Erika Alessandra Brandemarte

# Efeito das Condições do Processo de Maceração Dinâmica e Moagem Intermitente Sobre as Propriedades Físico-Químicas do Amido de Milho

unesp

1910001187

ERIKA ALESSANDRA BRANDEMARTE

# EFEITO DAS CONDIÇÕES DO PROCESSO DE MACERAÇÃO DINÂMICA E MOAGEM INTERMITENTE SOBRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO AMIDO DE MILHO

ERIKA ALESSANDRA BRANDEMARTE

# EFEITO DAS CONDIÇÕES DO PROCESSO DE MACERAÇÃO DINÂMICA E MOAGEM INTERMITENTE SOBRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO AMIDO DE MILHO

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

Orientador: Prof. Dr. José Francisco Lopes Filho

Co-orientadora: Profª. Drª. Célia Maria Landi Franco

Inst. de Biociências, Letras e Ciências Exatas - UNESP
BIBLIOTECA
S. J. Rio Preto
t. 1.187/03

São José do Rio Preto

2002

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

664.784
B817e

50702009

Brandemarte, Erika Alessandra
Efeito das condições do processo de maceração e moagem intermitente do milho sobre as propriedades físico-químicas do amido de milho / Erika Alessandra Brandemarte. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2002
127 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: José Francisco Lopes Filho
Co-orientador: Célia Maria Landi Franco
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Amido. 2. - Milho - Moagem. 3. Milho - Maceração. I. Lopes Filho, José Francisco. II. Franco, Célia Maria Landi. III. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU – 664.25

# DADOS CURRICULARES
# ERIKA ALESSANDRA BRANDEMARTE

| | |
|---|---|
| NASCIMENTO | 08.07.1976 – Mirassol/SP |
| FILIAÇÃO | Orivaldo Brandemarte<br>Teresinha Femina Brandemarte |
| 1995/1999 | Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos<br>Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP – São José do Rio Preto |
| 2000 | Início do curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, nível de mestrado<br>Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP – São José do Rio Preto |

**Este trabalho é dedicado à minha família pela amizade, compreensão, amor e apoio.**

**Ao Matheus, pelas alegrias que tem proporcionado.**

# Agradecimentos

À Deus, por estar sempre presente e me dar forças para prosseguir o meu caminho.

Ao Professor Dr. José Francisco Lopes Filho, pela confiança, dedicação e compreensão na orientação científica deste e de outros trabalhos, e pela sua amizade e simpatia no relacionamento humano, muito importantes para o êxito de nossos trabalhos.

À Professora Dra. Célia Maria Landi Franco, pela grande contribuição na co-orientação científica deste trabalho, além do apoio, da boa-vontade e da amizade que contribuíram para enriquecer o mesmo.

À pós-graduando Marla Simone Jovenasso Manzoni pelo fornecimento do amido de milho produzido durante seu mestrado, sem o qual este trabalho não seria realizado.

Ao Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, pela sua contribuição na realização deste projeto.

Aos Professores integrantes da banca examinadora, Dra. Mieko Kimura, Dr. César Francisco Ciacco, Dr. Eduardo Micotti da Glória e Dr. José Antônio Gomes Vieira pelas correções e sugestões que enriqueceram o trabalho ora realizado.

Ao Professor David Banzatto pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao técnico Sebastião Dametto do Instituto de Química da UNESP – Campus de Araraquara, pela realização das imagens dos grânulos de amido em Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao Professor Sebastião Roberto Taboga do Departamento de Biologia do IBILCE, pelo auxílio e por disponibilizar os equipamentos necessários para a realização das imagens dos grânulos de amido em Microscopia Óptica.

À Professora Débora de Queiroz Tavares da FEA – UNICAMP, por seu auxílio e suas informações.

À FAPESP, pelo processo n° 00/03576-0, pela concessão de bolsa.

Às minhas colegas de trabalho, no Laboratório de Cereais do DETA, em especial às acadêmicas Cristina Ogawa e Taís Rabachini pela amizade e auxílio.

A todos os amigos do curso de pós-graduação pela colaboração e pela amizade, em especial à Riana, ao Alan, à Fernanda, à Luíza, à Sílvia Barboza, ao Marcelo e à Patrícia.

Aos meus pais, Orivaldo Brandemarte e Teresinha Femina Brandemarte, pelo amor incondicional e pelo empenho com que lutaram pela minha formação.

Aos meus irmãos, Christian, Jeanne e Marco, e à minha cunhada, Helen, pelo carinho e amizade.



Ao meu sobrinho, Matheus, pela luz que trouxe a minha vida e de meus familiares.

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

# SUMÁRIO

**LISTA DE FIGURAS**.....vi

**LISTA DE TABELAS**.....vii

**Resumo**.....x

***Abstract***.....xii

**1. INTRODUÇÃO**.....1

**2. OBJETIVOS**.....5

**3. REVISÃO DE LITERATURA**.....6

3.1. Moagem úmida.....6

3.2. Maceração.....11

3.3. O processo de maceração dinâmica e moagem intermitente (MDMI).....16

3.4. Variáveis do processo de moagem úmida que influenciam as propriedades do amido.....20

**4. MATERIAIS E MÉTODOS**.....25

4.1. Amostras.....25

4.2. Determinações das propriedades físico-químicas do amido.....27

4.2.1. Teor de proteína residual.....27

4.2.2. Propriedades de pasta.....27

4.2.3. Poder de inchamento e solubilidade.....28

4.2.4. Propriedades térmicas.....29

4.2.5. Teor de amilose.....30

4.2.6. Microscopias óticas de luz e eletrônica de varredura.....31

**5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL** ..... 33

**6. RESULTADOS E DISCUSSÕES** ..... 35

6.1. Proteína residual ..... 35

6.1.1. Efeito do ácido lático ..... 37

6.2. Propriedades de pasta ..... 38

6.2.1. Efeito do ácido lático ..... 42

6.2.2. Efeito da temperatura ..... 45

6.2.3. Efeito da interação entre ácido lático (A) e dióxido de enxofre (D) ..... 47

6.2.4. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) ..... 51

6.3. Poder de inchamento e solubilidade ..... 54

6.3.1. Efeito do ácido lático ..... 56

6.3.2. Efeito do dióxido de enxofre ..... 58

6.3.3. Efeito da temperatura ..... 59

6.3.4. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) ..... 61

6.4. Propriedades térmicas ..... 65

Gelatinização ..... 66

6.4.1. Efeito da temperatura ..... 69

6.4.2. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) ..... 72

Retrogradação ..... 75

6.4.3. Efeito do ácido lático ..... 78

6.4.4. Efeito da temperatura ..... 79

6.4.5. Efeito da interação entre ácido lático (A) e temperatura (T) ....79

6.4.6. Efeito da interação entre dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) ....80

6.5. Teor de amilose ....81

6.5.1. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) ....84

6.6. Microscopias óticas de luz e eletrônica de varredura ....86

6.7. Comparação entre os processos MDMI e convencional ....93

**7. CONCLUSÕES** ....100

**8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** ....104

**Anexos** ....112

Anexo A – Valores do teste F para o teor protéico residual, poder de inchamento (PI), porcentagem de solubilidade (%S) e teor de amilose do amido obtido pelo processo MDMI de moagem ....113

Anexo B – Valores do teste F para as propriedades de pasta do amido obtido pelo processo MDMI de moagem ....114

Anexo C – Desdobramento da interação AxD, para estudo dos efeitos do dióxido de enxofre (D) em cada nível de ácido lático (A), e do ácido lático em cada nível de dióxido de enxofre sobre as propriedades de pasta do amido ....115

Anexo D – Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do ácido lático (A) em cada combinação de $SO_2$ (D) e temperatura (T) sobre as propriedades de pasta do amido ....116

Anexo E – Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do $SO_2$ (D) em cada combinação de ácido lático (A) e temperatura (T) sobre as propriedades de pasta do amido ....117

Anexo F – Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada combinação de ácido lático (A) e $SO_2$ (D) sobre as propriedades de pasta do amido .....118

Anexo G– Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do ácido lático (A) em cada combinação de $SO_2$ (D) e temperatura (T) sobre o poder de inchamento (PI) e solubilidade (%S) a 95°C e sobre o teor de amilose do amido .....119

Anexo H –Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do $SO_2$ (D) em cada combinação de ácido lático (A) e temperatura (T) sobre o poder de inchamento (PI) e solubilidade (%S) a 95°C e sobre o teor de amilose do amido .....120

Anexo I – Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada combinação de ácido lático (A) e $SO_2$ (D) sobre o poder de inchamento (PI) e solubilidade (%S) a 95°C e sobre o teor de amilose do amido.....121

Anexo J – Valores do teste F para as propriedades térmicas do amido obtido pelo processo MDMI de moagem.....122

Anexo K –Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do ácido lático (A) em cada combinação de $SO_2$ (D) e temperatura (T) sobre as propriedades térmicas do amido nativo .....123

Anexo L – Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do $SO_2$ (D) em cada combinação de ácido lático (A) e temperatura (T) sobre as propriedades do amido nativo .....124

Anexo M–Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada combinação de ácido lático (A) e $SO_2$ (D) sobre as propriedades térmicas do amido nativo .....125

Anexo N –Desdobramento da interação AxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada nível de ácido lático (A), e do ácido lático em cada nível de temperatura sobre as propriedades térmicas do amido retrogradado .....126

Anexo O–Desdobramento da interação DxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada nível de dióxido de enxofre (D),e do dióxido de enxofre em cada nível de temperatura sobre as propriedades térmicas do amido retrogradado .....127

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma da moagem úmida com maceração dinâmica ..... 26

Figura 2 – Curva viscoamilográfica dos amidos obtidos pelo processo MDMI a 52°C e convencional ..... 43

Figura 3 – Curva viscoamilográfica dos amidos obtidos pelo processo MDMI a 60°C e convencional ..... 44

Figura 4 – Curva viscoamilográfica dos amidos obtidos pelo processo MDMI a 68°C e convencional ..... 44

Figura 5 – Microscopia ótica dos amidos de milho obtidos de diferentes tratamentos pelo processo MDMI a 68°C com aumento de 20 vezes com luz normal e luz polarizada ..... 87

Figura 6 – Microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos amidos de milho obtidos de diferentes tratamentos pelo processo MDMI em diferentes aumentos ..... 89

Figura 7 – Microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos amidos de milho obtidos de diferentes tratamentos pelo processo MDMI em diferentes aumentos ..... 90

Figura 8 – Microscopia ótica do amido de milho obtido pelos métodos MDMI e convencional de moagem com aumento de 20 vezes ..... 97

Figura 9 – Microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos amidos de milho obtidos pelos métodos MDMI e convencional de moagem em diferentes aumentos ..... 98

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Teor de proteína residual no amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional .....35

Tabela 2 – Médias do teor protéico residual no amido em cada nível dos fatores de maceração .....36

Tabela 3 – Propriedades de pasta do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional .....39

Tabela 4 – Médias das propriedades de pasta do amido em cada nível dos fatores de maceração.....41

Tabela 5 – Médias da viscosidade máxima do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e $SO_2$ (D) .....47

Tabela 6 – Médias da viscosidade *"setback"* do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e $SO_2$ (D) .....49

Tabela 7 – Médias da viscosidade final do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e $SO_2$ (D) .....50

Tabela 8 – Médias da temperatura de pasta do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T).....51

Tabela 9 – Médias do tempo de viscosidade máxima do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T).....53

Tabela10 – Poder de inchamento (PI) e porcentagem de solubilidade (%S) a 95°C do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional .....55

Tabela 11– Médias do poder de inchamento (PI) e da porcentagem de solubilidade (%S) a 95°C do amido em cada nível dos fatores de maceração .....56

Tabela 12– Médias do poder de inchamento do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) ....62

Tabela 13– Médias da porcentagem de solubilidade do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)....63

Tabela 14– Propriedades de gelatinização do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional....66

Tabela 15– Médias das propriedades térmicas de gelatinização do amido em cada nível dos fatores de maceração ....68

Tabela 16– Médias da temperatura inicial (To) de gelatinização do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) ....73

Tabela 17– Médias da temperatura de pico de gelatinização para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) ....74

Tabela 18– Propriedades térmicas do amido de milho retrogradado obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional....76

Tabela 19– Médias das propriedades térmicas dos amidos retrogradados em cada nível dos fatores de maceração....77

Tabela 20– Médias da temperatura inicial dos amidos retrogradados para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e temperatura (T)....80

Tabela 21– Médias da temperatura inicial do amido retrogradado para as combinações dos níveis dos fatores dióxido de enxofre (D) e temperatura (T)....81

Tabela 22– Teor de amilose do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional....82

Tabela 23– Médias do teor de amilose do amido em cada nível dos fatores de maceração ....83

Tabela 24– Médias do teor de amilose do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) .....85

Tabela 25– Comparação pelo teste de Tukey das médias das propriedades físico-químicas do amido obtido pelos processos MDMI e convencional.....94

# Resumo

O amido de milho, importante ingrediente alimentício, é obtido através do processo de moagem úmida que proporciona alto rendimento e qualidade do produto final. O estudo de suas propriedades físico-químicas e funcionais é importante por este ser um produto utilizado em vários outros segmentos industriais. Pesquisas têm mostrado que estas propriedades do amido de milho são alteradas em função das condições do processo de maceração e dos métodos de moagem aos quais são submetidos os grãos. Entre os métodos alternativos de moagem existentes, o processo de maceração dinâmica com moagem intermitente (MDMI) do milho reduz para até 5 horas o tempo médio de maceração de 24 a 36 horas do processo convencional. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência das condições do processo MDMI sobre as propriedades físico-químicas do amido de milho (teor protéico residual, propriedades de pasta, propriedades térmicas, inchamento e solubilidade, teor de amilose e morfologia dos grânulos). Utilizaram-se 24 amostras de amido obtidas por MDMI nas condições 0,0 e 0,5% de ácido lático; 0,05 e 0,1% de $SO_2$ e 52, 60 e 68°C e 2 amostras obtidas pelo método estático convencional de moagem (36h/52°C, 0,5% de ácido lático e 0,2% de $SO_2$). As médias das propriedades físico-químicas em cada fator de maceração foram comparadas pelo teste de Tukey a um nível de 5% de probabilidade. Os resultados mostraram que o teor protéico dos amidos foi afetado somente

pelo ácido lático; as propriedades de pasta, poder de inchamento, solubilidade e retrogradação foram afetadas por todos fatores de maceração e suas interações; as propriedades de gelatinização foram afetadas somente pelas temperaturas de maceração, o que foi também mostrado pelas imagens de microscopia, e por algumas interações. O teor de amilose não foi afetado por nenhum fator isoladamente, mas pela interação entre eles. A longa exposição dos grãos de milho ao ácido lático durante a maceração convencional apresentou efeitos similares sobre a maioria das propriedades físico-químicas do amido obtido pelo processo MDMI, podendo-se concluir que este processo alternativo de moagem fornece amido com qualidade similar ao obtido pelo processo convencional.

Palavras-chave: amido, propriedades físico-químicas, moagem úmida, milho.

# *Abstract*

Physico-chemical properties of corn starch obtained under different steeping conditions by intermittent milling and dynamic steeping process (IMDS) were studied. This milling process reduces up to 5 hours the average steeping time against 24 to 36 hours in conventional procedure resulting in smaller energy cost than in the conventional process. Researches have shown that corn starch properties change according to the wet-milling process conditions and the type of milling methods used. For the experiments, 24 starch samples obtained from IMDS process using 0.0 and 0.55% lactic acid concentrations, 0.05 and 0.1% $SO_2$ concentrations and 52, 60 and 68°C steeping temperatures and 2 samples obtained from conventional process (36h/52°C, 0.55% lactic acid and 0.2% $SO_2$) were used. The average physico-chemical properties in each steeping factors were compared by Tukey test with a probability level of 5%. The results showed that the starch protein content was affected by lactic acid; the pasting properties, swelling power and solubility and retrogradation properties were affected by all steeping factors and their interactions. Gelatinisation properties were affected by steeping temperatures, as also showed by microscopy images, and by some their interactions. Amylose content was no affected by any factors, only by the interactions among them. Long exposure of kernels to lactic acid during conventional steeping showed similar effects on starch's physico-chemical

properties for the IMDS and conventional processes, which allowed to conclude that this alternative milling process provides starch with similar quality to that obtained from conventional process.

Keywords: starch, physico-chemical properties, wet milling, corn

## 1. INTRODUÇÃO

O amido é considerado a principal fonte de energia armazenada principalmente em grãos e possui relevada importância nutricional, sendo responsável por 70 a 80% das calorias consumidas pelos humanos no mundo todo (THOMAS & ATWELL, 1999). Além do seu valor nutricional, este carboidrato possui características únicas que afetam as propriedades físicas de muitos alimentos, constituindo um importante ingrediente alimentício. Pode ser utilizado "in natura" ou pode, através de processamentos adicionais, dar origem a produtos tais como, amidos modificados, etanol e xarope de glicose (xarope regular, alta frutose e maltodextrinas) empregados em vários segmentos industriais tais como, o de siderurgia, o têxtil, o de papel e o alimentício (ELLIS et al., 1998).

O grão de milho possui em torno de 68% de amido, sendo esta a razão pela qual este cereal é largamente utilizado para a produção de amido puro. A moagem úmida é o principal processo de produção do amido de milho proporcionando alto rendimento e qualidade. Este processo industrial envolve reações químicas, bioquímicas e mecânicas que separam o grão em frações relativamente puras de germe, fibra, amido e proteína (glúten) (SINGH et al., 1997a). Pelo fato do Brasil ser o terceiro maior produtor mundial deste grão e utilizar, segundo Setti (1992), aproximadamente 15% desta produção para moagem úmida, o amido de milho tem posição de destaque na economia nacional (ABIMILHO, 2002).



Porém, sua produção acarreta elevados custos devido à longa duração do processo de moagem convencional. Neste processo, a primeira e mais importante etapa é a maceração dos grãos que amacia as paredes das sementes e provoca o rompimento das pontes dissulfeto no interior da matriz protéica do endosperma (MEHRA et al., 2000). Durante a maceração os grãos de milho são imersos em solução de 0.55% de ácido lático e 0.1 a 0.2% de dióxido de enxofre a 50 - 55ºC e pH de 3.9 a 4.1, por 24 a 36h (ROUSHDI et al., 1981; MAY, 1987; ECKHOFF, 1989; WATSON, 1989).

A redução do tempo de maceração proporciona uma diminuição dos gastos com energia e um aumento da capacidade de produção da planta, além de reduzir o capital envolvido na construção de novas plantas pilotos. Diversos estudos têm sido realizados visando estes objetivos, tendo-se entre eles os trabalhos de Lopes Filho et al. (1997); Eckhoff et al., (1999); Yang & Eckhoff (2000) e Johston & Singh (2001).

O processo proposto por Lopes Filho et al. (1997) consiste da maceração dinâmica com moagem intermitente dos grãos onde eles são imersos por 2 horas em água, quebrados e macerados sob agitação durante 3-6 horas em solução de ácido lático e $SO_2$, reduzindo o tempo médio de maceração de 24-38 horas para 5-8 horas. O amido e outros subprodutos são obtidos em quantidades similares ao processo convencional. No entanto, não se têm informações a respeito da qualidade ou grau de danificação do amido obtido por este processo que

possui condições de moagem mais severas que o convencional no início do processo devido à quebra das sementes e agitação durante a maceração.

As condições da moagem úmida não afetam somente o rendimento de amido, mas também podem provocar modificações físicas e químicas nos grânulos (MANZONI et al., 2002). Estudos têm mostrado que as características estruturais e as propriedades físico-químicas e funcionais dos amidos são alteradas em função dos níveis dos componentes químicos adicionados na etapa de maceração, do tempo e das temperaturas utilizadas, além dos métodos de moagem aos quais são submetidos os grãos (SINGH et al., 1999; PÉREZ et al., 2001; BETA et al., 2001). As propriedades físico-químicas e funcionais dos amidos determinam sua utilização nos mais diversos processos industriais. Amidos com reduzidas viscosidades de pasta a quente e elevada viscosidade do gel são largamente utilizados na indústria alimentícia para produzir géis e na indústria têxtil; amidos com maior estabilidade ao calor e ao pH são utilizados em alimentos congelados e na indústria de papel, têxtil e refino de metais (ELLIS et al., 1998).

O propósito deste trabalho foi estudar o efeito do processo de maceração dinâmica e moagem intermitente (MDMI) e de suas variáveis (temperatura de maceração, níveis de ácido lático e $SO_2$) nas propriedades físico-químicas do amido de milho, tais como, teor protéico, propriedades de pasta, inchamento e solubilidade, propriedades

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

térmicas, teor de amilose, e morfologia dos grânulos. Amido de milho obtido pelo processo convencional de moagem foi usado para efeito de comparação.

## 2. OBJETIVOS

1) Determinar as propriedades físico-químicas (teor protéico residual, propriedades de pasta, inchamento e solubilidade, propriedades térmicas, teor de amilose e morfologia dos grânulos) do amido de milho obtido pelo processo de maceração dinâmica e moagem intermitente (MDMI).

2) Verificar a influência das concentrações de ácido lático (0,00; 0,5%), de $SO_2$ (0,05; 0,1%) e das temperaturas de maceração (52; 60; 68°C).

3) Comparar os resultados das propriedades físico-químicas dos amidos de milho obtidos pelo processo MDMI com as do amido obtido pelo processo convencional de moagem úmida.

unesp

# 3. REVISÃO DE LITERATURA

## 3.1. Moagem úmida

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho e primeiro do Mercosul. A indústria de moagem úmida é a segunda maior consumidora de milho no país, sendo superada somente pela alimentação animal (ABIMILHO, 2002). Este é o principal processo de extração de amido do milho para uso industrial e alimentício, por isso, vários experimentos foram realizados em escala de laboratório tentando simular o processo industrial com o objetivo de determinar procedimentos cujos resultados fossem similares aos industriais. Dentre eles, os descritos por Watson et al. (1951), Anderson (1963) e suas variações, como descrito por Eckhoff et al. (1993) têm sido usados extensivamente. Os resultados de moagem obtidos por estes procedimentos, compatíveis aos resultados dos processos industriais, permitem a realização de estudos em laboratório.

Singh & Eckhoff (1996) revisaram vários processos de moagem úmida usados em escalas de laboratório e piloto, avaliando a performance de moagem e comparando o rendimento dos componentes do grão (germe, fibra, amido e proteína) aos rendimentos obtidos na indústria, e verificaram que, apesar das diferenças entre alguns dos procedimentos, principalmente com relação ao tempo de maceração (24-50 horas), a maioria deles resultou num rendimento de amido (65 a 68%)

e de outros componentes, similares aos valores industriais. O único parâmetro utilizado pelos autores para se verificar a qualidade do amido foi o seu teor residual de proteína que variou de 0,30 a 0,63%. Para a maioria dos tratamentos realizados em laboratório, o teor de proteína no amido se enquadrou nos padrões industriais, onde níveis de 0,35% a 0,50% são aceitáveis (ECKHOFF et al., 1993). No entanto, não foi realizado um estudo mais aprofundado para definir se estas variações foram em função dos componentes químicos usados, do tempo de maceração ou mesmo de outras variáveis dos processos de moagem. Também não foram realizados estudos sobre as demais características do amido que determinam sua aplicação industrial e comercial.

Vários métodos alternativos de moagem úmida têm sido desenvolvidos com o propósito de reduzir custos, aumentar o rendimento e melhorar a qualidade dos produtos como é o caso do trabalho realizado por Lopes Filho et al. (1997), dos métodos relacionados com a redução do tempo de difusão dos componentes da solução de maceração para os grãos (MEUSER et al., 1985; ECKHOFF & TSO, 1991), da separação mecânica do amido e proteína (ECKHOFF & WU, 1989; WESTFALIA SEPARATIOR, 1989), dos métodos baseados na extração química dos componentes (KROCHTA et al., 1981), da separação por meio enzimático (ROUSHDI et al., 1981; LING & JACKSON, 1990) e da moagem para variedades específicas (FOX & ECKHOFF, 1992), todos revisados por Lopes Filho (1997).

Um método alternativo à moagem convencional, utilizando álcali, foi estudado por Eckhoff et al. (1999). O processo alcalino reduziu o tempo de maceração para 1 hora, dando um rendimento de amido praticamente comparável ao obtido pelo processo convencional. A proteína contida no amido e o amido retido na fibra foram menores do que os valores obtidos para o processo convencional.

Du et al. (1999) fizeram uma comparação entre o processo de moagem úmida alcalina e o método convencional de Eckhoff (1993) utilizando 1 kg de amostra de 10 híbridos comerciais de milho e verificaram que todos os híbridos tiveram um rendimento de amido em média 1,7% maior do que o convencional quando se utilizou o processo alcalino. Além disso, esse processo produziu um amido de maior pureza com teor protéico inferior a 0,30% (b.s.). Neste mesmo estudo os autores verificaram os efeitos da concentração alcalina, tempo e temperatura durante a maceração utilizando somente um híbrido de milho, obtendo um rendimento de amido ótimo de 65,2% a uma concentração de NaOH de 0,5%, sendo que os fatores tempo e temperatura não afetaram o rendimento de amido. As condições ótimas de maceração foram 0,5% de NaOH por 60 minutos a 45°C.

Yang et al. (2000) estudaram o efeito do descascamento alcalino, da ruptura do endosperma dos grãos em moinho de rolos e abertura entre os mesmos e das condições de maceração alcalina no rendimento dos produtos de moagem de um híbrido de milho dentado. Foi

verificado que a melhor separação entre o pericarpo e o endosperma dos grãos foi obtida quando as sementes foram imersas em solução contendo 1,5-2% NaOH a 85°C por 5 minutos. A passagem do material pelo moinho de rolos em uma única etapa (abertura de 2,0mm) e em duas etapas (aberturas de 3,5mm para a primeira passagem e 2,0 mm para a segunda) não promoveu diferenças significativas entre os rendimentos dos produtos, porém, quando feita em três etapas, verificou-se uma redução do rendimento de germe de 48%. Este estudo também mostrou que o rendimento de amido foi mais sensível às concentrações de NaOH e temperaturas na etapa de maceração do que ao tempo de maceração e que o maior rendimento de amido foi obtido quando o milho foi macerado em solução contendo 0,5% de NaOH por 1 hora a 45°C, confirmando afirmação de Du et al. (1999) em trabalho anterior.

Johnston & Singh (2001) utilizaram proteases durante a etapa de maceração visando a redução de tempo do processo e dos requerimentos de $SO_2$. Eles compararam o efeito da adição destas enzimas comerciais no processo convencional de moagem úmida ao processo de moagem em dois estágios por eles desenvolvido. Os resultados mostraram que a aplicação de enzimas na etapa de maceração durante o processo convencional não teve efeito significativo em termos de rendimentos de fibra, amido, germe e glúten. Porém, quando as enzimas foram adicionadas aos grãos hidratados e pré-moídos durante o processo em dois estágios, houve uma redução significativa no

tempo de maceração para 6-8 horas e nos requerimentos de $SO_2$, praticamente eliminando-os. Este novo processo de moagem úmida produziu amido com rendimento e qualidade similares ao do processo convencional.

Com o propósito de facilitar a difusão do $SO_2$ e assim reduzir o tempo de maceração, Lopes Filho et al. (1997) promoveram pequenas rupturas no pericarpo das sementes e maceraram os grãos sob agitação com moagem intermitente ao longo do tempo do processo.

Teoricamente estes novos processos desenvolvidos provocam, indubitavelmente, a redução dos gastos com energia e o aumento da capacidade de produção da planta, porém, são necessários exaustivos testes destas tecnologias de forma a garantir resultados vantajosos que justifiquem todo um investimento de troca de equipamentos industriais e adaptações que se façam necessárias pela indústria de moagem. Além disso, embora esses novos processos de moagem úmida proporcionem rendimentos das frações de milho compatíveis com aqueles do convencional, as características dos produtos obtidos também devem ser similares àquelas do método convencional de moagem para que ao final se tenha um processo eficiente, de baixo custo e com produto de qualidade equivalente ao convencional.

### 3.2. Maceração

O umedecimento dos grãos através da imersão em água/solução de maceração antes da moagem foi um dos principais fatores que contribuíram para o desenvolvimento do processamento do milho (COX et al., 1944). Na maceração os grãos são imersos em solução sob condições controladas de temperatura, tempo, concentração de dióxido de enxofre ($SO_2$), pH e nível de ácido lático. As condições mais usuais de tempo/temperatura variam de 20 a 36 horas ou mais e de 48 a 56°C, a uma concentração de $SO_2$ de 0,1 a 0,2% e pH variando de 3,9 a 4,1 (ROUSHDI et al., 1981; MAY, 1987; ECKHOFF, 1989; WATSON, 1989).

Segundo Eckhoff (1989) a maceração pode ser dividida em três fases nas quais diferentes reações e mecanismos predominam. A primeira fase caracteriza-se pela produção de ácido lático através da fermentação dos açúcares por bactérias láticas. Em escala de laboratório o ácido lático é adicionado à solução de maceração em uma concentração ideal que pode variar de 0,55 a 1,67% (SINGH et al., 1997b). O ácido lático produz um amaciamento da parede do grão promovendo um leve aumento na taxa de absorção da solução de maceração, facilitando a separação do amido e da matriz protéica (HAROS & SUÁREZ, 1999). De acordo com Dailey Jr. (2002), a adição de ácido lático à solução de maceração promove um aumento da solubilização da proteína do endosperma do milho, resultando em maior

rendimento de amido, o que reforça a hipótese de que o ácido lático tem uma ação direta sobre a solubilização da matriz protéica. Além disso, ele provoca queda do pH da solução impedindo o crescimento de muitos microrganismos indesejáveis.

A fase seguinte consiste na difusão de $SO_2$ para o interior dos grãos e a última fase é identificada pela quebra da matriz de proteína pelas reações do sulfito causando a liberação dos grânulos de amido. De acordo com Watson (1967) o $SO_2$ foi inicialmente usado na solução de maceração para prevenir o crescimento de microrganismos putrefativos que causavam mudanças desfavoráveis à qualidade dos produtos. Eventualmente descobriu-se que este composto químico auxiliava a obtenção do máximo rendimento do amido. Cox et al. (1944) foram os primeiros a estudar os efeitos do $SO_2$. Através de observações microscópicas eles verificaram que à medida que aumentava a quantidade de $SO_2$, a dispersão das proteínas aumentava, facilitando a separação dos componentes, especialmente do endosperma. Biss & Cogan (1996) verificaram que o $SO_2$ afeta a estrutura terciária e quaternária das proteínas, principalmente pela interação do íon sulfito ($SO^-_3$) com as ligações bissulfídricas das proteínas.

De acordo com Rausch et al. (1993), a adição de sais de bissulfito (bissulfito de sódio ou bissulfito de magnésio) à solução de maceração é uma alternativa mais saudável e menos poluente para produção de $SO_2$ do que a utilização do $SO_2$ gasoso, possuindo

performance similar a este último de acordo com os rendimentos dos sub-produtos de moagem e com os perfis viscoamilográficos do amido obtido.

Os efeitos favoráveis dos componentes da solução na recuperação das frações do milho foram comprovados por Du et al. (1996), Ferrato et al. (1998), Singh et al. (1999) e Manzoni (2000). Foi demonstrado que o ácido lático e o $SO_2$ provocaram, no interior do grão, o amolecimento da estrutura interna proteína-amido, facilitando a extração desses componentes.

A maioria dos procedimentos da moagem úmida em laboratório realiza a etapa de maceração dos grãos sob condições específicas (0,5% de ácido lático e 0,1 a 0,2% de $SO_2$) por um período similar ao processo industrial que varia de 24 a 38 h. A utilização de temperaturas mais elevadas aumenta a dispersão de proteínas acelerando a taxa de hidratação, o que reduz o tempo de maceração (COX et al., 1944; FAN et al., 1965), entretanto pode resultar numa excessiva perda de nutrientes na água de maceração reduzindo o rendimento da produção de amido.

Shandera et al. (1995) utilizaram superfícies de resposta para investigar as interações do ácido lático, dióxido de enxofre, e temperatura de maceração e seus efeitos nos rendimentos da moagem úmida do milho. A absorção de $SO_2$ pela semente aumentou com o uso do ácido lático e em menores temperaturas de maceração, e a sua concentração dentro da semente afetou a facilidade e a eficiência da

moagem. As concentrações do ácido lático na água de maceração permaneceram constantes o tempo todo, porém, as sementes absorveram mais água de maceração à temperaturas maiores. Maiores rendimentos de amido foram obtidos quando se utilizou a menor temperatura de maceração (43°C vs 57°C), menor concentração de ácido lático (0,2% vs 0,65 e 1,5%) e maior de $SO_2$ (0,3% vs 0,125 e 0,05%), confirmando os resultados anteriormente obtidos por Roushid et al. (1979, 1981).

Diversos estudos têm sido realizados visando a redução do tempo de maceração através do aumento da taxa de penetração da água e do $SO_2$ no interior da semente (ECKHOFF & TSO, 1991; MUTHUKUMARAPPAN & GUNASEKARAM, 1992; LOPES FILHO et al., 1997; YANG & ECKHOFF, 2000).

Yang & Eckhoff (2000) estudaram a redução do tempo durante a maceração contracorrente de milho com diferentes teores de umidade pela adição do ácido lático e verificaram que a adição do ácido lático diminuiu o pH da água de maceração, acelerou a absorção de $SO_2$ e aumentou a quantidade de sólidos liberada pelos grãos. Os rendimentos de amido para as condições de maceração usadas (2000 ou 3000 ppm de $SO_2$ com 0,28 ou 0,55% de ácido lático) foram comparáveis com aqueles obtidos da maceração por 24 horas, exceto quando o milho foi macerado com umidade inicial de 15% em 2000 ppm de $SO_2$, na ausência do ácido. A adição de ácido lático na água de maceração fresca aumentou

significativamente o rendimento de amido quando o milho foi macerado com teor de umidade inicial de 20%. Para todas as condições de maceração, a adição do ácido aumentou a densidade do material resultante da primeira moagem, facilitando a separação do germe. Além disso, o teor protéico do amido foi significativamente menor e as propriedades de pasta não foram afetadas, salvo algumas exceções significativas, quando o ácido lático foi adicionado.

Ramos (2001) estudou a influência da temperatura e do tempo na absorção de água, $SO_2$ e ácido lático durante a maceração do milho no processo de moagem úmida e verificou que ambos fatores tiveram efeitos significativos sobre a absorção de água e de $SO_2$, porém, a absorção de ácido lático não foi influenciada pela temperatura. Segundo o autor, para as temperaturas de 45, 55 e 65°C, o aumento da absorção de água foi proporcional ao aumento de temperatura e este aumento foi mais expressivo nas primeiras horas de maceração. Após 7 horas não foram verificadas diferenças entre as curvas de absorção de água. A absorção de $SO_2$ pelos grãos não acompanhou a absorção de água. Nas primeiras 3 a 6 horas de maceração a absorção do $SO_2$ foi maior, sendo que, a partir desses tempos a absorção foi mais lenta a 45°C e diminuiu a 55 e 65°C. Dessa forma, o uso de temperaturas maiores nas primeiras horas de maceração dos grãos e de menores nas horas seguintes poderia ser uma alternativa para diminuição de tempo e gasto energético.

### 3.3. O processo de maceração dinâmica e moagem intermitente (MDMI)

Com o propósito de facilitar a difusão do $SO_2$ e assim reduzir o tempo de maceração, Lopes Filho et al. (1997) promoveram pequenas rupturas no pericarpo das sementes e maceraram os grãos sob agitação com moagem intermitente ao longo do tempo do processo. Após um período curto de imersão em água (2h) os grãos foram passados por um moinho Bauer ou de rolos ajustado para promover pequenas quebras ou fissuras no pericarpo com o cuidado de produzir um mínimo de danificação dos germes. A maceração dinâmica em solução de $SO_2$ e ácido lático realizada na seqüência do processo foi interrompida a cada 1 ou 2 horas para moagem num liquidificador industrial. O tempo médio de maceração foi então reduzido de 24-36 horas para 5-8 horas. Após a separação dos componentes do milho, seguindo metodologia apresentada por Eckhoff et al. (1993), verificou-se que os rendimentos, o teor de proteína no amido e o teor de óleo dos germes foram idênticos aos métodos tradicionais de maceração com a vantagem da redução do tempo no novo processo.

Com o objetivo de determinar condições favoráveis para hidratação dos grãos e assim minimizar a danificação dos germes no processo MDMI, Lopes Filho (1995) e Ferrato et al. (1997), estudaram o efeito dos níveis de $SO_2$ e ácido lático e da temperatura na etapa preliminar de hidratação dos grãos antes da quebra do pericarpo e



maceração e encontraram que a temperatura de 60°C mostrou-se mais adequada para a hidratação inicial não havendo vantagem evidente de se adicionar ácido lático ou $SO_2$ na água de imersão inicial.

A recuperação e qualidade do germe obtido pelo processo MDMI também foi alvo de estudo por Lopes Filho & Brandemarte (2002) com o objetivo de verificar o efeito do ácido lático e do $SO_2$ nestes parâmetros, considerando-se que a ruptura dos grãos após a imersão a 60°C pode causar danificações na fração de germe. Os autores verificaram que o maior rendimento do germe foi obtido quando os grãos foram macerados em solução contendo 0,2% de $SO_2$ e 0,55% de ácido lático. A danificação do germe variou de 7,4 – 18,2% para todos tratamentos MDMI e foi maior do que o convencional (5,7%), sendo que o menor valor de danificação foi obtido quando os grãos foram macerados em água pura. Os teores de óleo dos germes obtidos pelos diferentes tratamentos de MDMI (39,3 – 43,7%) foram inferiores ao obtido pelo método convencional de moagem (49,2%), sendo o tratamento com melhores resultados para teor de óleo do germe foi com 0,2% de $SO_2$ e 0,55% de ácido lático.

Mehra et al. (2000) estudaram o efeito dos parâmetros de moagem do milho (abertura entre os discos do moinho de moagem e rpm) na danificação do germe e número de sementes inteiras na mistura, com o objetivo de otimizar o procedimento de quebra da semente no processo MDMI. Uma comparação entre o processo dinâmico e o método

convencional de maceração com relação ao rendimento das frações foi realizada, mostrando que os rendimentos de amido e glúten aumentaram 1,6 e 4,26%, respectivamente, para o processo dinâmico. A recuperação do germe neste processo foi 0,54% menor do que no processo convencional. O germe recuperado com o processo de maceração dinâmica apresentou-se levemente quebrado (2 a 4% a mais) quando comparado ao processo convencional. Porém, em nenhum destes estudos relacionados ao processo MDMI foram determinadas as propriedades físico-químicas e o nível de danificação do amido, as quais determinam sua aplicação industrial e comercial. Estas propriedades podem ser alteradas pelas diferentes condições operacionais do processo MDMI com relação ao convencional e resultar em amidos com características diferentes do amido obtido pelo processo convencional. Os autores concluíram que estudos mais detalhados sobre o novo processo e sua otimização deveriam ser conduzidos para melhorar a produção de germe e das outras frações do milho e para determinar as características funcionais do amido obtido.

Singh et al. (2001) estudaram o efeito de algumas técnicas alternativas de moagem úmida, entre elas o processo MDMI, sobre a composição e o rendimento do óleo de germe e óleo de fibra de milho. Os autores verificaram que os níveis de quase todos os componentes individuais de fitosterol do óleo do germe obtido pelo processo de moagem úmida com $SO_2$ gasoso e o processo MDMI foram

compatíveis àqueles obtidos pelo processo convencional de moagem. Somente o processo de moagem alcalina afetou negativamente a recuperação dos componentes de fitosterol do óleo de germe. Os resultados sugeriram, entre outras coisas, que as frações de germe e fibra obtidas pelos processos de moagem úmida com $SO_2$ gasoso e MDMI podem ser usadas para a extração de óleo de germe e óleo de fibra sem nenhum efeito negativo sobre os rendimentos dos componentes dos fitosteróis.

Um estudo realizado por Manzoni et al. (2002) sobre o efeito das condições de maceração sobre o rendimento e qualidade do amido e qualidade do germe de milho verificou que a combinação de 0,5% de ácido lático e 0,1% de $SO_2$ na solução de maceração a 52°C foi melhor que 0,5% de ácido lático e 0,05% de $SO_2$ para o processo MDMI na obtenção de amido e subprodutos do milho sendo compatíveis com o processo convencional de moagem. Segundo os autores, a grande vantagem do processo MDMI com relação ao convencional foi a redução do tempo total de moagem, de 36 para 8 horas, com um melhor rendimento de amido (aproximadamente 1% a mais).

### 3.4. Variáveis do processo de moagem úmida que influenciam as propriedades do amido

As principais variáveis que influenciam a performance da maceração incluem o tipo de grão, temperatura de secagem, temperatura e tempo de maceração, concentrações de ácido lático e dióxido de enxofre na solução (ANDERSON, 1963; HAROS & SUAREZ, 1999; RAMOS, 2001; MANZONI et al., 2002). Estas variáveis alteram o amido dentro do grão e após sua liberação, modificando suas propriedades físico-químicas. Uma evidência disto é relatada em estudo realizado por Krueger et al. (1987). Estes autores verificaram que o processo de moagem úmida de milho, em diferentes combinações de tempo e temperatura de maceração, provoca o anelamento dos grânulos de amido. Segundo Tester & Debon (2000), o anelamento é o processo no qual uma suspensão de amido é exposta à uma temperatura ligeiramente inferior àquela de gelatinização, o que permite uma reorganização molecular com formação de uma estrutura mais organizada e uma maior estabilidade dos grânulos.

Shandera & Jackson (1996) verificaram os efeitos das condições de moagem úmida convencional do milho (concentrações de $SO_2$, ácido lático e temperatura de maceração) nas propriedades funcionais do amido mostrando que os níveis de ácido lático e $SO_2$ na água de maceração, assim como a temperatura do processo, têm efeito na qualidade do amido. Eles também relataram que tempos diferentes de

exposição dos grãos de milho a esses componentes da solução de maceração podem produzir diferenças na qualidade do amido. Este estudo mostrou que o $SO_2$ provocou uma redução da viscosidade de pasta e aumentou a temperatura de gelatinização determinada através de um calorímetro diferencial de varredura (DSC). Essas modificações, contudo, não foram tão grandes quanto aquelas provocadas pela ação da temperatura e do ácido lático. Elevadas temperaturas provocaram o anelamento parcial do amido no interior dos grãos, além de potencializar o efeito do ácido lático durante a maceração. O ácido lático provocou uma evidente redução da viscosidade de pasta, o que também foi verificado por Singh et al. (1999).

Neste estudo conduzido por Singh et al. (1999) verificou-se que o ácido lático atuou mais do que o $SO_2$ na modificação das propriedades do amido de milho, principalmente as de pasta, e que a adição de tais componentes químicos em intervalos de tempo diferentes durante a maceração também teve efeito sobre o rendimento do amido obtido por moagem com maceração estática.

Assim como a maceração em meio ácido é capaz de promover determinadas modificações nas características do amido, a maceração em meio alcalino também pode provocar modificações diferentes. Mistry & Eckhoff (1992) investigaram as características do amido obtido da farinha de milho por um método de extração alcalino e compararam com aquelas do amido comercial. Os resultados indicaram

que o processo de extração alcalina pode resultar em um amido com baixo teor de proteína, elevada viscosidade e capacidade de hidratação e maior estabilidade ao calor e ao cisalhamento do que o amido comercial. O amido alcalino também apresentou características morfológicas similares às do amido comercial. Porém, um estudo conduzido por Uriyo (1997) sobre o efeito da temperatura, tempo e concentração de NaOH usados na maceração sobre as propriedades do amido de milho obtido por um método de moagem alcalina mostrou, dentre outras coisas, que a temperatura de gelatinização deste amido foi significativamente maior do que a do amido comercial, enquanto que os valores de entalpia foram significativamente menores e que o aumento da temperatura, do tempo e da concentração de NaOH provocaram uma queda nos valores de pico de pasta analisados por RVA.

Takeda et al. (1988) estudaram o efeito das condições de maceração dos grãos de milho sobre algumas propriedades funcionais do amido através da comparação de diferentes métodos de maceração e verificaram que a etapa de maceração alcalina minimizou os teores de nitrogênio e fósforo do amido, enquanto que em água e solução contendo $SO_2$ estes teores foram maiores. Além disso, o processo alcalino pareceu reduzir suavemente a cristalinidade dos grânulos de amido. Os autores também verificaram que a maceração conduzida a temperaturas mais baixas proporcionou amidos com menores temperaturas de pasta, porém,

temperaturas de gelatinização semelhantes aos amidos obtidos pelos demais tratamentos.

Tentando verificar o efeito de diferentes condições mecânicas do processo de moagem sobre as propriedades térmicas do amido de milho, Krieger et al. (1997) compararam as propriedades do amido de milho obtido pelo uso de um *"microblender"* e de um homogeneizador e verificaram que elas foram similares, porém, o homogeneizador mostrou-se mais eficiente porque moeu o endosperma dos grãos de milho mais rapidamente e produziu menor danificação dos grânulos de amido.

Pérez et al. (2001) estudaram a influência do tempo e do ácido lático na concentração de 0,55% usados na etapa de maceração sobre a separação e as propriedades térmicas do amido de milho. Eles verificaram que amidos obtidos de grãos de milho que foram macerados em solução contendo somente $SO_2$ por vários intervalos de tempo tiveram um aumento na temperatura de pico e um estreitamento na faixa de gelatinização. Baseados nisso, os autores concluíram que o processo de moagem úmida provocou o anelamento do amido durante o processamento e que o aumento da entalpia de gelatinização, provocado quando os grãos foram macerados por longos períodos de tempo, pareceu corroborar com esta hipótese. Ainda neste estudo, verificou-se que o impacto do tempo sobre as propriedades térmicas do amido foi reduzido pela adição de 0,55% de ácido lático na solução de maceração,



podendo-se dizer que tal componente, nesta concentração, reduz o anelamento parcial dos grânulos de amido. A presença do ácido lático nesta concentração também proporcionou o maior rendimento de amido quando comparado à maceração contendo somente $SO_2$.

Beta et al. (2001) estudaram o efeito dos componentes químicos usados na etapa de maceração sobre as propriedades de pasta dos amidos de sorgo e verificaram que o uso de NaOH resultou em amidos com valores de pico de viscosidade, viscosidade a frio e *"setback"* maiores em relação àqueles obtidos quando se utilizou água, HCl e formaldeído separados. O uso de NaOH também provocou uma redução no tempo necessário para se alcançar o pico de viscosidade e a temperatura de pico de viscosidade, sugerindo uma pré-gelatinização parcial do amido de sorgo. Os autores sugeriram que uma solução alcalina diluída utilizada durante a maceração de grãos de sorgo pode melhorar as propriedades de tais amidos.

Através dos trabalhos encontrados na literatura, verifica-se que muitas são as variáveis dos processos de moagem que podem atuar sobre as propriedades físico-químicas do amido de milho cabendo ao pesquisador estabelecê-las e controlá-las a fim de se obter amido de qualidade, mesmo que possuindo características diferentes, para que possam até ser direcionados para aplicações diferentes daquelas convencionais.

# 4. MATERIAIS E MÉTODOS

## 4.1. Amostras

Os amidos estudados foram obtidos em trabalho anterior (MANZONNI, 2000) durante o ano de 1999, pelo método MDMI segundo Lopes Filho et al. (1997) cujo fluxograma é apresentado na Figura 1. O milho usado para a extração do amido foi um híbrido (XL 606, safra 96/97) cultivado na região de São José do Rio Preto, SP, que possui características de grãos semiduros de conformação levemente dentada e é tanto utilizado para alimentação animal como adquirida pelas industrias, juntamente com outras variedades, para moagem úmida.

As condições para a maceração dos grãos foram 0,0 e 0,5% de ácido lático; 0,05 e 0,1% de $SO_2$ e temperaturas de 52, 60 e 68°C. O tempo total de maceração foi de 6 horas, sendo interrompida após 2 e 4 horas para moagem dos grãos num "*blender*" comercial por 20 e 60 segundos, respectivamente. A amostra obtida pelo método convencional seguiu os procedimentos descritos por Eckhoff et al. (1993) (36h/52°C, 0,5% de ácido lático) utilizando-se 0,1% de $SO_2$. Para cada tratamento foram realizadas duas repetições de moagem totalizando 26 amostras, as quais, ao término do processo de moagem, foram secas em estufa a 49°C por 12 horas, atingindo teores de umidade variando de 5,8 a 9,7%. As amostras foram colocadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria a 8-10°C desde o momento de sua obtenção.

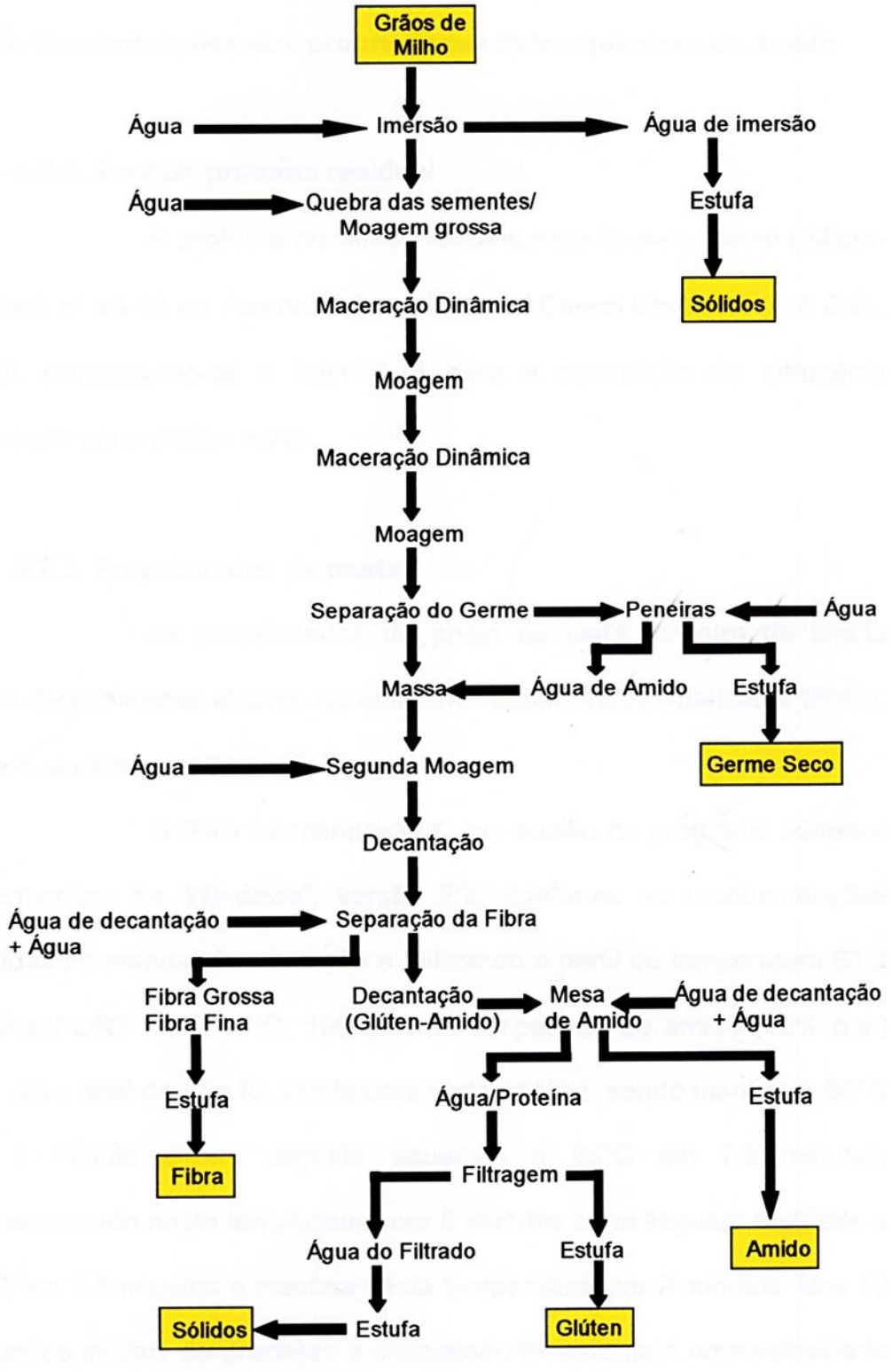



**Figura 1 –** Fluxograma da moagem úmida com maceração dinâmica.

## 4.2. Determinações das propriedades físico-químicas do amido

### 4.2.1. Teor de proteína residual

A proteína no amido foi determinada pelo método Micro-Kjeldahl nº 46-13 da American Association of Cereal Chemists (A.A.C.C., 2000) empregando-se o fator 6,25 para a conversão do nitrogênio detectado em proteína bruta.

### 4.2.2. Propriedades de pasta

As propriedades de pasta de cada amostra de amido foram determinadas através do aparelho Rápido Visco Analisador (RVA), série 4, da Newport Scientific (Austrália).

O RVA foi manuseado com auxílio do programa software "Thermocline for Windows", versão 2.2, conforme as recomendações contidas no manual de operação e utilizando o perfil de temperatura STD 2 (NEWPORT SCIETIFIC, 1998). Uma suspensão de amido (12% b.s.) com peso final de 28g foi usada para cada análise, sendo mantida a 50°C por 1 minuto e em seguida aquecida a 95°C em 7,5 minutos, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos e em seguida resfriada a 50°C em 7,5 minutos e mantida nesta temperatura por 2 minutos. Nos 10 segundos iniciais do processo a suspensão foi agitada a uma velocidade de 960 rpm e em seguida a 160 rpm até o final, sendo as mudanças de viscosidade registradas em amilogramas em unidades arbitrárias RVU. Os

valores de umidade das amostras foram utilizados para correção da massa e da quantidade de água adicionada, conforme tabela de correção fornecida pelo fabricante (NEWPORT SCIENTIFIC, 1998) com base no teor de umidade de 14%, de modo a obter-se um peso seco de amostra constante e igual a 3 g.

A partir dos amilogramas obtidos foram determinados os seguintes parâmetros: **temperatura de pasta** – temperatura em graus Celsius onde a viscosidade sofre o primeiro aumento de cerca de 25 cP por 20 segundos, **viscosidade máxima** – é a viscosidade máxima desenvolvida durante ou logo depois da fase de aquecimento do teste, ***"setback"***, **quebra** e **viscosidade final** – é a viscosidade final do teste em RVU, além do **tempo de viscosidade máxima para o RVA** – tempo em minutos onde ocorre o pico de viscosidade.

Para cada amostra de amido duas determinações foram efetuadas e o valor médio das duplicatas foi adotado para expressar os resultados.

### 4.2.3. Poder de inchamento e solubilidade

O grau de inchamento e solubilidade dos amidos foi determinado seguindo-se os procedimentos descritos por Schoch (1959), com modificações. Para esta análise pesou-se 0,2 g (b.u.) de amostra em tubos de 50 mL e adicionou-se 18 g de água destilada. A suspensão foi levemente agitada algumas vezes e em seguida levada a um banho com

agitação constante por 30 minutos a temperatura de 95°C. Ao término deste período, o volume de cada tubo foi completado com água até obter-se o peso de 20 g, levando-se em consideração a quantidade de água já adicionada (18g) e o teor de umidade de cada amostra. A suspensão foi novamente agitada e centrifugada por 15 minutos a 3200 rpm. Após a centrifugação foram retirados 5 mL do sobrenadante e levados à estufa a 105ºC por 24 horas. O restante do sobrenadante foi desprezado e o amido sedimentado foi pesado. Os dados de solubilidade foram utilizados para a correção do poder de inchamento, os quais foram calculados pelas seguintes fórmulas:

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

$$Poder\ de\ Inchamento = \frac{peso\ da\ pasta\ sedimentada \times 100}{p.amostra\ (b.s.) \times (100 - \%\ sólidos\ solúveis,\ b.s.)}$$

As análises foram feitas em duplicatas.

### 4.2.4. Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos amidos de milho foram determinadas através de um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC – Differential Scanning Calorimetry) Pyris 1–Perkin Elmer e baseadas no método de Perera et al. (2001) com algumas modificações. Aproximadamente 2 mg de amido e 6 μL de água foram misturados em panelinhas de alumínio as quais foram seladas e deixadas em equilíbrio por 2 horas. As amostras foram aquecidas de 25 a 130°C a uma taxa de

10°C/min. Utilizou-se uma panelinha vazia como referência. As análises de retrogradação dos amidos seguiram o mesmo procedimento anteriormente descrito após armazenamento, a 4°C por 14 dias, das amostras gelatinizadas. As análises foram feitas em triplicatas. Temperaturas inicial, de pico e conclusão (To, Tp e Tc, respectivamente) e mudanças de entalpia ($\Delta H$) foram obtidas utilizando-se o software Pyres.1, do próprio fabricante.

### 4.2.5. Teor de amilose

Inicialmente as amostras de amido foram desengorduradas utilizando-se solução de dimetil sulfóxido (DMSO) 90% e etanol absoluto. Pesou-se 1,0 g (b.s.) de amido em tubo com rosca, adicionou-se 50 mL de DMSO 90% e agitou-se a mistura que foi levada em banho fervente com agitação por 1 hora. A amostra permaneceu sob agitação à temperatura ambiente por aproximadamente 3 horas. Em seguida, transferiu-se o conteúdo do tubo para béquer de 500 mL e adicionou-se aproximadamente 150 mL de etanol absoluto, agitando-se a amostra vigorosamente. O material foi centrifugado a 4200 rpm por 20 minutos, sendo o precipitado lavado vigorosamente com etanol absoluto e filtrado a vácuo acompanhado de lavagem com etanol. O amido retido no papel filtro foi recolhido e seco em estufa com circulação de ar a 38°C por 24 horas.

O teor de amilose foi determinado através de um método espectrofotométrico de determinação da coloração azul desenvolvida a partir da capacidade de ligação das moléculas de amilose com o iodo utilizando-se solução de iodo 0,2% em iodeto de potássio 2% com leitura de absorbância a 620 nm, de acordo com procedimentos descritos por Juliano et al. (1981). Amilose SIGMA Tipo III A 0512 e Amilopectina SIGMA A 8515 foram utilizadas para preparação da curva padrão.

### 4.2.6. Microscopias óticas de luz e eletrônica de varredura

As amostras de amido provenientes dos diferentes tratamentos foram analisadas em microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura.

A microscopia ótica dos amidos foi realizada através de um Microscópio Ótico de Luz Olympos acoplado a um sistema de análise de imagem "IMAGE-PRÓ-PLUS" (MÉDIA CYBERNETICS) (Laboratório de Microscopia – UNESP – Campus de São José do Rio Preto). Uma pequena quantidade de amostra foi colocada sobre uma lâmina, adicionou-se uma gota de solução de glicerol (1/1) e colocou-se uma lamínula sobre o material. Para um mesmo campo visualizado foram obtidas imagens sob luz normal e luz polarizada.

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada através de um Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol JSM-T330A (Instituto de Química – UNESP – Campus de Araraquara) de acordo com

os procedimentos descritos por Tavares (2002)[1]. Uma pequena quantidade de cada amostra de amido foi colocada sobre uma fita adesiva de carbono aderida a um disco metálico e conduzida a um Metalisador Bal-Tec SCD 050 para aplicação de uma camada de ouro de cerca de 25-30nm. Foram tiradas duas fotografias de cada amostra, em campos diferentes utilizando um filme preto e branco marca NEOPAN, tipo SS 120. O filme foi revelado e copiado segundo processo de rotina.

[1] TAVARES, Débora de Queiroz. Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição. Faculdade de Engenharia de Alimentos – FEA. 2002. (informação pessoal).

## 5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para estudar a influência dos fatores de maceração e de suas interações sobre as propriedades físico-químicas do amido, um delineamento inteiramente casualizado, com 13 tratamentos e 2 repetições foi realizado. Dos 13 tratamentos, um deles (tratamento com 0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ à temperatura de 52°C, utilizando método convencional de maceração) foi considerado como tratamento padrão, e os outros 12 tratamentos constituíram um esquema fatorial 2x2x3, formado pelas combinações entre 2 níveis de ácido lático (0,0% e 0,5%), 2 níveis de dióxido de enxofre (0,05% e 0,1%) e 3 temperaturas (52, 60 e 68°), processados por maceração dinâmica e moagem intermitente (MDMI).

Para análise estatística dos dados foram realizadas análises de variância (ANOVA) com desdobramento dos graus de liberdade dos 12 tratamentos utilizando maceração dinâmica e moagem intermitente, de acordo com o esquema fatorial 2x2x3, para estudar os efeitos do ácido lático (A), dióxido de enxofre (D), da temperatura (T) e das interações entre esses fatores (STELL & TORRIE, 1980) sobre as propriedades físico-químicas do amido de milho obtido. As médias dos resultados para cada fator de maceração foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



Para efeito de comparação com o amido obtido pelo processo convencional de moagem, considerou-se o mesmo tratamento do processo MDMI utilizado por Manzoni (2000), que se baseou no rendimento de amido como fator de decisão para a escolha do melhor tratamento. Este tratamento foi aquele em que se utilizou 0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ a 52°C e cujas condições de processo coincidem com as do convencional. Deste modo, as diferenças avaliadas entre os processos MDMI e convencional foram em função das etapas operacionais e do tempo de maceração que distinguem os dois processos. As médias das propriedades físico-químicas dos dois processos foram comparadas pelo teste de Tukey.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 Proteína residual

A Tabela 1 apresenta as porcentagens de proteína residual no amido de milho obtidas pelos processos MDMI e convencional. De acordo com esta tabela, o teor protéico residual dos amidos obtidos pelo processo MDMI variou de 0,29 a 0,37%, sendo que para o amido obtido pelo processo convencional de moagem o teor foi de 0,32%.

**Tabela 1** – Teor de proteína residual no amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional

| *Tratamentos* | | | *Proteína no Amido(%)* [1] |
|---|---|---|---|
| *Ac.Lático (%)* | *$SO_2$ (%)* | *Temperatura (°C)* | |
| 0,0 | 0,05 | 52 | 0,29 |
| | | 60 | 0,30 |
| | | 68 | 0,30 |
| | 0,1 | 52 | 0,30 |
| | | 60 | 0,29 |
| | | 68 | 0,30 |
| 0,5 | 0,05 | 52 | 0,32 |
| | | 60 | 0,35 |
| | | 68 | 0,35 |
| | 0,1 | 52 | 0,34 |
| | | 60 | 0,36 |
| | | 68 | 0,37 |
| *Método convencional* | | | 0,32 |

(1) Cada valor representa a média de duas repetições para cada amostra de amido obtida através de moagem em duplicata.

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

Esses valores são próximos daqueles reportados por Lopes Filho et al. (1997), que variariam de 0,31% a 0,35% (convencional e MDMI com 0,1% de $SO_2$, respectivamente) e encontram-se dentro da faixa industrialmente aceitável de 0,30 a 0,50% reportada na literatura (ECKHOFF et al., 1993).

A Tabela 2 mostra as médias do teor protéico residual no amido em cada nível dos fatores de maceração do processo MDMI. Verificou-se que o ácido lático foi o único fator que teve efeito significativo sobre o teor protéico, não havendo influência dos níveis de $SO_2$, das temperaturas de maceração e nem das interações entre os fatores. Estes resultados estão de acordo com Lopes Filho et al. (1997), que também não verificaram nenhuma relação entre as concentrações de 0,05; 0,1 e 0,15% de $SO_2$ e o teor protéico do amido de milho obtido por MDMI.

**Tabela 2** – Médias do teor protéico residual no amido em cada nível dos fatores de maceração

| *Níveis dos Fatores* | *Teor Protéico Residual (%)* |
|---|---|
| Ácido Lático (A): | |
| $A_0$ = 0,0% | 0,30 [b] |
| $A_1$ = 0,5% | 0,35 [a] |
| Dióxido de enxofre (D): | |
| $D_1$ = 0,05% | 0,32 [a] |
| $D_2$ = 0,1% | 0,33 [a] |
| Temperatura (T): | |
| $T_1$ = 52°C | 0,31 [a] |
| $T_2$ = 60°C | 0,33 [a] |
| $T_3$ = 68°C | 0,33 [a] |

[a,b] - médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, para cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

unesp

Shandera & Jackson (1996), em um estudo semelhante a este, verificaram que não houve diferença significativa entre o teor protéico do amido de milho obtido sob diferentes condições do processo de moagem úmida, utilizando concentrações de 0,05 e 0,3 % para o $SO_2$, 0,2 e 1,5% para o ácido lático e temperaturas de maceração de 43 e 57°C. Porém, estes autores não fizeram uma análise da ação isolada de cada um destes fatores sobre esta característica, como é apresentado no presente estudo. O efeito do ácido lático sobre o teor protéico residual no amido é descrito mais detalhadamente a seguir.

### 6.1.1. Efeito do ácido lático

Análises de variância (ANOVA) mostraram que houve um efeito significativo do ácido lático sobre os teores protéicos dos amidos (Tabela 2 e Anexo A), proporcionando maiores valores na sua presença (0,5%). Esperava-se, em princípio, um comportamento oposto, uma vez que o ácido lático atuando como amaciante das paredes celulares no exterior e no interior dos grãos auxiliaria a separação do amido da proteína. Singh et al. (1999) reportaram que muitas amostras de amido de milho que foram submetidas a longos períodos de maceração com adição de componentes químicos ($SO_2$ ou acido lático) tiveram teores de proteína residual menores quando comparados com a amostra controle (milho macerado em água pura), porém, não houve um estudo da ação isolada de cada um destes componentes sobre este efeito. Entretanto, analisando

sob outro ponto de vista, o fato de o ácido lático facilitar a maior quebra da rede protéica, permite que uma maior quantidade de frações protéicas sejam liberadas, dificultando a separação da proteína, o que causaria um aumento da contaminação do amido.

Outra possível explicação para a ação do ácido lático sobre o teor protéico residual no amido seria a ocorrência de desnaturação com precipitação de parte da fração protéica, dificultando sua separação nas mesas de amido. Durante a maceração no processo MDMI de moagem úmida, a barreira mecânica de penetração do ácido é removida devido às fissuras promovidas no endosperma, o que faz com que o ácido lático rapidamente entre em contato direto com a matriz protéica podendo promover alguma desnaturação, dificultando a separação física amido-proteína nas mesas de amido.

### 6.2 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta dos amidos obtidos pelos processos de moagem MDMI e convencional estão apresentados na Tabela 3. De acordo com esta tabela verifica-se que a temperatura de pasta variou de 74,35 a 84,75°C para o processo MDMI, sendo de 75,41°C para o convencional. Os valores de viscosidade máxima do amido obtido pelo processo MDMI variaram de 200 a 247 RVU, sendo que o tempo necessário para atingí-las variou de 8,15 a 9,18 min.

**Tabela 3 – Propriedades de pasta do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional [1]**

| *Tratamentos* | | | *Propriedades de Pasta* | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Ác. Lát, (%)* | *$SO_2$ (%)* | *Temp (°C)* | *Temp. Pasta (°C)* | *Tempo V. Máx. (min)* | *Visc. Máx. (RVU)* | *Quebra (RVU)* | *Setback (RVU) [2]* | *Visc. Final (RVU)* |
| 0,0 | 0,05 | 52 | 74,35 | 8,15 | 245 | 95 | 131 | 280 |
| | | 60 | 75,29 | 8,37 | 236 | 84 | 141 | 273 |
| | | 68 | 84,75 | 9,18 | 207 | 51 | 138 | 294 |
| | 0,1 | 52 | 74,63 | 8,23 | 240 | 97 | 129 | 272 |
| | | 60 | 76,24 | 8,45 | 229 | 83 | 130 | 277 |
| | | 68 | 83,84 | 9,02 | 211 | 55 | 137 | 292 |
| 0,5 | 0,05 | 52 | 75,37 | 8,17 | 240 | 114 | 115 | 241 |
| | | 60 | 76,53 | 8,35 | 228 | 99 | 117 | 246 |
| | | 68 | 83,08 | 8,73 | 200 | 70 | 112 | 242 |
| | 0,1 | 52 | 75,36 | 8,22 | 247 | 114 | 115 | 248 |
| | | 60 | 76,14 | 8,32 | 239 | 104 | 123 | 257 |
| | | 68 | 84,27 | 8,92 | 205 | 66 | 120 | 259 |
| Método Convencional | | | 75,41 | 8,15 | 233 | 108 | 107 | 231 |

[1] Cada valor representa a média de duas repetições para cada amostra obtida através de moagem em duplicata.
[2] Unidades Rápido Visco Analisador.

Para as demais viscosidades, os valores variaram de 51 a 114 RVU para quebra, 112 a 141 RVU para *"setback"* e 241 a 294 para a viscosidade final (Tabela 3).

O amido obtido pelo processo convencional de moagem úmida apresentou valores de propriedades de pasta próximos aos de alguns tratamentos do processo MDMI, como por exemplo, os tratamentos com 0,5% de ácido lático, 0,05% de $SO_2$ e 52°C; com 0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ e 52°C e com 0,5% de ácido lático, 0,1% de

$SO_2$ e 60°C. Ainda de acordo com a Tabela 3, esses valores foram de 75,41°C para temperatura de pasta; 8,15 min para o tempo de viscosidade máxima; 233, 108, 107 e 231 RVU, respectivamente, para as viscosidades máxima, de quebra, *"setback"* e final (Tabela 3).

A Tabela 4 mostra as médias das propriedades de pasta do amido em cada nível dos fatores de maceração do processo MDMI. Verifica-se que o $SO_2$ foi o único fator que não teve efeito significativo sobre nenhuma das propriedades de pasta (Tabela 4 e Anexo B). Porém, Singh et al. (1999) verificaram que a adição de 0,2% de $SO_2$ à água pura ou contendo 0,55% de ácido lático durante a maceração do milho, teve efeito significativo sobre as propriedades de pasta do amido, provocando uma redução dos valores de viscosidade máxima e de quebra e aumento no tempo de viscosidade máxima quando comparadas com amostras obtidas após a maceração do milho em água pura.

Shandera & Jackson (1996) também verificaram que o aumento da concentração de 0,05 para 0,3% de $SO_2$ na água de maceração provocou uma redução significativa das viscosidades de pasta do amido. A não ocorrência deste comportamento no presente estudo pode ser conseqüência da utilização de concentrações de $SO_2$ (0,05 e 0,1%) menores do que aquelas utilizadas por Singh et al. (1999) e Shandera & Jackson (1996), as quais não foram suficientes para causar algum efeito sobre tais propriedades, ou devido ao menor tempo de

maceração do processo MDMI em relação aos utilizados pelos mesmos (6 horas vs 40 e 20 horas, respectivamente).

Ainda segundo a Tabela 4 e o Anexo B (Teste F), verifica-se que o ácido lático teve efeito significativo sobre os valores de tempo de viscosidade máxima e sobre as viscosidades de quebra, *"setback"* e final. Os diferentes níveis de temperatura de maceração também tiveram efeito significativo sobre algumas propriedades de pasta (temperatura de pasta, tempo de viscosidade máxima, viscosidades máxima e de quebra). Além disso, foram verificados os efeitos das interações entre o ácido lático e o $SO_2$, entre o ácido lático e a temperatura e entre o ácido lático, o $SO_2$ e a temperatura sobre diferentes propriedades de pasta do amido (Tabela 4).

**Tabela 4 – Médias das propriedades de pasta do amido em cada nível dos fatores de maceração**

| *Níveis dos Fatores* | *Temper. Pasta* | *Tempo V. Máxima* | *Viscos. Máxima* | *Quebra* | *Setback* | *Viscos. Final* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ácido Lático (A): | | | | | | |
| $A_0$ = 0,0% | 78,46 [a] | 8,57 [a] | 228 [a] | 77 [b] | 134 [a] | 282 [a] |
| $A_1$ = 0,5% | 78,19 [a] | 8,45 [b] | 226 [a] | 94 [a] | 116 [b] | 249 [b] |
| Dióxido de enxofre (D): | | | | | | |
| $D_1$ = 0,05% | 78,41 [a] | 8,49 [a] | 226 [a] | 85 [a] | 125 [a] | 266 [a] |
| $D_2$ = 0,1% | 78,23 [a] | 8,53 [a] | 228 [a] | 86 [a] | 125 [a] | 265 [a] |
| Temperatura (T): | | | | | | |
| $T_1$ = 52°C | 74,93 [c] | 8,19 [c] | 243 [a] | 105 [a] | 122 [a] | 260 [a] |
| $T_2$ = 60°C | 76,05 [b] | 8,37 [b] | 233 [b] | 92 [b] | 127 [a] | 268 [a] |
| $T_3$ = 68°C | 83,99 [a] | 8,96 [a] | 206 [c] | 60 [c] | 126 [a] | 268 [a] |

[a,b] - médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, para cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Os efeitos significativos de cada fator isolado, assim como de suas interações, sobre cada propriedade de pasta é detalhado a seguir. O desdobramento da interação dupla não é necessário quando para uma mesma característica ocorre uma interação tripla. A única interação verificada por Shandera & Jackson (1996) foi entre o ácido lático e a temperatura, porém tais autores utilizaram um viscoamilógrafo Brabender que pode conduzir a resultados distintos daqueles obtidos pelo Rápido Visco Analisador, embora o princípio de ambos seja o mesmo.

### 6.2.1. Efeito do ácido lático

Análises de variância (ANOVA) mostraram que para as propriedades de pasta: tempo de viscosidade máxima, viscosidades de quebra, *"setback"* e final, houve efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade com relação ao ácido lático (Anexo B). O teste de Tukey aplicado às médias dos resultados mostrou que a adição do ácido lático provocou uma redução significativa no tempo de viscosidade máxima e nos valores de viscosidades *"setback"* e final (Tabela 4). A presença do ácido lático também provocou aumento da viscosidade de quebra (Tabela 4), não seguindo a tendência dos resultados encontrados por Shandera & Jackson (1996). Esse aumento na viscosidade de quebra é conseqüência das diferenças entre as demais viscosidades e seus comportamentos. Enquanto a viscosidade máxima permaneceu constante, a viscosidade após o cozimento a 95°C diminuiu na presença do ácido lático. Assim, a

diferença entre ambas, definida como quebra e indicativa da estabilidade do amido durante o cozimento, foi maior naqueles amidos tratados com ácido lático.

As temperaturas de pasta não sofreram ação do ácido lático, conforme também verificado por Yang & Eckhoff (2000), que utilizaram concentrações de 0,0; 0,28 e 0,55% de ácido lático durante a maceração do milho.

As Figuras 2 a 4 apresentam os perfis amilográficos dos diferentes amidos determinados através do Rápido Visco Analisador (RVA).

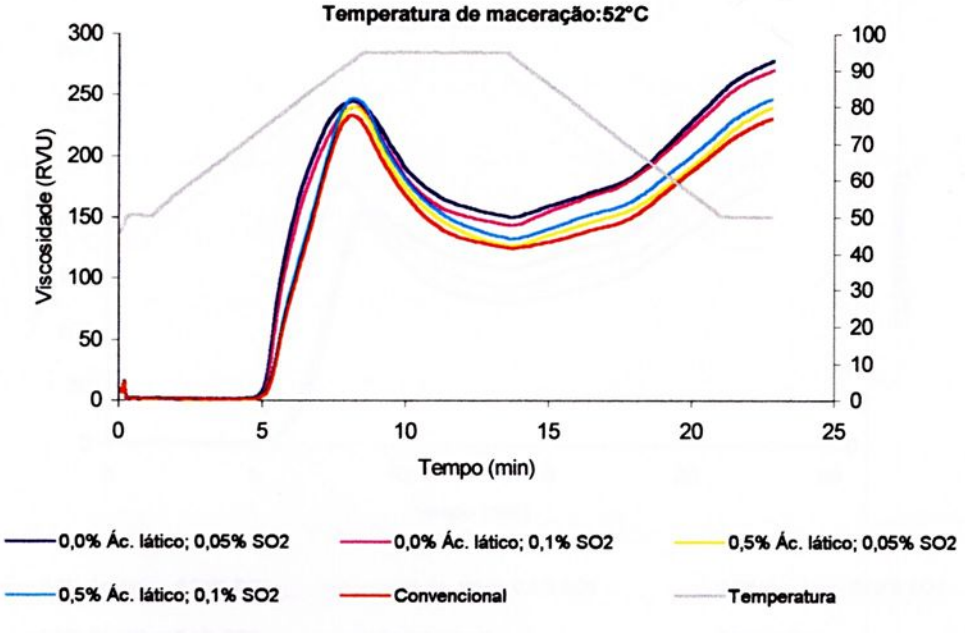



**Figura 2** – Curva viscoamilográfica dos amidos obtidos pelo processo MDMI a 52°C e convencional.

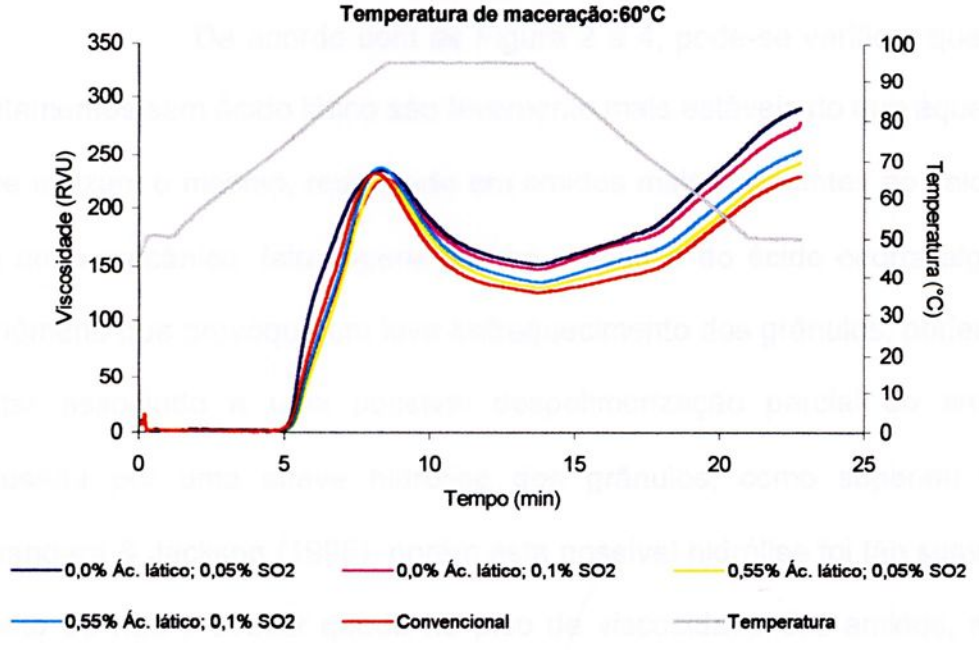



**Figura 3** – Curva viscoamilográfica dos amidos obtidos pelo processo MDMI a 60°C e convencional.

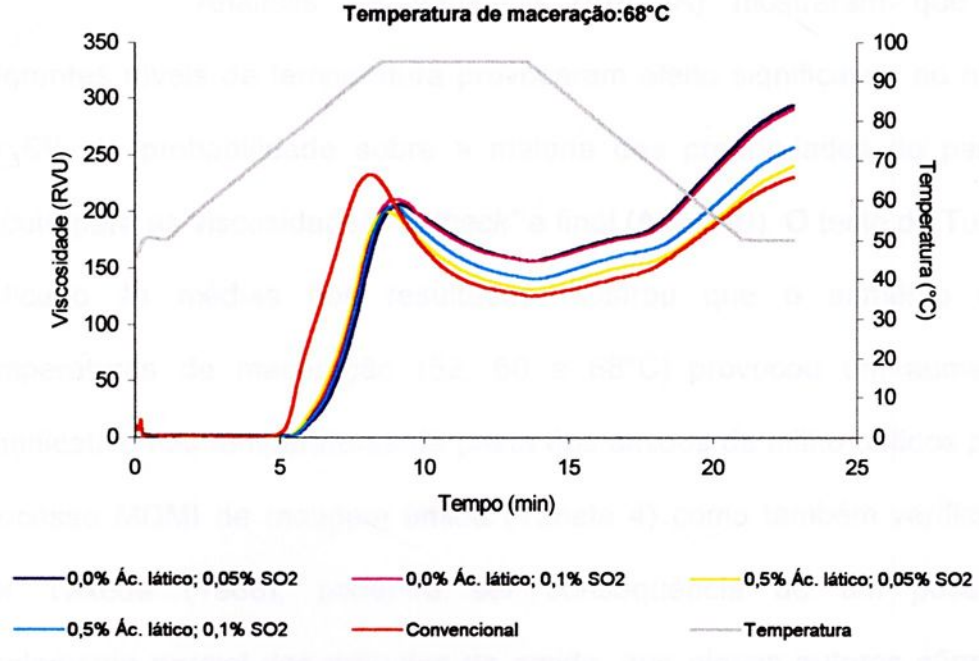



**Figura 4** – Curva viscoamilográfica dos amidos obtidos pelo processo MDMI a 68°C e convencional.

De acordo com as Figura 2 a 4, pode-se verificar que os tratamentos sem ácido lático são levemente mais estáveis do que aqueles que utilizam o mesmo, resultando em amidos mais resistentes ao calor e ao atrito mecânico. Isto sugere que na presença do ácido ocorra algum fenômeno que provoque um leve enfraquecimento dos grânulos, podendo estar associado a uma possível despolimerização parcial do amido causada por uma suave hidrólise dos grânulos, como sugerido por Shandera & Jackson (1996), porém esta possível hidrólise foi tão suave a ponto de não provocar queda no pico de viscosidade dos amidos, mas somente diferenças nas viscosidades de quebra, *"setback"* e final.

### 6.2.2. Efeito da temperatura

Análises de variância (ANOVA) mostraram que os diferentes níveis de temperatura provocaram efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade sobre a maioria das propriedades de pasta, exceto para as viscosidades *"setback"* e final (Anexo B). O teste de Tukey aplicado às médias dos resultados mostrou que o aumento das temperaturas de maceração (52, 60 e 68°C) provocou um aumento significativo nas temperaturas de pasta dos amidos de milho obtidos pelo processo MDMI de moagem úmida (Tabela 4) como também verificado por Takeda (1988), podendo ser conseqüência de um possível anelamento parcial dos grânulos de amido, que alguns autores afirmam que ocorre durante a moagem úmida (KRUEGER et al., 1987). Segundo

Tester et al. (2000) o processo de anelamento ocorre quando o amido é aquecido em água a uma temperatura inferior à de gelatinização do amido por um longo período (acima de 24 h) resultando na reorganização estrutural dos grânulos, conferindo-lhes maior estabilidade. No processo MDMI, embora o tempo máximo de maceração seja de apenas 6 h, a ocorrência de anelamento é possível, pois, segundo Krueger et al. (1987) um aumento da temperatura, como promovido neste estudo, influencia o processo de anelamento reduzindo drasticamente o tempo necessário para que o mesmo ocorra.

Com relação às viscosidades máxima e de quebra, as maiores temperaturas provocaram reduções significativas em seus valores, como pode ser observado na Tabela 4. Este comportamento pode também ser conseqüência do processo de anelamento do amido que tende a ocorrer durante a moagem úmida. Shandera & Jackson (1996) verificaram que não houve efeito da temperatura de maceração sobre as viscosidades máxima e de quebra, porém, os níveis de temperatura utilizados pelos autores (43 e 57°C) foram menores que os utilizados no presente trabalho (52, 60 e 68°C), podendo ser esta a causa dos diferentes comportamentos encontrados.

O aumento da temperatura de maceração também provocou um aumento significativo no tempo de viscosidade máxima (Tabela 4), ou seja, os grânulos de amido demoraram mais para inchar, provavelmente devido a maior estabilidade dos grânulos de amido

anelados, provocando um aumento no tempo necessário para se atingir a viscosidade máxima de pasta, como verificado no presente trabalho.

Comparando-se as Figuras 2 a 4, nota-se o efeito claro da maior temperatura (68°C) na alteração das propriedades de pasta: todos os amidos obtidos pelo processo MDMI nesta temperatura tiveram pico de viscosidade reduzidos e atrasados e temperaturas de pasta aumentadas quando comparados com os amidos obtidos a 52 e 60°C e com aqueles obtidos pelo processo convencional, indicando uma resistência inicial ao aquecimento e menor inchamento e quebra dos grânulos.

### 6.2.3. Efeito da interação entre ácido lático (A) e dióxido de enxofre (D)

Para a viscosidade máxima, as médias das combinações entre os fatores A e D são apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5 –** Médias da viscosidade máxima do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e $SO_2$ (D)

| | *Níveis de Ac.Lático* | |
|---|---|---|
| *Níveis de $SO_2$* | $A_0$ = 0,0% | $A_1$ = 0,5% |
| $D_1$ = 0,05% | 229 $^{aA}$ | 223 $^{bB}$ |
| $D_2$ = 0,1% | 226 $^{aA}$ | 230 $^{aA}$ |

$^{a}$ – médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
$^{A}$ – médias seguidas de mesma letra maiúscula, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Do desdobramento da interação AxD para esta propriedade verificou-se que:

- Somente no nível $A_1$ de ácido lático (0,5%) o $SO_2$ (D) teve efeito significativo sobre a viscosidade máxima (Anexo C), de modo que a utilização de 0,1% de $SO_2$ proporcionou o aumento desta propriedade (Tabela 5). No nível $A_0$ de ácido lático (0,0%) o $SO_2$ não teve efeito significativo sobre a viscosidade máxima (Anexo C). Deste modo, a utilização da maior concentração de $SO_2$ pareceu suavizar a ação de hidrólise parcial do ácido lático sobre os grânulos e conseqüentemente, sobre a redução dos valores de viscosidade. Esperava-se um comportamento oposto, uma vez que a combinação da maior concentração de $SO_2$ (0,1%) com 0,5% de ácido lático proporciona um pH mais baixo do meio, o que causaria uma hidrólise maior dos grânulos e conseqüente redução dos valores de viscosidade. Para um melhor entendimento do fenômeno ocorrido há necessidade de um aprofundamento dos estudos com objetivos específicos para este fim.
- Somente no nível $D_1$ de dióxido de enxofre (0,05%) o ácido lático (A) teve efeito significativo sobre a viscosidade máxima (Anexo C), de modo que a presença do ácido lático (0,5%) provocou uma redução dos valores de viscosidade máxima em relação à sua ausência (Tabela 5).

Para a viscosidade *"setback"*, as médias das combinações entre ácido lático (A) e dióxido de enxofre (D) são

apresentadas na Tabela 6. Do desdobramento da interação AxD para esta propriedade verificou-se que:

- Nos dois níveis de ácido lático ($A_0$=0,0% e $A_1$=0,5%) o $SO_2$ (D) não teve efeito significativo sobre a viscosidade *"setback"* (Anexo C).
- Nos dois níveis de $SO_2$ ($D_1$=0,05% e $D_2$=0,1%) o ácido lático (A) teve efeito significativo sobre a viscosidade *"setback"* (Anexo C). Tanto em $D_1$ quanto em $D_2$ a presença do ácido lático (0,5%) proporcionou menores valores de viscosidade *"setback"* (Tabela 6) e, portanto, menor tendência à retrogradação. Porém, esta redução de viscosidade foi menor na combinação 0,1% de $SO_2$ e 0,5% de ácido lático (de 136 para 114 RVU) do que para a combinação 0,05% de $SO_2$ e 0,5% de ácido lático (de 131 para 119 RVU).

**Tabela 6 –** Médias da viscosidade *"setback"* do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e $SO_2$ (D)

| | *Níveis de Ac.Lático* | |
|---|---|---|
| *Níveis de $SO_2$* | $A_0$ = 0,0% | $A_1$ = 0,5% |
| $D_1$ = 0,05% | 136 $^{aA}$ | 114 $^{bA}$ |
| $D_2$ = 0,1% | 131 $^{aA}$ | 119 $^{bA}$ |

[a] – médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
[A] – médias seguidas de mesma letra maiúscula, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Para a viscosidade final, as médias das combinações entre estes dois fatores são apresentadas na Tabela 7. Do desdobramento da interação AxD para esta propriedade verificou-se que:

- Nos dois níveis de ácido lático ($A_0$=0,0% e $A_1$=0,5%) o $SO_2$ (D) teve efeito significativo na viscosidade final (Anexo C). Desse modo, em $A_0$ (ausência de ácido lático), a utilização de 0,1% de $SO_2$ proporcionou menores valores de viscosidade final, enquanto, no nível $A_1$ de ácido lático (0,5%), a mesma concentração de $SO_2$ provocou um aumento dos valores de viscosidade final (Tabela 7).
- Nos dois níveis de $SO_2$ ($D_1$=0,05% e $D_2$=0,1%) o ácido lático (A) teve efeito significativo na viscosidade final (Anexo C). Para ambas concentrações de $SO_2$, quando se utilizou 0,5% de ácido lático, verificou-se uma diminuição significativa na viscosidade final do amido (Tabela 7).

**Tabela 7 –** Médias da viscosidade final do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e $SO_2$ (D)

| | *Níveis de Ac.Lático* | |
|---|---|---|
| *Níveis de $SO_2$* | $A_0$ = 0,0% | $A_1$ = 0,5% |
| $D_1$ = 0,05% | 289 $^{aA}$ | 243 $^{bB}$ |
| $D_2$ = 0,1% | 275 $^{aB}$ | 254 $^{bA}$ |

$^{a}$ – médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
$^{A}$ – médias seguidas de mesma letra maiúscula, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

### 6.2.4. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T)

Para a temperatura de pasta, as médias das combinações entre ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 8. Do desdobramento da interação AxDxT para esta propriedade verificou-se que:

- O ácido lático (A) teve efeito significativo sobre os valores de temperatura de pasta do amido apenas nas combinações: $D_1T_1$ (0,05% de $SO_2$, a 52°C), $D_1T_2$ (0,05% de $SO_2$, a 60°C) e $D_1T_3$ (0,05% de $SO_2$, a 68°C) (Anexo D); sendo que em $D_1T_1$ e $D_1T_2$ a utilização de 0,5% de ácido lático proporcionou maior valor de temperatura de pasta que a sua ausência, enquanto que em $D_1T_3$ a presença do ácido lático (0,5%) proporcionou menor valor de temperatura de pasta que na sua ausência (83,08 vs 84,78°C, respectivamente) (Tabela 8). Nas demais combinações de D e T, o ácido lático não teve efeito significativo sobre a temperatura de pasta do amido.

**Tabela 8 –** Médias da temperatura de pasta do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)

| | $A_0$ = 0,0% | | $A_1$ = 0,5% | |
|---|---|---|---|---|
| | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 74,36 [b] | 74,63 [c] | 75,37 [c] | 75,36 [b] |
| $T_2$ = 60°C | 75,29 [b] | 76,24 [b] | 76,53 [b] | 76,14 [b] |
| $T_3$ = 68°C | 84,78 [a] | 83,84 [a] | 83,08 [a] | 84,27 [a] |

[a]– médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

- O $SO_2$ (D) teve efeito significativo sobre os valores de temperatura de pasta do amido apenas nas combinações: $A_0T_2$ (sem ácido lático, a 60°C), $A_0T_3$ (sem ácido lático, a 68°C) e $A_1T_3$ (0,5% de ácido lático, a 68°C) (Anexo E); sendo que em $A_0T_2$ e $A_1T_3$ a utilização de 0,05% de $SO_2$ apresentou menor temperatura de pasta que 0,1% (75,29 vs 76,24°C e 83,08 vs 84,27°C, respectivamente), enquanto que em $A_0T_3$ a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou maior temperatura de pasta que 0,1% (84,78 vs 83,84°C) (Tabela 8). Nas demais combinações de A e T, o $SO_2$ não teve efeito significativo sobre a temperatura de pasta do amido.
- Em todas as combinações de ácido lático (A) e $SO_2$ (D), houve efeito significativo da temperatura de maceração (T) sobre a temperatura de pasta do amido (Anexo F); sendo maiores os valores de temperatura de pasta quando se utilizou maiores temperaturas, principalmente 68°C (Tabela 8).

Para o tempo de viscosidade máxima, as médias das combinações entre ácido lático (A), $SO_2$ e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 9. Do desdobramento da interação AxDxT verificou-se que:

- O ácido lático (A) teve efeito significativo sobre os valores de tempo de viscosidade máxima do amido apenas nas combinações: $D_1T_3$ (com 0,05% de $SO_2$, a 68°C) e $D_2T_2$ (com 0,1% de $SO_2$, a 60°C) (Anexo D), nas quais a ausência do ácido lático provocou maiores valores de tempo de viscosidade máxima que a utilização de 0,5%. Da Tabela 9 tem-se que os

tempos de viscosidade máxima obtidos para os tratamentos em questão foram 9,18 e 8,45 min, respectivamente. Nas demais combinações de D e T, o ácido lático não teve efeito significativo sobre o tempo de viscosidade máxima do amido.

- O $SO_2$ (D) teve efeito significativo sobre os valores de tempo de viscosidade máxima do amido apenas nas combinações: $A_0T_3$ (sem ácido lático, a 68°C) e $A_1T_3$ (com 0,5% de ácido lático, a 68°C) (Anexo E), nas quais a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou, respectivamente, maiores e menores valores de tempo de viscosidade máxima que a utilização de 0,1%. Da Tabela 9 tem-se que os tempos de viscosidade máxima obtidos para os tratamentos em questão foram 9,18 e 8,73 min, respectivamente. Nas demais combinações de A e T, o $SO_2$ não teve efeito significativo sobre o tempo de viscosidade máxima do amido.

**Tabela 9 –** Médias do tempo de viscosidade máxima do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)

| | $A_0$ = 0,0% | | $A_1$ = 0,5% | |
|---|---|---|---|---|
| | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 8,15 [c] | 8,23 [c] | 8,17 [c] | 8,22 [b] |
| $T_2$ = 60°C | 8,37 [b] | 8,45 [b] | 8,35 [b] | 8,32 [b] |
| $T_3$ = 68°C | 9,18 [a] | 9,02 [a] | 8,73 [a] | 8,92 [a] |

[a]– médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

- Em todas as combinações de Ácido lático (A) e $SO_2$ (D), houve efeito significativo da temperatura (T) sobre o tempo de viscosidade máxima (Anexo F), sendo maiores os tempos de viscosidade máxima quando se utilizou as maiores temperaturas de maceração (60 e 68°C) (Tabela 9).

### 6.3 Poder de inchamento e solubilidade

A Tabela 10 apresenta os valores de poder de inchamento e solubilidade a 95°C para os amidos obtidos de diferentes tratamentos do processo MDMI e convencional de moagem úmida. De acordo com os resultados, o poder de inchamento e a solubilidade a 95°C do amido obtido pelo processo MDMI variou de 14,74 a 18,91 g/g e 12,89 a 22,84%, respectivamente, sendo que para o amido obtido pelo processo convencional o poder de inchamento foi de 17,10 g/g e a solubilidade igual a 15,10% (Tabela 10). Estes resultados são menores do que aqueles reportados por Leach (1965), que obteve valores de poder de inchamento e de solubilidade do amido de milho comercial a 95°C de 24 g/g e 25%, respectivamente. O grau de inchamento e a solubilidade do amido tende a variar de acordo com a razão entre as moléculas de amilose e amilopectina e o teor de lipídeos, que tendem a ser diferentes dependendo do tipo de amido (LEACH et al., 1959).

Os efeitos dos fatores de maceração são apresentados e analisados a partir do subitem 6.3.1.



**Tabela 10 – Poder de inchamento (PI) e porcentagem de solubilidade (%S) a 95°C do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional [1]**

| *Tratamentos* | | | *PI (g/g)* | *%S* |
|---|---|---|---|---|
| *Ác.Lático (%)* | *$SO_2$ (%)* | *Temp.(°C)* | | |
| 0,0 | 0,05 | 52 | 18,64 | 16,01 |
| | | 60 | 17,68 | 16,09 |
| | | 68 | 15,60 | 19,07 |
| | 0,1 | 52 | 17,17 | 12,89 |
| | | 60 | 18,03 | 19,04 |
| | | 68 | 17,07 | 22,84 |
| 0,5 | 0,05 | 52 | 17,36 | 18,52 |
| | | 60 | 18,91 | 18,92 |
| | | 68 | 15,52 | 14,14 |
| | 0,1 | 52 | 18,49 | 22,43 |
| | | 60 | 14,74 | 18,86 |
| | | 68 | 15,52 | 19,52 |
| *Método Convencional* | | | 17,32 | 14,97 |

[1] Cada valor representa a média de duas repetições para cada amostra de amido obtida através de moagem em duplicata.

A Tabela 11 mostra a comparação pelo teste de Tukey ($P<0,05$) entre as médias de poder de inchamento e da solubilidade a 95°C do amido obtido pelo processo MDMI para cada fator de maceração. O Anexo A apresenta o quadro de ANOVA com os resultados de significância dos fatores envolvidos. De acordo com estas tabelas, verifica-se que os diferentes níveis de ácido lático, $SO_2$ e temperatura de maceração, assim como as interações entre estes três fatores tiveram efeito significativo sobre o inchamento e a solubilidade do amido.

**Tabela 11 – Médias do poder de inchamento (PI) e da porcentagem de solubilidade (%S) a 95°C do amido em cada nível dos fatores de maceração**

| *Fatores* | *PI* | *% S* |
|---|---|---|
| Ácido Lático (A): | | |
| $A_0$ = 0,0% | 17,36 [a] | 17,66 [b] |
| $A_1$ = 0,5% | 16,76 [b] | 18,73 [a] |
| Dióxido de enxofre(D): | | |
| $D_1$ = 0,05% | 17,28 [a] | 17,12 [b] |
| $D_2$ = 0,1% | 16,83 [b] | 19,26 [a] |
| Temperatura (T): | | |
| $T_1$ = 52°C | 17,91 [a] | 17,46 [c] |
| $T_2$ = 60°C | 17,34 [b] | 18,23 [b] |
| $T_3$ = 68°C | 15,93 [c] | 18,89 [a] |

[a,b] - médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, para cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os efeitos de cada fator de maceração e da interação tripla entre eles são descritos separadamente a seguir. Devido à ocorrência da interação tripla, não se faz necessária a análise do desdobramento das interações duplas (Anexo A).

### 6.3.1. Efeito do ácido lático

Análises de variância (ANOVA) mostraram que o ácido lático teve efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade tanto para o poder de inchamento quanto para a solubilidade do amido obtido pelo processo MDMI (Anexo A). O teste de Tukey aplicado às médias dos fatores mostrou que a adição de 0,5% de ácido lático provocou uma

redução muito pequena, porém significativa, no poder de inchamento do amido (Tabela 11), sugerindo uma suave hidrólise do amido. Segundo Leach et al. (1959), o enfraquecimento da rede amilácea no interior do grânulo provocado por uma suave hidrólise do mesmo é responsável pelo menor poder de inchamento. De acordo com Tester & Morrison (1990) o poder de inchamento do amido é atribuído às moléculas de amilopectina, as quais tiveram suas regiões amorfas preferencialmente atacadas pela ação do ácido do que as de amilose. Assim, a presença de 0,5% de ácido lático provocou uma ligeira desfragmentação das moléculas de amilopectina em moléculas menores com menor capacidade de absorver água, e conseqüentemente inchar, e maior capacidade de serem arrastadas durante o aquecimento em água. Por isso, verificou-se um pequeno aumento da porcentagem de solubilidade com a adição de 0,5% de ácido lático (Tabela 11). Shandera & Jackson (1996) também verificaram que o aumento da concentração de ácido lático de 0,2 para 0,5% durante a maceração, provocou um aumento significativo da porcentagem de solubilidade do amido, medida por HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Estes autores também associaram o aumento da solubilidade à despolimerização parcial da amilopectina, que faz com que uma maior quantidade de pequenas moléculas resultantes da desfragmentação da amilopectina, incapazes de absorver água, seja liberada durante o aquecimento e a formação de pasta do amido.



### 6.3.2. Efeito do dióxido de enxofre

Análises de variância (ANOVA) mostraram que o dióxido de enxofre ($SO_2$) teve efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade tanto para o poder de inchamento quanto para a solubilidade do amido obtido pelo processo MDMI (Anexo A). O teste de Tukey aplicado às médias dos resultados mostrou que a utilização de 0,1% de $SO_2$ proporcionou menores valores de poder de inchamento e maiores valores de solubilidade que a 0,05% (Tabela 11). Segundo Singh et al. (1999), pelo fato de o $SO_2$ também diminuir o pH da solução de maceração, foram-lhe atribuídos os mesmos efeitos do ácido lático na redução da viscosidade de pico. Uma vez que o comportamento de viscosidade da pasta de amido envolve o inchamento dos grânulos, sugere-se que para as propriedades de inchamento e solubilidade do amido o $SO_2$ também tenha efeitos semelhantes aos do ácido lático. Isto é confirmado pela ligeira redução dos valores de poder de inchamento do amido e aumento da solubilidade do mesmo quando se utilizou 0,1% de $SO_2$ ao invés de 0,05% no presente estudo, como também verificado quando se utilizou 0,5% de ácido lático contra 0,0% do mesmo (Tabela 11), ambos efeitos causados por uma suposta despolimerização parcial das moléculas de amilopectina, como descrito no item anterior, a qual produziu moléculas de peso molecular menor que a amilopectina e, conseqüentemente, com menor capacidade de absorver água e maior facilidade de ser arrastada durante o aquecimento em água.

### 6.3.3. Efeito da temperatura

Análises de variância (ANOVA) mostraram que as temperaturas de maceração também tiveram efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade no poder de inchamento e na solubilidade do amido obtido pelo processo MDMI (Anexo A). De acordo com a Tabela 11, as maiores temperaturas conduziram a menores valores de poder de inchamento e maiores valores de solubilidade dos amidos.

O poder de inchamento do amido obtido através de MDMI diferiu significativamente nas três temperaturas de maceração (52, 60 e 68°C), diminuindo com o aumento da temperatura (Tabela 11). Este comportamento está associado a um possível anelamento dos grânulos, pois, segundo Tester et al. (2000), existe uma associação entre a diminuição dos valores do poder de inchamento e o aumento das temperaturas de gelatinização do amido, com o anelamento dos grânulos, sugerindo que alguma estrutura granular é retida. Isto explica a diminuição do poder de inchamento com o aumento da temperatura observado neste estudo. A Figura 4 ilustra esse comportamento mostrando as curvas viscoamilográficas dos amidos obtidos pelos processos de moagem MDMI a 68°C e convencional. Os valores de viscosidade máxima (representada pelo pico do gráfico) dos amidos obtidos a 68°C pelo processo MDMI foram menores do que aquele obtido pelo processo convencional que utiliza temperatura de maceração de 52°C, indicando que o amido obtido pela maior temperatura de

maceração possui menor capacidade de inchamento. A 60°C, visualmente não foi possível verificar a redução do pico de viscosidade dos amidos (Figura 3), porém, a Tabela 4 mostra que também houve uma redução significativa nos valores de viscosidade máxima dos amidos quando se utilizou a temperatura de 60°C no processo MDMI em comparação a 52°C pelo processo convencional, confirmando também a diminuição da capacidade de inchamento dos grânulos.

Quanto à solubilidade, análises de variância (ANOVA) também mostraram que houve um efeito significativo das temperaturas de maceração (52, 60 e 68°C), porém estes valores aumentaram com o aumento da temperatura (Tabela 11). Os resultados contrariam a teoria do anelamento do amido, pois segundo Tester & Debon (2000), o processo de anelamento dos grânulos de amido produz uma redução nos valores de solubilidade durante o inchamento dos mesmos, o que reforça a idéia de uma reorganização da estrutura molecular. Por outro lado, maiores temperaturas tendem a intensificar os efeitos da hidrólise parcial promovida pelo ácido lático, o que justificaria este pequeno aumento de solubilidade nas maiores temperaturas de maceração (60 e 68°C).

### 6.3.4. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T)

Para o poder de inchamento, as médias das combinações entre ácido lático (A), $SO_2$ e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 12. Do desdobramento da interação AxDxT para esta propriedade verificou-se que:

- O ácido lático (A) teve efeito significativo sobre os valores de poder de inchamento do amido em todas as combinações entre D e T (Anexo G), sendo que nas combinações $D_1T_1$ (com 0,05% de $SO_2$, a 52°C), $D_1T_3$ (com 0,05% de $SO_2$, a 68°C), $D_2T_2$ (com 0,1% de $SO_2$, a 60°C) e $D_2T_3$ (com 0,1% de $SO_2$, na temperatura de 68°C) a ausência do ácido provocou maiores valores de poder de inchamento que a sua presença ao nível de 0,5%. Da Tabela 12 tem-se que os valores de poder de inchamento obtidos na ausência do ácido nestas combinações foram, respectivamente, 18,64 g/g; 15,60 g/g; 18,03 g/g e 17,07 g/g. Nas demais combinações $D_1T_2$ (com 0,05% de $SO_2$, a 60°C) e $D_2T_1$ (com 0,1% de $SO_2$, a 52°C) a ausência do ácido lático proporcionou menor valor de poder de inchamento que na sua presença ao nível de 0,05%. Os valores destas combinações entre D e T na ausência do ácido correspondem, respectivamente, a 17,68 e 17,17 g/g (Tabela 12).

**Tabela 12 –** Médias do poder de inchamento do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)

| | $A_0$ = 0,0% | | $A_1$ = 0,5% | |
|---|---|---|---|---|
| | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 18,64 [a] | 17,17 [b] | 17,36 [b] | 18,49 [a] |
| $T_2$ = 60°C | 17,68 [b] | 18,03 [a] | 18,91 [a] | 14,74 [c] |
| $T_3$ = 68°C | 15,60 [c] | 17,07 [c] | 15,53 [c] | 15,52 [b] |

[a]– médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

- O $SO_2$ (D) teve efeito significativo sobre os valores de poder de inchamento do amido em todas as combinações de A e T, exceto em $A_1T_3$ (0,5% de ácido lático, na temperatura de 68°C). Nas combinações $A_0T_1$ (sem ácido lático, na temperatura de 52°C), $A_0T_3$ (sem ácido lático, a 68°C), $A_1T_2$ (com 0,5% de ácido lático, a 60°C) e $A_1T_3$ (com 0,5% de ácido lático, a 68°C) (Anexo H), a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou maiores valores de poder de inchamento que a utilização de 0,1%. Da Tabela 12 tem-se que os valores de poder de inchamento obtidos com 0,05% de $SO_2$ para os tratamentos em questão foram 18,64; 15,60; 18,91 e 15,53 g/g, respectivamente. Nas demais combinações de A e T ($A_0T_2$, sem ácido lático, a 60°C; $A_1T_1$, com 0,5% de ácido lático, a 52°C) (Anexo H), a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou menores valores de poder de inchamento que a utilização de 0,1%. Os valores de poder de inchamento obtidos com 0,05% de $SO_2$ para os tratamentos em questão foram 17,68 g/g e 17,36 g/g, respectivamente (Tabela 12).

- Em todas as combinações de ácido lático (A) e $SO_2$ (D), houve efeito significativo da temperatura (T) sobre o poder de inchamento do amido (Anexo I), em geral sendo maiores os valores de poder de inchamento quando se utilizou as maiores temperaturas de maceração, exceto nas combinações $A_0D_2$ (sem ácido lático e com 0,1% de $SO_2$) e $A_1D_1$ (0,5% de ácido lático e 0,05% de $SO_2$), onde a utilização de 60°C proporcionou maiores valores de poder de inchamento que a 52°C e na combinação $A_1D_2$ (0,5% de ácido lático e 0,1% de $SO_2$), onde a utilização de 68°C também proporcionou maior valor de inchamento que a 60°C (Tabela 12).

Para a solubilidade, as médias das combinações entre ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 13.

**Tabela 13 –** Médias da porcentagem de solubilidade do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)

| | $A_0$ = 0,0% | | $A_1$ = 0,5% | |
|---|---|---|---|---|
| | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 16,01 [c] | 12,89 [c] | 18,52 [b] | 22,43 [a] |
| $T_2$ = 60°C | 16,09 [b] | 19,04 [b] | 18,92 [a] | 18,86 [c] |
| $T_3$ = 68°C | 19,07 [a] | 22,84 [a] | 14,14 [c] | 19,52 [b] |

[a]– médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Do desdobramento da interação AxDxT para esta propriedade verificou-se que:

- O ácido lático (A) teve efeito significativo sobre os valores de solubilidade do amido em todas as combinações entre D e T (Anexo G), sendo que nas combinações $D_1T_3$ (0,05% de $SO_2$, a 68°C), $D_2T_2$ (0,1% de $SO_2$, a 60°C) e $D_2T_3$ (0,1% de $SO_2$, a 68°C) a ausência do ácido lático provocou maiores valores de solubilidade que a sua presença ao nível de 0,5%. Da Tabela 13 tem-se que os valores de solubilidade obtidos na ausência do ácido nestas combinações foram, respectivamente, 19,07; 19,04 e 22,84%. Nas demais combinações $D_1T_1$ (0,05% de $SO_2$, a 52°C), $D_1T_2$ (0,05% de $SO_2$, a 60°C) e $D_2T_1$ (0,1% de $SO_2$, a 52°C) a ausência do ácido lático proporcionou menor valor de solubilidade que a sua utilização ao nível de 0,5%. Os valores destas combinações entre D e T na ausência do ácido correspondem, respectivamente, a 16,01; 16,09 e 18,52% (Tabela 13).
- O $SO_2$ (D) teve efeito significativo sobre os valores de solubilidade do amido em todas as combinações de A e T. Nas combinações $A_0T_1$ (sem ácido lático, a 52°C) e $A_1T_2$ (0,5% de ácido lático, a 60°C) a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou maiores valores de solubilidade que a utilização de 0,1%. Da Tabela 13 tem-se que estes valores obtidos com 0,05% de $SO_2$ para as combinações em questão foram 16,01 e 18,92%, respectivamente. Nas demais combinações de A e T ($A_0T_2$, sem ácido lático, a 60°C; $A_0T_3$, sem ácido lático, a 68°C; $A_1T_1$, com 0,5% de ácido

lático, a 52°C e $A_1T_3$, com 0,5% de ácido lático, a 68°C) (Anexo H), a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou menores valores de solubilidade que a utilização de 0,1%. Os valores de solubilidade obtidos com 0,05% de $SO_2$ para os tratamentos em questão foram 16,09; 19,07; 18,52 e 14,14%, respectivamente (Tabela 13).

- Em todas as combinações de ácido lático (A) e $SO_2$ (D), houve efeito significativo da temperatura (T) sobre a solubilidade do amido (Anexo I), de modo que, em geral, as maiores temperaturas de maceração conduziram a maiores porcentagens de solubilidade, exceto nas combinações $A_1D_1$ (0,5% de ácido lático e 0,05% de $SO_2$), onde a utilização de 68°C proporcionou menor valor de solubilidade que a 52°C e 60°C e na combinação $A_1D_2$ (0,5% de ácido lático e 0,1% de $SO_2$), onde a utilização de 60 e 68°C também proporcionou menores valores de solubilidade que a 52°C (Tabela 13).

### 6.4. Propriedades térmicas

As propriedades térmicas de gelatinização e retrogradação, importantes para a determinação da funcionalidade do amido e sua utilidade na indústria de alimentos, foram obtidas em função do método de moagem MDMI e são apresentadas a seguir.

***Gelatinização:***

As propriedades de gelatinização, determinadas através da utilização do Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC), encontram-se na Tabela 14.

**Tabela 14 –** Propriedades de gelatinização do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional [1]

| *Tratamentos* | | | *Gelatinização* [2] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Ác.Lát (%)* | *$SO_2$ (%)* | *Temp (°C)* | *To (°C)* | *Tp (°C)* | *Tc (°C)* | *ΔH (J/g)* |
| 0,0 | 0,05 | 52 | 69,96 | 73,66 | 77,66 | 11,65 |
| | | 60 | 71,79 | 75,04 | 78,13 | 12,55 |
| | | 68 | 74,98 | 78,70 | 81,35 | 12,51 |
| | 0,1 | 52 | 69,59 | 73,16 | 77,13 | 12,83 |
| | | 60 | 72,52 | 75,46 | 78,28 | 11,86 |
| | | 68 | 74,97 | 78,00 | 80,59 | 12,29 |
| 0,5 | 0,05 | 52 | 69,83 | 73,25 | 77,22 | 12,63 |
| | | 60 | 72,55 | 75,29 | 78,13 | 12,91 |
| | | 68 | 75,26 | 78,00 | 80,33 | 11,73 |
| | 0,1 | 52 | 69,62 | 73,19 | 77,33 | 14,43 |
| | | 60 | 72,11 | 75,08 | 78,02 | 13,00 |
| | | 68 | 75,70 | 78,45 | 80,85 | 11,92 |
| Método Convencional | | | 69,93 | 73,24 | 76,85 | 12,20 |

(1) To, Tp, Tc: temperaturas inicial, de pico e de conclusão, respectivamente; ΔH: Variação de entalpia.
(2) Cada valor representa a média de três repetições para cada amostra obtida através de moagem em duplicata.

Comparando as temperaturas iniciais de gelatinização (To) (Tabela 14) obtidas pelo DSC (entre 69,59 e 75,70°C) com as temperaturas de pasta obtidas pelo RVA (74,35 a 84,75°C; Tabela 3), observa-se que todos os amidos analisados pelo primeiro apresentaram menores valores em relação ao segundo, o que foi também observado por Jane et al. (1999) e por Pérez et al. (1998). Isso é esperado, uma vez que a análise pelo RVA depende da sensibilidade do aparelho em detectar um aumento de viscosidade.

O amido obtido em diferentes condições do processo MDMI apresentou temperatura inicial (To) de gelatinização variando de 69,59 a 75,70°C, temperatura de pico (Tp) de 73,16 a 78,70°C, temperatura de conclusão (Tc) de 77,13 a 81,35°C e variação de entalpia ($\Delta$H) de 11,65 a 14,43 J/g.

Para o amido obtido pelo método convencional de moagem obteve-se 69,93°C, 73,24°C, 76,85°C e 12,20 J/g, respectivamente, para To, Tp, Tc e $\Delta$H. Esses valores são próximos daqueles obtidos por Krueger et al. (1987) para amido de milho comercial que sofrera processo de anelamento a 50°C por 48 h, sendo de 69,30°C para To, 72,30°C para Tp e 3,34 cal/g, que corresponde aproximadamente a 13,98 J/g.

Os efeitos dos tratamentos na propriedade de gelatinização do amido, em cada nível dos fatores de maceração do processo MDMI, são apresentados na Tabela 15.



**Tabela 15 – Médias das propriedades térmicas de gelatinização do amido em cada nível dos fatores de maceração**

| *Fatores* | *To* | *Tp* | *Tc* | *ΔH* |
|---|---|---|---|---|
| Ácido Lático (A): | | | | |
| $A_0$ = 0,0% | 72,30 [a] | 75,67 [a] | 78,86 [a] | 12,28 [a] |
| A1 = 0,5% | 72,51 [a] | 75,54 [a] | 78,65 [a] | 12,77 [a] |
| Dióxido de enxofre (D): | | | | |
| $D_1$ = 0,05% | 72,39 [a] | 75,66 [a] | 78,80 [a] | 12,33 [a] |
| $D_2$ = 0,1% | 72,42 [a] | 75,55 [a] | 78,70 [a] | 12,72 [a] |
| Temperatura (T): | | | | |
| $T_1$ = 52°C | 69,75 [c] | 73,31 [c] | 77,34 [c] | 12,88 [a] |
| $T_2$ = 60°C | 72,24 [b] | 75,21 [b] | 78,14 [b] | 12,58 [a] |
| $T_3$ = 68°C | 75,23 [a] | 78,29 [a] | 80,78 [a] | 12,12 [a] |

[a,b] - médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, para cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Verifica-se que as temperaturas de gelatinização do amido obtido por diferentes tratamentos do processo MDMI não foram afetadas significativamente pelo uso do ácido lático e pelas diferentes concentrações de $SO_2$, mas foram afetadas pelas temperaturas de maceração e por uma interação entre os três fatores: ácido lático, $SO_2$ e temperatura (Tabela 15 e Anexo J).

Ainda de acordo com as Tabelas 15 e do Anexo J, os valores de variação de entalpia (ΔH) não sofreram efeito significativo de nenhum fator de maceração, concordando com Knutson (1990), o qual reportou que mudanças de entalpia normalmente não ocorrem em amidos

anelados, mais uma vez reforçando a idéia da ocorrência de anelamento nos amidos obtidos nas condições deste estudo.

Shandera & Jackson (1996) verificaram que a utilização de 1,5% de ácido lático durante a maceração do milho provocou reduções significativas nas temperaturas inicial e de pico de gelatinização quando comparados com aquele de milho macerado com 0,2% de ácido lático, que segundo os autores, sugere um comportamento típico de amidos modificados através de hidrólise ácida. Porém, no presente estudo, este efeito não foi verificado provavelmente devido à utilização de um nível relativamente baixo de ácido (0,5%) comparado com os níveis usados pelos autores. Eles também observaram que as diferentes concentrações de $SO_2$ não tiveram nenhum efeito sobre as propriedades térmicas e verificaram que os valores de $\Delta H$ não sofreram nenhum efeito dos fatores de maceração, o que também é observado no presente estudo.

Os efeitos dos diferentes níveis de temperatura sobre as propriedades térmicas do amido e o desdobramento da interação tripla são detalhados a seguir.

### 6.4.1. Efeito da temperatura

Análises de variância (ANOVA) mostraram que a temperatura provocou efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade sobre as propriedades térmicas de gelatinização, exceto para os valores de entalpia ($\Delta H$) (Anexo J).

O teste de Tukey aplicado às médias dos resultados mostrou que o aumento das temperaturas de maceração (de 52 para 60 e 68°C) provocou um aumento significativo nas temperaturas inicial (To), de pico (Tp) e de conclusão (Tc) dos amidos de milho obtidos pelo processo MDMI, enquanto a entalpia permaneceu constante, como também verificado por Shandera & Jackson (1996), o que é atribuído principalmente ao anelamento dos grânulos, corroborando com o aumento das temperaturas de pasta e do tempo de viscosidade máxima, além da redução dos valores de poder de inchamento dos amidos obtidos pelo processo MDMI nas maiores temperaturas de maceração (60 e 68°C).

Segundo Tester & Debon (2000), o processo de anelamento, que consiste na reorganização da estrutura granular do amido quando aquecido em água a uma temperatura inferior à de gelatinização, conferindo-lhe maior estabilidade, tende a aumentar os valores de To e Tp, diminuir a faixa de gelatinização (Tc – To) e manter constante ou aumentar a entalpia de gelatinização. Knutson (1990) reportou que o fenômeno de anelamento causava um aumento nas temperaturas de gelatinização com poucas alterações nos valores de entalpia.

De acordo com Krueger et al. (1987), as condições em que este fenômeno ocorre são parecidas com aquelas às quais o milho é comumente exposto durante o processo de moagem úmida descrito por

Watson (1984) (50-55°C por 24-36 horas). Porém, embora a maioria dos trabalhos na literatura sobre anelamento do amido reporte que sejam necessários longos períodos de tempo (superiores a 24 horas) para a ocorrência das transformações físicas no amido, como as deste fenômeno, Krueger et al. (1987) também reportaram que amidos obtidos de grãos de milho que já tinham sido macerados por 24 horas a 50°C, quando submetidos a experimentos de anelamento (com temperaturas de 50, 55 e 60°C e períodos de tempo variando até 48 horas) apresentaram alterações físicas características do anelamento em menores tempos nas maiores temperaturas, ou seja, um aumento da temperatura do processo de anelamento diminuiu a necessidade de longos tempos para a ocorrência destas transformações. Assim, apesar do menor tempo de maceração durante o processo MDMI de moagem com relação ao convencional, a temperatura dos diferentes tratamentos foi aumentada de 52°C para 60 e 68°C, resultando nas transformações mostradas na Tabela 13, que são atribuídas ao processo de anelamento do amido. Além disso, embora os grãos de milho não tenham sido completamente macerados antes da exposição dos mesmos a estas temperaturas mais elevadas como sugerido por Krueger et al. (1987), antes da maceração no processo MDMI, o milho foi imerso em água por 2 horas a 60°C, ou seja, uma temperatura maior do que aquela descrita pelos autores (50°C), o que segundo os mesmos, reduz a necessidade de longos tempos para a ocorrência de transformações físicas no amido de milho características de

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

anelamento. Ainda segundo Krueger et al. (1987), quando a temperatura de anelamento foi aumentada de 50 para 55°C, a temperatura de pico máxima foi alcançada em 2 horas, em oposição às 48 horas utilizadas a 50°C. Com base nestas informações e nos resultados de temperatura de pasta, poder de inchamento e das propriedades de gelatinização, a ocorrência de anelamento do amido durante o processo de moagem MDMI é possível, sendo mais severo naqueles tratamentos realizados a 60 e 68°C, apesar do menor tempo de maceração com relação ao processo convencional de moagem.

### 6.4.2. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T)

Para a temperatura inicial de gelatinização (To), as médias das combinações entre ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 16. Do desdobramento da interação AxDxT para esta propriedade verificou-se que:

- O ácido lático (A) teve efeito significativo sobre os valores de To do amido apenas nas combinações: $D_1T_2$ (0,05% de $SO_2$, a 60°C) e $D_2T_3$ (0,1% de $SO_2$, a 68°C) (Anexo K), nas quais a ausência do ácido lático provocou menores valores de To que a sua utilização ao nível de 0,5%. Da Tabela 16 tem-se que os valores de To obtidos para os tratamentos em questão foram 71,79 e 74,97°C, respectivamente. Nas demais combinações de D e T, o ácido não teve efeito significativo sobre To.

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

**Tabela 16 –** Médias da temperatura inicial (To) de gelatinização do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)

| | $A_0$ = 0,0% | | $A_1$ = 0,5% | |
|---|---|---|---|---|
| | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 69,97 [c] | 69,59 [c] | 69,83 [c] | 69,62 [c] |
| $T_2$ = 60°C | 71,79 [b] | 72,52 [b] | 72,55 [b] | 72,11 [b] |
| $T_3$ = 68°C | 74,98 [a] | 74,97 [a] | 75,26 [a] | 75,70 [a] |

[a] – médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

- O $SO_2$ (D) influenciou significativamente os valores de To do amido apenas na combinação $A_0T_2$ (sem ácido lático, a 60°C) (Anexo L), na qual a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou menor valor de To que ao nível de 0,1% (71,79 vs 72,52°C, respectivamente) (Tabela 16). Nas demais combinações de A e T, o $SO_2$ não teve efeito significativo sobre To.
- Em todas as combinações de ácido lático (A) e $SO_2$ (D), houve efeito significativo da temperatura (T) sobre To de gelatinização (Anexo M), sendo maiores os valores de To quando se utilizaram as maiores temperaturas de maceração (60 e 68°C) (Tabela 16). Para cada combinação entre A e D, as temperaturas obtidas, assim como as variações entre elas foram praticamente as mesmas entre as combinações, o que demonstra um efeito mais eficaz da temperatura do que do ácido lático ou $SO_2$ sobre as propriedades térmicas do amido, já que as mudanças nas temperaturas inicias (To) pareceram ser mínimas em função dos níveis de ácido lático ou $SO_2$ (Tabela 16).

Para a temperatura de pico de gelatinização (Tp), as médias das combinações entre ácido lático (A), $SO_2$ e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 17. Do desdobramento da interação AxDxT para esta propriedade verificou-se que:

- O ácido lático (A) teve efeito significativo sobre os valores de Tp do amido apenas na combinação $D_1T_3$ (0,05% de $SO_2$, a 68°C) (Anexo K), na qual a ausência do ácido lático provocou maiores valores de Tp que a sua utilização ao nível de 0,5% (78,65 vs 78,00°C, respectivamente) (Tabela 17). Nas demais combinações de D e T, o ácido lático não teve efeito significativo sobre Tp do amido.
- O $SO_2$ (D) teve efeito significativo sobre os valores de Tp do amido apenas na combinação $A_0T_3$ (sem ácido lático, a 68°C) (Anexo L), na qual a utilização de 0,05% de $SO_2$ provocou maior valor de To que a utilização de 0,1% (78,65 vs 78,00°C, respectivamente) (Tabela 17). Nas demais combinações de A e T, o $SO_2$ não teve efeito significativo sobre Tp.

**Tabela 17** – Médias da temperatura de pico de gelatinização para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)

| | $A_0$ = 0,0% | | $A_1$ = 0,5% | |
|---|---|---|---|---|
| | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 73,66 [c] | 73,16 [c] | 73,25 [c] | 73,18 [c] |
| $T_2$ = 60°C | 75,04 [b] | 75,45 [b] | 75,29 [b] | 75,08 [b] |
| $T_3$ = 68°C | 78,65 [a] | 78,00 [a] | 78,00 [a] | 78,45 [a] |

[a] – médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

- Em todas as combinações de ácido lático (A) e $SO_2$ (D), houve efeito significativo da temperatura (T) sobre Tp de gelatinização (Anexo M), sendo maiores os valores de Tp quando se utilizou as maiores temperaturas de maceração (60 e 68°C) (Tabela 17).

***Retrogradação:***

A Tabela 18 apresenta as propriedades térmicas dos amidos retrogradados determinadas através da utilização do Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC). De acordo com esta tabela, as temperaturas inicial (To), de pico (Tp) e de conclusão (Tc) dos amidos retrogradados obtidos pelo processo MDMI variaram de 42,50 a 46,66°C; 53,69 a 55,58°C e 64,74 a 65,65°C, respectivamente. A entalpia ($\Delta H$) variou de 6,27 a 7,87 J/g e a porcentagem de retrogradação (%R) de 44,77 a 64,84%. Para o amido obtido pelo processo convencional, os resultados das temperaturas inicial (To), de pico (Tp) e de conclusão (Tc) foram 45,13°C; 55,65°C e 64,81°C, respectivamente; da entalpia 6,68 J/g e a porcentagem de retrogradação 54,71%.

Os resultados indicam que para os amidos retrogradados, menores temperaturas de retrogradação e entalpia foram obtidas quando comparadas aos amidos "in natura" (Tabelas 14 e 18), como também reportado por Karim et al. (2000), segundo os quais os amidos retrogradados podem apresentar valores de entalpia até 60-80% menores que os obtidos para os amidos "in natura".

**Tabela 18 – Propriedades térmicas do amido de milho retrogradado obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional [1]**

| *Tratamentos* | | | *Retrogradação[2]* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Ác.Lát (%)* | *$SO_2$ (%)* | *Temp (°C)* | *To (°C)* | *Tp (°C)* | *Tc (°C)* | *ΔH (J/g)* | *% R* |
| 0,0 | 0,05 | 52 | 44,33 | 54,07 | 64,97 | 6,44 | 55,16 |
| | | 60 | 43,74 | 54,58 | 65,37 | 6,59 | 52,32 |
| | | 68 | 43,96 | 54,58 | 65,33 | 6,27 | 50,08 |
| | 0,1 | 52 | 43,67 | 54,19 | 65,38 | 6,70 | 52,25 |
| | | 60 | 43,69 | 54,27 | 64,74 | 6,80 | 57,29 |
| | | 68 | 42,50 | 53,69 | 65,65 | 7,87 | 64,80 |
| 0,5 | 0,05 | 52 | 43,97 | 54,29 | 65,38 | 6,64 | 52,77 |
| | | 60 | 44,22 | 54,34 | 64,81 | 6,51 | 50,39 |
| | | 68 | 46,66 | 55,58 | 65,57 | 7,15 | 61,04 |
| | 0,1 | 52 | 44,15 | 55,06 | 65,24 | 6,44 | 44,77 |
| | | 60 | 45,33 | 55,51 | 64,96 | 7,07 | 54,35 |
| | | 68 | 44,91 | 54,99 | 64,53 | 7,74 | 64,84 |
| Método Convencional | | | 45,13 | 55,66 | 64,81 | 6,68 | 54,71 |

(1) To, Tp, Tc: temperaturas inicial, de pico e de conclusão, respectivamente; ΔH: variação de entalpia; %R: taxa de retrogradação = (ΔHretro/ΔHgel) x 100.
(2) Cada valor representa a média de três repetições para cada amostra obtida através de moagem em duplicata.

Ainda segundo Karim et al. (2000), a faixa de temperatura dos amidos retrogradados (Tc-To) é geralmente mais ampla do que a faixa de temperatura de gelatinização dos amidos nativos, como é observado comparando-se as Tabelas 14 e 18 (para o método convencional de moagem úmida, por exemplo, a faixa de temperatura de retrogradação foi de 19,68°C, enquanto a de gelatinização foi de 6,92°C).

A Tabela 19 apresenta as médias das propriedades térmicas dos amidos retrogradados em cada nível dos fatores de

maceração do processo MDMI e o resultado do teste de Tukey. Verifica-se que todos os fatores da maceração tiveram efeito significativo sobre algumas propriedades dos amidos retrogradados obtidos pelo processo MDMI (Tabela 19 e Anexo C).

As temperaturas inicial (To) e de pico (Tp) dos amidos retrogradados foram afetadas significativamente pelo uso do ácido lático, enquanto que a entalpia ($\Delta H$) sofreu efeito das diferentes concentrações de $SO_2$ e da temperatura. Esses fatores também afetaram a porcentagem de retrogradação (%R). Verificou-se também efeito significativo da interação entre ácido lático (A) e temperatura (T), entre dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) sobre To, e entre dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) sobre %R (Anexo C).

**Tabela 19** – Médias das propriedades térmicas dos amidos retrogradados em cada nível dos fatores de maceração

| *Fatores* | *To* | *Tp* | *Tc* | *ΔH* | *% R* |
|---|---|---|---|---|---|
| Ácido Lático (A): | | | | | |
| $A_0$ = 0,0% | 43,65 [b] | 54,23 [b] | 65,23 [a] | 6,78 [a] | 55,31 [a] |
| $A_1$ = 0,5% | 44,87 [a] | 54,96 [a] | 65,08 [a] | 6,92 [a] | 55,69 [a] |
| Dióxido de enxofre (D): | | | | | |
| $D_1$ = 0,05% | 44,48 [a] | 54,57 [a] | 65,24 [a] | 6,60 [a] | 53,62 [a] |
| $D_2$ = 0,1% | 44,04 [a] | 54,62 [a] | 65,08 [a] | 7,10 [a] | 56,38 [a] |
| Temperatura (T): | | | | | |
| $T_1$ = 52°C | 44,03 [a] | 54,40 [a] | 65,24 [a] | 6,55 [a] | 51,23 [b] |
| $T_2$ = 60°C | 44,24 [a] | 54,67 [a] | 64,97 [a] | 6,74 [a] | 53,58 [ab] |
| $T_3$ = 68°C | 44,51 [a] | 54,71 [a] | 65,27 [a] | 7,26 [a] | 60,19 [a] |

[a,b] - médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, para cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

unesp

Esses efeitos sobre as propriedades térmicas dos amidos retrogradados e o desdobramento das interações duplas são detalhados a seguir.

### 6.4.3. Efeito do ácido lático

Análises de variância (ANOVA) mostraram que para algumas propriedades térmicas dos amidos retrogradados (temperatura inicial e de pico), verificou-se efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade com relação ao ácido lático (Anexo J). O teste de Tukey aplicado às médias dos resultados mostrou que a adição do ácido provocou um suave aumento, porém significativo, nas temperaturas inicial (To) e de pico (Tp) (Tabela 19). Este aumento das temperaturas na presença do ácido lático pode estar associado à hidrólise parcial dos grânulos de amido que provocou a despolimerização parcial das regiões amorfas das moléculas de amilopectina, resultando em fragmentos de moléculas de baixo peso molecular e maior facilidade de arraste durante a gelatinização do amido. Desse modo, durante o processo de retrogradação, a quantidade de moléculas que se reassociaram com as moléculas de amilopectina foi um pouco maior naqueles amidos obtidos na presença do ácido lático, resultando numa retrogradação um pouco mais intensa e conseqüentemente valores ligeiramente maiores de To e Tp.

### 6.4.4. Efeito da temperatura

Análises de variância (ANOVA) também mostraram que a temperatura provocou efeito significativo, ao nível de 5% de probabilidade, nos resultados de porcentagem de retrogradação (%R) do amido obtido pelo processo MDMI (Anexo C). O teste de Tukey aplicado às médias dos resultados mostrou que a maior temperatura de maceração (68°C) provocou aumento significativo nos valores de %R do amido (Tabela 19). Estes resultados indicam que na maior temperatura de maceração a entalpia de retrogradação foi ligeiramente maior que nas demais temperaturas, como verificado na Tabela 19, sugerindo que as interações entre as moléculas de amilose e amilopectina foram ligeiramente mais intensas nas maiores temperaturas (60 e 68°C), podendo ser conseqüência da reorganização estrutural das moléculas em decorrência do processo de anelamento do amido supostamente mais intenso nestas temperaturas.

### 6.4.5. Efeito da interação entre ácido lático (A) e temperatura (T)

Para a temperatura inicial (To) dos amidos retrogradados, as médias dos resultados obtidos com as combinações entre ácido lático (A) e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 20. Do desdobramento da interação AxT verificou-se que:

**Tabela 20** – Médias da temperatura inicial dos amidos retrogradados para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A) e temperatura (T)

| | *Níveis de Ac.Lático* | |
|---|---|---|
| *Níveis de Temperatura* | $A_0$ = 0,0% | $A_1$ = 0,5% |
| $T_1$ = 52°C | 44,00 $^{aA}$ | 44,06 $^{aB}$ |
| $T_2$ = 60°C | 43,71 $^{aA}$ | 44,77 $^{aAB}$ |
| $T_3$ = 68°C | 43,23 $^{bA}$ | 45,78 $^{aA}$ |

$^{a}$ – médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
$^{A}$ – médias seguidas de mesma letra maiúscula, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

- No nível $A_1$ (0,5%) de ácido lático, a temperatura (T) teve efeito significativo sobre os valores de To do amido retrogradado (Anexo N). Na presença do ácido lático (0,5%), a temperatura de 68°C na maceração provocou aumento significativo na To do amido retrogradado (45,78 vs 44,77 e 44,06°C) (Tabela 20).
- Somente à temperatura de 68°C ($T_3$), o ácido lático (A) teve efeito significativo sobre To do amido retrogradado (Anexo N), conduzindo a um valor maior de To (45,78 vs 43,23°C) (Tabela 20).

### 6.4.6. Efeito da interação entre dióxido de enxofre (D) e temperatura (T)

As médias dos resultados obtidos com as combinações entre dióxido de enxofre (D) e temperatura (T) para a temperatura inicial (To) do amido retrogradado são apresentadas na Tabela 21. Do desdobramento da interação DxT para esta propriedade verificou-se que:

**Tabela 21** – Médias da temperatura inicial do amido retrogradado para as combinações dos níveis dos fatores dióxido de enxofre (D) e temperatura (T)

| | *Níveis de $SO_2$* | |
|---|---|---|
| *Níveis de Temperatura* | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 44,15 $^{aA}$ | 43,91 $^{aA}$ |
| $T_2$ = 60°C | 43,98 $^{aA}$ | 44,51 $^{aA}$ |
| $T_3$ = 68°C | 45,31 $^{aA}$ | 43,70 $^{bA}$ |

$^{a}$ – médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
$^{A}$ – médias seguidas de mesma letra maiúscula, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

- Para nenhum dos níveis de dióxido de enxofre ($D_1$=0,05% e $D_2$=0,1%) a temperatura afetou significativamente To (Anexo O).
- Somente para a temperatura de 68°C ($T_3$), o dióxido de enxofre (D) teve efeito significativo sobre To (Anexo O). A utilização de 0,1% de $SO_2$ proporcionou menor valor de To que 0,05% de $SO_2$ (43,70 vs 45,31°C, respectivamente) (Tabela 21).

### 6.5. Teor de amilose

A Tabela 22 apresenta os valores do teor de amilose dos amidos obtidos pelos processos de moagem úmida MDMI e convencional. Observa-se que o teor de amilose variou de 22,69 a 23,93% para os amidos obtidos pelo processo MDMI e foi de 23,50% para o amido obtido pelo processo convencional.

**Tabela 22** – Teor de amilose do amido de milho obtido pelos métodos de maceração dinâmica e convencional [1]

| *Tratamentos* | | | |
|---|---|---|---|
| *Ac. lático (%)* | *$SO_2$ (%)* | *Temperatura (°C)* | *Teor de Amilose(%)* |
| 0,0 | 0,05 | 52 | 23,06 |
| | | 60 | 23,05 |
| | | 68 | 23,93 |
| | 0,1 | 52 | 23,34 |
| | | 60 | 23,18 |
| | | 68 | 23,48 |
| 0,5 | 0,05 | 52 | 23,28 |
| | | 60 | 23,70 |
| | | 68 | 22,69 |
| | 0,1 | 52 | 23,23 |
| | | 60 | 23,57 |
| | | 68 | 23,12 |
| *Método convencional* | | | 23,50 |

[1] Cada valor representa a média de duas repetições para cada amostra obtida através de moagem em duplicata.

Observa-se também que o teor de amilose variou muito pouco entre os tratamentos considerados neste estudo. Além disso, estes valores estão próximos daqueles reportados por Tester et al. (2000) para amido de milho normal, na faixa de 24 ± 0,2%.

As análises de variância (ANOVA) realizadas nos dados são apresentadas no Anexo A e a Tabela 23 mostra o resultado do teste de Tukey aplicado nas médias de teor de amilose do amido. Nenhum dos fatores isolados de maceração apresentou efeito significativo sobre o teor de amilose.

**Tabela 23 – Médias do teor de amilose do amido em cada nível dos fatores de maceração**

| *Fatores* | *Teor de Amilose (%)* |
|---|---|
| Ácido Lático (A): | |
| $A_0$ = 0,0% | 23,34 [a] |
| A1 = 0,5% | 23,26 [a] |
| Dióxido de enxofre (D0): | |
| $D_1$ = 0,05% | 23,28 [a] |
| $D_2$ = 0,1% | 23,32 [a] |
| Temperatura (T): | |
| $T_1$ = 52°C | 23,23 [a] |
| $T_2$ = 60°C | 23,38 [a] |
| $T_3$ = 68°C | 23,30 [a] |

[a,b] - médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, para cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Deste modo, sugere-se que o ácido lático utilizado neste estudo, além de ser um ácido fraco e por isso provocar uma suave hidrólise do amido, provocou alterações somente nas moléculas de amilopectina através da despolimerização das regiões amorfas destas moléculas, não havendo nenhuma alteração nas moléculas de amilose como indicado pelos resultados das Tabelas 22 e 23.

O $SO_2$ também não teve nenhum efeito sobre o teor de amilose dos amidos obtidos pelo processo MDMI em diferentes condições, embora este composto também provoque a redução do pH da solução, uma vez que nem mesmo a utilização de 0,5% de ácido lático foi capaz de promover alguma diferença significativa no teor de amilose.

Com relação à ausência de efeitos dos níveis de temperatura sobre o teor de amilose, Tester et al. (2000) reportaram que o

anelamento dos grânulos de amido, que ocorre durante o processo de moagem úmida, não resulta em mudanças no valor de teor de amilose do amido, mas sim em alterações a nível estrutural e até molecular, as quais são determinadas por métodos mais específicos, o que justificaria a não influência das temperaturas de maceração sobre o teor de amilose do amido obtido pelo processo MDMI (Tabela 23).

Análises de variância (ANOVA, Anexo A) mostraram que houve efeito das interações entre ácido lático e temperatura e entre ácido lático, $SO_2$ e temperatura sobre o teor de amilose. A ocorrência desta interação tripla, desdobrada a seguir, torna estatisticamente desnecessário o desdobramento da interação dupla.

### 6.5.1. Efeito da interação entre ácido lático (A), dióxido de enxofre (D) e temperatura (T)

Para o teor de amilose, as médias dos resultados obtidos nas combinações entre ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T) são apresentadas na Tabela 24. Do desdobramento da interação AxDxT verificou-se que:

- O ácido lático (A) teve efeito significativo sobre o teor de amilose do amido apenas nas combinações: $D_1T_2$ (0,05% de $SO_2$, a 60°C) e $D_1T_3$ (0,05% de $SO_2$, a 68°C) (Anexo G). A ausência do ácido lático proporcionou menor valor de teor de amilose em $D_1T_2$ e maior valor em $D_1T_3$ do que sua utilização ao nível de 0,5% (Tabela 24). Os teores de

amilose obtidos para os tratamentos em questão foram 23,05 e 23,93%, respectivamente, na ausência do ácido, e 23,70 e 22,69 na presença do mesmo. Nas demais combinações de D e T, o ácido lático não teve efeito significativo sobre o teor de amilose do amido.

- O $SO_2$ (D) não afetou os valores do teor de amilose em nenhuma das combinações de ácido lático (A) e temperatura (T) (Anexo H).
- A temperatura (T) teve efeito significativo sobre o teor de amilose apenas nas combinações: $A_0D_1$ (sem ácido lático e com 0,05% de $SO_2$) e $A_1D_1$ (0,5% de ácido lático e 0,05% de $SO_2$) (Anexo I). Na combinação $A_0D_1$ a maior temperatura de maceração (68°C) proporcionou um maior teor de amilose do que a 52 e 60°C (23,93% vs 23,06 e 23,05%, respectivamente) (Tabela 24). Em $A_1D_1$ a mesma temperatura de maceração (68°C) conduziu a um valor menor do teor de amilose que a 60°C (22,69 vs 23,70%, respectivamente), mas não diferiu estatisticamente do obtido a 52°C (23,28%) (Tabela 24).

**Tabela 24 –** Médias do teor de amilose do amido para as combinações dos níveis dos fatores ácido lático (A), $SO_2$ (D) e temperatura (T)

| | $A_0$ = 0,0% | | $A_1$ = 0,5% | |
|---|---|---|---|---|
| | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% | $D_1$ = 0,05% | $D_2$ = 0,1% |
| $T_1$ = 52°C | 23,06 [b] | 23,34 [a] | 23,28 [ab] | 23,23 [a] |
| $T_2$ = 60°C | 23,05 [b] | 23,18 [a] | 23,70 [a] | 23,57 [a] |
| $T_3$ = 68°C | 23,93 [a] | 23,48 [a] | 22,69 [b] | 23,12 [a] |

[a] – médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

### 6.6. Microscopias óticas de luz e eletrônica de varredura

A Figura 5 apresenta as imagens de microscopia ótica de luz normal e luz polarizada dos amidos de milho obtidos nos diferentes tratamentos pelo processo MDMI a 68°C. Esta técnica de microscopia permite a identificação do tipo de amido, tamanho e forma dos grânulos. Os resultados a 68°C foram escolhidos porque nesta temperatura o anelamento dos grânulos de amido foi mais intenso, havendo a necessidade de se verificar se isto provocou alguma alteração visível nos grânulos.

De acordo com as imagens de luz normal da Figura 5, os grânulos de amido apresentaram forma poligonal, característica de amido de milho, não sendo observada nenhuma alteração em função dos tratamentos do processo MDMI. Com relação ao amido obtido pelo método convencional de moagem úmida, as imagens de microscopia são apresentadas e discutidas no item 6.7.

Quando visualizados sob luz polarizada, os grânulos exibiram a "Cruz de Malta", indicativa do fenômeno de birrefringência e do grau de organização e cristalinidade dos mesmos. Através destas imagens também não foi possível observar nenhuma alteração nos grânulos em função dos tratamentos usados na maceração. Apesar da utilização de elevadas temperaturas de maceração e da possibilidade de ocorrência de um anelamento mais intenso do amido, principalmente a 68°C, nenhuma alteração térmica foi visualizada na Figura 5.

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

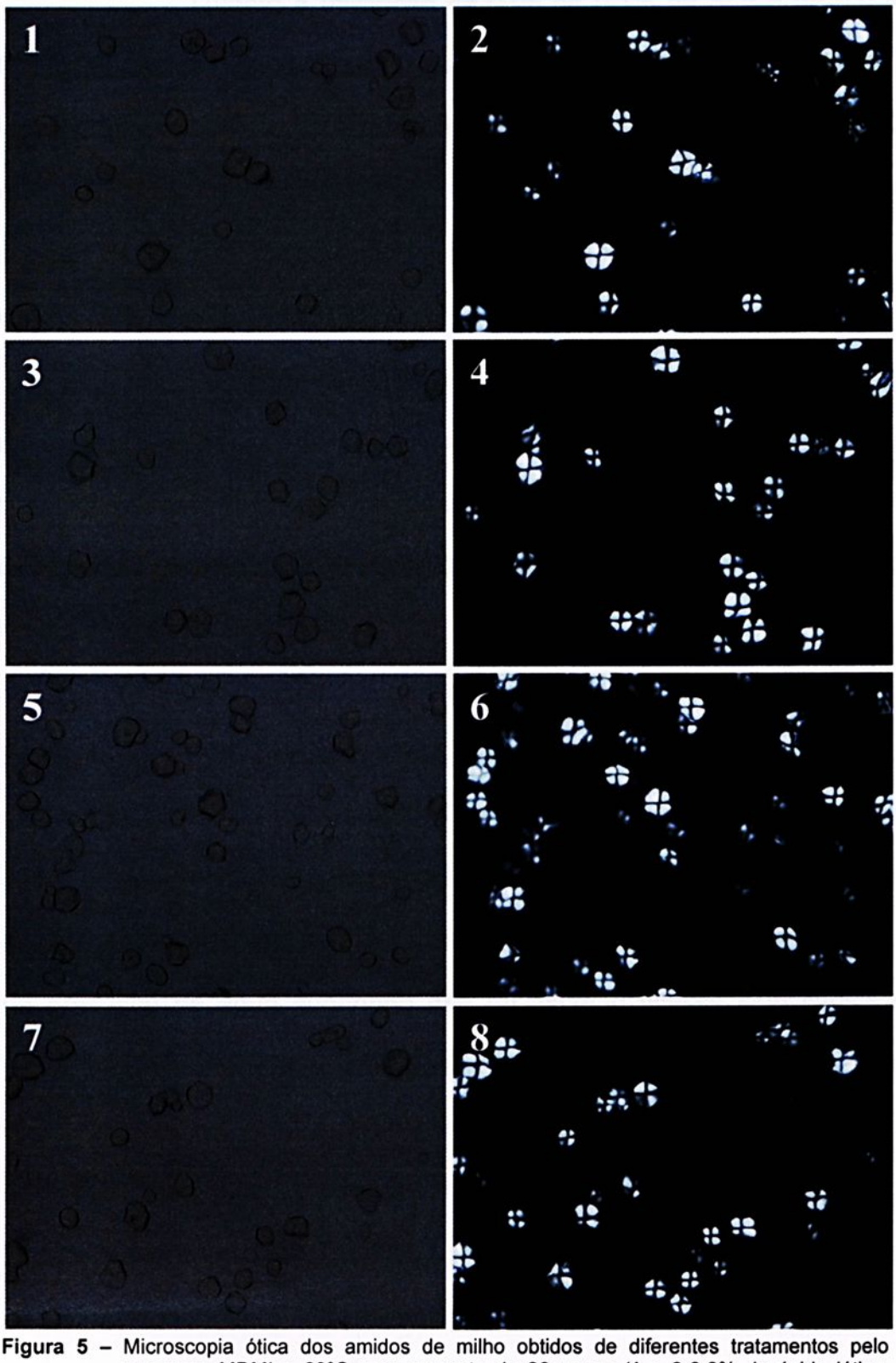



**Figura 5 –** Microscopia ótica dos amidos de milho obtidos de diferentes tratamentos pelo processo MDMI a 68°C com aumento de 20 vezes (**1** e **2**-0,0% de ácido lático, 0,05% de $SO_2$; **3** e **4**-0,0% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$; **5** e **6**-0,5% de ácido lático, 0,05% de $SO_2$; **7** e **8**-0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$) com luz normal (**1, 3, 5, 7**) e luz polarizada ( **2, 4, 6, 8**).

Quanto à utilização de 0,05 ou 0,1% de $SO_2$ e de 0,0 e 0,5% de ácido lático durante a maceração no processo MDMI, visualmente não foram verificadas alterações nos grânulos de amido, já que esta técnica de microscopia não permite a visualização das superfícies dos grânulos as quais podem sofrer modificações em função destes componentes químicos.

As Figuras 6 e 7 mostram as imagens feitas por microscopia eletrônica de varredura dos amidos obtidos de diferentes tratamentos pelo processo de moagem úmida MDMI. Esta técnica de microscopia permite a visualização da forma e da superfície dos grânulos de amido em três dimensões.

As imagens do amido obtido pelo processo MDMI a 60°C (imagens A) e 68ºC (imagens B e C) apresentadas na Figura 6 mostram que alguns grânulos apresentaram alterações térmicas, como indicado pelas setas. Sahai & Jackson (1994) obtiveram imagens semelhantes quando observaram amidos aquecidos a temperaturas superiores a 65°C na presença de água sugerindo que tal aspecto tivesse sido causado pelas temperaturas elevadas. Kawabata et al. (1994) sugeriram que as concavidades no centro dos grânulos de amido, semelhantes ao observado na Figura 6, podem estar relacionadas à desintegração da estrutura interna do grânulo. Porém, em ambos estudos citados, segundo os próprios autores, a concentração de grânulos danificados pelo calor eram elevadas, o que visualmente não acorreu neste caso.



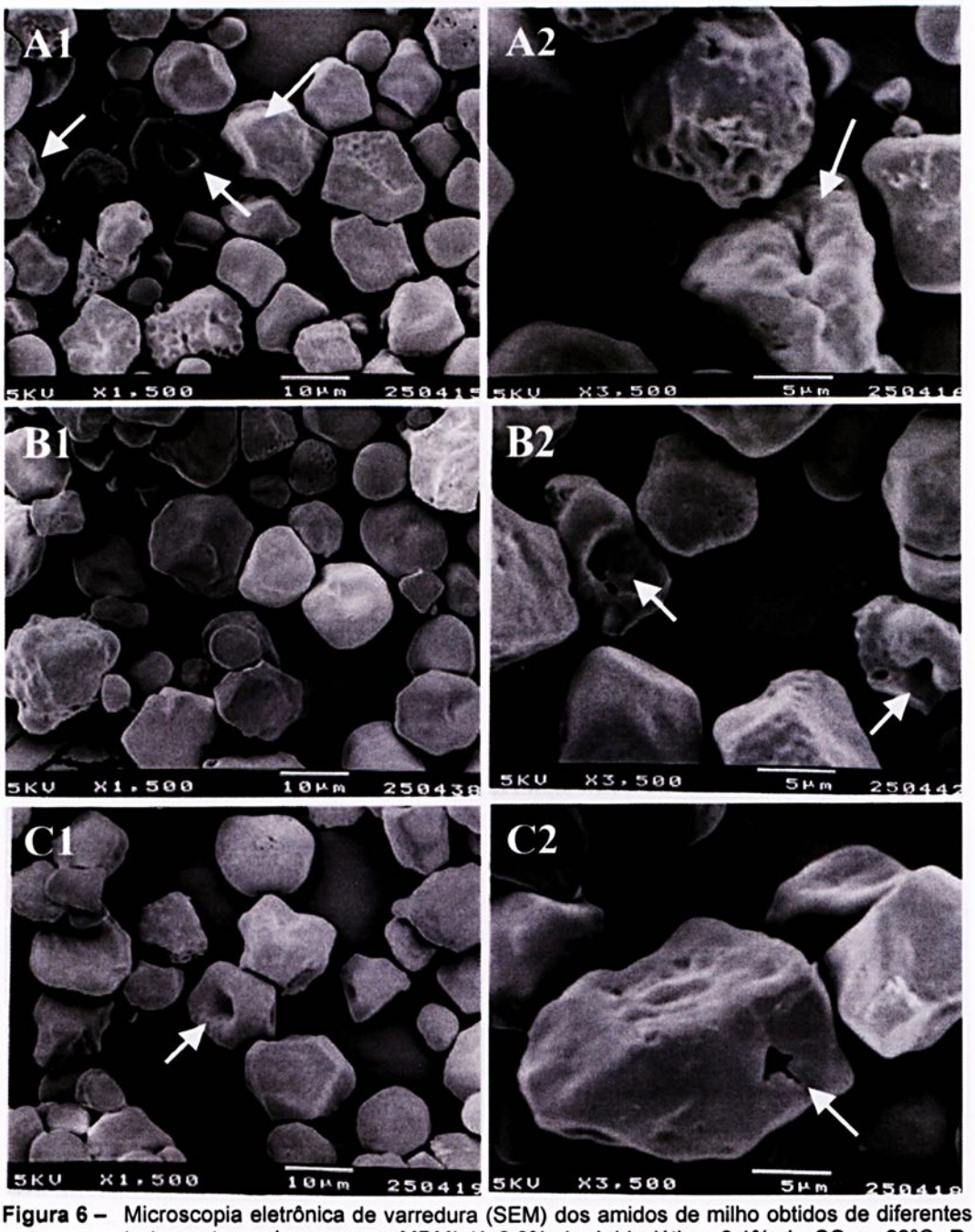



**Figura 6 –** Microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos amidos de milho obtidos de diferentes tratamentos pelo processo MDMI (**A**-0,0% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ e 60°C; **B**-0,5% de ácido lático, 0,05% de $SO_2$ e 68°C; **C**-0,0% de ácido lático, 0,05% de $SO_2$ e 68°C) em diferentes aumentos (**1**-1500x; **2**-3500x). As setas nas imagens indicam alterações térmicas nos grânulos de amido.

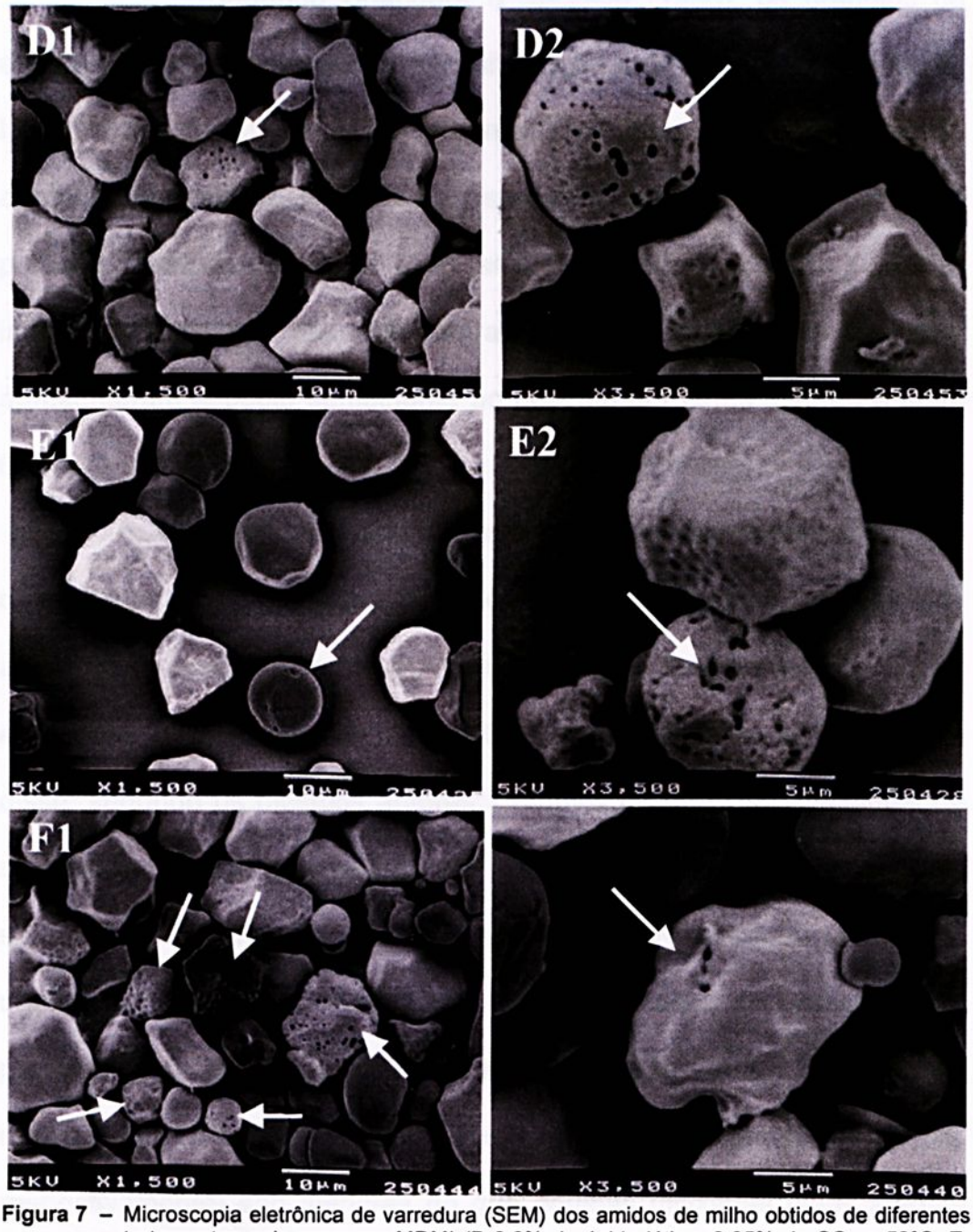



**Figura 7** – Microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos amidos de milho obtidos de diferentes tratamentos pelo processo MDMI (**D**-0,0% de ácido lático, 0,05% de $SO_2$ e 52°C; **E**-0,5% de ácido lático, 0,05% de $SO_2$ e 52°C; **F**-0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ e 60°C) em diferentes aumentos (**1**-3500x; **2**-1500x). As setas nas imagens indicam grânulos de amido que apresentam poros na superfície.

Segundo Shandera & Jackson (1996), os grânulos de amido obtidos por condições intensivas de maceração (1,5% de ácido lático, 0,3% de $SO_2$ e 57°C) durante o processo de moagem úmida apresentaram superfície rugosa e aspecto translúcido e sombreado. No presente estudo somente os amidos obtidos a 60 e 68°C, independentemente das concentrações de ácido lático e $SO_2$, apresentaram aspecto semelhante ao descrito por estes autores (Figura 6).

Shandera & Jackson (1996) também verificaram que quando se utilizou 1,5% de ácido lático a 50°C foram obtidos grânulos de amido com aparência semelhante a uvas-passas e com superfícies mais enrugadas que quando se utilizou 0,2% de ácido lático a 50°C. Além disso, segundo os mesmos autores, grânulos de amido provenientes de sementes de milho maceradas com 0,3% de $SO_2$ a 50°C apresentaram superfície relativamente mais lisa que a 0,05%. No entanto, tais efeitos destes componentes químicos não foram verificados no nosso estudo, provavelmente porque as concentrações utilizadas foram menores. As maiores concentrações de ácido lático e $SO_2$ utilizadas aqui (0,5% e 0,1%, respectivamente) são menores do que aquelas utilizadas pelos autores (1,5% de ácido lático e 0,3% de $SO_2$), não sendo suficientes para provocar alterações visíveis nos grânulos.

Um outro aspecto verificado através da microscopia eletrônica de varredura foi a ocorrência de grânulos corroídos que

pareciam ter sofrido hidrólise enzimática, a qual se deu independentemente do tratamento do processo MDMI utilizado, uma vez que foi visível em todas as amostras de amido estudadas (Figura 7, imagens D, E, F, indicado pelas setas). Apesar da semelhança com ataque enzimático, Fanon et al. (1992) confirmaram que a presença destes poros não é conseqüência da atuação de enzimas durante o processo de moagem úmida. Segundo os mesmo autores, estes poros são uma característica normal da estrutura dos grânulos de alguns tipos de amido, entre eles o de milho, e não artefatos do processo de secagem, de extração ou de técnicas de análise. No entanto, para a confirmação desta informação, no presente estudo, testes microbiológicos de gran foram realizados nas amostras que apresentaram estes poros provenientes de diferentes tratamentos do processo de moagem úmida, inclusive o convencional, para se verificar a ocorrência de microrganismos que poderiam produzir enzimas e resultar nestes orifícios. Os resultados mostraram que somente três das amostras testadas apresentaram contaminação microbiana com bactérias gran$^{+}$. No entanto, como os poros também apareceram nas outras quatro amostras não contaminadas, pode-se concluir que estes orifícios visualizados correspondem a poros naturalmente presentes nos grânulos de amido de milho e não devido à contaminação microbiana, como também descrito no trabalho realizado por Huber & Bemiller (1997). Estes mesmos autores, em trabalho mais recente (HUBER & BEMILLER, 2000), verificaram que

estes poros correspondem à abertura externa de canais radiais de diferentes comprimentos existentes no interior dos grânulos de alguns tipos de amido, entre eles os de milho, sorgo e trigo.

### 6.7. Comparação entre os processos de moagem úmida MDMI e convencional

A Tabela 25 mostra as propriedades físico-químicas dos amidos obtidos pelos processos de moagem MDMI e convencional nas mesmas condições (com 0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ e 52°C). De acordo com os resultados verifica-se que a maioria das características não diferiu estatisticamente entre si.

O teor protéico residual para os amidos obtidos pelo processo MDMI e convencional foram, respectivamente, 0,36 e 0,32%, e também não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 25). Estes resultados são similares aos reportados por Lopes Filho et al. (1997), ao estudar a influência do tempo de maceração no rendimento e qualidade dos subprodutos da moagem.

**Tabela 25 – Comparação pelo teste de Tukey das médias das propriedades físico-químicas do amido obtido pelos processos MDMI e convencional**

| *Propriedades Físico-químicas* | *Método de Moagem* | |
|---|---|---|
| | *MDMI* [1] | *Convencional* [2] |
| Teor de Proteína Residual | 0,36 [a] | 0,32 [a] |
| Propriedades de Pasta | | |
| Temperatura de Pasta | 75,35 [a] | 75,41 [a] |
| Tempo de Viscosidade Máxima | 8,22 [a] | 8,15 [a] |
| Viscosidade Máxima | 247 [a] | 233 [a] |
| Quebra | 114 [a] | 108 [b] |
| *"Setback"* | 115 [a] | 106 [b] |
| Viscosidade Final | 247 [a] | 231 [a] |
| Poder de Inchamento a 95°C | 18,49 [a] | 17,32 [b] |
| % Solubilidade a 95°C | 22,43 [a] | 14,97 [b] |
| Propriedades Térmicas | | |
| Gelatinização – To | 69,62 [a] | 69,93 [a] |
| Tp | 73,19 [a] | 73,24 [a] |
| Tc | 77,33 [a] | 76,85 [b] |
| ΔH | 14,43 [a] | 12,20 [a] |
| Retrogradação – To | 44,15 [a] | 45,13 [a] |
| Tp | 55,06 [a] | 55,65 [a] |
| Tc | 65,24 [a] | 64,81 [a] |
| ΔH | 6,44 [a] | 6,68 [a] |
| % R | 44,77 [a] | 54,71 [a] |
| Teor de Amilose | 23,23 [a] | 23,49 [a] |

[1] condições de maceração: 0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ a 52°C/6 horas.
[2] condições de maceração: 0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ a 52°C/36 horas.
[a, b] – médias seguidas de mesma letra minúscula, em cada linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Manzoni (2000) também não encontrou diferenças entre o teor protéico dos amidos obtidos pelos dois processos, sugerindo uma separação amido-proteína eficiente do processo MDMI apesar do menor tempo de maceração em relação ao processo convencional. Isto provavelmente é decorrente da rápida absorção dos componentes de

maceração (ácido lático e $SO_2$) em função das fissuras promovidas no endosperma após a etapa de imersão dos grãos de milho em água a 60°C, que acontece antes da maceração no processo MDMI. Os valores residuais de proteína encontrados nos amidos estão dentro da faixa dos amidos produzidos pela indústria (até 0,36%). Singh et al. (1997a) reportaram que até 0,50% de teor residual protéico é aceito para um híbrido de milho dentado. Segundo Eckhoff et al. (1993), altos níveis de proteína no amido são esperados quando mesas de amido e separação manual da fibra são efetuados, o que poderia justificar estes teores ligeiramente maiores.

Com relação às propriedades de pasta dos amidos, verificou-se que os valores das viscosidades de quebra e *"setback"* para o processo MDMI foram, respectivamente, 114 e 115 RVU, enquanto que para o processo convencional foram 108 e 106 RVU, diferindo estatisticamente entre os dois processos, sendo menores no amido obtido pelo processo convencional (Tabela 25). Embora estas reduções sejam pequenas, elas podem ser atribuídas ao maior tempo de exposição ao ácido lático e $SO_2$ durante a maceração no processo convencional, como também verificado por Singh et al. (1999), que atribuiu tal comportamento à ação de hidrólise dos grânulos de amido mais intensa devido ao maior tempo de contato dos mesmos com tais componentes químicos. Para as demais viscosidades de pasta, também foram verificadas reduções naquelas do amido obtido pelo processo convencional em relação ao

amido obtido por MDMI, embora não tenha havido diferenças estatísticas entre as mesmas (Tabela 26).

Ainda de acordo com a Tabela 25, verificou-se que o poder de inchamento e a solubilidade a 95°C do amido obtido pelo processo MDMI (18,49 g/g e 22,43% respectivamente) foram significativamente maiores do que aqueles do amido obtido pelo processo convencional (17,32g/g e 14,97%, respectivamente).

Com relação às propriedades térmicas dos amidos, não foram verificadas diferenças para as temperaturas e entalpia dos amidos nativos e retrogradados, exceto para a temperatura de conclusão (Tc) de gelatinização, que foi ligeiramente menor para o amido obtido no processo convencional de moagem: 76,85 vs 77,33°C para o MDMI.

Com relação ao teor de amilose dos amidos também não foram verificadas diferenças significativas decorrentes do processo de moagem (Tabela 25). Seus valores foram 23,23 e 23,29% para os amidos obtidos, respectivamente, pelo processo MDMI e convencional, os quais foram ligeiramente inferiores àqueles reportados por Tester et al. (2000) para teores de amilose de amido de milho (24 ± 0,2%). Estes resultados indicam que o longo tempo de exposição das sementes de milho ao ácido lático não afetou as moléculas de amilose.

A Figura 8 retrata o amido de milho obtido pelos processos de moagem úmida MDMI e convencional. De acordo com as imagens de luz normal (imagens 9 e 11), verifica-se que os grânulos de amido apresentaram forma poligonal, característica de amido de milho e não foi observada nenhuma alteração dos grânulos em função do processo de moagem. Nas imagens de luz polarizada (10 e 12) a "Cruz de Malta" de todos os grânulos é nitidamente visualizada, não sendo verificadas alterações nos grânulos de amido em função do processo de moagem.

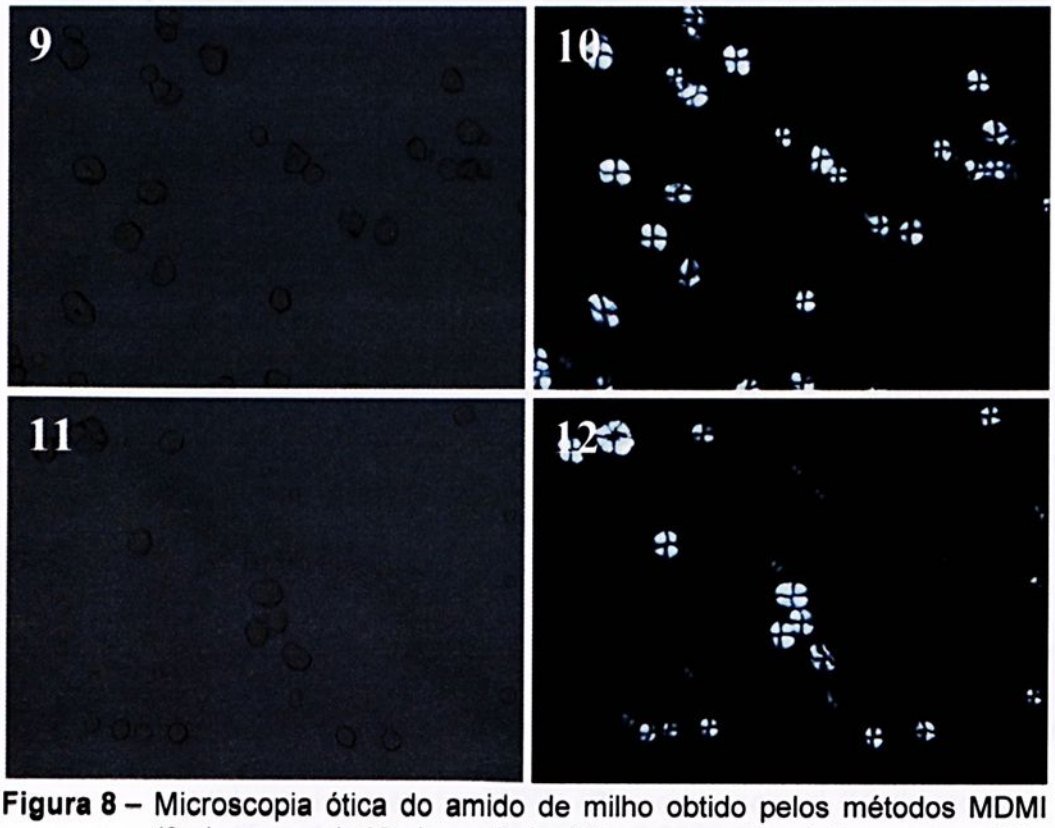



**Figura 8** – Microscopia ótica do amido de milho obtido pelos métodos MDMI (**9**– luz normal; **10**– luz polarizada) e convencional de moagem (**11**– luz normal; **12**– luz polarizada) com aumento de 20 vezes.

Estas imagens de microscopia ótica da Figura 8 comprovam que as diferentes etapas do processo MDMI em relação ao convencional não danificam os grânulos de amido.

A Figura 9 apresenta as imagens de microscopia eletrônica de varredura dos amidos de milho obtidos pelos processos MDMI e convencional de moagem úmida (imagens G e H, respectivamente).

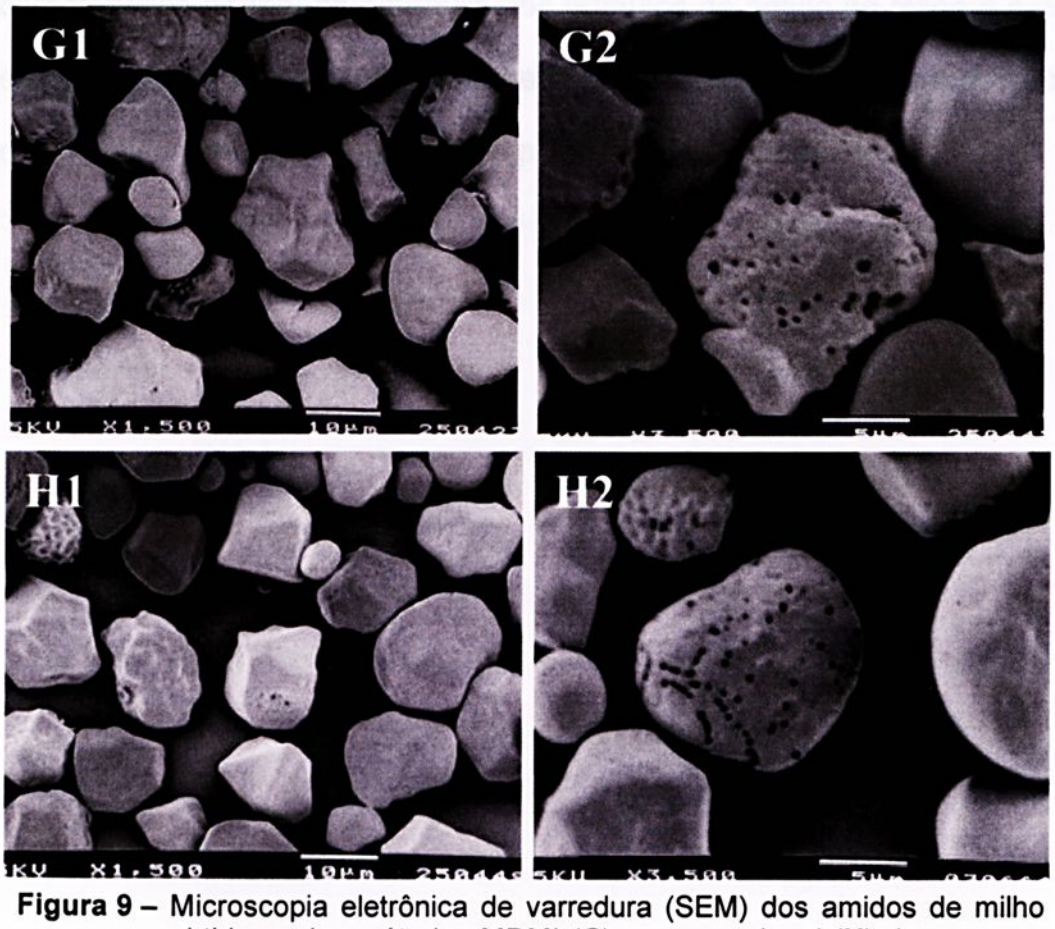



**Figura 9** – Microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos amidos de milho obtidos pelos métodos MDMI (**G**) e convencional (**H**) de moagem em diferentes aumentos (**1**-1500x; **2**-3500x).

Comparando-se estas imagens não se verificou nenhuma diferença entre elas e nem a ocorrência de grânulos que poderiam ser danificados em função das diferentes etapas do processo MDMI em relação ao convencional (ruptura de endosperma dos grãos de milho antes da maceração e agitação ao longo do processo MDMI). A imagem H2, que representa o amido obtido pelo método convencional de moagem, mostra um grânulo de amido recoberto de poros, porém, como já discutido anteriormente no item 6.8., a presença destes poros é uma característica normal da estrutura dos grânulos de amido de milho e não efeitos da secagem ou dos procedimentos utilizados na maceração dinâmica com moagem intermitente para a extração do amido.

Inst. de Biociências, Letras e Ciências Exatas - UNESP
BIBLIOTECA
S. J. Rio Preto



## 7. CONCLUSÕES

O desenvolvimento da presente pesquisa permitiu concluir:

- Os tratamentos utilizados com o processo MDMI afetaram as propriedades físico-químicas do amido de milho.
- A presença do ácido lático (0,5%) no processo MDMI provocou:
  - Aumento significativo no teor protéico residual do amido, com valor médio de 0,32% de proteína residual.
  - Redução do tempo de viscosidade máxima e das viscosidades *"setback"* e final em 1,4; 13,4 e 11,7%, respectivamente e aumento da viscosidade de quebra do amido em 22,1%.
  - Redução do poder de inchamento em 3,5% e aumento da porcentagem de solubilidade em 6,1%.
  - Aumento das temperaturas inicial (To) e de pico (Tp) de retrogradação do amido em 2,8 e 1,4%, respectivamente.

- A utilização da maior concentração de dióxido de enxofre (0,1%):
  - Provocou uma redução de 2,6% do poder de inchamento do amido e um aumento de 12,5% da porcentagem de solubilidade.

- Com relação à influência das temperaturas usadas na maceração:
  - Para as três temperaturas utilizadas (52, 60 e 68°C), a temperatura de pasta e o tempo de viscosidade máxima diferiram entre si,

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

aumentando com o aumento da temperatura, e este aumento foi maior a 68°C do que a 60°C, com relação a temperatura de 52°C (para temperatura de pasta, 12,1 e 1,5%; para o tempo de viscosidade máxima, 2,2 e 1,1%, respectivamente). As viscosidades máxima e de quebra diminuíram com o aumento da temperatura e esta diminuição foi mais drástica a 68°C do que a 60°C, com relação à temperatura de 52°C (para a viscosidade máxima, 15,2 e 4,1% e para a viscosidade de quebra, 42,8 e 12,4%, respectivamente).

- Verificou-se um aumento significativo das temperaturas inicial (To), de pico (Tp) e de conclusão (Tc) de gelatinização do amido com o aumento da temperatura de maceração, sendo que este aumento referente a 52°C foi de 7,8; 6,8 e 4,4% a 68°C e de 3,6; 2,6 e 1,0% a 60°C para To, Tc e Tp, respectivamente.
- Os valores de porcentagem de retrogradação do amido não diferiram significativamente a 52 e 60°C, porém, foram menores em 10 e 15%, respectivamente, em relação a 68°C.
- As imagens de microscopia eletrônica de varredura indicaram que as temperaturas de 60 e 68°C provocaram alterações térmicas em alguns grânulos de amido.
- As maiores temperaturas de maceração (60 e 68°C) provocaram um anelamento mais intenso dos grânulos do que a 52°C, apesar

do menor tempo de maceração do processo de moagem MDMI em relação ao convencional.

- Comparando-se o amido proveniente do processo MDMI com o do convencional, efetuado nas mesmas condições (0,5% de ácido lático, 0,1% de $SO_2$ a 52°C) verificou-se que:
  - Houve diferença de 6,8 e 49,8% para o poder de inchamento e a solubilidade a 95°C, respectivamente, entre os dois processos.
  - Houve diferença de 5,5 e 8,5% para as viscosidades de quebra e *"setback"*, respectivamente, entre os dois processos de moagem.
  - Houve diferença de 0,6% entre os processos MDMI e convencional para a temperatura de conclusão (Tc) de gelatinização.
  - Para as demais propriedades físico-químicas não houve diferença entre os dois processos.

- Os resultados indicaram que as propriedades físico-químicas do amido obtido pelo processo MDMI em geral não diferiram daquelas do amido obtido pelo processo convencional de moagem, sugerindo que a utilização do processo MDMI é uma alternativa viável, pois, além de permitir a redução do tempo de maceração de 36 horas do processo convencional para até 8 horas, resultando em grande economia de energia e redução de custos, também é capaz de produzir amido com propriedades físico-químicas próximas às do amido obtido pelo

processo convencional, com poucas diferenças que não comprometem a sua funcionalidade para as diversas aplicações em que é utilizado.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMILHO. Associação Brasileira das Indústrias Moageiras de Milho. Estatísticas. Disponível em: <http://www.abimilho.com.br>. Acesso em: 10 de março 2002.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS - AACC. **Approved methods of the AACC.** 10.ed. Saint Paul, MN: The Association, 2000.

ANDERSON, R. A. Wet milling properties of grains: bench-scale study. **Cereal Science Today**, v.8, p.190-195, 1963.

BETA, T.; CORKE, H.; TAYLOR, J.R.N.; LLOYD, W.R. Effect of steeping treatment on pasting and thermal properties of sorghum starches. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.78, n.3, p.303-306, 2001.

BISS, R.; COGAN, U. Sulfur dioxide in acid environment facilitates corn steeping. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.73, n.1, p.40-44, 1996.

COX, J. M.; MACMASTERS, M.M.; HILBERT, G.E. Effect of the sulfurous acid steep in corn wet milling. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.21, p.447-465, 1944.

DAILEY JR, O.D. Effect of lactic acid on protein solubilization and starch yield in corn wet-mill steeping: a study of hybrid effects. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.79,n.2, p.257-260, 2002.

DU, L.; LOPES-FILHO, J.F.; DANIELS, C.R.; ECKHOFF, S.R. Effect of selected organic and inorganic acids on corn wet milling yields. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.73, n.1, p.96-98, 1996.

DU, L.; RAUSCH, K.D.; YAN, P.; URIYO, E.A.M.; SMALL, A.D.; TUMBLESON, M.E.; FAUBION, J.M.; ECKHOFF, S.R. Comparison of alkali and conventional corn wet-milling: 1-kg procedures. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.76, p.811-815, 1999.

ECKHOFF, S.R. Corn wet milling manual. Decatur, IL: A.E. Staley Manufacturing Company.1989.

ECKHOFF, S.R., DU, L., YANG, P., RAUSCH, K.D., WANG, D.L., LI, B.H., TUMBLESON, M.E. Comparison between alkali and conventional corn wet-milling: 100g procedures. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 76, p.96-99, 1999.

ECKHOFF, S.R.; RAUSCH, K.D.; FOX, E.J.; TSO, C.C.; WU,X.;PAN,Z.;BURIAK, P. A laboratory wet milling procedure to increase reproducibility and accuracy of product yields. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.70, p.723-727, 1993.

ECKHOFF, S.R.; TSO, C.C. Wet-milling of corn using gaseous $SO_2$ addition before steeping and the effect of lactic acid on steeping. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 68, p.248-251, 1991.

ECKHOFF, S.R.; WU, X. Preliminary evaluation of the Westfalia high-pressure desintegration process for the wet milling of corn. **Wet Milling Notes**, Note n.2. Agricultural Engineering Departament, University of Illinois, Urbana, IL, 1989.

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

FAN, L.T.; CHU, P. S.; SHELLENBERGER, J.A.; CHUNG, D.S. Comparison of the rates of absorption of water by corn kernels with and without dissolved sulfur dioxide. **Cereal chemistry**, Saint Paul, v.42, n.4, p.385-396, 1965.

FANON, J.E.; HAUBER, R.J.; BeMILEER, J.N. Surface pores of starch granules. **Cereal chemistry**, Saint Paul, v.69, n.3, p.284-288, 1992.

FERRATO, F.H.S., JUNQUEIRA, T.C., LOPES FILHO, J. F. Hidratação do germe, endosperma e grão do milho em função da temperatura e concentrações de ácido lático e dióxido de enxofre na água de maceração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 26., 1997, Campina Grande. **Anais eletrtônicos do XXVI CONBEA**. Campina Grande:UFPB, 1997. Disponível em: cd-room – SBEA – XXVI CONBEA, CTP 006.

FERRATO, F.H.S., JUNQUEIRA, T.C., LOPES FILHO, J. F. Avaliação do rendimento, danificação e teor de óleo do germe de milho em função das concentrações de ácido lático e dióxido de enxofre na água de maceração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro:UFRJ, 1998.

FOX, E.J.; ECKHOFF, S.R. Wet milling of soft-endosperm high-lysine corn using short steep times. Manuscript, Department of Agricultural Engineering, University of Illinois, IL. 17p. 1992.

HAROS, M.; SUÁREZ, C. Effect of chemical pretreatments and lactic acid on the rate of water absorption and starch yield in corn wet-milling. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.76, n.5, p.783-787, 1999.

HUBER, K.C.; BeMILLER, J.N. Visualization of channels and cavities of corn and sorghum starch granules. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.74, n.5, p.537-541, 1997.

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

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

JOHNSTON, D. B.; SINGH, V. Use of proteases to reduce steep time and $SO_2$ requirements in a corn wet-milling process. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.78, n.4, p.405-411, 2001.

JULIANO, B.O.; PEREZ, C.M.; BLAKENEY,A.B.; CASTILLO, T.; KONGSEREE, N.; LAIGNELET, B.; LAPIS, E.T.; MURTY, V.V.S.; PAULE, C.M.; WEBB, B.D. International cooperative testing on the amylose content of milled rice. **Starch/Starke**, v.33,n.5, p.157-162, 1981.

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

KAWABATA, A.; TAKASE, N.; MIYOSHI, E.; SAWAYAMA, S.; KIMURA, T.; KUDO, K. Microscopic observation and x-ray diffractometry of heat/moisture-treated starch granules. **Starch/Starke**, v.46, n.12, p.463-469, 1994.

KNUTSON, C.A. Annealing of maize starches at elevated differencial temperatures. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.67, p.376-384, 1990.

KRIEGER, K.M.; DUVICK, S.A.; POLLAK, L.M.; WHITE, P.J. Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: microblender and homogenizer. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.74, n.5, p.553-555, 1997.

KROCHTA, J.M.; LOOK, K.T.; HUDSON, J.S.; PAVLATH, A.E. Extraction with ethanol as an energy-saving alternative to conventional drying of corn starch. **Journal of Food Science**, v.46, p.1054-1063, 1981.

KRUEGER, B. R.; KNUTSON, C. A.; INGLETT, G. E.; WALKER, C. E. A differential scanning calorimetry study on the effect of anneling on the gelatinization behavior of corn starch. **Journal of Food Science**, v.52, n.3, p.715-718, 1987.

LEACH, H. W.; McCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.36, p.534-544, 1959.

LEACH, H.W. Gelatinization of starch. In: WHISTLER, R.L.; PASCHALL, E.F.. **Starch: chemistry and technology.** New York: Academic Press. 1965, v.1, cap.12, p.289-307.

LING, D.; JACKSON, D.S. Corn wet milling with a commercial enzyme preparation. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.68, n.2, p.205-6, 1990.

LOPES-FILHO, J.F. **Intermittent milling and dynamic steeping process for corn starch recovery.** 1995. 104f. Tese (Ph. D. em Engenharia Agrícola). Universidade de Illinois, Urbana-Champaign, USA.

LOPES FILHO, J.F. Moagem úmida do milho para produção de amido e subprodutos. **Boletim SBCTA,** v.31, n.1, p.42-47, 1997.

LOPES-FILHO, J.F.; BRANDEMARTE, E.A. Maize germ recovery and quality using intermittent milling and dynamic steeping process. **Journal Agricultural Engineering Research.** 2002*(no prelo).*

LOPES FILHO, J.F.; BURUAK, P.; TUMBLESON, M.E.; ECKHOFF, S.R. Intermittent milling and dynamic steeping process for corn starch recovery. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.74, n.5, p.633-638, 1997.

MANZONI, M. S. J. **Influência da temperatura, níveis de dióxido de enxofre e ácido lático durante a maceração dinâmica e moagem intermitente para obtenção de subprodutos do milho.** 2000. 124 f. Tese (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – UNESP, São José do Rio Preto, SP.

MANZONI, M.S.J.; KRONKA, S.N.; LOPES-FILHO, J.F. Effect of steeping conditions (sulfur dioxide, lactic acid, and temperature) on starch yield, starch quality, and germ quality from the intermittent milling and dynamic steeping process (IMDS) for a Brazilian corn hybrid. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.79, n.1, p.120-124, 2002.

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.

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

MEHRA, S., SINGH,V., TUMBLESON, M.E., ECKHOFF, S.R. Effect of mill plate setting and number of dynamic steeping stages for intermittent milling and dynamic steeping (IMDS) process for corn. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.77, p. 209-212, 2000.

MEUSER, F., GERMAN, H., HUSTER, H. The use of high-pressure desintegration technique for extraction of starch from corn. In: HILL, R.D., MUNCKY, L. **New approaches to reserch on cereal carboydrates.** Amsterdan: Elsevier, 1985. p.161.

MISTRY, A.H.; ECKHOFF, S.R. Characteristics of alkali-extracted starch obtained from corn flour. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.69, n.3, p.296-303, 1992.

MUTHUKUMARAPPAN, K.; GUNASEKARAM, S. Above atmospheric hydration of corn. **Transactions of ASAE**, v.35, p.1885-1889, 1992.

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

PERERA, C.; LU, Z.; SELL, J.; JANE, J. Comparison of physicochemical properties and structures of sugary-2 cornstarch with normal and waxy cultivars. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.78, n.3, p.249-256, 2001.

PÉREZ, E.E.; BREENE, W.M.; BAHNASSEY, Y.A. Variations in the gelatinization profiles of cassava, sagu and arrowroot native starches as measured with different thermal and mechanical methods. **Starch/Starke,** v.50, p.70-72, 1998.

PÉREZ, O.E.; HAROS, M.; SUAREZ, C. Corn steeping: influence of time and lactic acid on isolation and thermal properties of starch. **Journal of Food Engineering**, v.48, p.251-256, 2001.

RAMOS, A.P. **Influência da temperatura na absorção de água, dióxido de enxofre e ácido lático durante a maceração do milho no processo de moagem úmida.** 2001. 92f. Tese (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – UNESP, São José do Rio Preto, SP.

RAUSCH, K.D.; SINGH, S.K.; ECKHOFF, S.R. Magnesiom bisulfite and sodium bisulfite as alternative steeping agents for wet milling. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.70, n.4, 489-490, 1993.

ROUSHDI, M.; GHALI, Y.; HASSANEAN, A. Factors improving steeping process of corn grains, part I. Effect of steeping process, artificial drying and scratching in storage. **Starch/Starke**, v.31, p. 80-81, 1979.



ROUSHDI, M.; GHALI, Y.; HASSANEAN, A. Factors improving steeping process of corn grains, part III. Conditions favoring lactic acid formation during corn stepping and its effect. **Starch/Starke**, v.33, p. 49-52, 1981

SAHAI, D.; JACKSON, D. S. Structure and chemical properties of partially heated starch granules. **Starch/Starke**, v.46, n. 12, p. 457-463, 1994.

SCHOCH, T. J. Swelling power and solubility of granular starches. **Cereal Chemistry**, v.36, p.106-108, 1959.

SETTI, T. Industrialização do milho no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DO MILHO E SORGO.19., 1992, Porto Alegre. Conferências. Porto Alegre, SAA, 1992. P. 176-185.

SHANDERA, D.L.; JACKSON, D.S. Effect of corn wet-milling conditions (sulfur dioxide, lactic acid and steeping temperature) on starch functionality. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.73, n.5, p.632-637, 1996.

SHANDERA, D.L.; PARKHURST, A.M.; JACKSON, D.S. Interactions of sulfur dioxide, lactic acid, and temperature during simulated corn wet milling. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.72, p.371-378,1995.

SINGH, N.; ECKHOFF, S.R. Wet milling of corn – A review of laboratory – scale and pilot plant-scale procedures. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.73, p.659-667,1996.

SINGH, S.K.; JOHNSON, L.A.; POLLAK, L.M.; FOX, S.R.; BAILEY, T.B. Comparison of laboratory and pilot-plant corn wet-milling procedures. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.74, p.40-48, 1997a.

SINGH, V.; HAKEN, A.E.; NIU, S.H.; ZOU, S.H.; ECKHOFF, S.R. Hybrid-dependent effect of lactic acid on corn starch yields. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.74, n.3, p.249-253 ,1997b

SINGH, V.; HAKEN, A.E.; DOWD, M.K.; NIU, Y.X.; ZOU, S.H.; ECKHOFF, S.R. Batch steeping of corn: effects os adding lactic acid and sulfur dioxide at different times on starch yields, protein contents and starch pasting properties. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.76, n.5, p.600-605, 1999.

SINGH, V.; MOREAU, R.A.; HICKS, K.B.; ECKHOFF, S.R. Effect of alternative milling techniques on the yield and composition of corn germ oil and corn fiber oil. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.78, n.1, p.46-49, 2001.

STELL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures os statistics.** 2.ed. New York: MacGrawlHill, 1980, 633p.

TAKEDA, Y.; SUZUKI, A.; HIZUKURI, S. Influence of steeping conditions for kernels on some properties of corn starch. **Starch/Starke**, v.40, n.8, p.132-135, 1988.

TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J. Annealing of starch – a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.27, p.01-12, 2000.

TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J.; SOMMERVILLE, M. D. Annealing of maize starch. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.287-299, 2000.

TESTER, R.F.; MORRISON, W.R. Swelling and gelatinization of cereal stacrhes. I.Effects of amylopectin, amylose and lipidis. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.67, n.6, p.551-557, 1990.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. Starch structure. In: **Starches - practical guides for the food industry.** Saint Paul, Minnesota: Eeagan Press. 1999, cap.1, p.1-11.

URIYO, E. A. M. **Properties of alkaline wet milled corn starch: effect of steeping temperature, steeping time and sodium hydroxide concentration.** 1997. 91 f. Dissertation-Abstracts-International,B; v.57, n.11,p.6682-6683,n.DA9714362.

WATSON, S.A. Corn and sorghum starches: production. In: WHISTLER, R.L.; PASCHALL; E.F. **Starch: chemistry and technology.** 2.ed. Orlando: Academic Press, 1984. v.1, cap.12, p.417-468.

WATSON, S.A. Corn Marketing, Processing, and Utilization In: SPRAGUE, G. F. **Corn and Corn Improvement.** Am. Soc. Agronomy, 1989.

WATSON, S.A. Manufacture of corn and milo starches. In: WHISTLER, R.L.; PASCHALL; E.F. **Starch: chemistry and technology.** New York: Academic Press. 1967, v.2, cap.1, p.1-48.

WATSON, S.A.; WILLIANS, C.B.; WAKELY, R.D. Laboratory steeping procedures used in a wet milling research program. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.28, p.105-118, 1951.

WESTFALIA SEPARATOR. AG, HD. Process for the extraction of corn starch, **Product literature distributed by the company,** 1989.

YANG, P.; ECKHOFF, S.R. Reducing steeping time by adding lactic acid during countercurrent steeping of corn with different initial moisture contents. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.77, n.5, p.529-534, 2000.

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

YANG, P.; DU, L.; WANG, D.L.; LI, B.H.; RAUSCH, K.D.; BURIAK, P.; ECKHOFF, S.R. Effect of alkali debranning, roller mill cracking and gap setting, and alkali steeping conditions on milling yields from a dent corn hybrid. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.77, n.2, p.128-132, 2000.

Anexos

# Anexos

# Anexo A

## Valores do teste F para o teor protéico residual, poder de inchamento (PI), porcentagem de solubilidade (%S) e teor de amilose do amido obtido pelo processo MDMI de moagem

| *Fatores* | *Teor Protéico* | *PI* | *%S* | *Teor de Amilose* |
|---|---|---|---|---|
| Ácido lático (A) | 13,01** | 3650,00** | 11655,10** | 0,65 $^{NS}$ |
| Dióxido (D) | 0,27 $^{NS}$ | 1997,30** | 46008,60** | 0,14 $^{NS}$ |
| Temperatura (T) | 0,52 $^{NS}$ | 13704,20** | 6886,37** | 0,83 $^{NS}$ |
| A x D | 0,48 $^{NS}$ | 3167,10** | 8913,57** | 0,27 $^{NS}$ |
| A x T | 0,23 $^{NS}$ | 1013,30** | 86651,30** | 16,77 ** |
| D x T | 0,07 $^{NS}$ | 5900,00** | 15886,90** | 0,19 $^{NS}$ |
| A x D x T | 0,08 $^{NS}$ | 10503,20** | 21172,5** | 4,30 * |

$^{NS}$ - Não significativo(P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo B

## Valores do teste F para as propriedades de pasta do amido obtido pelo processo MDMI de moagem

| *Fatores* | *Temper. Pasta* | *Tempo V. Máxima* | *Viscos. Máxima* | *Quebra* | *Setback* | *Viscos. Final* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ácido lático (A) | 3,19 $^{NS}$ | 33,89** | 12,00** | 158,10** | 108,40** | 107,70** |
| Dióxido (D) | 1,45 $^{NS}$ | 2,82 $^{NS}$ | 0,40 $^{NS}$ | 0,40 $^{NS}$ | 0,00 $^{NS}$ | 0,10 $^{NS}$ |
| Temperatura (T) | 1414,70** | 542,90** | 6,00 * | 376,50** | 3,60 $^{NS}$ | 2,70 $^{NS}$ |
| A x D | 0,27 $^{NS}$ | 2,74 $^{NS}$ | 1,20 $^{NS}$ | 0,10 $^{NS}$ | 7,90 * | 14,90** |
| A x T | 9,05** | 16,92** | 1,50 $^{NS}$ | 1,00 $^{NS}$ | 2,00 $^{NS}$ | 0,10 $^{NS}$ |
| D x T | 0,10 $^{NS}$ | 0,77 $^{NS}$ | 2,10 $^{NS}$ | 0,10 $^{NS}$ | 0,80 $^{NS}$ | 0,00 $^{NS}$ |
| A x D x T | 11,26** | 12,93** | 2,00 $^{NS}$ | 3,40 $^{NS}$ | 1,80 $^{NS}$ | 0,80 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)



# Anexo C

## Desdobramento da interação AxD, para estudo dos efeitos do dióxido de enxofre (D) em cada nível de ácido lático (A), e do ácido lático em cada nível de dióxido de enxofre sobre as propriedades de pasta do amido

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (Visc.Max.) | Q.M. (Setback) | Q.M. (Visc.Final) |
|---|---|---|---|---|
| Dióxido de Enxofre d. $A_0$ | 1 | 20,6721 $^{NS}$ | 68,2835 $^{NS}$ | 549,0041 * |
| Dióxido de Enxofre d. $A_1$ | 1 | 157,3846 * | 63,9792 $^{NS}$ | 383,9157 * |
| Ácido Lático d. $D_1$ | 1 | 114,8561 * | 1465,7848 ** | 6296,3555 ** |
| Ácido Lático d. $D_2$ | 1 | 40,6390 $^{NS}$ | 485,0340 ** | 1319,5037 ** |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo D

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do ácido lático (A) em cada combinação de $SO_2$ (D) e temperatura (T) sobre as propriedades de pasta do amido

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (Temp. de Pasta) | Q.M. (Tempo de Visc.Max.) |
|---|---|---|---|
| Ácido lático d. $D_1T_1$ | 1 | 1,0201 * | 0,0003 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_1T_2$ | 1 | 1,5376** | 0,0003 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_1T_3$ | 1 | 2,8056** | 0,2025** |
| Ácido lático d. $D_2T_1$ | 1 | 0,5256 $^{NS}$ | 0,0003 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_2T_2$ | 1 | 0,0100 $^{NS}$ | 0,0178 * |
| Ácido lático d. $D_2T_3$ | 1 | 0,1806 $^{NS}$ | 0,0100 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

# Anexo E

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do $SO_2$ (D) em cada combinação de ácido lático (A) e temperatura (T) sobre as propriedades de pasta do amido

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (Temp. de Pasta) | Q.M. (Tempo de Visc.Max.) |
|---|---|---|---|
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_1$ | 1 | 0,0756 $^{NS}$ | 0,0072 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_2$ | 1 | 0,9025 * | 0,0069 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_3$ | 1 | 0,8372 * | 0,0278** |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_1$ | 1 | 0,0001 $^{NS}$ | 0,0025 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_2$ | 1 | 0,1521 $^{NS}$ | 0,0011 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_3$ | 1 | 1,4042** | 0,0336** |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo F

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada combinação de ácido lático (A) e $SO_2$ (D) sobre as propriedades de pasta do amido

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (Temp. de Pasta) | Q.M. (Tempo de Visc.Max.) |
|---|---|---|---|
| Temperatura d. $A_0D_1$ | 2 | 66,2068** | 0,5951** |
| Temperatura d. $A_0D_2$ | 2 | 48,3921** | 0,3273** |
| Temperatura d. $A_1D_1$ | 2 | 34,5937** | 0,1673** |
| Temperatura d. $A_1D_2$ | 2 | 48,6733** | 0,2867** |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo G

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do ácido lático (A) em cada combinação de $SO_2$ (D) e temperatura (T) sobre o poder de inchamento (PI) e solubilidade (%S) a 95°C e sobre o teor de amilose do amido

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (PI) | Q.M. (%S) | Q.M. (Teor de Amilose) |
|---|---|---|---|---|
| Ácido lático d. $D_1T_1$ | 1 | 1,6384** | 6,3001** | 0,0462 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_1T_2$ | 1 | 1,5129** | 7,9806** | 0,4225 * |
| Ácido lático d. $D_1T_3$ | 1 | 0,0056** | 24,3049** | 1,5376** |
| Ácido lático d. $D_2T_1$ | 1 | 1,7424** | 91,1070** | 0,0121 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_2T_2$ | 1 | 10,8570** | 0,0306** | 0,1521 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_2T_3$ | 1 | 2,4025** | 11,0224** | 0,1296 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo H

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do $SO_2$ (D) em cada combinação de ácido lático (A) e temperatura (T) sobre o poder de inchamento (PI) e solubilidade (%S) a 95°C e sobre o teor de amilose do amido

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (PI) | Q.M. (%S) | Q.M. (Teor de Amilose) |
|---|---|---|---|---|
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_1$ | 1 | 2,1609** | 9,7656** | 0,0784 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_2$ | 1 | 0,1260** | 8,6730** | 0,0169 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_3$ | 1 | 2,1462** | 14,2129** | 0,2025 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_1$ | 1 | 1,2769** | 15,2881** | 0,0020 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_2$ | 1 | 17,3889** | 0,0030 * | 0,0169 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_2T_3$ | 1 | 0,0001 $^{NS}$ | 28,9444** | 0,1849 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo I

**Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada combinação de ácido lático (A) e $SO_2$ (D) sobre o poder de inchamento (PI) e solubilidade (%S) a 95°C e sobre o teor de amilose do amido**

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (PI) | Q.M. (%S) | Q.M. (Teor de Amilose) |
|---|---|---|---|---|
| Temperatura d. $A_0D_1$ | 2 | 4,8128** | 6,0835** | 0,5047** |
| Temperatura d. $A_0D_2$ | 2 | 0,5632** | 50,4675 ** | 0,0436 $^{NS}$ |
| Temperatura d. $A_1D_1$ | 2 | 5,7253** | 14,0470** | 0,5197** |
| Temperatura d. $A_1D_2$ | 2 | 7,8306** | 7,2162** | 0,1120 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo J

## Valores do teste F para as propriedades térmicas do amido obtido pelo processo MDMI de moagem

| *Teste F para Gelatinização* / *Fatores* | *To* | *Tp* | *Tc* | *ΔH* |
|---|---|---|---|---|
| Ácido lático (A) | 4,46 $^{NS}$ | 1,47 $^{NS}$ | 2,41 $^{NS}$ | 2,06 $^{NS}$ |
| Dióxido (D) | 0,06 $^{NS}$ | 0,99 $^{NS}$ | 0,59 $^{NS}$ | 1,33 $^{NS}$ |
| Temperatura (T) | 1019,11** | 760,17** | 242,99** | 1,72 $^{NS}$ |
| A x D | 0,90 $^{NS}$ | 2,41 $^{NS}$ | 4,27 $^{NS}$ | 0,79 $^{NS}$ |
| A x T | 2,71 $^{NS}$ | 0,13 $^{NS}$ | 0,41 $^{NS}$ | 2,65 $^{NS}$ |
| D x T | 2,56 $^{NS}$ | 1,10 $^{NS}$ | 0,25 $^{NS}$ | 2,66 $^{NS}$ |
| A x D x T | 6,37 * | 5,90 * | 2,75 $^{NS}$ | 0,03 $^{NS}$ |

| *Teste F para Retrogradação* / *Fatores* | *To* | *Tp* | *Tc* | *ΔH* | *% R* |
|---|---|---|---|---|---|
| Ácido lático (A) | 15,08** | 10,88** | 0,46 $^{NS}$ | 0,32 $^{NS}$ | 0,08 $^{NS}$ |
| Dióxido (D) | 1,94 $^{NS}$ | 0,04 $^{NS}$ | 0,43 $^{NS}$ | 3,80 $^{NS}$ | 1,56 $^{NS}$ |
| Temperatura (T) | 0,77 $^{NS}$ | 0,75 $^{NS}$ | 0,65 $^{NS}$ | 2,66 $^{NS}$ | 5,90* |
| A x D | 0,82 $^{NS}$ | 3,31 $^{NS}$ | 0,65 $^{NS}$ | 0,53 $^{NS}$ | 1,65 $^{NS}$ |
| A x T | 5,32 * | 0,88 $^{NS}$ | 0,50 $^{NS}$ | 0,22 $^{NS}$ | 2,03 $^{NS}$ |
| D x T | 3,93 * | 3,10 $^{NS}$ | 0,41 $^{NS}$ | 1,49 $^{NS}$ | 3,85 $^{NS}$ |
| A x D x T | 0,48 $^{NS}$ | 0,62 $^{NS}$ | 1,77 $^{NS}$ | 0,56 $^{NS}$ | 0,42 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)



# Anexo K

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do ácido lático (A) em cada combinação de $SO_2$ (D) e temperatura (T) sobre as propriedades térmicas do amido nativo

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (To) | Q.M. (Tp) |
|---|---|---|---|
| Ácido lático d. $D_1T_1$ | 1 | 0,0185 $^{NS}$ | 0,1739 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_1T_2$ | 1 | 0,5822** | 0,0586 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_1T_3$ | 1 | 0,0809 $^{NS}$ | 0,4865 * |
| Ácido lático d. $D_2T_1$ | 1 | 0,0008 $^{NS}$ | 0,0009 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_2T_2$ | 1 | 0,1714 $^{NS}$ | 0,1365 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $D_2T_3$ | 1 | 0,5366 * | 0,2003 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo L

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos do $SO_2$ (D) em cada combinação de ácido lático (A) e temperatura (T) sobre as propriedades do amido nativo

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (To) | Q.M. (Tp) |
|---|---|---|---|
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_1$ | 1 | 0,1384 $^{NS}$ | 0,2581 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_2$ | 1 | 0,5380 * | 0,1612 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_0T_3$ | 1 | 0,0001 $^{NS}$ | 0,4865 * |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_1$ | 1 | 0,0435 $^{NS}$ | 0,0038 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_2$ | 1 | 0,1967 $^{NS}$ | 0,0441 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $A_1T_3$ | 1 | 0,1945 $^{NS}$ | 0,2003 $^{NS}$ |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

cm 1 2 3 4 5 6 7 unesp 11 12 13 14 15 16 17 18

# Anexo M

## Desdobramento da interação AxDxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada combinação de ácido lático (A) e $SO_2$ (D) sobre as propriedades térmicas do amido nativo

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (To) | Q.M. (Tp) |
|---|---|---|---|
| Temperatura d. $A_0D_1$ | 2 | 12,8916** | 13,5404** |
| Temperatura d. $A_0D_2$ | 2 | 14,5194** | 11,7537** |
| Temperatura d. $A_1D_1$ | 2 | 14,7805** | 11,3812** |
| Temperatura d. $A_1D_2$ | 2 | 18,7857** | 14,2209** |

$^{NS}$ - Não significativo (P>0,05) * - significativo (P<0,05) ** - significativo (P<0,01)

# Anexo N

## Desdobramento da interação AxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada nível de ácido lático (A), e do ácido lático em cada nível de temperatura sobre as propriedades térmicas do amido retrogradado

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (*To*) |
|---|---|---|
| Temperatura d. $A_0$ | 2 | 0,6098 $^{NS}$ |
| Temperatura d. $A_1$ | 2 | 3,0128 * |
| Ácido lático d. $T_1$ | 1 | 0,0060 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $T_2$ | 1 | 2,2472 $^{NS}$ |
| Ácido lático d. $T_3$ | 1 | 12,0560** |

$^{NS}$-Não significativo (P>0,05) *-significativo (P<0,05) **-significativo (P<0,01)

# Anexo O

## Desdobramento da interação DxT, para estudo dos efeitos da temperatura (T) em cada nível de dióxido de enxofre (D), e do dióxido de enxofre em cada nível de temperatura sobre as propriedades térmicas do amido retrogradado

| Causas de Variação | G.L. | Q.M. (To) |
|---|---|---|
| Temperatura d. $D_1$ | 2 | 2,0956 $^{NS}$ |
| Temperatura d. $D_2$ | 2 | 0,7000 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $T_1$ | 1 | 0,1152 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $T_2$ | 1 | 0,5618 $^{NS}$ |
| Dióxido de enxofre d. $T_3$ | 1 | 5,1520 * |

$^{NS}$-Não significativo (P>0,05) *-significativo (P<0,05) **-significativo (P<0,01)


cm 1 2 3 4 5 6 7
unesp
11 12 13 14 15 16 17 18