu\text{m}$ ) de cada grânulo. Três lâminas para cada amostra foram feitas e 100 grânulos foram medidos por lâmina.

#### 4.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia do Grânulo

A microscopia eletrônica de varredura das amostras de amido foi realizada através de microscópio eletrônico de varredura, modelo DSM 960 ZEISS – *Digital Scanning Microscope*. Uma pequena quantidade de amostra de amido, previamente desengordurada com etanol 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 em microscópio eletrônico de varredura.

#### 4.2.6 Difração de Raio-X

Os padrões de difração de raios-X dos amidos de mandioca natural e modificados foram determinados utilizando uma unidade RINT2000 Wide Angle Goniometer, com radiação de Cu, linha K,  $L=1,542 \text{ \AA}$ . A velocidade de varredura foi de  $1^\circ/\text{min}$ . As condições de uso foram 50 Kv e 100mA. O índice de cristalinidade relativa (IC) foi quantitativamente estimado baseado na relação entre a área cristalina e área total seguindo método de Nara; Komiya (1983) utilizando o software Origin versão 7.5 (Microcal Inc., EUA). Os gráficos foram suavizados utilizando o método 'Adjacent Averaging'.

#### 4.2.7 Viscosidade Intrínseca

Soluções de amido natural e modificados foram preparadas segundo Lansky (1949). Dispersões de 0,4, 0,3, 0,2 e 0,1% (p/v) preparadas com KOH 1N foram mantidas em banho-maria com água fervente e sob agitação por 30 minutos. Foram resfriadas, ainda sob agitação a temperatura ambiente, e centrifugadas a 780 g durante 5 minutos.

A viscosidade intrínseca das soluções de amido foi determinada segundo Leach (1963), com a utilização de um viscosímetro Cannon Fenske nº 50. Para determinar o tempo de escoamento do solvente (KOH 1N) e das soluções de amidos a diferentes concentrações, exatos 12 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-maria com temperatura constante a 35 °C por 5 minutos para equilíbrio da temperatura, então a amostra escoou pelo capilar até o menisco atingir a primeira marca onde foi iniciada a contagem do tempo. No mínimo duas determinações foram feitas para cada solução. A viscosidade específica foi calculada como segue:

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

onde as variáveis com índice 0 indicam o solvente KOH 1N e as variáveis sem índice se referem à 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.

#### 4.2.8 Teor de Amilose

O teor de amilose total do amido de mandioca 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), como segue: 500 mg de amido (b.s) foram dispersos em 25 mL de solução de dimetilsulfóxido (DMSO) 90% e aquecidas sob agitação em banho de água fervente (~100°C), durante 1 hora, e resfriadas à temperatura ambiente, por outras 24 horas. O amido foi precipitado da solução de DMSO com 75 mL de etanol absoluto e separado através de centrifugação a 3300 g por 20 minutos. O amido precipitado foi lavado com etanol, recuperado por filtração e seco em estufa a 38°C por 24 horas.

Na determinação do teor de amilose, 100 mg de amido, previamente tratado com DMSO, foram aquecidos em banho maria fervente com 1 mL de etanol 95% e 9 mL de NaOH 1 M, por 10 minutos. Em seguida, a solução foi resfriada, transferida para balão volumétrico de 100 mL completando-se o volume com água destilada. Retirou-se uma alíquota de 18 mL, que foi transferida para tubo de ensaio de 50 mL que continha 2 mL de NaOH 0,09 N. Uma alíquota de 5 mL foi transferida para balão volumétrico de 100 mL contendo 50 mL de água destilada e 1 mL de ácido acético 1 M. Foram adicionados 2 mL de solução de iodo e o volume completado com água destilada. Após 20 minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 620 nm. Curvas padrões de amilose e amilopectina foram realizadas.

#### **4.2.9 Propriedades de Pasta**

As propriedades de pasta dos amidos natural e modificados foram 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 (8,0% p/p num, total de 28g), para o amido natural e 16,0% (p/p) para amidos modificados. As suspensões de amido foram colocadas em recipientes de alumínio próprios do equipamento e acoplados ao RVA. No início da análise, o RVA foi mantido a 50 °C durante 1 minuto; após este tempo, aqueceu a uma razão de 6 °C/minuto até atingir 95 °C e permaneceu nesta temperatura por 5 minutos; então resfriou até 50 °C também a 6 °C/minuto e permaneceu nesta temperatura até o final da análise. São necessários 23 minutos para completar o experimento. Durante todo o experimento o RVA mantém as suspensões sob agitação a 160 rpm. Os resultados obtidos no RVA foram processados e analisados com auxílio do programa Software Thermoclines for Windows, versão 2.2.

#### **4.2.10 Propriedades Térmicas**

As propriedades térmicas dos amidos natural e modificados foram determinadas utilizando um calorímetro diferencial de varredura (DSC) (Pyris 1, Perkin Elmer) de acordo com método descrito por Franco et al. (2002). Amostras de 2 mg em base seca do amido natural e modificados foram pesados em panelinhas de alumínio, misturados com 6  $\mu$ L de água deionizada e selados. As panelinhas seladas foram mantidas por 2 horas em temperatura ambiente para equilíbrio, e colocadas no equipamento, aquecidas a uma razão de 5 °C/minuto de 25 a 100 °C. Uma panelinha vazia foi utilizada como referência. Após a corrida das amostras no equipamento, as mesmas foram armazenadas em temperatura de refrigeração por 15 dias para posterior determinação das propriedades térmicas dos amidos retrogradados nas mesmas condições. As temperaturas de transição (inicial, de pico e final) e a variação de entalpia dos amidos natural e modificados retrogradados foram determinadas utilizando o software Pyris 1 da Perkin Elmer, USA.

#### **4.2.11 Análise Estatística**

As análises físico-químicas foram feitas no mínimo em triplicata e foram 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 Composição Centesimal

O amido é formado basicamente por carboidratos, porém, constituintes menores como cinzas, proteínas, lipídios e fósforo estão presentes em sua composição. A quantidade destas substâncias no amido depende do processo de extração e da fonte botânica. Em amidos de raízes e tubérculos constituintes como cinzas, proteínas e lipídios aparecem em pequena quantidade e não chegam a alterar suas propriedades funcionais (HOOVER, 2001). A composição química do amido de mandioca usado neste trabalho encontra-se apresentado na (Tabela 1). Como esperado, este amido apresentou baixos teores de cinza, proteína e lipídios e sua somatória não ultrapassou 0,3%, indicando que o amido estava suficientemente puro para ser utilizado neste trabalho.

De acordo com Moorthy (2002) amidos de raízes e tubérculos possuem baixos teores de cinzas (0,02 a 0,49%). Peroni, Rocha e Franco (2006) encontraram para o amido de mandioca, teores de proteínas e lipídios de 0,20 e 0,15% respectivamente, enquanto Atichokudomchai et al. (2001) obtiveram um teor de proteína de 0,08% para este amido.

**Tabela 1** - Composição química do amido de mandioca.

Constituintes	(%)
Umidade	9,99 ± 0,22
Cinzas	0,09 ± 0,01
Lipídios	0,07 ± 0,01
Proteínas	0,11 ± 0,01
Carboidratos**	99,73

\* Cada valor representa a média de triplicatas.

\*\* Calculado por diferença

\*\*\* Valores calculados em base seca, com exceção da umidade.

## 5.2 Rendimento dos Amidos Modificados

Os amidos modificados mostraram cor e aparência semelhantes as do amido nativo. Como apresentado na tabela 2, o rendimento dos amidos modificados foi alto e esteve na faixa de 98%, independente da temperatura e do tempo de modificação.

Vários trabalhos apresentados na literatura (MA; ROBYT, 1987; LIN; LEE; CHANG, 2003; CHANG; LIN; LII, 2004; CHANG; LIN; CHANG, 2006) mostraram rendimentos acima de 91% para amidos de milho e batata, tratados com HCl em diferentes álcoois e em diferentes concentrações.

Chang, Lin e Lii (2004) trataram amido de milho ceroso em diferentes concentrações de etanol (50, 70 ou 90%), contendo 0,36 ou 1,39% de HCl a 65 °C por 1 hora, e obtiveram rendimento maior que 96%. Ainda de acordo com estes autores, os grânulos de amido tratados com menor concentração de HCl foram os que apresentaram rendimento mais alto, chegando a 99%.

Ferrini et al. (2008), trataram amidos de milho e mandioca com 0,36% de HCl em metanol anidro a 54°C por até 8 horas, e também não observaram diferenças no rendimento, para ambos amidos tratados em diferentes tempos, e o rendimento médio esteve ao redor de 97%.

Esses dados sugerem que durante o tratamento, é possível que o álcool proteja os grânulos de amido e a degradação ocorra com mínima produção de dextrinas de baixo peso molecular.

**Tabela 2** Rendimento\* dos amidos de mandioca modificados por ácido-etanol em diferentes temperaturas e tempos.

Amidos	Rendimento (%)
Nativo	-
30°C/1h	98,11 ± 0,41 <sup>a</sup>
40°C/1h	98,96 ± 0,39 <sup>a</sup>
50°C/1h	98,98 ± 0,42 <sup>a</sup>
30°C/12h	98,62 ± 0,59 <sup>a</sup>
40°C/12h	98,98 ± 0,20 <sup>a</sup>
50°C/12h	99,00 ± 0,40 <sup>a</sup>

Cada valor representa a média de triplicatas

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

\*[ massa do amido modificado (bs)] / [ massa do amido nativo (bs)]x100

### 5.3 Solubilidade

A solubilidade do amido é definida como a quantidade máxima de massa que pode ser dissolvida em determinado volume de água. A solubilidade do amido nativo aumentou com a temperatura de análise e a 95°C o amido de mandioca nativo mostrou 32% de solubilidade. Ferrini et al. (2008), encontram solubilidade pouco maior que a encontrada neste trabalho para o amido de mandioca nativo, que foi de 44,6%.

O tratamento ácido-etanólico aumentou substancialmente a solubilidade dos amidos que foi maior quanto maior o tempo e temperatura de tratamento. Assim amidos tratados a 40 ou a 50°C durante 12 horas est avam completamente solúveis a 95°C (Tabela 3). Mukerjea, Slocum e Robyt (2007), modificaram oito diferentes tipos de amido em ácido-metanol ou ácido-etanol, a 20°C por 72 horas e observaram que os amidos modificados foram de 4 a 9 vezes mais solúveis em água que os amidos nativos concordando com os resultados deste trabalho. Ferrini et al. (2008), também obtiveram para o amido de mandioca tratado com ácido-metanol, a 54°C por até 8 horas, aumento substancial da solubilidade com aumento do tempo de tratamento, estando o amido de mandioca completamente solúvel a 95°C, após ter sido hidrolisado durante 3 horas.

A moagem não afetou a solubilidade do amido nativo e daqueles modificados quimicamente por diferentes temperaturas e tempos. Exceção foi o amido de mandioca tratado em condições mais brandas (30°C por 1 hora) que mostrou solubilidade maior, quando comparado a seu análogo antes da moagem. Sanguanpong et al. (2003a), ao tratarem grânulos de amido de mandioca com 4% de HCl a 55°C por até 24 horas, seguido de moagem em vários tempos (1, 2 e 3 horas), observaram que a moagem durante as 2 primeiras horas, apesar de quebrar o grânulo em pedaços menores, não afetou o comportamento do amido em água.

**Tabela 3** - Solubilidade a 75, 85 e 95°C dos amidos de mandioca nativo e tratados com 0,36% HCl a 30, 40 e 50°C durante 1 e 12 horas seguidos ou não de moagem.

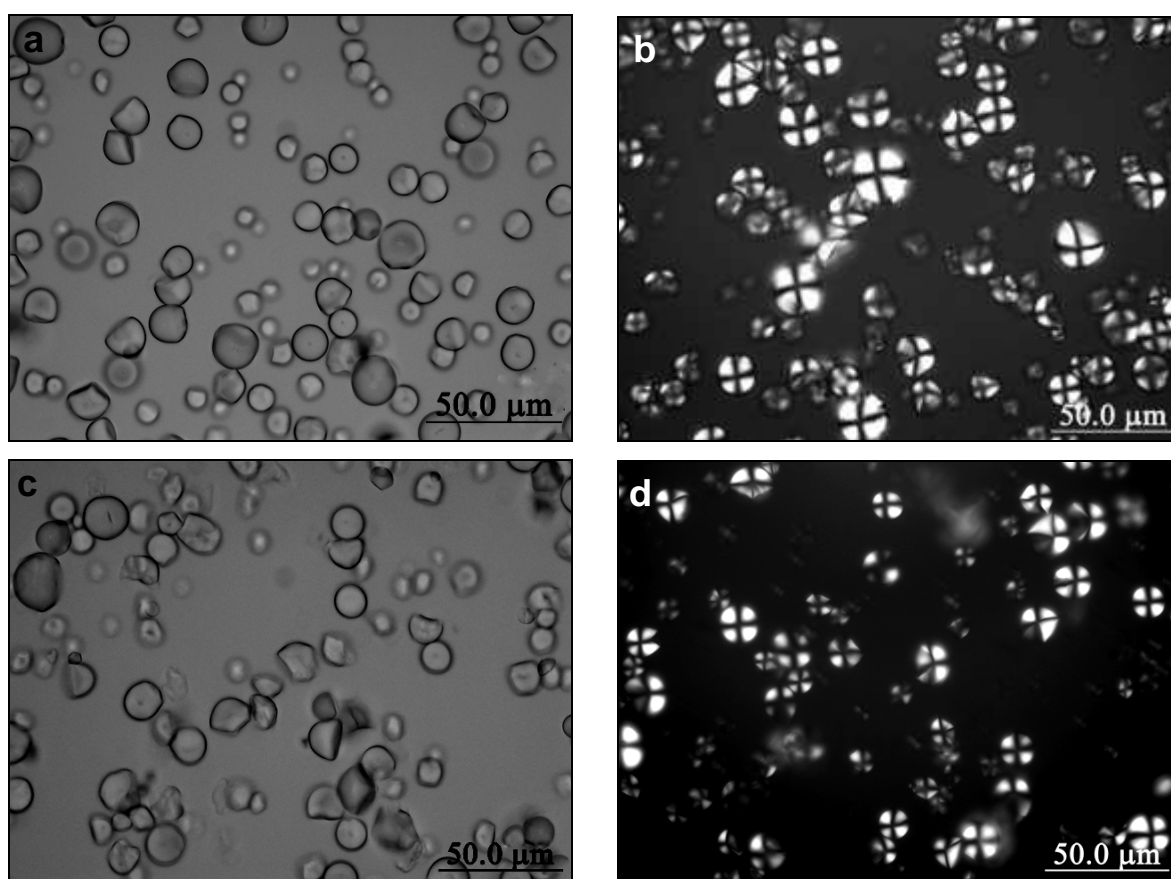
Amidos	75 °C	85 °C	95°C
Nativo	15,00 <sup>h C</sup>	29,40 <sup>h B</sup>	32,00 <sup>j A</sup>
30°C/1h	48,80 <sup>g C</sup>	56,40 <sup>g B</sup>	65,20 <sup>h A</sup>
40°C/1h	77,07 <sup>e C</sup>	83,33 <sup>e B</sup>	91,73 <sup>f A</sup>
50°C/1h	85,33 <sup>bc B</sup>	88,80 <sup>cd B</sup>	95,60 <sup>de A</sup>
30°C/12h	81,87 <sup>cd C</sup>	87,07 <sup>de B</sup>	95,07 <sup>e A</sup>
40°C/12h	87,00 <sup>b B</sup>	91,07 <sup>bc B</sup>	98,93 <sup>bc A</sup>
50°C/12h	94,13 <sup>a B</sup>	96,13 <sup>a B</sup>	100,80 <sup>ab A</sup>
Nativo Moído	16,80 <sup>h C</sup>	31,80 <sup>h B</sup>	38,40 <sup>i A</sup>
30°C/1h	57,60 <sup>f C</sup>	63,00 <sup>f B</sup>	74,67 <sup>g A</sup>
40°C/1h	79,60 <sup>de C</sup>	86,00 <sup>de B</sup>	95,07 <sup>e A</sup>
50°C/1h	86,00 <sup>b B</sup>	89,20 <sup>cd B</sup>	97,73 <sup>cd A</sup>
30°C/12h	82,13 <sup>cd C</sup>	88,27 <sup>cd B</sup>	95,73 <sup>de A</sup>
40°C/12h	89,00 <sup>b B</sup>	93,47 <sup>ab B</sup>	100,00 <sup>ab A</sup>
50°C/12h	96,53 <sup>a B</sup>	96,67 <sup>a B</sup>	101,47 <sup>a A</sup>

Cada valor representa a média de nove repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna (letras minúsculas) e na mesma linha (letras maiúsculas) não diferem significativamente. (P<0.05)

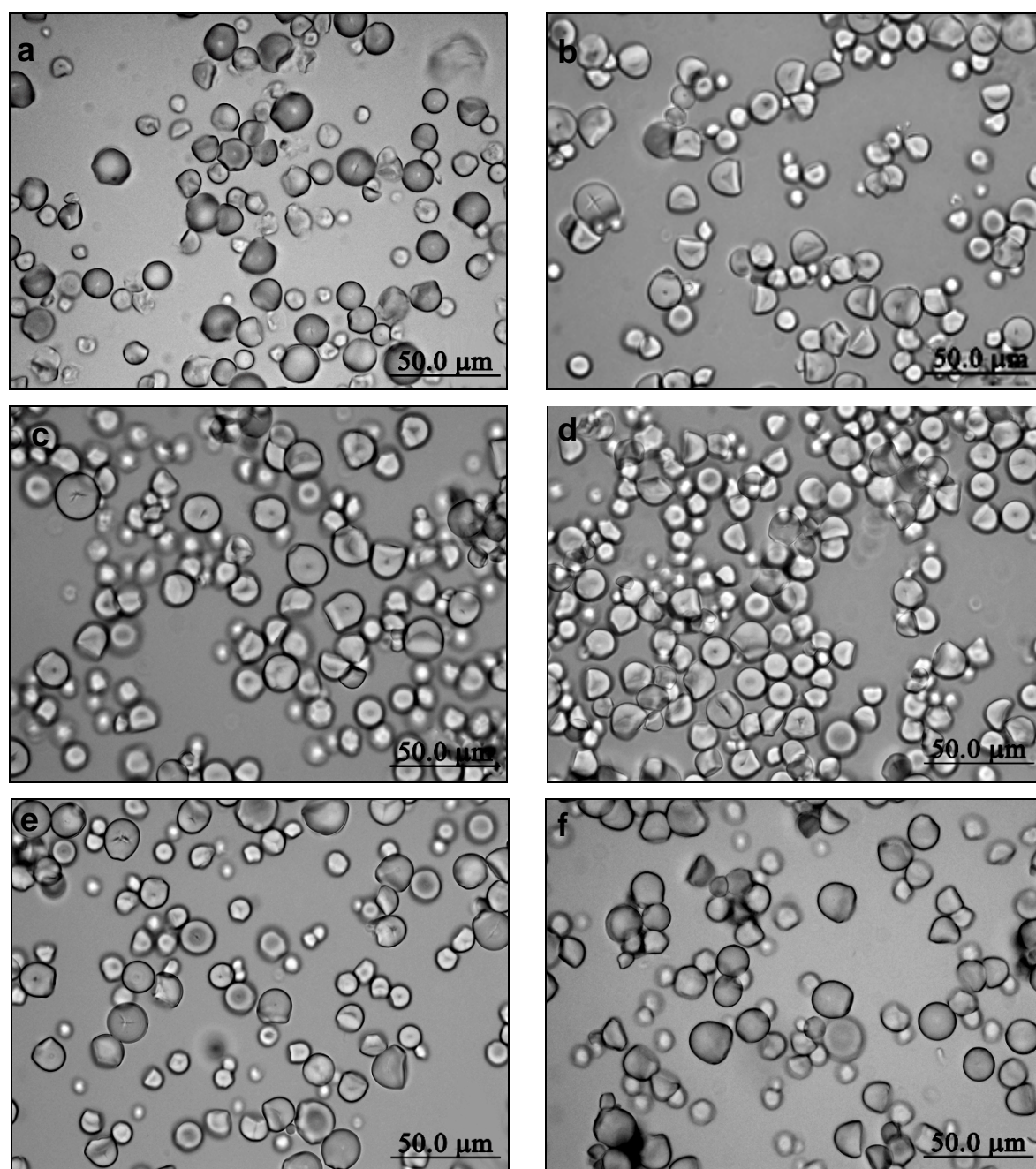
#### 5.4 Forma e Tamanho dos Grânulos de Amido

Os grânulos de amido de mandioca nativo, observados em microscópio óptico sob luz normal (Figura 7a), apresentaram formato arredondado e hilo centrado. Sob luz polarizada (Figura 7b) foi possível observar nitidamente a cruz de malta presente nos grânulos de amido. Mishra e Raí (2005), também observaram formato arredondado para os grânulos de amido de mandioca nativo, além de observarem grânulos com extremidades truncadas. Após moagem do amido nativo, não foi possível notar qualquer alteração no formato dos grânulos observados sob luz normal (Figura 7c). A cruz de malta continuou presente sob luz polarizada, indicando que a estrutura cristalina dos grânulos foi mantida após moagem (Figura 7d).

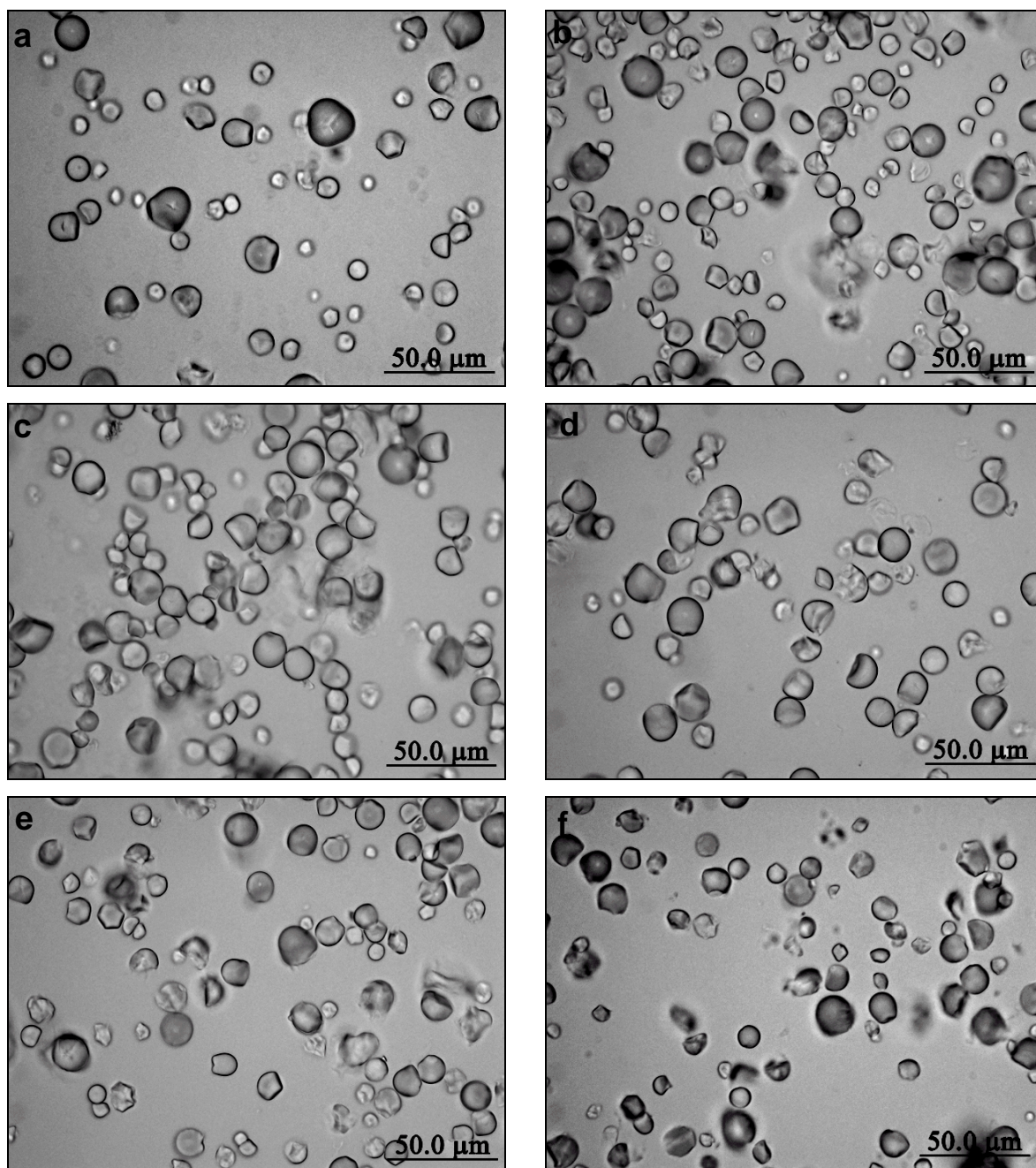


**Figura 7** - Micrografias dos grânulos de amido de mandioca nativo, observados em microscópio óptico comum sob luz normal (a, c) e sob luz polarizada (b, d). Antes da moagem (a, b) e após moagem (c, d).

As micrografias dos grânulos de amido modificados quimicamente antes e após moagem estão apresentadas nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Não foi possível observar, sob luz normal, qualquer diferença no formato dos grânulos de amido de mandioca tratados com ácido-etanol em diferentes temperaturas e tempos (Figura 8 a-f). Do mesmo modo, após moagem dos grânulos modificados quimicamente, não foi possível notar diferenças nos seus formatos (Figura 9 a-f).



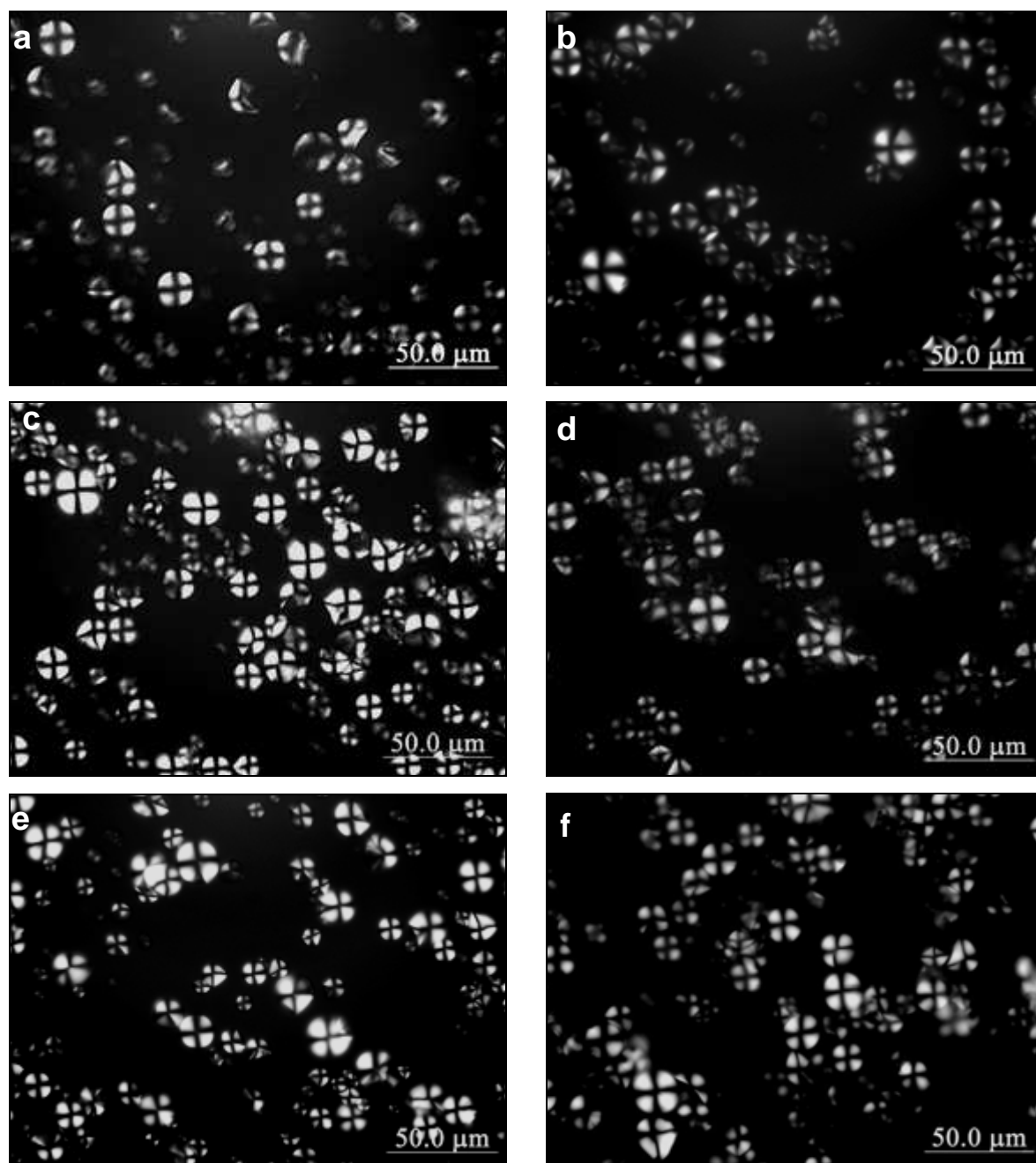
**Figura 8** - Micrografias dos grânulos de amido de mandioca modificados quimicamente, observados em microscópio óptico comum sob luz normal – a: 30°C / 1h; b: 30°C / 12h; c: 40°C / 1h; d: 40°C / 12h; e: 50°C / 1h; f: 50°C / 12h.



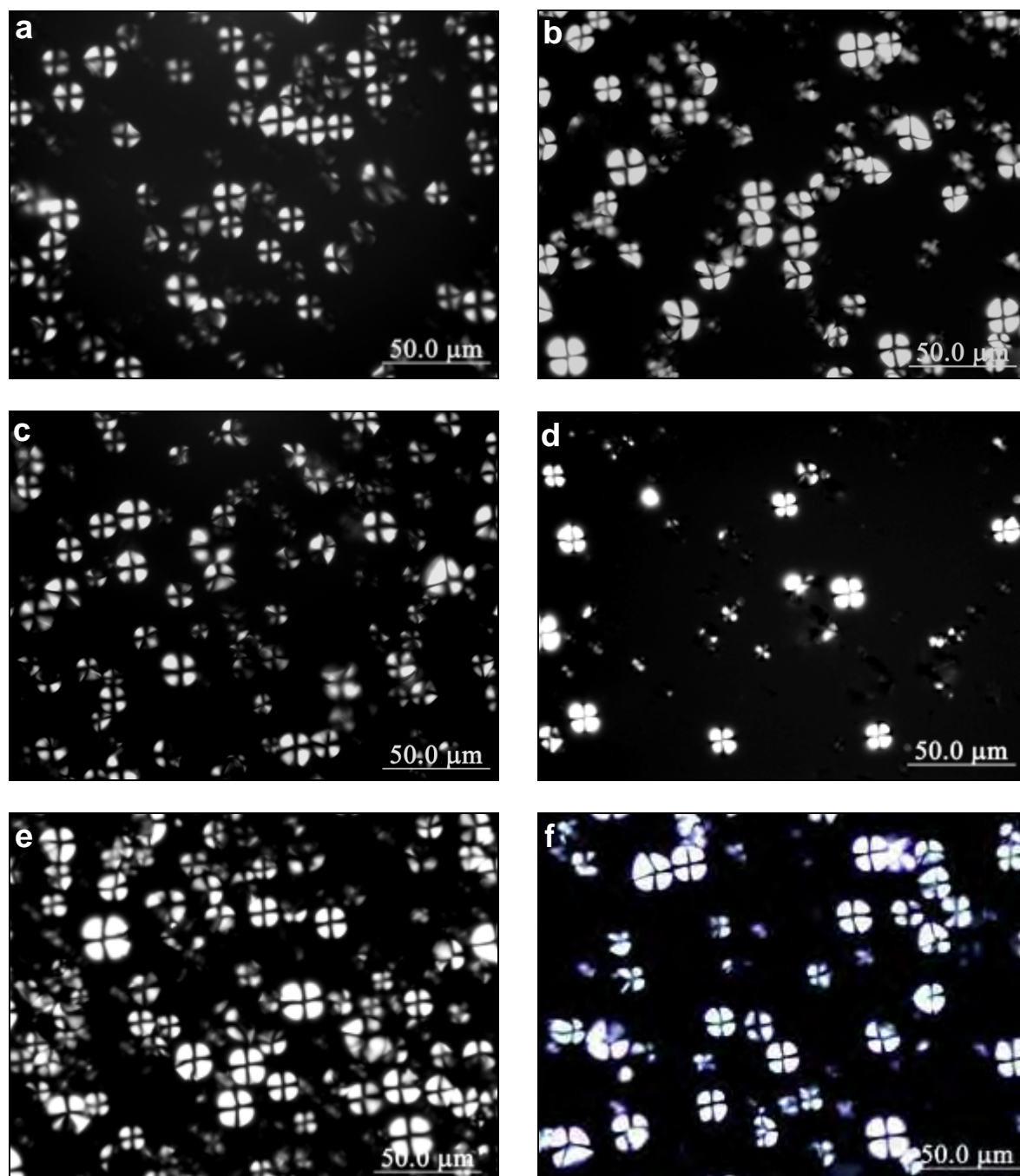
**Figura 9** - Micrografias dos grânulos de amidos de mandioca modificados quimicamente, após moagem, observados em microscópio óptico comum sob luz normal – a: 30°C / 1h; b: 30°C / 12h; c: 40°C / 1h; d: 40°C / 12h, e: 50°C / 1h; f: 50°C / 12h.

Sob luz polarizada, a exemplo dos grânulos nativos, tanto os grânulos submetidos ao tratamento ácido-etanólico, em qualquer tempo ou temperatura (Figura 10 a-f), como aqueles submetidos ao tratamento ácido-etanólico seguido de moagem (Figura 11 a-f) mostraram a cruz de malta com clareza. Estes resultados

sugeriram que o tratamento ácido-etanólico antes ou após moagem não destruiu a estrutura cristalina dos grânulos de amido.



**Figura 10** - Micrografias dos grânulos de amido de mandioca modificados quimicamente, observados em microscópio óptico, sob luz polarizada: – a: 30°C / 1h; b: 30°C / 12h; c: 40°C / 1h; d: 40°C / 12h, e: 50°C / 1h; f: 50°C / 12h.



**Figura 11** - Micrografias dos grânulos de amido de mandioca modificados quimicamente, após moagem, observados em microscópio óptico, sob luz polarizada – a: 30°C / 1h; b: 30°C / 12h; c: 40°C / 1h; d: 40°C / 12h, e: 50°C / 1h; f: 50°C / 12h.

A Tabela 4 mostra os diâmetros médios dos grânulos de amido de mandioca nativos e tratados com ácido-etanol em diferentes tempos e temperaturas antes e após moagem em moinho de bola.

Os grânulos de amido de mandioca nativo apresentaram diâmetro médio de 25,2  $\mu\text{m}$ . Mishra e Raí (2005) obtiveram para os grânulos de amido de mandioca nativo tamanhos que variaram de 7,1 a 25  $\mu\text{m}$ . Peroni, Rocha e Franco (2006) observaram para este amido um diâmetro médio de 15  $\mu\text{m}$ , porém esses autores definiram como diâmetro médio dos grânulos de amido a média entre o diâmetro maior e o menor de cada grânulo, diferentemente do que foi realizado neste trabalho em que apenas o diâmetro maior de cada grânulo foi considerado.

O diâmetro médio dos grânulos reduziu significativamente ( $P < 0,05$ ) com o tempo e temperatura de tratamento. Para os grânulos tratados por 1 hora, quanto maior a temperatura de tratamento maior a redução no diâmetro médio que atingiu 20,3  $\mu\text{m}$ , quando tratado a 50°C por 1 hora. Para tratamentos mais prolongados (12 horas), houve redução do diâmetro médio de 25,2 para 20,0  $\mu\text{m}$ , independente da temperatura de tratamento.

Atichokudomchai et al. (2001) não observaram qualquer redução do tamanho dos grânulos de amido de mandioca submetidos à ação apenas do ácido clorídrico a 6% (p/v) por 12 a 768 horas. Por outro lado, Ferrini et al. (2008) ao tratarem amidos de mandioca e milho com ácido-metanol por até 8 horas, observaram redução no tamanho médio dos grânulos de amido de mandioca após 5 horas de tratamento, enquanto não houve diferença significativa para o diâmetro médio dos grânulos de amido de milho com o mesmo tratamento.

Após moagem, houve redução do diâmetro médio dos grânulos nativo de 25,2 para 21,6  $\mu\text{m}$ . Este resultado sugeriu que a aplicação de uma força mecânica sobre os grânulos intactos provocou alguma quebra dos mesmos, e os fragmentos obtidos foram contabilizados como grânulos de menor diâmetro. Resultados semelhantes foram observados para as amostras tratadas quimicamente em condições mais brandas (30 ou 40°C por 1 hora), enquanto que para os amidos modificados a 50°C por 1 ou 12 horas e para aqueles tratados a 30 ou 40°C por 12 horas, não houve diferença significativa no diâmetro médio dos grânulos antes e após moagem ( $P < 0,05$ ). Estes resultados sugeriram que à temperaturas mais amenas e tempos mais curtos, nem toda a área amorfa dos grânulos havia sido atacada e então, os resíduos menos cristalinos, porém mais frágeis, poderiam ser mais facilmente quebrados durante a moagem. É possível que os grânulos de amido nativo e aqueles tratados em condições mais brandas apresentaram maior fragilidade que aqueles tratados em maiores tempos e temperaturas, pois com o aumento do tempo

e temperatura de tratamento mais áreas amorfas foram degradadas restando áreas cada vez mais cristalinas e mais resistentes à quebra. Sanguanpong et al. (2003b), observaram redução no diâmetro médio dos grânulos de amido de mandioca após tratamento com 4% de HCl a 55°C por até 24 horas, seguido de 3 horas de moagem. De acordo com estes autores para a moagem ser mais efetiva, os grânulos de amido de mandioca nativo devem ser pré-tratados, por exemplo, com a modificação ácida que aumenta a fragilidade do grânulo a fim de facilitar a quebra do mesmo por forças físicas.

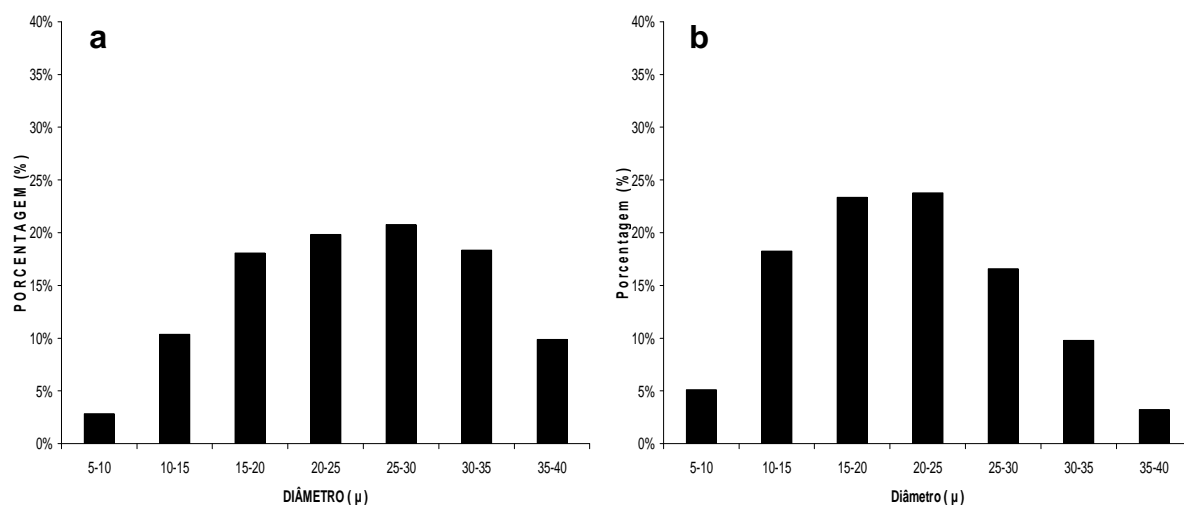
**Tabela 4** - Tamanho médio dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente, por 1 e 12 horas, em diferentes temperaturas antes e após a moagem.

Média do Tamanho dos Grânulos ( $\mu\text{m}$ ) *		
Amidos	Antes da Moagem	Após Moagem
Nativo	25,2 <sup>a</sup>	21,6 <sup>c</sup>
30°C/1h	23,8 <sup>ab</sup>	20,1 <sup>cd</sup>
40°C/1h	23,5 <sup>b</sup>	20,1 <sup>cd</sup>
50°C/1h	20,3 <sup>cd</sup>	20,1 <sup>cd</sup>
30°C/12h	20,7 <sup>cd</sup>	20,0 <sup>cd</sup>
40°C/12h	20,3 <sup>cd</sup>	19,8 <sup>d</sup>
50°C/12h	20,0 <sup>cd</sup>	19,7 <sup>d</sup>

\*Cada valor representa a média de 300 repetições.

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

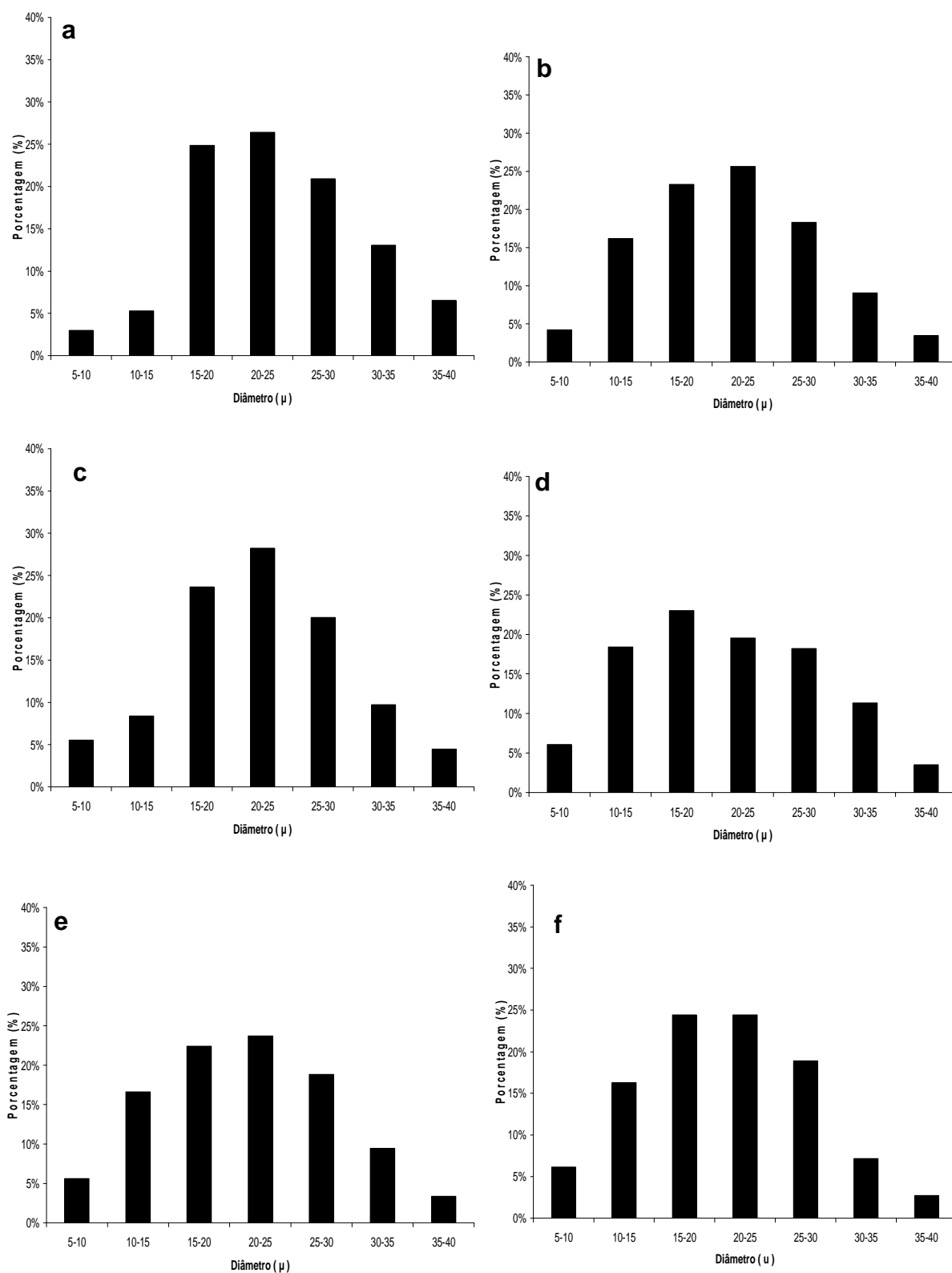
A Figura 12 mostra a distribuição de tamanho de grânulos do amido de mandioca nativo antes e após moagem. Para o amido de mandioca nativo houve principalmente a predominância de grânulos com diâmetros entre 15 a 35  $\mu\text{m}$ , chegando a 78% da população de grânulos. Após moagem (Figura 12b), houve um aumento do número de grânulos pequenos, principalmente daqueles compreendidos entre 10 e 15  $\mu\text{m}$  e redução dos grânulos com diâmetro maior que 25  $\mu\text{m}$ . Estes resultados confirmam aqueles apresentados para o tamanho médio dos grânulos de amido de mandioca nativo após moagem (Tabela 4).



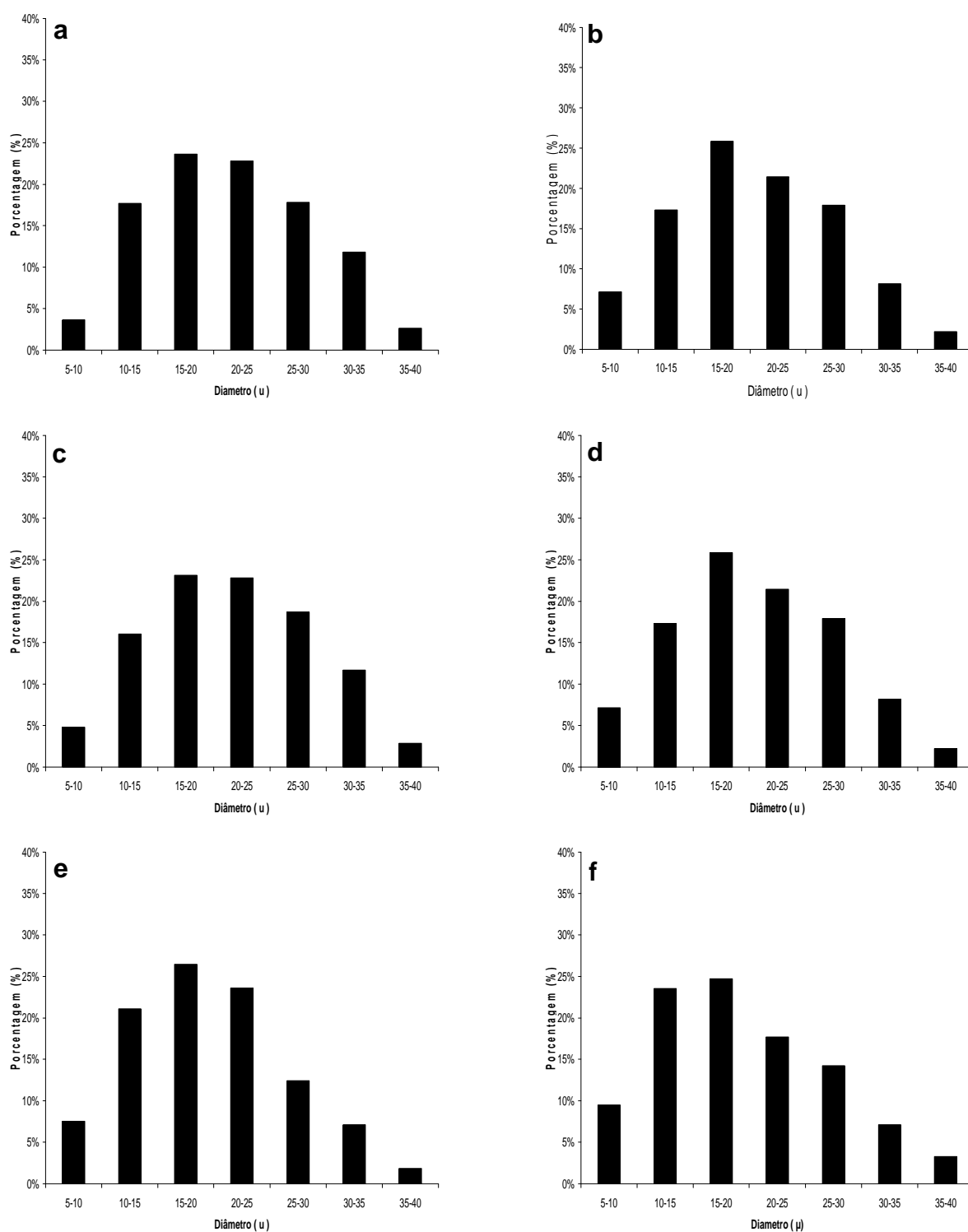
**Figura 12** - Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de mandioca nativo – a: antes da moagem; b: após moagem.

As distribuições de tamanho dos grânulos de amido de mandioca tratados quimicamente antes e após moagem estão apresentados nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

De modo geral, os grânulos de amido de mandioca tratados com ácido-etanol por 1 hora a 30 e 40°C apresentaram principalmente a predominância dos grânulos com diâmetros entre 15 a 30 μm. Com o aumento da temperatura de tratamento para 50°C, fica claro a maior redução da porcentagem de grânulos com diâmetros maiores que 20 μm e aumento na porcentagem de grânulos menores que 15 μm. Aumentando o tempo de tratamento para 12 horas foi possível observar, principalmente para os grânulos tratados a 30 e 40°C em relação àqueles tratados por 1 hora, aumento do número de grânulos pequenos, principalmente daqueles compreendidos entre 5 e 15 μm.



**Figura 13** - Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de mandioca, modificados quimicamente: – a: 30°C / 1h; b: 30°C / 12h; c: 40°C / 1h; d: 40°C / 12h; e: 50°C / 1h; f: 50°C / 12h.



**Figura 14** - Distribuição do tamanho dos grânulos de amidos de mandioca modificados quimicamente, após moagem – a: 30°C / 1h; b: 30°C / 12h; c: 40°C / 1h; d: 40°C / 12h; e: 50°C / 1h; f: 50°C / 12h.

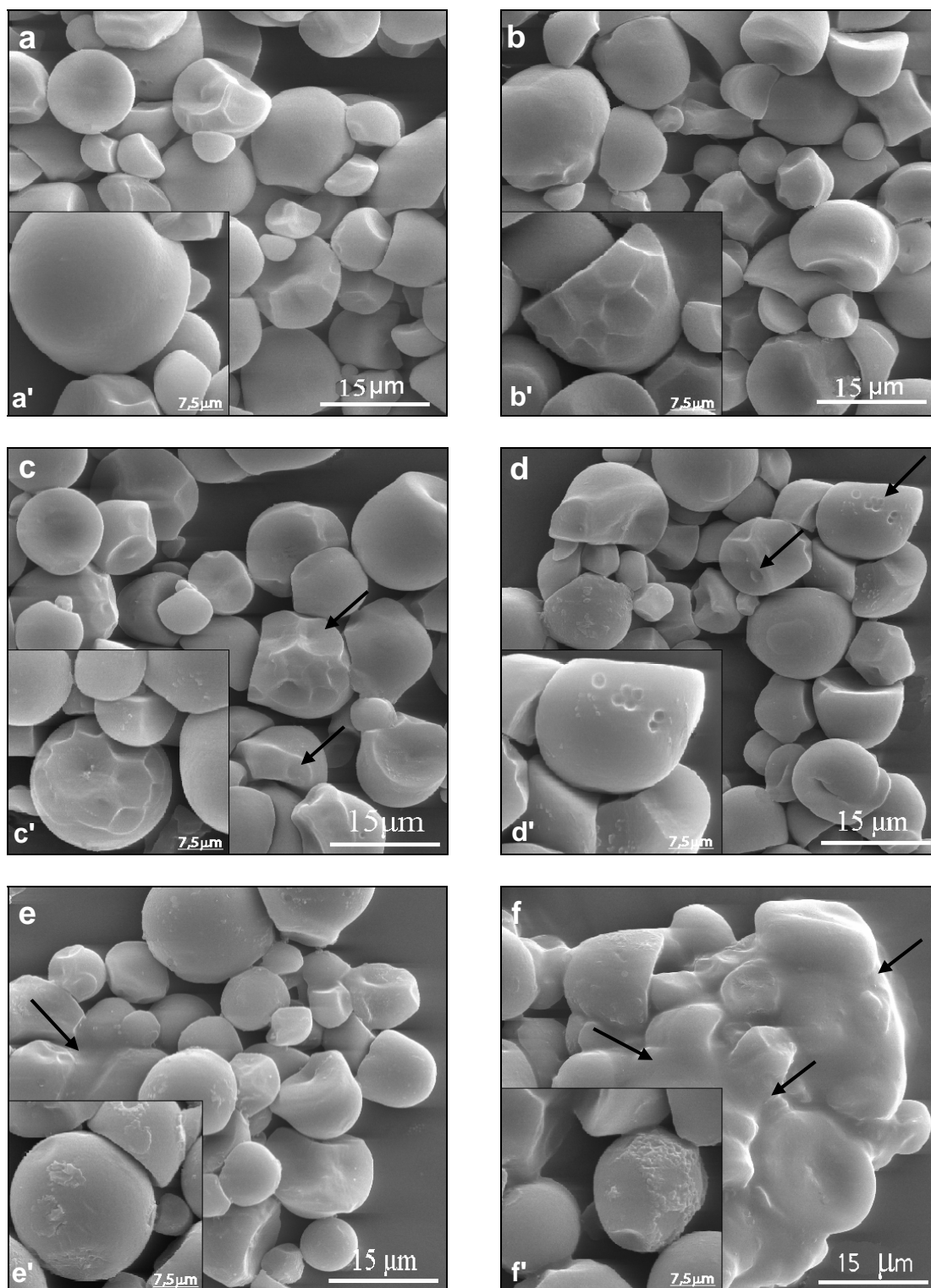
Após moagem, praticamente não houve diferença na distribuição de tamanho de grânulos dos amidos tratados a diferentes temperaturas. Após moagem dos amidos tratados quimicamente, houve aumento pronunciado dos grânulos com diâmetro entre 10-15 $\mu$ m e redução dos grânulos com diâmetro entre 35-40 $\mu$ m para os amidos tratados a 30, 40 ou 50°C por 1h. Para os amidos tratados por mais tempo (12 horas), praticamente não houve diferença entre as distribuições de tamanho de grânulos antes e após moagem. É possível que, maiores tempos de tratamento, tenham provocado a degradação de maior quantidade de área amorfa dos grânulos restando resíduos mais cristalinos e mais difíceis de serem quebrados, mesmo pela moagem. Estes resultados confirmam os diâmetros médios dos grânulos de amido apresentados na tabela 4.

### **5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura e Morfologia dos Grânulos**

A Figura 15 (a-f) mostra as micrografias do amido de mandioca nativo e tratado com ácido-etanol a 50°C por 1 e 12 horas, antes e após moagem, observados ao microscópio eletrônico de varredura (MEV).

Os grânulos de amido de mandioca nativo antes e após moagem (Figura 15 a - b, respectivamente) apresentaram superfície lisa e forma arredondada. Foi possível observar também vários grânulos apresentando uma das extremidades truncadas como já relatado por vários pesquisadores (JANE et al., 1994; ATICHOKUDOMCHAI, SHOBSNGOB, VARAVINIT, 2000; MISHRA; RAI, 2005; FERRINI, et al., 2008). Não foi observada qualquer diferença entre os grânulos de amido nativos antes e após a moagem.

Os grânulos de amido de mandioca tratados com ácido-etanol por 1 hora a 50°C (Figura 15 c, c'), não apresentaram diferença visível em relação ao amido nativo. O amido tratado por 12 horas à mesma temperatura (Figura 15 e, e') apresentou grânulos com superfície mais áspera, sugerindo erosão com conseqüente solubilização das camadas mais externas. Alguns grânulos mostraram-se sem forma definida como se estivessem sendo "derretidos" (Figura 15 e ↓) sugerindo uma gelatinização parcial devido ao elevado tempo e temperatura de tratamento.



**Figura 15** - Grânulos de amido de mandioca nativo e modificado quimicamente, observados ao microscópio eletrônico de varredura, com aumentos de 1500 X e 3000 X – a: nativo, b: nativo após moagem; c: 50 °C / 1h, d: 50 °C / 1h após moagem; e: 50 °C / 12h, f: 50 °C / 12h após moagem.

Os grânulos de amido de mandioca nativo apresentaram temperatura inicial de gelatinização de 55,80°C (determinada por DSC). Possivelmente a proximidade das temperaturas de tratamento (50°C) e de gelatinização inicial do amido nativo, e o elevado tempo de tratamento provocaram, ao mesmo tempo em que as áreas amorfas eram degradadas pelo ácido-álcool, uma parcial gelatinização do grânulo (Figura 15 e). No detalhe foi possível observar com clareza os grânulos com superfície erodida (Figura 15 e').

Ferrini et al. (2008), também observaram, para o amido de mandioca tratado com ácido-metanol, que a superfície granular tornou-se mais áspera conforme o tempo de tratamento aumentou. Estes autores sugeriram a ocorrência de uma erosão seguida de solubilização dos grânulos. De acordo com Atichokudomchai, Shobsngob e Varavinit (2000), a modificação ácida atacou os grânulos e foi evidente na forma de erosão superficial, sem a aparente formação de poros, o que também pode ser observado neste trabalho.

Após moagem, o amido nativo não apresentou diferença em relação ao amido original, porém aquele tratado a 50°C por 1 hora apresentou poros na superfície (Figura 15 d, d' ↓). Os grânulos tratados com ácido-álcool a 50°C, durante 12 horas, mostraram-se disformes como se estivessem aprisionando alguns grânulos intactos (Figura 15 f, f'). Uma gelatinização parcial do amido com alguns grânulos intactos sendo envolvidos pela amilose lixiviada durante a gelatinização pode ter ocorrido. A transformação da energia mecânica em térmica, durante a moagem, provavelmente provocou aumento da temperatura do amido, facilitando o rompimento das pontes de hidrogênio intermoleculares responsáveis pela manutenção da estrutura granular. De acordo com Sanguanpong et al. (2003b), durante a moagem, o calor pode ser gerado pela transformação da energia mecânica em térmica, e este pode causar perda da cristalinidade e o desenvolvimento de um "líquido derretido" altamente viscoso que atuaria como um "cimento", "colando" vários grânulos de amido.

## 5.6 Difração de Raio-X

Os difractogramas de raios-X, dos amidos nativo e tratados quimicamente, antes e após moagem, estão apresentados nas Figuras 16 e 17, e o índice de

cristalinidade relativa encontra-se apresentado na Tabela 5. Os padrões de cristalinidade obtidos para todos os amidos, nativo e modificados, foram do tipo A.

Padrão de cristalinidade tipo A para o amido de mandioca tem sido relatado por muitos pesquisadores (ATICHOKUDOMCHAI et al., 2001; ATICHOKUDOMCHAI, VARAVINIT, CHINACHOTI, 2002; FRANCO, CABRAL, TAVARES, 2002; HOOVER, 2001; ZAMBRANO; CAMARGO, 2001; SANGUANPONG et al., 2003a), apesar de alguns outros (GALLANT et al. 1992; HUANG et al. 2007; 2008) relatarem padrão tipo C para este amido. Segundo Buléon et al. (1998) o padrão tipo C é uma mistura dos padrões A e B.

De acordo com Jane et al. (1999), a formação do estado cristalino dos grânulos de amido é determinada pelos comprimentos das cadeias laterais da amilopectina, sendo que a amilopectina de amidos com padrão tipo A possui maior proporção de cadeias curtas quando comparada àquelas do amido com padrão tipo B.

**Tabela 5:** Índice de cristalinidade dos amidos de mandioca nativo e modificados antes e após a moagem.

<b>Índice de Cristalinidade do Amido de Mandioca (IC %)</b>		
Amido	Antes da Maogem	Após Maogem
Nativo	24,14 <sup>d</sup>	17,46 <sup>h</sup>
40°C/1h	25,72 <sup>c</sup>	17,75 <sup>g</sup>
50°C/1h	26,06 <sup>b</sup>	18,49 <sup>f</sup>
50°C/12h	27,98 <sup>a</sup>	20,41 <sup>e</sup>

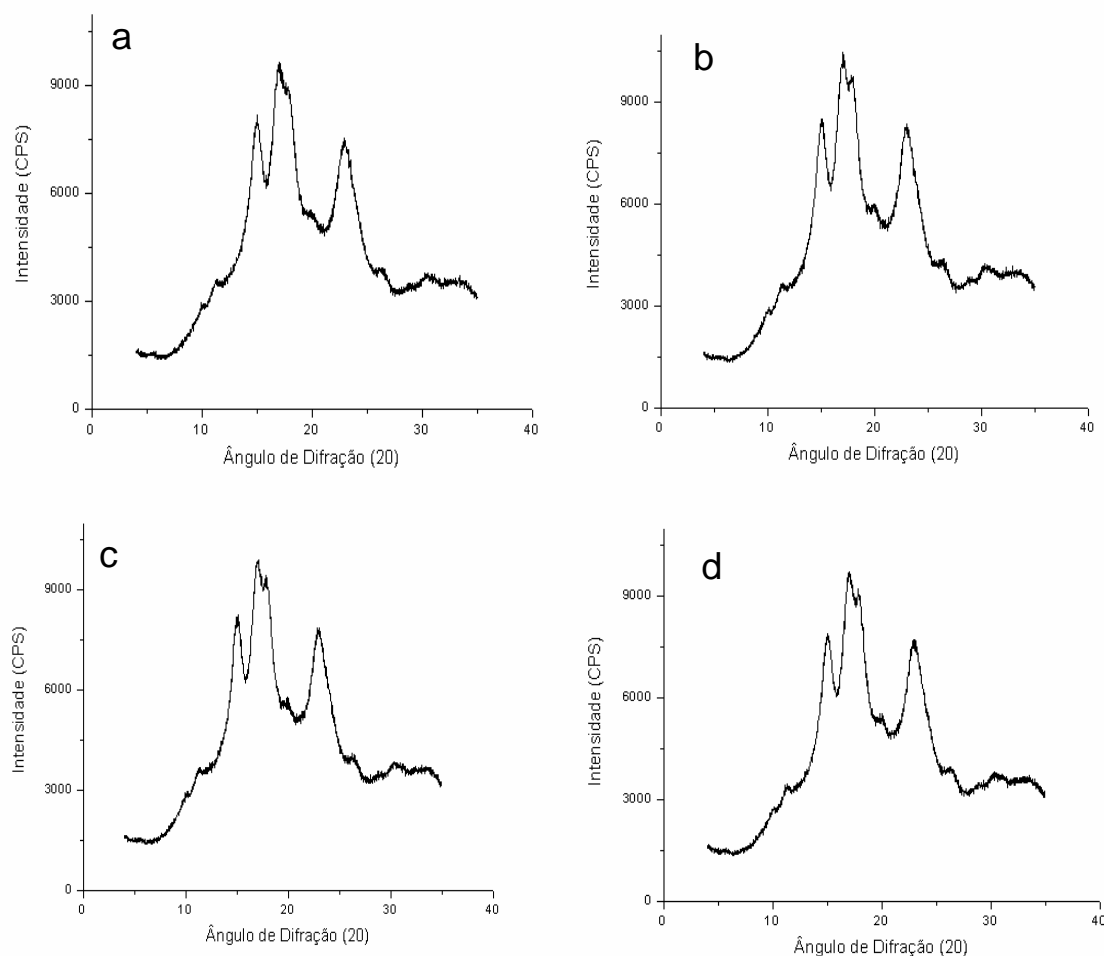
\*Cada média representa o valor de três repetições

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

O valor do índice de cristalinidade encontrado para o amido de mandioca nativo foi de 24,14%. Ferrini et al. (2008) ao analisarem o amido de mandioca nativo, também encontraram o mesmo padrão tipo A, com um índice de cristalinidade relativa de 25,24%, concordando com os resultados obtidos neste trabalho.

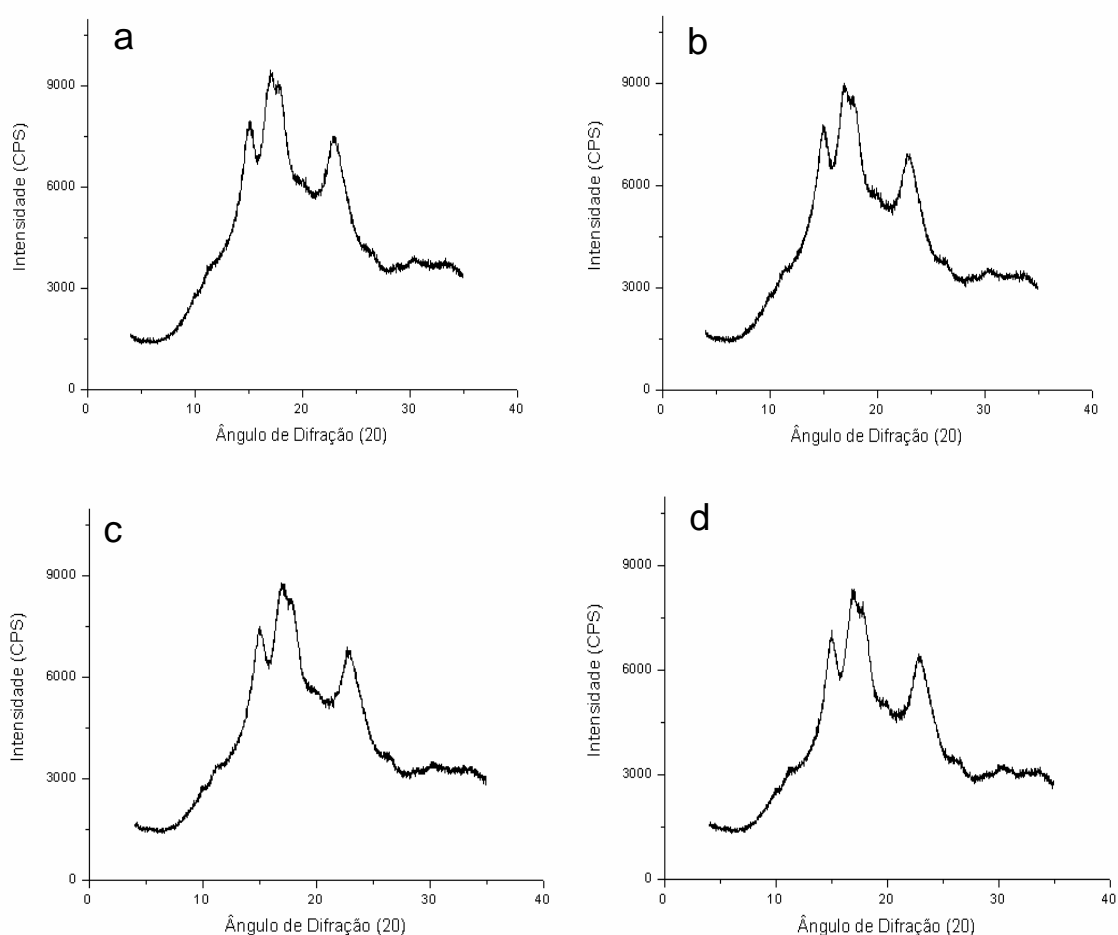
Em função dos resultados obtidos anteriormente (MEV), apenas as amostras de amido nativo, tratados a 40 e 50°C por 1 hora e aqueles tratados a 50°C por 12 horas foram submetidos às análises de difração de raios-x.

Amidos modificados por ácido-etanol em diferentes tempos e temperaturas apresentaram aumento da intensidade dos picos em relação ao amido nativo (Figura 16), e um aumento gradativo no índice de cristalinidade relativa (IC) que passou de 24,14% para 27,98% quando o amido de mandioca foi tratado por 12 horas a 50°C. Ferrini et al. (2008), ao tratarem amido de mandioca com 0,36% de HCl em metanol anidro a 54°C por até 8 horas, também observaram aumento no IC dos grânulos de amido de mandioca, do mesmo modo que Atichokudomchai, Varavinit e Chinachoti (2002) ao tratarem esse amido com HCl (6 e 12%) por 12 a 768 horas. De acordo com Sanguanpong et al. (2003a), a modificação ácida, em geral, leva a um aumento na cristalinidade das amilodextrinas resultantes, porque neste processo a região amorfa é preferencialmente hidrolisada. Do mesmo modo, a degradação ácida em presença de álcool, provavelmente ocorra primeiramente nas zonas amorfas dos grânulos de amido.



**Figura 16** - Difractogramas dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente: a: nativo, b: 40°C/1h; c: 50°C/1h, d: 50°C/12h.

A moagem possivelmente desarranjou as estruturas cristalinas do grânulo de amido, rompendo pontes de hidrogênio intermoleculares, pois houve redução na intensidade dos picos e no IC dos grânulos de amido nativo e tratado quimicamente. O IC do amido nativo reduziu de 24,14 para 17,46% após moagem. A porcentagem de perda de cristalinidade dos amidos moídos em relação àqueles que não sofreram moagem foi semelhante e esteve em torno de 30%. A estrutura cristalina é susceptível ao stress mecânico da moagem. Enquanto com o tratamento ácido-etanólico o amido perdeu grande parte de sua estrutura amorfa aumentando sua cristalinidade relativa, com a subsequente moagem ocorreu perda desta estrutura cristalina.



**Figura 17** - Difractograma dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificado quimicamente, após moagem: a: nativo, b: 40°C/1h; c: 50°C/1h, d: 50°C/12h.

Chun et al. (1997), trataram amido de arroz com 70% de álcool e 2% de HCl e observaram transformação no padrão de raios-X de A para V, sugerindo transformação da estrutura de duplas hélices para hélices simples. Contudo, este não foi o caso neste trabalho. Não foram observadas mudanças no padrão de raios-X, sugerindo que as duplas hélices permaneceram similares aquelas do amido nativo.

Huang et al. (2007), estudaram o grânulo de amido de mandioca após moagem e observaram que enquanto a região cristalina (ordenada) do grânulo diminuiu, a região amorfa (desordenada) aumentou. O moinho de bola fricciona o grânulo de amido causando a sua quebra em partes menores. Essa ação pode romper pontes de hidrogênio e até ligações covalentes, reduzindo o tamanho das regiões cristalinas e criando defeitos na estrutura cristalina.

## 5.7 Teor de Amilose

Os resultados do teor de amilose obtidos para os grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente, antes e após moagem estão apresentados na Tabela 6.

O amido de mandioca nativo antes da moagem apresentou 23,2% de amilose. Estes resultados estão de acordo com os encontrados na literatura que apresenta amidos de mandioca nativo contendo entre 20 a 25% (p/p) de amilose (PARKER; RING; 2001; SRICHUWONG et al., 2005).

O teor de amilose do amido de mandioca modificado por 1 hora a 30°C antes da moagem não apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) quando comparado com o amido nativo, porém reduziu com o aumento do tempo e temperatura de tratamento, e com 12 horas de tratamento a 50°C o teor de amilose do amido atingiu 18,7%. A queda no conteúdo de amilose dos amidos foi concomitante ao aumento de cristalinidade relativa (Tabela 5). Estes resultados sugeriram que a amilose distribuída na região amorfa foi preferencialmente atacada pelo ácido-álcool, resultando no aumento da cristalinidade relativa. De acordo com Jane (2006), a redução do teor de amilose era esperada, pois com a amilose fazendo parte das regiões amorfas dos grânulos e estando presente principalmente na periferia dos

mesmos, ocorreu uma redução gradativa do teor de amilose à medida que o tempo e temperatura de tratamento aumentaram.

Praticamente não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre o teor de amilose dos grânulos de amido de mandioca, antes e após moagem. A moagem não degradou as macromoléculas, indicando que neste caso, as forças físicas apenas afetaram as pontes de hidrogênio na estrutura ordenada, mas nada ocorreu com as ligações glicosídicas. No entanto, Huang et al. (2008) ao estudarem os grânulos de amidos nativos de mandioca e milho após 1 a 3 horas de moagem, observaram que o conteúdo de amilose dos amidos moídos aumentou com o aumento do tempo de moagem. De acordo com estes autores, durante a moagem o conteúdo de amilose aumentou devido a degradação das ligações glicosídicas da amilopectina, provavelmente nos pontos de ramificação que ao romperem liberavam cadeias laterais longas da amilopectina que então eram contabilizadas como amilose.

**Tabela 6** - Teor de amilose dos amidos de mandioca nativo e modificados antes e após moagem.

Amidos	Antes da Moagem	Após Moagem
Nativo	23,16 ± 0,04 <sup>a</sup>	22,96 ± 0,04 <sup>ab</sup>
30°C/1h	22,99 ± 0,07 <sup>ab</sup>	22,79 ± 0,07 <sup>bc</sup>
40°C/1h	22,66 ± 0,04 <sup>c</sup>	22,24 ± 0,14 <sup>d</sup>
50°C/1h	22,22 ± 0,00 <sup>d</sup>	21,94 ± 0,07 <sup>e</sup>
30°C/12h	21,47 ± 0,03 <sup>f</sup>	21,44 ± 0,07 <sup>fg</sup>
40°C/12h	21,42 ± 0,03 <sup>fg</sup>	21,17 ± 0,04 <sup>g</sup>
50°C/12h	18,76 ± 0,03 <sup>h</sup>	18,69 ± 0,04 <sup>h</sup>

Cada valor representa a média de seis repetições.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma linha ou coluna não são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

## 5.8 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). Os resultados de viscosidade intrínseca estão apresentados na Tabela 7 e na Figura 18.

O amido de mandioca nativo apresentou valor de viscosidade intrínseca de 2,57, valor levemente superior aos relatados por Ciacco e D'appolônia (1976) que encontraram o valor de 2,45, e por Ferrini et al. (2008) que encontraram 2,36 para este amido.

Como esperado, a viscosidade intrínseca reduziu progressivamente com o aumento da temperatura e do tempo de tratamento para todos os amidos modificados quimicamente ( $P < 0,05$ ), chegando a 0,19 após 12 horas de tratamento a 50°C. Resultados semelhantes foram obtidos por Franco, Cabral e Tavares (2002), que analisaram a viscosidade intrínseca do amido de mandioca nativo antes e depois de modificação ácida.

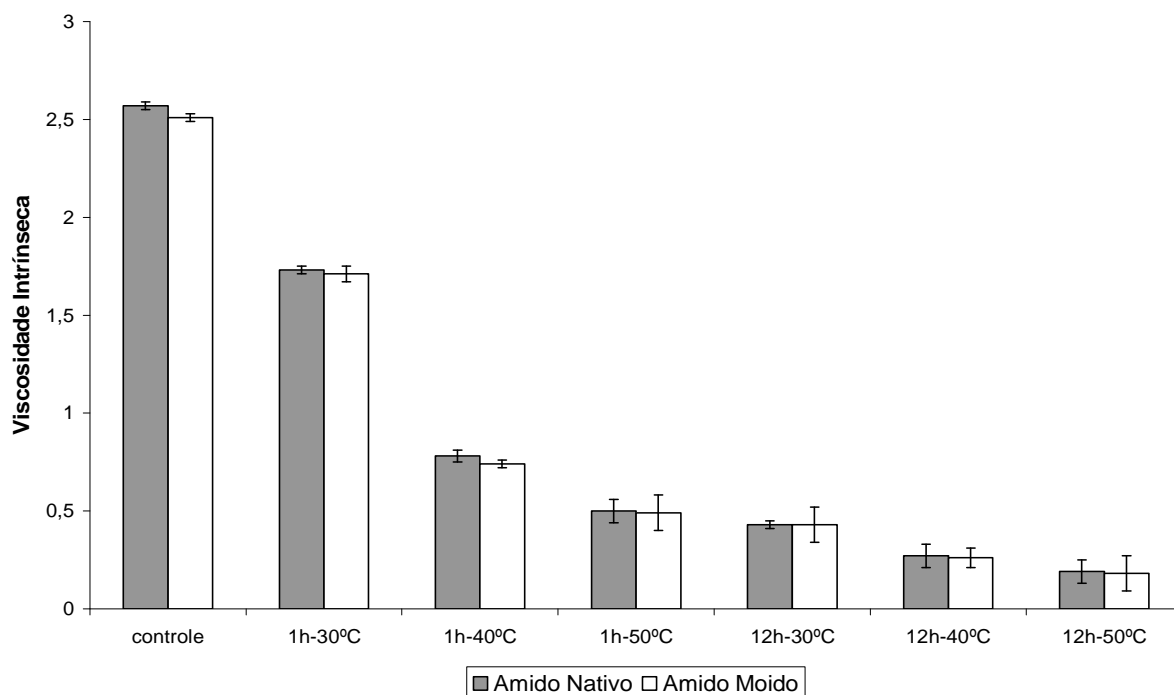
**Tabela 7** - Viscosidade Intrínseca dos amidos de mandioca nativo e modificados antes e após moagem.

Amidos	Antes da Moagem	Após Moagem
Nativo	2,57 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,51 ± 0,02 <sup>a</sup>
30°C/1h	1,73 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,71 ± 0,04 <sup>b</sup>
40°C/1h	0,78 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,74 ± 0,02 <sup>c</sup>
50°C/1h	0,50 ± 0,06 <sup>d</sup>	0,49 ± 0,09 <sup>d</sup>
30°C/12h	0,43 ± 0,02 <sup>de</sup>	0,43 ± 0,09 <sup>de</sup>
40°C/12h	0,27 ± 0,06 <sup>ef</sup>	0,26 ± 0,05 <sup>ef</sup>
50°C/12h	0,19 ± 0,06 <sup>f</sup>	0,18 ± 0,09 <sup>f</sup>

Cada valor representa a média de quatro repetições

Valores seguidos pela mesma letra na mesma linha ou coluna não são significativamente diferentes. ( $P < 0,05$ ).

A moagem não afetou a viscosidade intrínseca dos amidos nativo e modificados quimicamente, confirmando o não rompimento das ligações glicosídicas das moléculas de amido pelas forças físicas durante a moagem.



**Figura 18** - Viscosidade Intrínseca do grânulo de amido de mandioca nativo e modificado por 1 e 12 horas nas temperaturas de 30, 40 e 50°C.

### 5.9 Propriedades de Pasta

As propriedades de pasta e o perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido nativo e modificados por 1 e 12 horas nas diferentes temperaturas, antes e após moagem estão apresentados na Tabela 8 e nas Figuras 19, 20 (antes da moagem) e nas Figuras 21 e 22 (depois da moagem), respectivamente.

O perfil de viscosidade obtido para o amido de mandioca nativo apresentou curva típica para esse amido, com baixa temperatura de pasta (62,3°C), aumento acentuado de viscosidade até seu pico máximo (328,0 RVU), seguido da queda rápida da mesma. Durante a fase de temperatura constante (95°C) os grânulos começaram a se romper, ocorrendo à solubilização dos polímeros. Neste ponto foi registrada uma queda na viscosidade. Na fase de resfriamento, os polímeros de amilose e amilopectina solubilizados se reassociaram, sendo registrado um novo aumento na viscosidade (tendência a retrogradação). O amido de mandioca nativo também apresentou baixa tendência a retrogradação (75,1 RVU). De acordo com

Swinkels (1985), os baixos teores de amilose de grande peso molecular seriam responsáveis pela baixa tendência a retrogradação do amido de mandioca.

**Tabela 8** - Propriedades de pasta dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente, antes e após moagem.

Amidos	Viscosidade (RVU*)				Tempo de Pico (min)	Temp. Pasta (°C)
	Pico	Quebra	Final	Setback		
Nativo	328,0 ± 2,7 <sup>d</sup>	229,9 ± 0,9 <sup>c</sup>	151,8 ± 2,2 <sup>c</sup>	75,1 ± 0,8 <sup>d</sup>	4,7 ± 0,0 <sup>b</sup>	62,3 ± 0,1 <sup>b</sup>
30°C/1h	355,2 ± 1,1 <sup>c</sup>	278,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	187,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	89,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	5,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	63,4 ± 0,3 <sup>a</sup>
40°C/1h	56,9 ± 2,1 <sup>e</sup>	48,1 ± 1,3 <sup>e</sup>	57,7 ± 2,2 <sup>d</sup>	48,5 ± 2,8 <sup>e</sup>	4,5 ± 0,1 <sup>c</sup>	64,3 ± 0,7 <sup>a</sup>
50°C/1h	16,0 ± 0,5 <sup>h</sup>	11,8 ± 0,6 <sup>h</sup>	24,2 ± 0,7 <sup>g</sup>	21,7 ± 0,6 <sup>g</sup>	4,4 ± 0,1 <sup>d</sup>	Nd**
30°C/12h	22,5 ± 0,7 <sup>g</sup>	20,7 ± 0,8 <sup>g</sup>	38,0 ± 1,1 <sup>f</sup>	36,6 ± 1,2 <sup>f</sup>	4,5 ± 0,0 <sup>c</sup>	Nd
40°C/12h	3,6 ± 0,2 <sup>i</sup>	3,0 ± 0,1 <sup>i</sup>	5,9 ± 0,2 <sup>h</sup>	5,0 ± 0,2 <sup>h</sup>	4,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	Nd
50°C/12h	2,0 ± 0,1 <sup>i</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>i</sup>	0,1 ± 0,2 <sup>i</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>h</sup>	4,7 ± 0,0 <sup>b</sup>	Nd
Nativo Moído	281,8 ± 1,2 <sup>b</sup>	194,7 ± 0,4 <sup>d</sup>	167,9 ± 2,1 <sup>b</sup>	80,8 ± 3,5 <sup>c</sup>	4,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	62,2 ± 0,4 <sup>b</sup>
30°C/1h	389,8 ± 0,9 <sup>a</sup>	311,2 ± 1,3 <sup>a</sup>	191,4 ± 1,2 <sup>a</sup>	106,3 ± 1,2 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	62,2 ± 0,2 <sup>b</sup>
40°C/1h	56,6 ± 0,8 <sup>e</sup>	35,8 ± 2,5 <sup>f</sup>	49,7 ± 1,1 <sup>e</sup>	48,4 ± 1,6 <sup>e</sup>	4,5 ± 0,2 <sup>c</sup>	Nd
50°C/1h	14,4 ± 1,9 <sup>h</sup>	10,7 ± 3,2 <sup>h</sup>	21,4 ± 2,9 <sup>g</sup>	21,6 ± 2,1 <sup>g</sup>	4,4 ± 0,2 <sup>d</sup>	Nd
30°C/12h	28,9 ± 1,7 <sup>f</sup>	23,9 ± 2,6 <sup>g</sup>	46,9 ± 2,0 <sup>e</sup>	41,3 ± 1,6 <sup>f</sup>	4,5 ± 0,2 <sup>c</sup>	Nd
40°C/12h	4,5 ± 0,7 <sup>i</sup>	3,2 ± 0,4 <sup>i</sup>	7,6 ± 0,8 <sup>h</sup>	6,3 ± 0,5 <sup>h</sup>	4,4 ± 0,1 <sup>d</sup>	Nd
50°C/12h	3,7 ± 0,8 <sup>i</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>i</sup>	3,1 ± 0,9 <sup>hi</sup>	1,3 ± 0,5 <sup>h</sup>	4,4 ± 0,1 <sup>d</sup>	Nd

\* RVU: Unidade de viscosidade; \*\* nd: não detectado

Cada valor representa a média de três repetições.

Amido nativo: Concentração de 8% (p / v); Amidos Modificados: Concentração de 16% (p / v)

Como esperado, as viscosidades de pico, de quebra e final dos amidos modificados diminuíram progressivamente quanto maior o tempo e a temperatura de tratamento. As suspensões de amidos modificados, e analisados na concentração de 8%, praticamente não desenvolveram viscosidade que pudesse ser detectada pelo RVA. Mesmo com o dobro da concentração utilizada para o amido nativo (16% p/v), apenas o amido tratado por 1 hora a 30°C, apresentou pico de viscosidade próximo ao do amido nativo. (Figuras 19 e 20).

A redução do pico de viscosidade, observado para os amidos modificados já era esperado, uma vez que o ácido ataca preferencialmente a região amorfa do

grânulo, reduzindo a massa molecular da amilose e da amilopectina. Esta diminuição da viscosidade observada para os amidos tratados com ácido-etanol também confirma a alta solubilidade encontrada para os amidos modificados.

Resultados semelhantes foram encontrados por Atichokudomchai et al. (2001), que modificaram o amido de mandioca com ácido clorídrico, Chang, Lin e Lii (2004), que trataram amido de milho com ácido-etanol, e por Ferrini et al. (2008) que trataram amidos de mandioca e milho com 0,36% de HCl em metanol anidro.

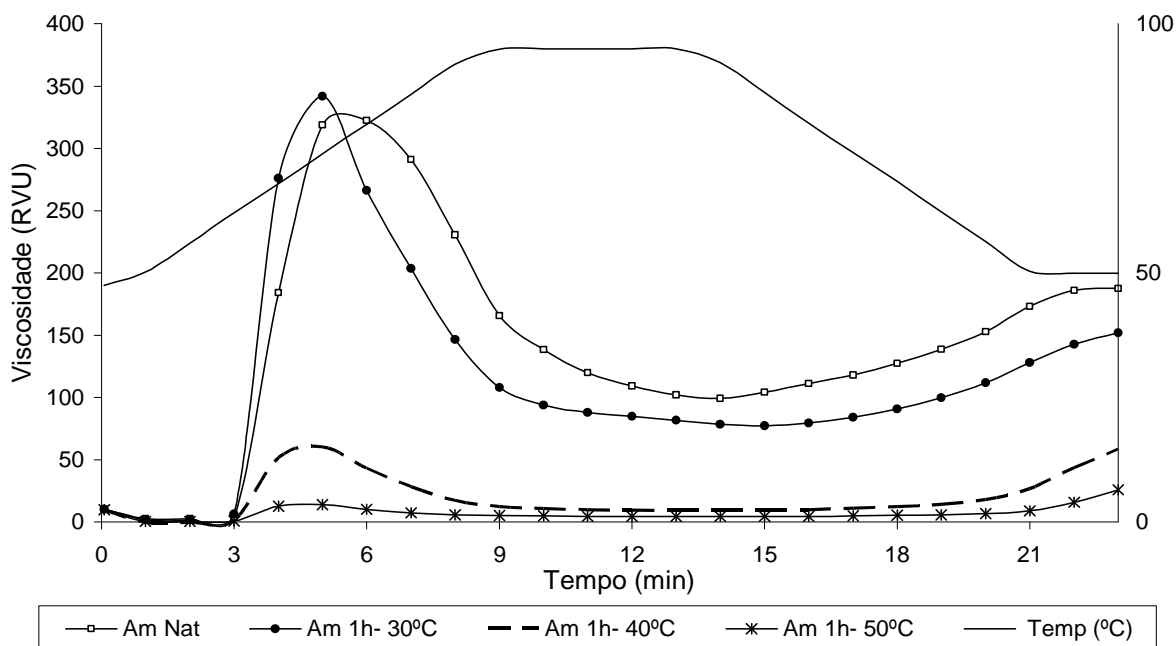
A grande redução da viscosidade de pico, juntamente com a diminuição da viscosidade intrínseca e teor de amilose dos amidos modificados quimicamente sugere que o ácido-etanol degradou parcialmente tanto as moléculas de amilose, quanto as de amilopectina que faziam parte da área amorfa dos grânulos.

A tendência a retrogradação dos amidos modificados, também diminuiu com o aumento do tempo e temperatura de tratamento, pois em função da degradação do amido, quanto menores as cadeias de amilose menor a sua capacidade de reassociação.

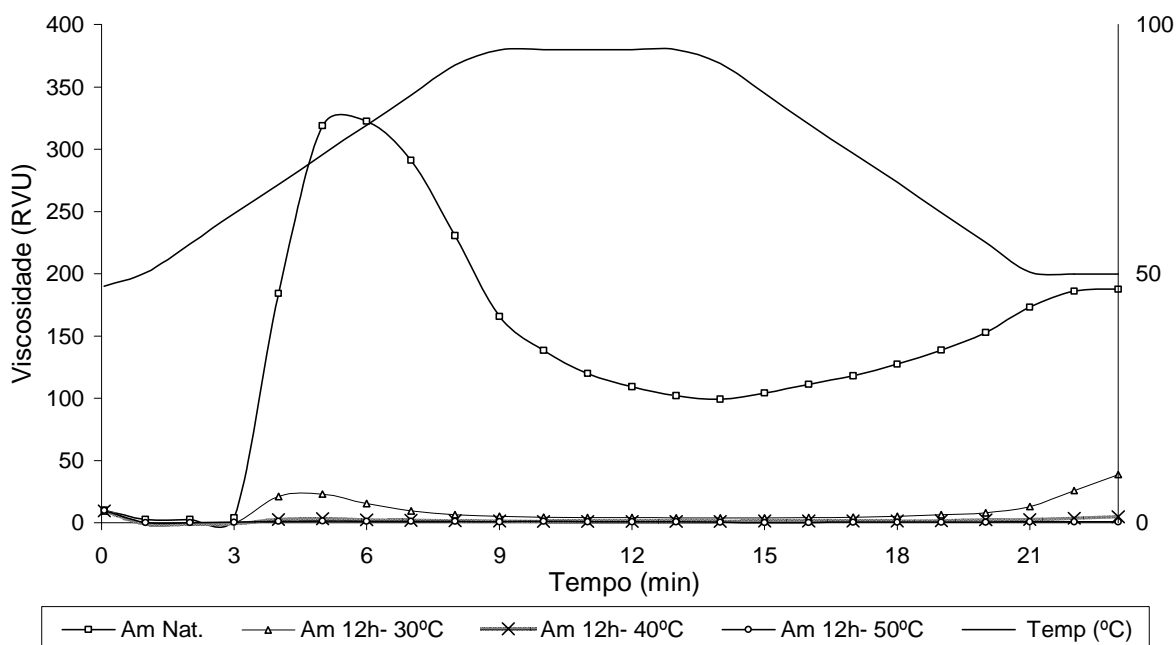
Para os amidos que apresentaram certa viscosidade nas condições do experimento (amidos modificados por 1 hora), houve leve aumento da temperatura de pasta. Este resultado sugere que o tratamento com ácido-etanol provocou uma certa resistência dos grânulos ao inchamento, sendo necessárias maiores temperaturas para provocar o rompimento das ligações internas (pontes de hidrogênio do grânulo).

Após moagem, o amido nativo apresentou redução das viscosidades de pico e quebra, indicando menor inchamento desses grânulos.

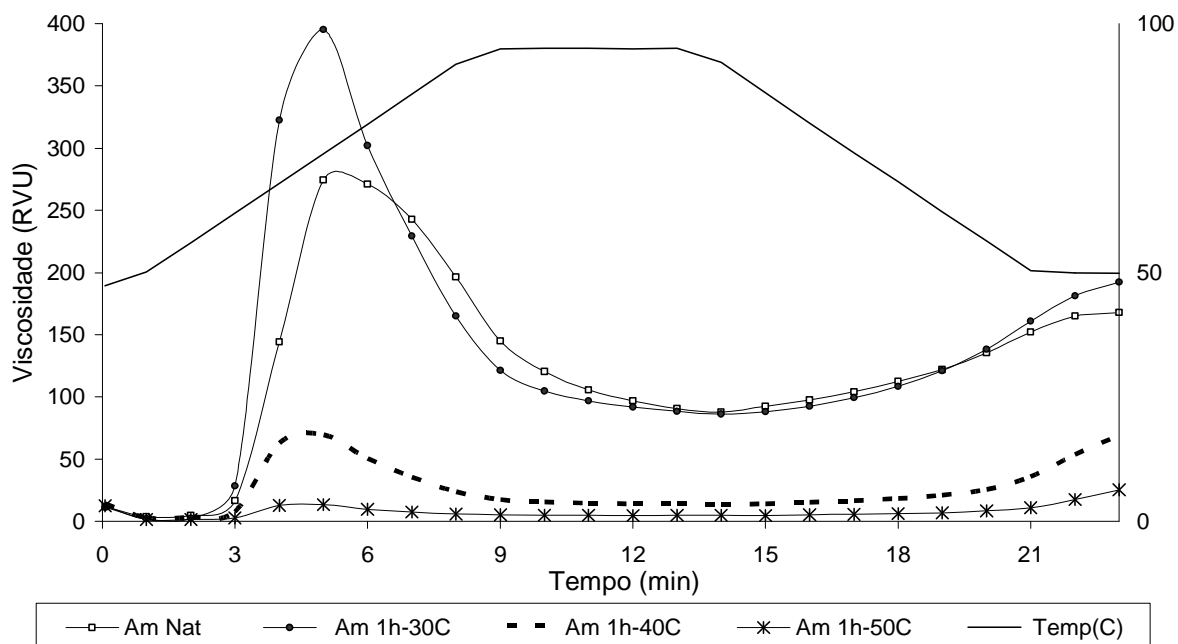
A moagem, parece não ter afetado as características de pasta dos amidos modificados, com exceção do amido tratado a 30°C por 1 h. Para os amidos que foram tratados a 40 e 50°C por 12 h foi possível observar, a partir da Figura 22, uma certa viscosidade a frio, sugerindo uma gelatinização parcial dos grânulos de amido, que provavelmente ocorreu durante a moagem dos grânulos. Evidências dessa gelatinização parcial, para o amido tratado a 50°C/12h já haviam sido sugeridas a partir dos resultados de IC e MEV deste trabalho.



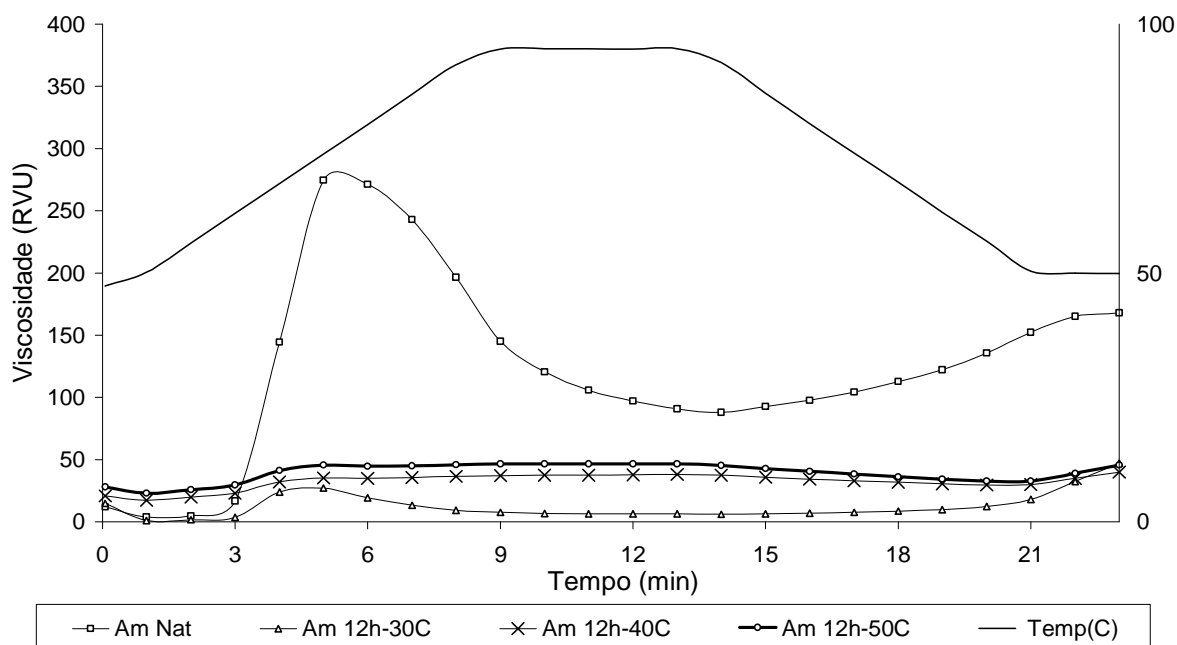
**Figura 19** - Perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados por 1 hora nas temperaturas 30, 40 e 50°C.



**Figura 20** - Perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados por 12 horas nas temperaturas de 30, 40 e 50°C.



**Figura 21** - Perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados por 1 hora, nas temperaturas de 30, 40 e 50°C, após moagem.



**Figura 22** - Perfil viscoamilográfico dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados, por 12 horas nas temperaturas de 30, 40 e 50°C, após moagem.

## 5.10 Propriedades Térmicas

As propriedades térmicas de gelatinização dos grânulos de amido nativo e modificados antes e após moagem, determinadas através do DSC, estão apresentadas na Tabela 9.

O grânulo de amido de mandioca nativo apresentou temperaturas de gelatinização inicial ( $T_o$ ), de pico ( $T_p$ ) e final ( $T_f$ ) de 55,8°C, 62,8°C, 70,0°C, respectivamente e variação de entalpia ( $\Delta H$ ) de 11,5 J/g. Segundo Jacobs et al. (1995), a faixa de temperatura de gelatinização para a maioria dos amidos nativos gira entre 50 – 70°C.

**Tabela 9** - Propriedades térmicas dos grânulos de amido de mandioca nativo e modificados quimicamente, antes e após moagem.

Amidos	Temperatura de gelatinização (°C)			Faixa (°C)	$\Delta H$ (J/g)
	$T_o$	$T_p$	$T_f$		
Nativo	55,8 ± 0,1 <sup>de</sup>	62,8 ± 0,3 <sup>cd</sup>	70,0 ± 0,1 <sup>g</sup>	14,2	11,5 ± 0,7 <sup>ab</sup>
30°C/1h	56,1 ± 0,1 <sup>de</sup>	62,9 ± 0,3 <sup>cd</sup>	71,6 ± 0,3 <sup>fg</sup>	15,6	12,2 ± 0,5 <sup>ab</sup>
40°C/1h	57,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	63,5 ± 0,2 <sup>bc</sup>	73,5 ± 0,1 <sup>de</sup>	15,8	12,7 ± 0,4 <sup>a</sup>
50°C/1h	57,9 ± 0,9 <sup>b</sup>	63,3 ± 0,7 <sup>c</sup>	73,8 ± 0,2 <sup>d</sup>	15,9	12,6 ± 0,6 <sup>a</sup>
30°C/12h	57,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	63,5 ± 0,2 <sup>bc</sup>	74,6 ± 0,2 <sup>c</sup>	16,4	12,6 ± 0,2 <sup>a</sup>
40°C/12h	58,2 ± 0,3 <sup>ab</sup>	64,4 ± 0,3 <sup>ab</sup>	76,5 ± 1,0 <sup>ab</sup>	17,4	12,8 ± 0,6 <sup>a</sup>
50°C/12h	59,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	65,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	78,1 ± 0,7 <sup>a</sup>	19,0	10,8 ± 0,6 <sup>bc</sup>
Nativo Moído	52,0 ± 0,5 <sup>g</sup>	60,9 ± 0,1 <sup>fg</sup>	69,8 ± 0,8 <sup>g</sup>	17,8	10,9 ± 0,3 <sup>bc</sup>
30°C/1h	52,4 ± 0,4 <sup>g</sup>	60,2 ± 0,3 <sup>g</sup>	69,8 ± 0,3 <sup>g</sup>	17,5	9,8 ± 0,2 <sup>cd</sup>
40°C/1h	54,0 ± 0,1 <sup>f</sup>	61,8 ± 0,0 <sup>e</sup>	71,3 ± 0,0 <sup>fg</sup>	17,3	8,3 ± 0,0 <sup>de</sup>
50°C/1h	54,5 ± 0,3 <sup>f</sup>	63,5 ± 0,2 <sup>bc</sup>	72,2 ± 0,1 <sup>e</sup>	17,8	8,5 ± 0,1 <sup>de</sup>
30°C/12h	54,6 ± 0,1 <sup>f</sup>	62,1 ± 0,1 <sup>d</sup>	71,8 ± 0,5 <sup>f</sup>	17,2	8,5 ± 0,0 <sup>de</sup>
40°C/12h	55,0 ± 0,5 <sup>ef</sup>	63,5 ± 0,5 <sup>bc</sup>	73,4 ± 0,7 <sup>de</sup>	18,4	8,4 ± 0,5 <sup>de</sup>
50°C/12h	56,6 ± 0,4 <sup>cd</sup>	65,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	76,3 ± 0,2 <sup>ab</sup>	19,7	7,3 ± 0,5 <sup>e</sup>

Cada valor representa a média de nove repetições.

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

( $T_o$ ), ( $T_p$ ), ( $T_f$ ): Temperaturas inicial, de pico e final, respectivamente;  $\Delta H$ : variação de entalpia;

$T_f - T_o$ : Faixa de temperatura de gelatinização.

Analisando estatisticamente os resultados pode se observar que os amidos de mandioca tratados com ácido-etanol tiveram suas temperaturas de gelatinização

inicial ( $T_o$ ), de pico ( $T_p$ ) e final ( $T_f$ ) aumentadas gradualmente quanto maior o tempo e a temperatura de modificação, com exceção do amido de mandioca modificado por 1 hora a 30°C que não apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) do amido nativo. Este aumento nas temperaturas de gelatinização observado para os amidos tratados com ácido-etanol possivelmente ocorreu devido à degradação da fase amorfa do grânulo que gerou uma reorganização molecular, fazendo com que as regiões cristalinas necessitassem de uma temperatura mais elevada para se romper. De acordo com Atichokudomchai; Varavinit e Chinachoti (2002), a hidrólise ácida apresenta um padrão de degradação de duas fases. Na primeira fase da hidrólise ácida ocorre uma rápida degradação das moléculas de amilose e amilopectina que fazem parte da fase amorfa do grânulo e conseqüentemente há um aumento na cristalinidade relativa do amido. Na segunda fase, uma degradação mais lenta acontece, a qual corresponde á degradação das áreas cristalinas.

Apesar de não diferir estatisticamente ( $P < 0,05$ ), a variação de entalpia dos amidos modificados mostrou tendência de elevação, com exceção do amido tratado por 12 h a 50°C que apresentou tendência de redução. Esses resultados corroboram aqueles observados para o teor de amilose e IC, em que a cristalinidade dos grânulos foi aumentada com o aumento do tempo e temperatura de tratamento. Sob condições mais intensas (50°C/12h) foi observado indício de gelatinização parcial, o que justifica a redução da entalpia para essa amostra.

Estes resultados também estão de acordo com Lin, Lee e Chang (2003) e Chang; Lin e Chang (2004), que modificaram amidos de batata e milho em ácido-álcool e observaram aumentos nas temperaturas de gelatinização dos amidos modificados.

As temperaturas e variação de entalpia de gelatinização dos grânulos de amido nativo e modificados apresentaram-se menores após moagem confirmando a redução da cristalinidade dos grânulos em função do rompimento das pontes de hidrogênio, que estabilizavam a estrutura granular, durante a moagem. A maior redução da entalpia foi observada para o amido tratado a 50°C por 12 h após moagem. Para esta amostra também foi observado, a partir de MEV, uma massa disforme envolvendo alguns grânulos intactos (Figura 15f), como também foi possível observar certa viscosidade a frio dos experimentos de RVA (Figura 22). Esses resultados indicam uma gelatinização parcial desse amido tratado a 50°C por 12h após moagem

Os amidos gelatinizados obtidos do experimento de DSC foram armazenados em refrigeração por 15 dias e após esse período, as propriedades térmicas de retrogradação foram determinadas e estão apresentadas na Tabela 10.

As temperaturas iniciais, de pico e finais de retrogradação dos amidos antes e após moagem diminuíram em relação às temperaturas de gelatinização. De acordo com KARIM et al. (2000), isso ocorre porque a retrogradação é basicamente um processo de recristalinização, explicada pela forte tendência de formação de pontes de hidrogênio entre grupos hidroxilas nas cadeias adjacentes das moléculas de amido. Essa reorganização forma-se em menor ordenamento após a gelatinização e deste modo menos energia é necessária para fundir esses cristais, o que explica as menores temperaturas de gelatinização dos amidos retrogradados. Sasaki et al. (2000), também constataram que amidos retrogradados apresentam menores temperaturas de gelatinização e entalpia em relação aos amidos nativos e modificados.

**Tabela 10** - Propriedades térmicas dos grânulos de amido retrogradados de mandioca nativo e modificados.

Amidos	Temperatura de gelatinização (°C)			Faixa (°C)	$\Delta H$ (J/g)
	To	Tp	Tf		
Nativo	44,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	53,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	58,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	13,8	1,3 ± 0,7 <sup>a</sup>
30°C/1h	40,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	49,7 ± 0,3 <sup>b</sup>	57,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	17,2	1,9 ± 0,5 <sup>a</sup>
40°C/1h	40,9 ± 0,2 <sup>b</sup>	49,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	57,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	16,7	2,4 ± 0,4 <sup>a</sup>
50°C/1h	40,0 ± 0,8 <sup>b</sup>	49,0 ± 0,6 <sup>b</sup>	57,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	17,3	2,6 ± 0,5 <sup>a</sup>
30°C/12h	40,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	49,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	57,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	13,2	1,6 ± 0,2 <sup>a</sup>
40°C/12h	40,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	49,1 ± 0,3 <sup>b</sup>	57,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	16,3	2,5 ± 0,6 <sup>a</sup>
50°C/12h	40,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	49,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	56,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	15,6	2,3 ± 0,6 <sup>a</sup>
Nativo Moído	43,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	52,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	57,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	14,0	1,5 ± 0,1 <sup>b</sup>
30°C/1h	40,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	48,9 ± 0,4 <sup>b</sup>	57,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	17,0	2,0 ± 0,1 <sup>c</sup>
40°C/1h	40,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	48,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	57,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	16,7	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
50°C/1h	40,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	48,0 ± 0,4 <sup>b</sup>	56,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	16,3	2,5 ± 0,3 <sup>a</sup>
30°C/12h	40,5 ± 0,6 <sup>b</sup>	48,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	56,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	16,3	2,3 ± 0,4 <sup>a</sup>
40°C/12h	40,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	48,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	56,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	16,5	2,0 ± 0,2 <sup>a</sup>
50°C/12h	40,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	48,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	56,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	16,3	2,0 ± 0,1 <sup>a</sup>

Cada valor representa a média de nove repetições.

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

(T<sub>0</sub>), (T<sub>p</sub>), (T<sub>f</sub>): Temperaturas inicial, de pico e final, respectivamente;  $\Delta H$ : variação de entalpia;

T<sub>f</sub> - T<sub>0</sub>: Faixa de temperatura de gelatinização.

## 6. CONCLUSÕES

A modificação ácido-etanólica proporcionou alta recuperação dos amidos que atingiu 98%, independente do tratamento utilizado. Os amidos modificados apresentaram alta solubilidade que não foi afetada pela moagem dos grânulos após modificação. Não foram observadas variações na forma dos grânulos de amido nativo e modificados quimicamente antes e após moagem, porém o diâmetro médio dos grânulos de amido diminuiu com o tratamento. Após moagem houve redução do tamanho médio dos grânulos somente para aqueles amidos tratados em condições mais brandas (30°C/1h e 40°C/1h). Não houve perda da estrutura cristalina dos grânulos, uma vez que a cruz de Malta estava presente após modificação química e/ou física dos amidos. Os grânulos de amido apresentaram superfície áspera e rugosa após modificação química mostrando exocorrosão seguida de solubilização do amido de mandioca. A moagem provocou a formação de uma massa disforme de alguns grânulos tratados a 50°C/12h indicando uma gelatinização parcial dos mesmos em função da força física recebida durante a moagem a temperaturas e tempos mais elevados. Os resultados de IC, teor de amilose, viscosidade intrínseca, propriedades de pasta e térmicas sugerem que o ataque do ácido-etanol ocorreu preferencialmente nas áreas amorfas, localizadas na periferia dos grânulos e compostas de amilose e amilopectina. A moagem rompeu pontes de hidrogênio intermoleculares, presentes na região cristalina, e responsáveis por manter a estrutura granular do amido diminuindo sua cristalinidade.

## 7 SUGESTÕES DE TRABALHOS

- Estudar e comparar os efeitos da modificação ácido-etanolica em diferentes fontes de amido.
- Estudar e comparar os efeitos da moagem em moinho de bola em diferentes fontes de amido.
- Estudar aplicações para os amidos modificados por ácido-álcool seguidos ou não de moagem.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC – Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 7 ed.; 2 v.; St, Paul, Minnesota, 1995.

AHMAD, F. B. et al. Physicochemical characterization of sago starch. **Carbohydrate Polymer**, v. 38, n. 4, p.361-370, Apr. 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, n. 2, p. 123-127, Nov. 1999.

ATICHOKUDOMCHAI, N.; SHOBSNGOB, S.; VARAVINIT, S. Morfological properties of acid-modified tapioca starch. **Starch / Stärke**, Weinheim, v. 52, p.283-289, jul. 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.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. D. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNESP, 1995.

BATTISTA, O. A. US Patent 3 351 489, 1967 apud JANE, J. L. Preparation and food applications of physically modified starches. **Trends in Food's Science & Technology**, Cambridge, v. 3, n. 6, p.145-148, Jun. 1992.

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

BETANCUR, A. D.; CHEL, G. L. Acid hydrolysis and characterization of *Canavalia ensiformis* starch. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, p.4237-4241, 1997.

BILIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v. 69, n. 1, p. 60-78, jan, 1991.

BILIADERIS, C. G. Structures and phase transitions of starch with food. **Food Technology**, Chicago, v.46, n. 6, p.98-109, Jun. 1992.

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, n. 3, p.211-218, Jun. 2000.

BORTOLO, V. F. **Utilização de amidos de milho ceroso pré-gelatinizado e gomas xantana e guar como substitutos de gorduras em bolos**. 1998.138 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

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

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3 ed., Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. p. 430- 431, 751p.

CASTRO, G. A. de. **Estudo da utilização de amido de milho ceroso hidrolisado por alfa-amilase como substituto de gordura de bolos**. 2000. 198 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. Série Culturas de tuberosas Amiláceas Latino Americanas. v.1, São Paulo: Fundação Cargill, 2001. 224 p.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I. M. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. Série Culturas de tuberosas Amiláceas Latino Americanas. v.3, São Paulo: Fundação Cargill, 2003. 711p.

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, apr. 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, feb. 2006.

CHUN, J. et al. Properties of High-Crystalline Rice Amylodextrins Prepared in Acid-Alcohol Media as Fat Replacer. **Cereal Foods World**, v. 42, n. 10, p. 813- 819, OCT. 1997.

CHUNG, Y.; LAI, H. Molecular and granular characteristics of corn starch modified by HCl-metanol at different temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 4, p. 527-534, Mar. 2006.

CIACCO, C.; DAPPOLONIA, B. L. Characterization of starches from various tubers and their use in bread baking. **Cereal Foods World**, St Paul, v. 21, n. 8, p. 441-441, 1976.

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, 1982. p.152.

CROCHET, P. et al. Starch crystal solubility and starch granule gelatinization. **Carbohydrates Research**, v. 340, n. 1, p.107-113, Jan. 2005.

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

DEMIATE, I. M. Amidos nativos e modificados: propriedades e aplicações em alimentos. **Bol. SBCTA**, v.37, p.101-106, 2003.

DONOVAN, J. W.; BERKELEY, J. M. Multiple phase transitions of starches and Nägeli amylodextrins. **Starch / Stärke**, Weinheim, v. 32, n. 6, p. 190- 194, 1980.

ELLIS, R. P. Starch production and industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, n. 3, p.289-311, Jul. 1998.

FERRINI, L. M. K. et al. Effect of acid-methanol treatment on the physicochemical and structural characteristics of cassava and maize starches. **Starch / Stärke**, Weinheim, v. 60, n. 8, p. 417-425, Aug. 2008.

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 dextrins. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v.227, p. 163-170, Apr, 1992.

FRANCO, C. M. L. et al. Propriedades do Amido, In: **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas, propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, 2001. v.1.

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

FRANCO, C. M. L. et al. Structural and Functional Characteristics of Selected Soft Wheat Starches. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 243-248, 2002.

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

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

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

GALLIARD, T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: T. GALLIARD, T. (Ed), **Starch properties and potencial**. Chichester: Wiley, 1987. p.57-78.

GALVANI, A.; CAMARGO, C. R.; CIACCO, C. F. Effect of come lipids, sugars, salts and acids on starch gelatinization and retrogradation. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 14, n. 1, p.3- 13, 1994.

GERNAT, C. et al. Crystalline parts of 3 different conformations detected in native and enzymatically degraded starches. **Starch/ Stärke**, v. 45, n. 9, p. 309-314, Sep. 1993.

HARRIS, D.W.; DAY, G. A. Structure versus functional relationships of a new starch-based fat replacers. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 45, n. 7, p.221-226, 1993.

HERMANSSON, A.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, n. 11, p. 245- 253, Nov. 1996.

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, 1997. p.121-128

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

HUANG, Z. Q. et al. Effect of mechanical activation on physico-chemical properties and structure of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 128- 135, Jul. 2007.

HUANG, Z. Q. et al. Ball - milling treatment effect on physicochemical properties and features for cassava and maize starches. **Comptes Rendus Chimie**, v. 11, n. 1- 2, p. 73- 79, Jan./ Feb. 2008.

IEA – Instituto de Economia Agrícola. Disponível em:  
< <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=9647> >. Acesso em: maio, 2009.

IMBERTY, A. et al. The double-helical nature of the crystalline part of A-starch. **Journal of molecular biology**, v. 201, n. 2, p. 365-378, May. 1988.

ISO. International Organization for Standardization: **Norme Internationale: Riz- Détermination de la Teneur em 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, Aug. 1998.

JACOBS, H. et al. Acid hydrolysis of native and annealed wheat, potato and pea starches – DSC melting features and chain length distributions of lintnerised starches. **Carbohydrate Research**, v. 308, n. 3- 4, p.359-371, Apr. 1998.

JANE, J.; ROBYT, J. F. Structures studies of amylose V complexes and retrograded amylose by action of alpha amylase, a new method for preparing amyloextrins. **Carbohydrate Research**, v. 132, n. 1, p. 105-110, Sep. 1984.

JANE, J. L. Preparation and food applications of physically modified starches. **Trends in Food's Science & Technology**, Cambridge, v. 3, n. 6, p.145-148, Jun. 1992.

JANE, J. et al. Preparation and properties of small – particle corn starch. **Cereal Chemistry**, v. 69, n. 3, p. 280- 283, 1992.

JANE, J. L. et al. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. **Starch/Stärke**, v. 46, n. 4, p. 121-129, Apr. 1994.

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

JANE, J. Current understanding on starch granule structure. **The Japanese Society of Applied Glycoscience**, v. 53, p. 205-213, 2006.

JAYAKODY, L.; HOOVER, R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. **Food Research International**, v. 35, n. 7, p. 665-680, 2002.

JENKINS, P. **X-Ray and neutron scattering studies on starch granule structure**. Tese (Ph.D) - University of Cambridge, 1994.

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.

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, Sep./ Oct. 1995.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carboidratos em alimentos regionales Iberoamericanos**. - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. p. 648.

LANSKY, S.; KOOI, M.; SCHOCH, T. J. Properties of the Fractions and Linear Subfraction from Various Starches. **Journal of the American Chemistry Society**, Washington, v. 71, n.12, p. 4066-4075, 1949.

LEACH, H. W. Determination of Intrinsic Viscosity of Starches. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 40, n.6, p. 593-600, 1963.

LEONEL, M.; GARCIA, A. C. D. B.; REIS, M. M. Caracterização físico-química e microscópica de amidos de batata-doce, biri, mandioca e taioba e propriedades de expansão após modificação fotoquímica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p. 129-137, Jul./ Dec. 2004.

LIM, S. T.; KASEMSUWAN, T.; JANE, J. L. Characterization of phosphorous in starch by p-31 nuclear magnetic-resonance spectroscopy. **Cereal chemistry**, v. 71, n. 5, p. 468-472, Sep./ Oct. 1994.

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, May. 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, Nov. 2005.

LINDEBOOM, N.; CHANG, P. R.; TYLER, R. T. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 56, n. 1, p. 89-99, 2004.

LUCCA, P. A., TEPPER, B. J. Fat replacers and the functionality of fat foods. **Trends in Food Science & Technology**. Cambridge, v.5, n.1, p. 12-19, Jan. 1994.

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**, Amsterdam, v. 166, p. 283-297, Apr. 1987.

MAY, J. B. Wet milling: Process and products. In: WATSON, S. A.; RAMSTAD, P. E. **Corn Chemistry and Technology**. 2 ed. Saint Paul: AACC, 1987. p.381.

MISHRA, S.; RAI, T. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. **Food Hydrocolloids**, p. 1-10, 2005.

MOORTHY, S. N. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: A review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.54, n. 12, p.559-592, Dec. 2002.

MOORTHY, S.N. et al. Determination of amylose content in different starches using Modulated Differential Scanning Calorimetry. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.58, n. 5, p.209-214, May. 2006.

MUKERJEA, R., SLOCUM, G., ROBYT, J. F. Determination of the maximum water solubility of eight native starches and the solubility of their acidic-methanol and - ethanol modified analogues. **Carbohydrate Research**, v. 342, p. 103- 110, Oct. 2007.

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Stärke**, v. 35, n. 12, p. 407-410, 1983.

NATIONAL STARCH & CHEMICAL COMPANY. LENCHIN, J.M.; TRUBIANO, P.C.; HOFFMAN, S. **Converted starch for use as a fat-or- oil replacement in foodstuffs**. Int. Cl3 A23L 11/195. U.S. 4,510,166, 19 jan. 1984; 9 apr. 1985. AN: 85-11-60035.

NIEMANN, C., WHISTLER, R. L. Effect of acid hydrolysis and ball milling on porous corn starch. **Starch/ Stärke**, Weinheim, v. 44, n. 11, p. 409- 414, Nov. 1992.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed. São Paulo: O Instituto, 1985. v.1, p. 533.

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

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, n. 6, p. 505-513, Dec. 2006.

POLACZEK, E.; STARZYK, F.; TOMASIK, P. Starch-alcohol complexes. **Carbohydrate Polymers**, v.39, n. 1, p.37-42, May. 1999.

RAEKER, M. O.; GAINES, C. S.; FINNEY, P. L.; DONELSON, T. Granule size distribution and chemical composition of starches from 12 soft wheat cultivars. **Cereal chemistry**, v. 75, n. 5, p. 721-728, Sep./ Oct. 1998.

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

ROBIN, J. P.; MERCIER, C.; CHARBONNIERE, R.; GUILBOT, A. Lintnerized starches: gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal chemistry**, v. 51, n. 3, p. 389-406, 1974.

ROBYT et al. Acid modification of starch granules in alcohols: effects of temperature, acid concentration and starch concentration. **Carbohydrate Research**, v. 281, n. 2, p. 203-218, Feb. 1996a.

ROBYT et al. Acid modification of starch granules in alcohols: reactions in mixtures of two alcohols combined in different ratios. **Carbohydrate Research**, v. 283, n. 22, p. 141-150, Mar. 1996b.

SAGUILÁN, A. A. et al. Thermal and viscoelastic properties of starch gels from maize varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, n. 7, p.1078-1086, May. 2006.

SANGUANPONG, V. et al. Hydration and physicochemical properties of small-particle cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 2, p. 123-132, Jan. 2003 a.

SANGUANPONG, V. et al. Preparation and structural properties of small-particle cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 8, p. 760- 768, Jun. 2003 b.

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.

SINGH, N. et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, Sep. 2003.

SMALL, J. C. A method for the preparation of soluble starch. **Journal of American Chemical Society**, v. 283, p. 141-150, 1919.

SMITH, A. M.; DENYER, K.; MARTIN, C. The synthesis of the starch granule. **Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, v. 48, p. 67- 87, 1997.

SRICHUWONG, et al. Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 4, p. 529-538, Jun. 2005.

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. Properties of damaged starch granules: composition and swelling properties of maize, rice, pea and potato starch fractions in water at various temperatures. **Food hydrocolloids**, v. 11, n. 3, p. 293-301, Jul. 1997.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of starches 1. Effects of amylopectins, amyloses and lipids. **Cereal chemistry**, v. 67, n. 6, p. 551-557, Nov./ Dec. 1990.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – composition, fine structure and architecture. **Journal Cereal Science**, v. 39, n.2, p.151-165, Mar. 2004.

THIRATHUMTHAVORN, D.; CHAROENREIN, S. Thermal and pasting properties of acid-treated rice starches. **Starch/Stärke**, Weinheim v.57, n. 5, p.217-222, May. 2005.

THOMAS, D. J.; ATWEEL, W. **Starches: Pratical Guides for the Food Industry**. Minnessota: Eagan Press. 1999. 94 p.

WANG, L.Z.; WHITE, P.J. Structure and properties of amylose, amylopectin, and intermediate materials of oat starches. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.71, n. 3, p.263-271, May./Jun. 1994.

WANG, Y.J.; TRUONG, V.D.; WANG, L. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v.52, p.327-333, Nov. 2003.

WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. M.; PASCHALL, E. F. **Starch: chemistry and technology**. 2.ed. London: Academic Press; v.1- 2; p.718; 1984.

WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. Starch. In: WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. St. Paul: Eagan Press, 1997. p. 117-151.

WURZBURG, O. B. Converted starches. In: WURZBURG, O.B. (Ed.). **Modified starches: Properties and uses**. Boca Raton, CRC Press, 1986. p. 17-40

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

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. 155-159, 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. 235- 244, jul./ dez. 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, out. 2001a.

ZAMBRANO, F. M.; CAMARGO, C. R. O. Amido de mandioca modificado comparado com substitutos de gordura comerciais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, n. 71, p.155-161, out. 2001b.