

JAQUELINE DE MORAES

**EFEITO DA MOAGEM EM MOINHO DE BOLAS E DO
TRATAMENTO TÉRMICO COM BAIXA UMIDADE SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DOS
AMIDOS DE MANDIOCA E MANDIOQUINHA-SALSA**

São José do Rio Preto - SP

2012

JAQUELINE DE MORAES

**EFEITO DA MOAGEM EM MOINHO DE BOLAS E DO
TRATAMENTO TÉRMICO COM BAIXA UMIDADE SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DOS
AMIDOS DE MANDIOCA E MANDIOQUINHA-SALSA**

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

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

São José do Rio Preto - SP

2012

JAQUELINE DE MORAES

**EFEITO DA MOAGEM EM MOINHO DE BOLAS E DO
TRATAMENTO TÉRMICO COM BAIXA UMIDADE SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DOS
AMIDOS DE MANDIOCA E MANDIOQUINHA-SALSA**

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

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Célia Maria Landi Franco
(Presidente/Orientadora – DETA/IBILCE)

Profª. Dra. Silene Bruder Silveira Sarmento
(2ª Examinadora – LAN/ESALQ)

Profª. Dra. Fernanda Helena Gonçalves Peroni Okita
(3º Examinadora – FCF/USP)

São José do Rio Preto, 27 de fevereiro de 2012

*Dedico este trabalho àqueles que
construíram minha base, meus pais
Aurora e Alceu, meus “irmãos” Juliane,
Jorge, Josiane e Marlon e meus sobrinhos
Pedro, Lucas, João, Luís, Otávio e
Vicente.*

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento desse projeto contou com a colaboração e apoio, direta ou indiretamente, de um grande número de pessoas que tornaram possível a sua conclusão e fizeram mais leve o tempo em que ele se desenrolou a quem faço meus sinceros agradecimentos.

Em especial à professora Célia Maria Landi Franco pela orientação, pelo tempo e atenção dedicados a este projeto, pela confiança depositada e pela segurança que me passou durante o desenvolvimento dessa pesquisa.

Às colegas de laboratório Marina Costa, Raquel Campanha, Larissa Pepe, Mariana Costa, Ana Karla Gonçalves e Taís Rocha, pela grande ajuda na execução de análises, por todas as discussões extremamente enriquecedoras, mas principalmente pelo companheirismo e pelo excelente ambiente que tornaram esse trabalho mais fácil e mais prazeroso.

Às alunas de iniciação científica Rafaela e Florence pela ajuda no desenvolvimento do projeto, pelo comprometimento e empenho.

Aos técnicos do departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos por toda a ajuda.

À Poliana Moser e Catierine Werle pela amizade especial, por todas as conversas, desabafos ouvidos e pelos bons momentos divididos.

Àquelas que há muito tempo me oferecem sua amizade e apoio mesmo estando distantes, Cristiane Bourscheid, Aline de Sordi, Dayane Moresco, Fabiane Schuster e Fabiana Albuquerque.

À Juliane Viganó uma amiga muito especial a quem devo muito pelo companheirismo, apoio, força e pelas boas histórias guardadas nos últimos sete anos.

À minha família, meus pais, meus irmãos e meus sobrinhos, pelo amor e incentivo que conseguiram fazer presente apesar da distância. Por sempre acreditarem e apoiarem minhas decisões mesmo sem entendê-las.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil, pelo suporte financeiro através dos processos 2010/09942-0 e 2009/12007-4.

E principalmente a Deus, por sempre me lembrar que está ao meu lado e por providenciar que todas essas pessoas estivessem no meu caminho.

Muito obrigada.

*“Mas nós vibramos em outra frequência,
sabemos que não é bem assim
Se fosse fácil achar o caminho das pedras,
tantas pedras no caminho não seria ruim.”
(Humberto Gessinger)*

RESUMO

Amidos com regiões cristalinas menos extensas podem ser usados em diversas aplicações industriais, pois apresentam maior solubilidade a frio, menor temperatura de gelatinização e maior reatividade. O tratamento térmico a baixa umidade (TTBU) e a moagem em moinho de bolas são métodos de modificação física que podem resultar em alterações na região cristalina dos amidos. O objetivo deste projeto foi investigar as alterações físico-químicas e estruturais provocadas pelos dois tratamentos em amidos de mandioquinha-salsa e mandioca. O TTBU foi realizado com amidos condicionados a 30 e 35 % de umidade a 90° C por 8 horas. A moagem em moinho de bolas dos amidos foi realizada durante 2, 4, 8, 16 e 32 horas. As propriedades físico-químicas e estruturais dos amidos foram determinadas. A moagem em moinho de bolas provocou alterações nas propriedades dos amidos, principalmente após 8 h de tratamento. Os resultados obtidos por HPAEC-PAD, GPC e teor de amilose indicaram o rompimento das pontes de hidrogênio e ligações glicosídicas α (1 $\rightarrow$ 6) das moléculas de amido. A partir dos difractogramas de raios-X foi observado que a área cristalina dos grânulos de amido reduziu com a moagem, o que foi confirmado pela redução da cristalinidade nos amidos moídos. Grânulos de ambos os amidos moídos a partir de 2 h apresentaram fissuras que foram observadas por MEV e fragmentos de grânulos foram gerados nos maiores tempos de moagem resultando no aumento do ISA e redução do IAA. Os perfis de RVA mostraram redução nas viscosidades de pico, de quebra e final e desenvolvimento de viscosidade inicial com o aumento do tempo de moagem. As temperaturas de gelatinização reduziram com o aumento do tempo de moagem bem como as variações de entalpia devido à dissociação das pontes de hidrogênio. Esses resultados confirmaram a gelatinização parcial dos amidos, que foi de 82,57 % para o amido de mandioquinha-salsa e 65,37 % para o amido de mandioca, após 32 h de moagem. O amido de mandioquinha-salsa foi mais afetado pela moagem devido a seu menor conteúdo de amilose e a presença de defeitos em sua estrutura cristalina. O TTBU não provocou alterações na distribuição do comprimento das cadeias laterais da amilopectina, distribuição do tamanho molecular e teor de amilose dos amidos, indicando que não houve degradação das ligações glicosídicas. O padrão cristalino do amido de mandioca foi alterado de C_A para A e o de mandioquinha-salsa de B para C, enquanto a cristalinidade reduziu nos amidos de

mandioquinha-salsa condicionados a 30 e 35 % de umidade e no amido de mandioca condicionado a 35 % de umidade. Porém ela aumentou no amido de mandioca condicionado a 30 % de umidade. A morfologia dos grânulos, observada por MEV, permaneceu inalterada com o tratamento, no entanto observou-se a formação de aglomerados de grânulos no amido de mandioca condicionado a 35 % de umidade e nos amidos de mandioquinha-salsa condicionados a 30 e 35 % de umidade devido à gelatinização parcial dos grânulos que ocorreu com o TTBU. A solubilidade (ISA) e índice de absorção de água (IAA) de ambos os amidos aumentaram e o fator de expansão (FE) reduziu. Houve redução nas viscosidades de pico e de quebra, aumento na viscosidade final e na tendência a retrogradação para todos os amidos tratados. As temperaturas de pico de gelatinização aumentaram e a variação de entalpia reduziu. Esses resultados sugeriram o fortalecimento das regiões cristalinas dos grânulos provocado pelo TTBU.

PALAVRAS-CHAVE: amido, estrutura, moagem, tratamento hidrotérmico, gelatinização.

ABSTRACT

Starches with less extensive crystalline regions can be used in different industrial applications, since they have higher solubility, lower gelatinization temperature and higher reactivity. Heat-moisture treatment (HMT) and ball milling are physical modification methods that can result in changes in the crystalline region of the starch. The objective of this project was to investigate the physicochemical and structural changes caused by these treatments in Peruvian carrot and cassava starches. The HMT was performed with starch conditioned at 30 and 35% moisture and kept at 90 °C for 8 hours. The ball milling of starches was performed for 2, 4, 8, 16 and 32 hours. The physicochemical and structural characteristics of the starches were determined. The ball milling altered the properties of the starches, especially after 8 h. Results obtained from HPAEC-PAD, GPC and amylose content indicated a breaking of hydrogen bounds and α (1 $\rightarrow$ 6) glycoside linkages of the starch molecules. X-ray diffractograms showed that the crystalline area of the starch granules was reduced by the ball milling. Fissures in the granules were seen under SEM after milling and granule fragments were generated. There was an increase in the WSI and WAI of the starches that was positively correlated with an increase in the length of time that the starch was milled. RVA profiles showed a reduction of peak, breakdown, and final viscosities, as well as the development of initial viscosity. Gelatinization temperatures reduced as the starch's amount of time in the ball milling increased, and there was also a reduction in enthalpy due to the dissociation of hydrogen bounds. These results confirmed a partial gelatinization of the starches, which was 82.57 % for Peruvian carrot and 65.37 % for cassava starches after 32 h of milling. The Peruvian carrot starch was the more affected by ball milling because of both its lower amylose content and the defects in the crystalline structure of this starch. The HMT did not change the distribution of branched chains of amylopectin, molecular size distribution and amylose content of starches, indicating there was no degradation of glycosidic linkages during treatment. The crystalline patterns of cassava and Peruvian carrot starches changed from C_A to A and from B to C respectively, while the relative crystallinity decreased in the Peruvian Carrot starch conditioned at 30 and 35% moisture and in the cassava starch

conditioned at 35 % moisture. However, it increased in the cassava starch conditioned at 30% moisture. The morphology of the granules observed by SEM was not altered by treatment, however it was observed the formation of agglomerates in the cassava starch conditioned at 30% moisture and in the Peruvian carrot starches conditioned at 30 and 35% moisture due to partial gelatinization of these starches during HMT. The water solubility (WSI) and water absorption indices (WAI) of both starches increased and the expansion factor (EF) decreased. There was a decrease in peak and breakdown viscosities, and an increase in final viscosity and setback for all treated starches. The gelatinization temperature increased and enthalpy reduced. These results suggested the strengthening of the crystalline regions of the granules caused by HMT.

Keywords: *starch, structure, ball milling, heat-moisture treatment, gelatinization*

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 2.1: Representação esquemática da estrutura de um fragmento da amilose.</i>	19
<i>Figura 2.2: Estrutura helicoidal da amilose.</i>	20
<i>Figura 2.3: Representação esquemática da estrutura da amilopectina.</i>	20
<i>Figura 2.4: Características essenciais da estrutura da amilopectina.</i>	21
<i>Figura 2.5: Anéis de crescimento no grânulo; Estrutura da amilopectina na formação de regiões amorfas e cristalinas; Arranjos de empacotamento dos padrões cristalinos A e B.</i>	22
<i>Figura 2.6: Estrutura proposta para amilopectina de batata.</i>	23
<i>Figura 2.7: Diagrama esquemático dos “clusters” de cadeias laterais de amilopectina na lamela cristalina. C, lamela cristalina; A, lamela amorfa; a, regiões amorfas entre os “clusters” cristalinos.</i>	24
<i>Figura 2.8: Representação esquemática da estrutura do grânulo de amido.</i>	25
<i>Figura 4.1: Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina nos amidos nativos de mandioquinha-salsa e mandioca determinada por HPAEC-PAD.</i>	47
<i>Figura 4.2: Perfis de eluição dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa moídos durante 0 h, 8 h, 16 e 32 h obtidos por cromatografia de permeação em gel Sepharose CL2B.</i>	50
<i>Figura 4.3: Difractogramas de raios-X e cristalinidade relativa dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos durante 0 h, 4 h, 8 h, 16 h e 32 h.</i>	54
<i>Figura 4.4: Microscopia óptica dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0h, 2h, 4 h, 8 h, 16 h e 32h.</i>	57
<i>Figura 4.5: Microscopia óptica sob luz polarizada dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e moídos em moinho de bolas por 2h, 4 h, 8 h, 16 h e 32h.</i>	58
<i>Figura 4.6 : Microscopia Eletrônica de Varredura dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e moídos em moinho de bolas por 2h, 4 h, 8 h, 16 h e 32h com aumentos de 1000 x e 2000 x.</i>	59
<i>Figura 4.7: Índice de absorção de água dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em diferentes tempos.</i>	60
<i>Figura 4.8: Porcentagem de solubilidade em água fria dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em diferentes tempos.</i>	61
<i>Figura 4.9: Perfil viscoamilográfico dos amidos de mandioquinha – salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h e 32 h obtidos por RVA.</i>	64
<i>Figura 4.10: Perfil endotérmico dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0 h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h e 32 h determinados por DSC.</i>	66
<i>Figura 4.11: Perfil de eluição dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU com teor de umidade de 30 e 35 % obtidos por cromatografia de permeação em gel Sepharose CL2B.</i>	69

<i>Figura 4.12: Difractogramas de raios-X dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e modificados por TTBU com 30 % e 35 % de umidade com suas respectivas cristalinidades relativas.</i>	<i>71</i>
<i>Figura 4.13: Microscopia óptica dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos, e tratados por TTBU com umidade de 30 % e tratados por TTBU com umidade de 35 %</i>	<i>72</i>
<i>Figura 4.14: Microscopia óptica com luz polarizada dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos, e tratados por TTBU com umidade de 30 % e tratados por TTBU com umidade de 35 %</i>	<i>73</i>
<i>Figura 4.15: Microscopia eletrônica de varredura dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos, e tratados por TTBU com umidade de 30 % e tratados por TTBU com umidade de 35 % com aumentos de 2000 x e 1000 x.</i>	<i>73</i>
<i>Figura 4.16: Índice de absorção de água dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU.</i>	<i>74</i>
<i>Figura 4.17: Porcentagem de solubilidade em água fria dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU.</i>	<i>75</i>
<i>Figura 4.18: Perfil viscoamilográfico dos amidos mandioquinha – salsa e mandioca nativos, e modificados por TTBU com 30% e 35 % de umidade.</i>	<i>77</i>
<i>Figura 4.19: Perfil endotérmico dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa nativos e tratados por TTBU com 30 % e 35 % de umidade determinados por DSC.</i>	<i>79</i>

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 4.1: Composição química dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa nativos</i>	<i>45</i>
<i>Tabela 4.2: Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos</i>	<i>48</i>
<i>Tabela 4.3: Afinidade por iodo e teor de amilose aparente dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.....</i>	<i>51</i>
<i>Tabela 4.4: Viscosidade intrínseca dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabela 4.6: Fator de expansão dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.</i>	<i>62</i>
<i>Tabela 4.7: Propriedades de pasta dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabela 4.8: Propriedades de gelatinização dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 4.9: Grau de gelatinização dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 4.10: Distribuição do comprimento das cadeias de amilopectina dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e modificados por TTBU.</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 4.11: Afinidade por iodo e teor de amilose aparente dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e modificados por TTBU</i>	<i>70</i>
<i>Tabela 4.13: Fator de expansão dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU.</i>	<i>76</i>
<i>Tabela 4.14: Propriedades de pasta dos amidos nativos e tratados por TTBU.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabela 4.15: Propriedades de gelatinização dos amidos nativos e modificados por TTBU</i>	<i>79</i>
<i>Tabela 4.16: Grau de gelatinização dos amidos tratados por TTBU</i>	<i>80</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 O AMIDO	18
2.1.1 <i>Estrutura do amido</i>	18
2.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS AMIDOS	25
2.3 AMIDOS MODIFICADOS	27
2.3.1 <i>Moagem em moinho de bolas</i>	29
2.3.2 <i>Tratamento Térmico a Baixa Umidade</i>	31
2.4 MANDIOQUINHA-SALSA	33
2.5 MANDIOCA.....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 MATERIAL.....	35
3.2 MÉTODOS.....	35
3.2.1 <i>Extração dos amidos</i>	35
3.2.2 <i>Caracterização dos amidos</i>	35
3.2.2.1 <i>Composição química</i>	35
3.2.3 <i>Tratamentos físicos dos amidos</i>	36
3.2.3.1 <i>Moagem em moinho de bolas</i>	36
3.2.3.2 <i>Tratamento térmico a baixa umidade (TTBU)</i>	36
3.2.4 <i>Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina</i>	37
3.2.4.1 <i>Desramificação dos amidos</i>	37
3.2.4.2 <i>Cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detecção de pulso amperométrico (HPAEC-PAD)</i>	37
3.2.5 <i>Distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos por Cromatografia de permeação em gel (GPC)</i>	38
3.2.6 <i>Teor de Amilose</i>	39
3.2.6.1 <i>Isolamento da amilopectina</i>	39
3.2.6.2 <i>Determinação do teor de amilose aparente e absoluto</i>	39
3.2.7 <i>Viscosidade Intrínseca</i>	40
3.2.8 <i>Difração de raios-X e Cristalinidade relativa</i>	40
3.2.9 <i>Microscopia óptica, óptica com luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura</i>	41
3.2.10 <i>Índice de absorção (IAA) e Solubilidade em água (ISA)</i>	41
3.2.11 <i>Fator de expansão (FE)</i>	42

3.2.12 Propriedades de pasta	43
3.2.13 Propriedades térmicas	43
3.2.14 Determinação do grau de gelatinização	43
3.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	45
4.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E FÍSICO-QUÍMICA DOS AMIDOS MODIFICADOS POR MOAGEM EM MOINHO DE BOLAS	46
4.2.1 Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina	46
4.2.2 Distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos por cromatografia de permeação em gel (GPC)	49
4.2.3 Teor de Amilose	51
4.2.4 Viscosidade Intrínseca	52
4.2.5 Difração de raios-X e Cristalinidade relativa	54
4.2.6 Microscopia óptica, óptica com luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura	55
4.2.7 Índice de absorção (IAA) e solubilidade em água (ISA)	60
4.2.8 Fator de expansão	61
4.2.9 Propriedades de pasta	63
4.2.10 Propriedades Térmicas	64
4.2.11 Determinação do Grau de gelatinização	67
4.3 TRATAMENTO TÉRMICO A BAIXA UMIDADE	68
4.3.1 Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina	68
4.3.2 Distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos por cromatografia de permeação em gel (GPC)	68
4.3.3 Teor de amilose	69
4.3.4 Difração de raios-X e cristalinidade relativa	70
4.3.5 Microscopia óptica, óptica com luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura	71
4.3.6 Índice de absorção e solubilidade em água	74
4.3.7 Fator de expansão	75
4.3.8 Propriedades de pasta	76
4.3.9 Propriedades Térmicas	78
4.3.10 Determinação do grau de gelatinização	80
5 CONCLUSÕES	82
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

1 INTRODUÇÃO

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

O amido usado como ingrediente pode agregar valor calórico, melhorar as propriedades funcionais em sistemas alimentícios e desempenhar funções importantes no controle das características de um grande número de alimentos processados. Dependendo de suas características, conforme sua origem botânica, pode facilitar o processamento, fornecer textura, servir como espessante, fornecer sólidos em suspensão e proteger os alimentos durante o processamento.

Dependendo do tipo de aplicação do amido, diferentes características funcionais são necessárias e assim, fontes botânicas alternativas para a produção de amido têm sido investigadas.

A estrutura molecular do grânulo de amido pode reforçar ou limitar o alcance de sua aplicação, por ser ela a responsável pelas propriedades funcionais do amido. Em sua forma nativa o amido tem seu campo de aplicação limitada, sendo necessário utilizar de meios de modificação a fim de obter características específicas para cada aplicação.

Os amidos podem ser modificados através de métodos químicos, físicos ou enzimáticos. No entanto os métodos físicos apresentam vantagens em relação aos outros métodos, são considerados seguros por não envolverem o uso de reagentes químicos, não geram resíduos que necessitam de tratamento, além de não apresentarem restrições pela legislação quanto às quantidades adicionadas em produtos alimentícios, o que torna crescente o interesse nesses métodos de modificação (MARTÍNEZ-BUSTOS et al., 2007; DEVI et al., 2009; KAUR et al., 2012).

O mercado busca amidos com regiões cristalinas menos extensas para diversas aplicações, tais como elaboração de produtos instantâneos, pois os mesmos apresentam melhores propriedades físico-químicas e maior reatividade. A moagem em moinho de bolas e o tratamento térmico a baixa umidade são dois métodos de modificação física que podem ser utilizados tendo em vista a alteração da estrutura cristalina do amido.

A moagem em moinho de bolas utiliza de fricção, colisão, choque, cisalhamento ou outras formas de ação mecânica para modificar a estrutura cristalina e consequentemente as propriedades dos grânulos de amido (DIOP et al., 2011; LIU et al., 2011; KAUR et al., 2012). O tratamento pode resultar em mudanças gradativas na estrutura molecular, estrutura cristalina, solubilidade em água, características térmicas, morfológicas e digestibilidade dos amidos (HUANG et al., 2007; DHITAL; SHRESTHA; GIDLEY, 2010; KAUR et al., 2012). Nesse processo a região cristalina é degradada, podendo ocorrer despolimerização e aumento da área amorfa, mesmo com o processo acontecendo à temperatura ambiente e a seco (KIM et al., 2001; ANZAI et al., 2011; LIU et al., 2011).

O tratamento térmico com baixa umidade consiste em manter os grânulos de amido a baixos níveis de umidade (menores que 35%), durante certo período de tempo a temperaturas superiores à temperatura de transição vítrea, mas inferiores à temperatura de gelatinização naquela umidade. O tratamento provoca uma reorganização da estrutura molecular sem destruir o grânulo, podendo, dependendo das condições utilizadas, modificar as propriedades físico-químicas, padrões de raios-X, cristalinidade, interações entre as cadeias de amido, inchamento dos grânulos, propriedades de pasta, resistência a hidrólise ácida e enzimática e características de gel (VIEIRA; SARMENTO, 2008).

Este trabalho teve como objetivo investigar o efeito do tempo de moagem em moinho de bolas e do TTBU em diferentes condições de umidade sobre as características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioca e mandioquinha-salsa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O AMIDO

O amido é um polímero de elevada massa molecular e fornece de 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem. Além de ser facilmente convertido em muitas substâncias por processos químicos e bioquímicos, possui papel importante em vários campos da vida humana.

Formado unicamente de resíduos de α -D-glicose, unidos por ligações glicosídicas (BULEÓN et al., 1998), o amido é um carboidrato encontrado em abundância na natureza, só competindo em quantidade com a celulose. É a fonte de reserva mais importante de todas as plantas, presente em sementes, raízes, tubérculos, cereais e frutas. Ocorre naturalmente na forma de partículas discretas, denominadas grânulos, compostos por uma mistura de dois polímeros: amilose e amilopectina, em proporções que variam com a espécie e o grau de maturação da planta (WHISTLER; BeMILLER, 1997). Os grânulos são estruturas semicristalinas, com regiões cristalinas associadas à amilopectina e regiões amorfas à amilose (ZOBEL, 1988; SINGH et al., 2003).

Os amidos apresentam características físicas e químicas e qualidade nutricional superiores, quando comparados com outros carboidratos (WHISTLER; BeMILLER, 1997), e suas propriedades físico-químicas e funcionais estão diretamente relacionadas às características estruturais do grânulo, as quais dependem da fonte botânica, local e condições de crescimento, entre outros fatores (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; SLATERRY; KAVAKLY; OKITA, 2000).

A funcionalidade do amido é função principalmente da amilose e amilopectina, assim como de sua organização física dentro da estrutura granular (LAJOLO; MENEZES, 2006). A proporção entre estes polímeros varia com a fonte botânica. Além dos dois polímeros principais, em alguns amidos um material denominado de material intermediário tem sido encontrado. Com estrutura bastante heterogênea, que consiste de cadeias lineares com grau de polimerização (DP) variando entre 50 a 200, este material apresenta algumas ramificações de baixo peso molecular e cadeias mais extensas que as da amilopectina (BILIADERIS, 1991).

2.1.1 Estrutura do amido

A amilose é formada por uma cadeia linear de unidades de α -D-glicose unidas por aproximadamente 99% de ligações α (1 $\rightarrow$ 4) que pode conter de 350 a 6000 unidades de

glicose (Figura 2.1). Apenas alguns pontos de ramificação, entre nove e vinte, formados por ligações α (1 $\rightarrow$ 6), estão presentes (JANE, 2003; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). O número de ramificações das moléculas de amilose depende do tamanho e da fonte botânica do amido. Amidos de cereais apresentam amilose de menor tamanho molecular do que amidos de raízes e tubérculos (JANE, 2006).

Em uma das extremidades da cadeia polimérica a unidade terminal de glicose apresenta uma hidroxila primária e duas secundárias, assim como um grupamento aldeído redutor na forma de um hemiacetal interno, denominado final redutor da molécula. A extremidade oposta, ou final não redutor, apresenta uma unidade de glicose contendo uma hidroxila primária e três secundárias. As outras unidades de glicose do polímero apresentam uma hidroxila primária e duas secundárias (FRANCO et al., 2001).

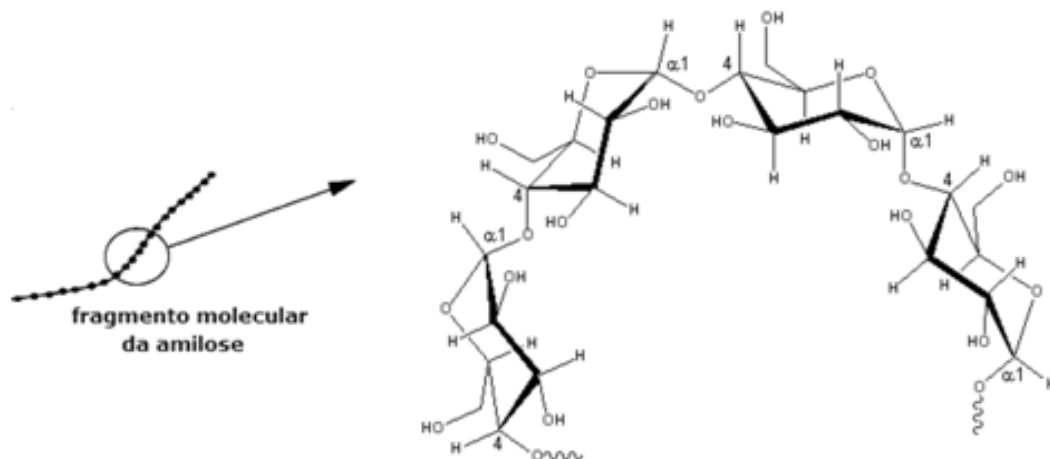


Figura 2.1: Representação esquemática da estrutura de um fragmento da amilose. Adaptado de Taggart (2004).

As ramificações presentes na molécula de amilose são separadas por grandes distâncias, o que permite que o comportamento da molécula seja essencialmente linear, não sendo responsáveis por alterações em características como massa molecular e capacidade de formar complexos com iodo, álcoois ou lipídeos (BULÉON et al., 1998).

A amilose apresenta-se em conformação helicoidal, pois as cadeias de α -D-glicose enroam-se de modo espiral, formando uma α -hélice pelas pontes de hidrogênio entre os radicais hidroxilas das moléculas. No interior da α -hélice estão localizados os átomos de hidrogênio, que a tornam lipofílica, enquanto os grupos hidroxilas ficam posicionados na

superfície externa. A hélice é constituída em média por seis resíduos de glicose em cada volta (Figura 2.2). As moléculas de amilose apresentam maior tendência a retrogradação e produzem géis rígidos e filmes fortes enquanto que a amilopectina produz géis flexíveis e filmes fracos (HOOVER, 2001; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).



Figura 2.2: Estrutura helicoidal da amilose. Adaptado de Zeeman, Kossmann e Smith (2010).

A amilopectina é um polímero maior que a amilose, que contém entre 10 mil e 500 mil unidades de glicose, que apresenta estrutura esférica altamente ramificada, constituída por centenas de cadeias lineares contendo 20 a 30 unidades de α -D-glicose unidas por ligações α (1 $\rightarrow$ 4). Essas cadeias são unidas entre si através de ligações glicosídicas α (1 $\rightarrow$ 6), que representam entre 5 e 6% do total (Figura 2.3) (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004; LAJOLO, MENEZES, 2006).

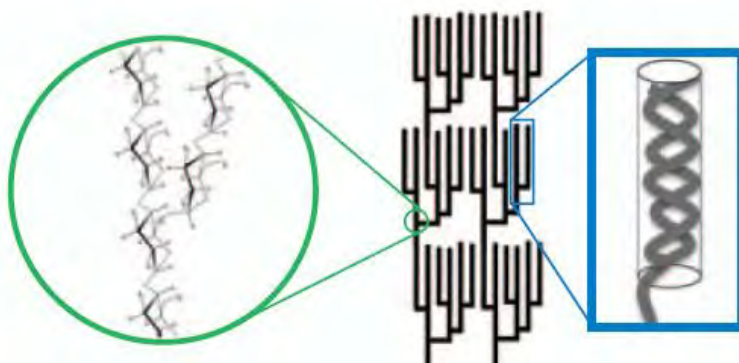


Figura 2.3: Representação esquemática da estrutura da amilopectina. Adaptado de Zeeman, Kossmann e Smith (2010).

As ligações ramificadas da amilopectina formam duplas hélices que são arranjadas em domínios cristalinos (Figura 2.3). Essas ramificações apresentam diferentes comprimentos e são classificadas como cadeias A, B e C (Figura 2.4). Uma molécula de amilopectina consiste de uma cadeia principal C, que carrega o grupo redutor da molécula, e numerosas cadeias ramificadas A e B. As cadeias A são aquelas que são conectadas a outras cadeias via ligações α (1 $\rightarrow$ 6), mas não apresentam qualquer ramificação. Cadeias B são aquelas conectadas a outras cadeias também via ligações α (1 $\rightarrow$ 6), e que possuem uma ou mais cadeias A ou B ligadas a ela através de ligações α (1 $\rightarrow$ 6) (BULÉON et al., 1998; FRANCO et al., 2001).

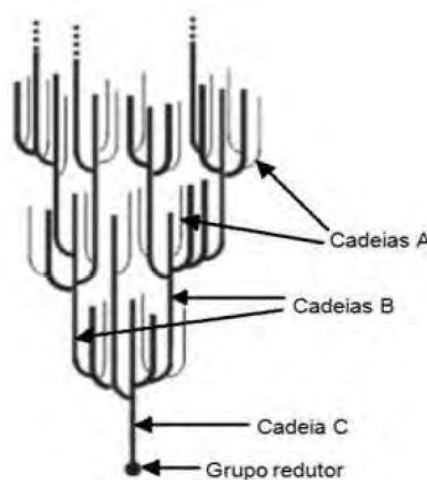


Figura 2.4: Características essenciais da estrutura da amilopectina Adaptado de Sajilata, Singhal e Kulkarni (2006).

A amilose e a amilopectina são organizadas em grânulos de amido. Esses grânulos são estruturas semicristalinas compostas de macromoléculas arranjadas na direção radial, associadas paralelamente formando pontes de hidrogênio, que resulta no aparecimento de regiões cristalinas ou micelas (Figura 2.5). Os grânulos de amido são formados por camadas concêntricas amorfas e semi-cristalinas alternadas com espessura entre 100 e 400 nm, que são denominadas anéis de crescimento (PEREZ; BERTOFT, 2010). Quando vistos sob luz polarizada os grânulos apresentam uma típica cruz de Malta, devido a sua birrefringência resultante do alto grau de organização molecular (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004; PEREZ; BERTOFT, 2010).

As áreas cristalinas mantêm a estrutura dos grânulos, controlam seu comportamento na água e os tornam relativamente resistentes ao ataque enzimático e químico (CIACCO; CRUZ, 1982; BILIADERIS, 1991). A fase gel ou região amorfa é menos densa que a cristalina, mais

suscetível a modificações químicas e enzimáticas e absorve água mais prontamente em temperaturas inferiores a temperatura de gelatinização (BILIADERIS, 1991).

A ordem cristalina dos grânulos de amido é o fator básico que influencia as propriedades funcionais. O colapso da ordem cristalina dos grânulos manifesta mudanças irreversíveis nas suas propriedades, tais como inchamento do grânulo, perda de birrefringência óptica, desenrolamento e dissociação da dupla hélice e solubilidade do amido (SINGH et al., 2003).

Grânulos de amido apresentam estruturas cristalinas com padrões de difração de raios-X específicos, sendo classificados como dos tipos A, B ou C. A forma polimórfica do tipo C é provavelmente a mistura dos tipos A e B em diversas proporções, podendo ser classificada como C_A e C_B de acordo com sua proximidade com os polimorfismos tipo A ou B. (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; HIZUKURI et al. 1997). Sarko e Wu (1978) propuseram uma estrutura cristalina para amilose A e B, baseada em duplas hélices, de fios paralelos, voltada para o lado direito, com 6 unidades glicosídicas por volta. Na unidade celular estas duplas hélices encontram-se empacotadas. Para os dois tipos polimorfos, A e B, a conformação das duplas hélices é a mesma. Contudo as diferenças estão no empacotamento cristalino e no teor de água. A amilose A apresenta uma unidade celular ortorrômbica, com 8 moléculas de água e a amilose B, uma unidade celular hexagonal com 36 moléculas de água ocupando um canal central (Figura 2.5). A estrutura C é intermediária entre as formas A e B na densidade do empacotamento.

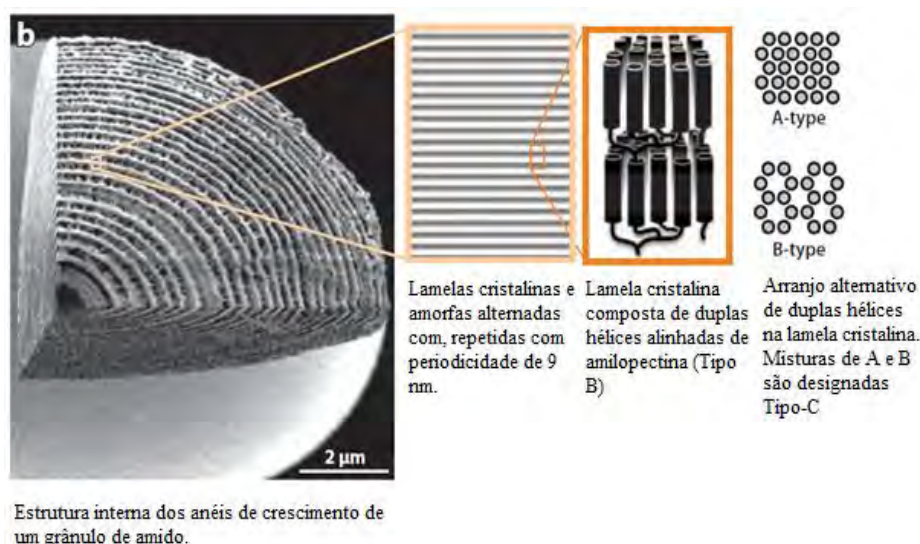


Figura 2.5: Anéis de crescimento no grânulo; Estrutura da amilopectina na formação de regiões amorfas e cristalinas; Arranjos de empacotamento dos padrões cristalinos A e B. Adaptado de Zeeman, Kossmann e Smith (2010).

Vários modelos foram propostos para o modo como a amilopectina está arranjada no interior do grânulo nos últimos 40 anos (NIKUNI, 1969; FRENCH, 1973; LINEBACK, 1986), o mais aceito até hoje é o modelo proposto por French (1973) e Robin et al. (1974) demonstrado na Figura 2.6. Esses autores propuseram um modelo no qual *clusters*, associados de cadeias do tipo A, com comprimento de 60 Å e DP 15, formariam uma camada cristalina com 60 Å de espessura na direção do eixo da cadeia. As cadeias B poderiam se estender por dois ou mais “clusters”, cada “cluster” seria formado pela associação de 2 ou 3 cadeias A. Esses *clusters* associados constituiriam a fração do grânulo resistente à hidrólise ácida. Nas áreas intercristalinas entre os clusters ou camadas cristalinas estariam localizadas a maior parte das ligações α (1 $\rightarrow$ 6).

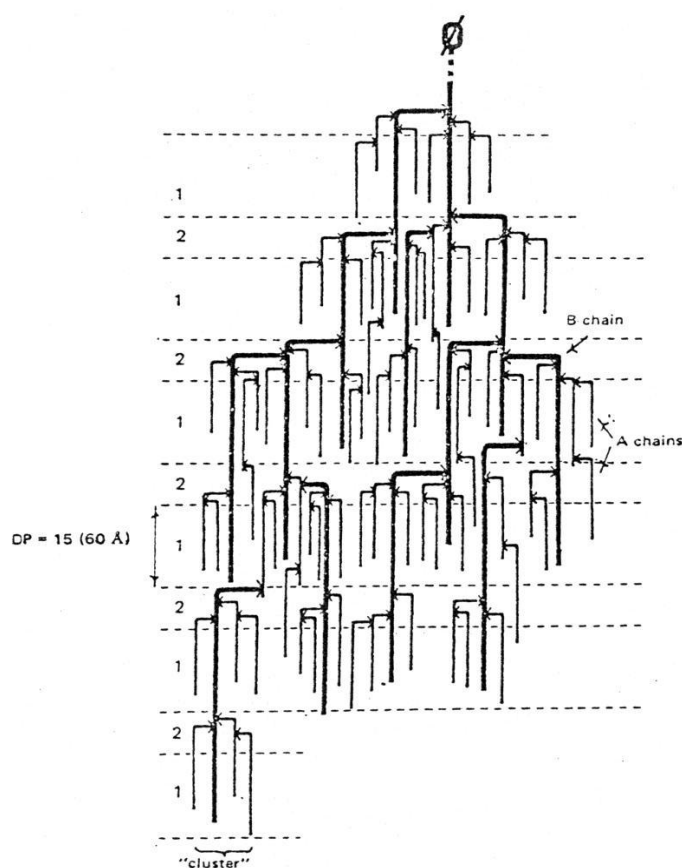


Figura 2.6: Estrutura proposta para amilopectina de batata. 1 = área compacta; 2 = área menos compacta, rica em pontos de ramificação; $\emptyset$ = extremidade redutora. Adaptado de Robin et al. (1974).

Gallant, Bouchet e Baldwin (1997) sugeriram um novo modelo de “clusters” para a amilopectina e uma estrutura lamelar para o grânulo de amido. Observaram que as regiões

cristalinas são predominantemente localizadas nas camadas mais compactas (120-400 nm de espessura) dos grânulos e são compostas por pilhas de lamelas cristalinas. Essas lamelas apresentam em média 9-10 nm de espessura, embora nem sempre sejam retas, paralelas ou com espessura uniforme. Acredita-se que as lamelas cristalinas consistam de “clusters” formados pelas duplas hélices das cadeias laterais da amilopectina, alternados com lamelas amorfas formadas pelas regiões de ramificação da amilopectina. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão das lamelas cristalinas indicam que as regiões entre os “clusters” sejam de natureza amorfa, portanto a lamela cristalina não é contínua, como mostrado no esquema da Figura 2.7.

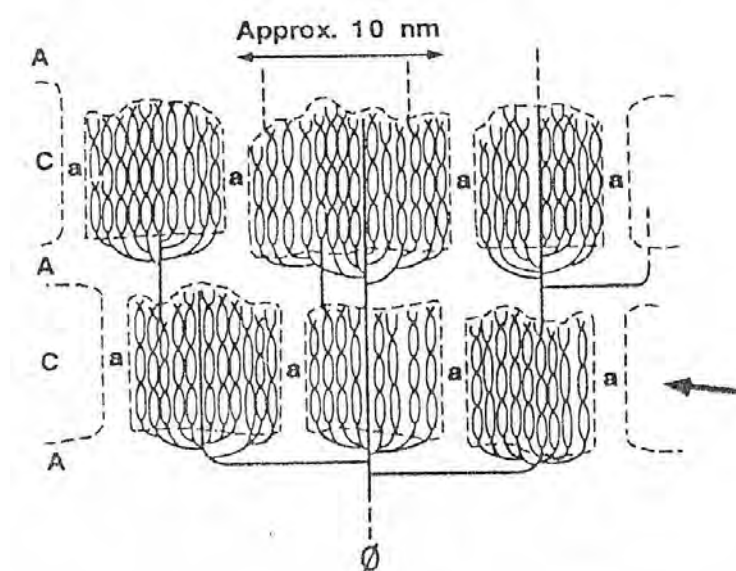


Figura 2.7: Diagrama esquemático dos “clusters” de cadeias laterais de amilopectina na lamela cristalina. C, lamela cristalina; A, lamela amorfa; a, regiões amorfas entre os “clusters” cristalinos. Adaptado de Gallant, Bouchet e Baldwin (1997).

Gallant, Bouchet e Baldwin (1997) também sugeriram que as camadas cristalinas e amorfas da amilopectina são organizadas dentro de estruturas maiores esféricas denominadas bloquetes, com diâmetros que variam entre 20 a 500 nm, de acordo com a fonte botânica. A região semicristalina seria formada por bloquetes menores, que indicam menor organização cristalina, e a cristalinidade da amilopectina seria reduzida, principalmente devido à maior interação com a amilose (Figura 2.8). O tamanho dos bloquetes parece ser um fator importante na resistência do grânulo de amido, porém outros fatores como teor de amilose, localização e interação com amilopectina também são relevantes.

A localização exata da amilose no interior do grânulo ainda não é bem clara. De acordo com Jane (2006) a amilose concentra-se nas regiões periféricas do grânulo, onde estão fortemente associadas às moléculas de amilopectina. Copeland et al. (2009) afirma que as moléculas de amilose são localizadas nas camadas de menor densidade dos anéis de crescimento, embora elas também possam estar localizadas entre as camadas cristalinas da amilopectina, interrompendo o empacotamento da amilopectina.

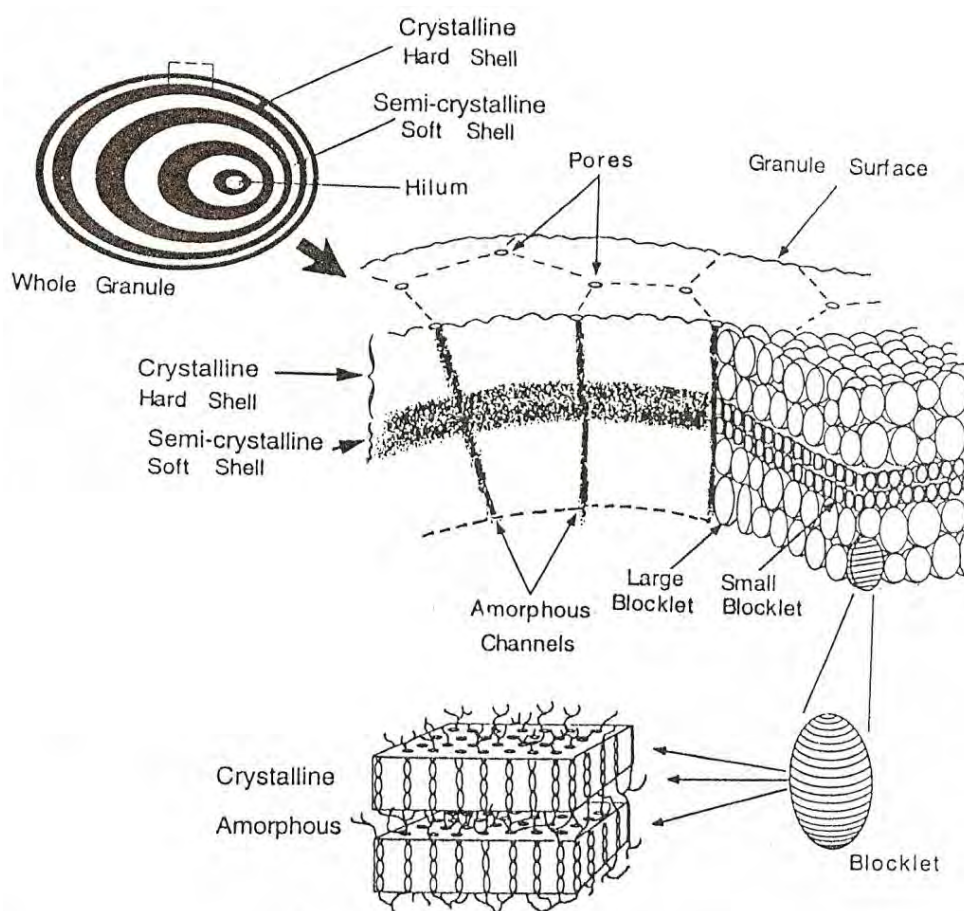


Figura 2.8: Representação esquemática da estrutura do grânulo de amido. Adaptado de Gallant, Bouchet e Baldwin (1997).

2.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS AMIDOS

Os grânulos de amido são insolúveis em água fria. No entanto, quando o amido é disperso em água, moléculas de amilose migram para a solução. Com o aquecimento da suspensão de amido em água acima de uma temperatura crítica, os grânulos passam a absorver água e intumescem, aumentando em muitas vezes o tamanho original. A abundância

de grupos hidroxila nas moléculas de amido confere características hidrofílicas, porque permite que o polímero estabeleça ligações de hidrogênio com a água (MUNHOZ; WEBER; CHANG, 2004).

Durante o aquecimento do amido em excesso de água, ocorre a penetração da água no interior do grânulo. A água penetra inicialmente nas regiões amorfas, pois as pontes de hidrogênio nessas regiões são ligações mais fracas e mais facilmente rompidas, permitindo a hidratação e inchamento do grânulo de amido. Com o aumento da temperatura, o inchamento do grânulo aumenta, assim como a absorção de água, resultando na perda da ordem cristalina e, por esse motivo, da birrefringência, pois há a dissociação de duplas hélices da região cristalina, e também a lixiviação da amilose (BILIADERIS, 1991; HOOVER, 2001; SINGH et al., 2003).

O inchamento predomina até uma temperatura determinada, causando o aumento da viscosidade e formação da pasta de amido. Após algum tempo os grânulos começam a romper provocando uma queda na viscosidade (THOMAS; ATWELL, 1999; SINGH et al, 2003). A gelatinização é o colapso, ou rompimento da ordem molecular no interior dos grânulos que provoca mudanças irreversíveis nas propriedades do amido, tais como aumento do tamanho granular, fusão dos cristais, perda da birrefringência, desenvolvimento de viscosidade e aumento na solubilidade (SINGH et al., 2003).

A gelatinização e as propriedades de inchamento são controladas parcialmente pela estrutura molecular da amilopectina, proporção de amilose/amilopectina, teor de fósforo e razão entre as regiões cristalinas e amorfas. A intensidade da perfeição cristalina é refletida na temperatura de gelatinização (TESTER, 1997; SINGH et al., 2003).

O processo de gelatinização inicia a partir do hilo do grânulo e se expande rapidamente para a periferia, a região amorfa é inicialmente afetada devido ao enfraquecimento das pontes de hidrogênio dessa região. As temperaturas e entalpias associadas às endotermas de gelatinização variam entre amidos de diferentes fontes botânicas (SHING et al., 2003). Segundo esses autores essas variações podem ser relacionadas a diferenças na proporção de cadeias longas de amilopectina. Essas cadeias requerem temperaturas mais elevadas para a dissociação completa do que as duplas hélices de cadeias mais curtas. A extensão da perfeição cristalina também reflete nas temperaturas de gelatinização (TESTER, 1997).

A retrogradação ocorre durante o resfriamento e armazenamento dos géis de amido, quando se inicia a reassociação das moléculas de amido em uma estrutura mais ordenada e consequentemente menos solúvel. As moléculas de amilose formam duplas hélices com 40 - 70 unidades de glicose, enquanto as cadeias de amilopectina cristalizam por associação das ramificações mais curtas (SINGH et al., 2003). Sob condições favoráveis, esta estrutura pode ser desenvolvida em forma cristalina, com partículas maiores que podem precipitar. Durante esse processo ocorre a separação das fases polímero e solvente, com perda da água ligada às cadeias de amilose, fenômeno conhecido como sinérese (LOBO; SILVA, 2003; ELFSTRAND et al., 2004).

De acordo com Singh et al. (2003) o conteúdo de amilose é um dos fatores que influencia a retrogradação do amido. Quanto maior o conteúdo de amilose, maior a tendência a retrogradação. Outros fatores como a fonte botânica do amido, concentração, condições de aquecimento e resfriamento, pH e presença de solutos como lipídeos e açúcares também são determinantes nesse processo (LAJOLO; MENEZES, 2006).

As mudanças que ocorrem durante a gelatinização e retrogradação do amido são determinantes no comportamento de pasta, as quais são medidas principalmente pelas mudanças na viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido através de equipamentos como o viscoamilógrafo Brabender ou Rápido Visco Analisador (RVA) (FRANCO et al., 2001).

As propriedades térmicas são determinadas por calorímetro diferencial de varredura (DSC) que estuda as transições de fase dos amidos, detectando o fluxo de calor associado com as transições de ordem e desordem, dando a medida quantitativa da gelatinização (DONOVAN; LORENZ; KULP, 1983).

2.3 AMIDOS MODIFICADOS

A estrutura molecular do grânulo pode reforçar ou limitar o alcance da aplicação do amido. Por exemplo, o arranjo compacto das moléculas na região cristalina dificulta o contato da água ou outros reagentes químicos com as moléculas do amido. Como resultado obtém-se uma maior temperatura de gelatinização e menor reatividade química do amido. A alta massa molecular e a extensa rede formada pelas pontes de hidrogênio conduzem à alta temperatura de gelatinização e menor fluidez (HUANG et al., 2007).

A produção de amidos modificados é uma alternativa utilizada para superar uma ou mais limitações dos amidos nativos e assim aumentar a utilidade deste polímero nas aplicações industriais (APLEVICZ; DEMIATE, 2007; ZAVAREZE et al., 2009).

A estrutura química do amido pode ser alterada por métodos químicos: acidificação, oxidação, fosfatação, etc.; físicos: tratamento hidrotérmico, degradação radioativa, irradiação por micro-ondas, ultra-sonografia, extrusão, processos de ativação mecânica; degradação enzimática; ou pela combinação de um ou mais métodos, com a formação de produtos com propriedades físico-químicas diferentes daquelas do amido nativo (CEREDA; VILPOUX; DEMIATE, 2003; SILVA et al., 2006).

Os amidos são modificados tendo como principais objetivos modificar as características de cozimento, diminuir a retrogradação, reduzir a tendência das pastas em formar géis, aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e congelamento, aumentar a transparência, melhorar a textura das pastas ou géis, melhorar a formação de filmes, aumentar a adesividade, adicionar grupamentos hidrofóbicos ou introduzir poder emulsificante (BeMILLER, 1997).

Existe uma grande vantagem no uso de modificações físicas sobre as químicas. Os amidos modificados por processo físico não são limitados pela legislação quanto às quantidades utilizadas (CEREDA; VIULPOUX; DEMIATE, 2003). Além disso, as modificações físicas apresentam menores custos, quando comparados aos métodos químicos e enzimáticos, por não empregarem reagentes químicos ou enzimas e não exigir tratamento de resíduos.

O princípio do método físico é proporcionar o aumento de energia necessário para quebrar as ligações químicas (LIU et al., 2006). De acordo com Cereda, Vilpoux e Demiate (2003) apesar da vantagem dos amidos modificados fisicamente, são poucos os relatos da literatura sobre essas modificações e existe um número muito maior de pesquisas e patentes relacionadas a modificações químicas de amidos

Entre os métodos físicos, a moagem em moinho de bolas e o tratamento térmico a baixa umidade têm grande destaque, por serem facilmente realizados e resultarem em mudanças significativas nas propriedades físico-químicas e funcionais dos amidos, com alteração da estrutura cristalina, podendo resultar, por exemplo, em amidos de maior solubilidade a frio e menor temperatura de gelatinização, que apresentem grande aplicabilidade na produção de alimentos instantâneos.

2.3.1 Moagem em moinho de bolas

A ativação mecânica como uma modificação física pode ser utilizada para danificar ou micronizar amidos. Amidos micro-granulares apresentam uma sensação cremosa na boca, atributo desejável em formulações com baixo teor de gordura (MALINSKI et al., 2003). O método de modificação de amidos por ativação mecânica consiste no uso de fricção, colisão, cisalhamento e outras ações mecânicas para modificar a estrutura cristalina e propriedades dos grânulos de amido (DIOP et al., 2011; LIU et al., 2011; KAUR et al., 2012).

A força mecânica da moagem em moinho de bolas pode resultar em mudanças gradativas na estrutura molecular, estrutura cristalina, solubilidade em água, características térmicas e morfológicas dos amidos (HUANG et al., 2007; DHITAL; SHRESTHA; GIDLEY, 2010). Nesse processo ocorre a destruição da região cristalina do amido nativo, semicristalino, podendo levar a uma leve despolimerização e formação de estrutura amorfa, mesmo sem a adição de água e calor (ANZAI et al., 2011; LIU et al., 2011).

A moagem é conduzida em estado sólido, e a ação das bolas não é homogênea. O rompimento das ligações glicosídicas é dependente da frequência da ação das bolas e da força do impacto que dependem do diâmetro do cilindro, quantidade de bolas e velocidade de rotação durante a moagem. Esse rompimento é, portanto, diferente entre as regiões superficiais e internas do grânulo. Como resultado se obtém mudanças moleculares distintas entre os componentes dos grânulos de diferentes regiões (TAMAKI et al., 1997).

Segundo HUANG et al. (2007) o processo de ativação mecânica é dividido em duas etapas. Na primeira etapa as operações de cisalhamento, impacto e atrito entre a matriz de moagem e o amido quebram os grânulos em pequenos fragmentos. Essa etapa também rompe as pontes de hidrogênio no grânulo, reduzindo e criando defeitos na região cristalina, incluindo mudanças na estrutura. Neste momento, as superfícies de alguns grânulos são espontaneamente ativadas, e, aglomerados são produzidos, resultando em mudanças no tamanho das partículas grandes. Contudo, grânulos pequenos também são produzidos. A distribuição do tamanho dos grânulos torna-se mais ampla e uniforme. Na segunda etapa um determinado valor de granulação é atingido e os grânulos tornam-se mais resistentes e difíceis de quebrar. Destruir esses grânulos se torna impossível, apenas transformações plásticas podem ocorrer. Desta forma, a regularidade da rede cristalina desaparece.

Amidos cerosos e de baixo conteúdo de amilose são facilmente danificados pela moagem. A amilose, quando presente em grandes quantidades na forma de amilose livre, ou

em quantidades normais, mas complexada com lipídeos, exerce um efeito protetor nos grânulos amortecendo o impacto nas regiões cristalinas e assim, diminuindo os danos causados pela moagem (TESTER, 1997). Em amidos de arroz o aumento nos tempos de moagem resultou na redução e desaparecimento da birrefringência, picos de difração de raios-X e das endotermas de gelatinização, indicando que os grânulos semicristalinos eram progressivamente convertidos ao estado amorfo (JANE et al., 1999). No amido de trigo moído houve redução da ordem cristalina e conteúdo de duplas hélices de amilopectina (MORRISON; TESTER, 1994).

Grânulos danificados são facilmente hidratados e têm maior solubilidade em água fria que grânulos intactos, no entanto o poder de inchamento é dependente do nível dos danos e do tipo de amido (MORRISON; TESTER, 1994; TESTER, 1997).

De acordo com Ren (2010), depois da micronização do amido de mandioca, onde as camadas mais externas do grânulo foram removidas durante o processo de moagem, como se o grânulo fosse descascado, a estrutura do cristal de amido foi quebrada, o grau de desordem aumentou, o grau de cristalinidade e a temperatura de fusão diminuíram. Portanto, ao contrário dos amidos nativos, o grânulo de amido micronizado absorve menos água e é facilmente gelatinizado por tratamento térmico, devido à quebra ou enfraquecimento das cadeias poliméricas. Normalmente, a transição vítrea refere-se à fase de transferência do estado amorfo para o estado cristalino. A quantidade de água disponível no sistema é aumentada quando o tamanho do grânulo de amido é reduzido, causando queda na temperatura de transição vítrea.

A moagem em moinho de bolas pode induzir a gelatinização sem aplicação de calor e água, mantendo o tamanho do grânulo após o tratamento (TAMAKI et al., 1997). A gelatinização a frio dos amidos danificados mecanicamente tem resultados muito similares a gelatinização causada por aquecimento (MORRISON; TESTER; GIDLEY, 1994).

SCHOENE (1969) afirmava que a produção de defeitos cristalinos, transformação do padrão cristalino e formação de material não cristalino em amidos submetidos à moagem, juntamente com a formação de ligações insaturadas a partir da quebra de ligações da superfície e geração de íons e elétrons livres, induzem a energia da rede cristalina a aumentar. A rápida formação de fissuras internas nos grânulos faz com que sua temperatura superficial e pressão aumentem.

As razões para os grânulos danificados de amido apresentarem diferentes níveis de hidratação ainda não são totalmente claras, mas algumas teorias têm sido propostas. A existência de uma camada externa ao grânulo, com propriedades diferentes das regiões internas que protege o grânulo da hidratação é uma das explicações, mas uma série de fatores combinados seria também responsável pelas diferentes propriedades do amido danificado (BALDWIN et al., 1994).

Diferenças entre as estruturas internas e externas do grânulo têm sido relatadas, indicando que o caráter inerte do amido é provavelmente devido ao seu diferente arranjo na superfície e no interior do grânulo. Os danos mecânicos podem causar a quebra da estrutura na periferia do grânulo levando ao aumento do acesso de água ao seu interior. Muitas propriedades do amido dependem da proporção de cadeias dos polissacarídeos que estão em estado ordenado. O processo de moagem diminui a cristalinidade do amido e assim facilita o acesso da água ao grânulo através da rede de fissuras desordenadas na estrutura granular (BALDWIN et al., 1994).

2.3.2 Tratamento Térmico a Baixa Umidade

O tratamento térmico a baixa umidade (TTBU) é definido como um tratamento físico que envolve a incubação dos grânulos de amido a baixos níveis de umidade (menores que 35%) durante determinado período de tempo, com temperaturas acima da temperatura de transição vítrea, mas abaixo da temperatura de gelatinização naquela umidade. A temperatura do TTBU, no entanto, deve ser escolhida considerando a temperatura de gelatinização do amido no nível de umidade aplicado. Alguns resultados mostram que o TTBU pode ser influenciado pela gelatinização parcial do amido (JACOBS; DELCOUR, 1998). O tratamento hidrotérmico a diferentes temperaturas e quantidades de água pode ser aplicado para melhorar algumas das propriedades funcionais de amidos tais como alta resistência ao aquecimento, a ácidos, deformação mecânica, além de alta estabilidade de pasta (HOOVER; VASANTHAN, 1994).

O tratamento causa mudanças notáveis na cristalinidade do amido devido ao rearranjo ou maior grau de associação das cadeias (JYOTHI; SAJEEV; SREEKUMAR, 2010). A estrutura granular do amido não é destruída (GUNARATNE; HOOVER, 2002). Podem ocorrer, dependendo das condições utilizadas no processo, mudanças nos padrões de raios-X, cristalinidade, interações entre as cadeias, inchamento dos grânulos, propriedades de pasta,

resistência a hidrólises ácida e enzimática e nas características do gel (JACOBS; DELCOUR, 1998; GUNARATNE; HOOVER, 2002; LAWAL; ADEBOWALE, 2005).

A extensão e o tipo de modificação ocorrida dependem da fonte de amido. Amidos de raízes e tubérculos são mais suscetíveis ao TTBU do que amidos de leguminosas e cereais (HOOVER; VASANTHAN, 1994).

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

As características de diferentes fontes botânicas submetidas a várias condições de tratamento hidrotérmico permitiram concluir que o tratamento induz a mudanças não apenas nas regiões cristalinas, mas também nas regiões amorfas dos grânulos. O conteúdo e o comprimento das cadeias de amilose são dois fatores importantes na determinação das propriedades físicas dos produtos finais. A formação de complexos amilose-lipídeos durante o tratamento foi verificada, em amidos de cereais, resultando na maior estabilidade térmica dos amidos tratados (LAWAL, 2005; CHUNG; LIU; HOOVER, 2009).

Os resultados obtidos por Franco, Ciacco e Tavares (1995) para o tratamento térmico de amido de milho mostraram que em baixos níveis de umidade, cerca de 18%, o tratamento térmico causou uma reorganização das moléculas no grânulo de amido com fortalecimento das forças de ligação resultando no aumento da cristalinidade e conseqüentemente na menor capacidade de absorção de água e porcentagem de hidrólise. No entanto com um teor de umidade de 27% foi possível observar redução no grau de cristalinidade, causado pelo enfraquecimento das forças de ligação no interior do grânulo, facilitando a absorção de água.

No trabalho de Vieira e Sarmento (2008), o amido de mandioquinha-salsa submetido ao TTBU (27% de umidade, 100°C por 16 horas) apresentou alterações em praticamente todas as propriedades de pasta, exceto na temperatura de pasta. O pico de viscosidade foi reduzido significativamente e a viscosidade de quebra desapareceu. O TTBU tornou o amido menos suscetível ao rompimento a altas temperaturas e taxas de cisalhamento. A viscosidade final foi maior devido à maior tendência a retrogradação.

Segundo Vieira e Sarmento (2008), as mudanças nas propriedades de pastas dos amidos causadas pelo TTBU podem ser consideradas como uma alternativa as modificações

químicas para modificar as condições de gelatinização e retrogradação de amidos de raízes e tubérculos.

2.4 MANDIOQUINHA-SALSA

A mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) é uma antiga cultura Sul-americana, cultivada na região Centro-Sul do Brasil, onde ocorrem condições climáticas similares às de seu local de origem (PÉREZ et al. 1999; MENEGASSI et al., 2007).

Em relação ao valor alimentício da mandioquinha-salsa, as raízes tuberosas comumente consumidas constituem um alimento de alto valor nutritivo, especialmente quando comparada com outras espécies amiláceas como a mandioca, batata, cará e batata-doce. Caracteriza-se como um alimento essencialmente energético, apresentando 25 g de carboidratos, em média, por 100 g de raiz. Embora se constitua uma boa fonte de vitamina A e niacina, apresenta também consideráveis níveis de minerais, como cálcio, fósforo e ferro. Dos carboidratos totais, a maior fração corresponde ao amido, que representa cerca de 80% (PEREIRA, 1995).

Devido a seu elevado conteúdo de amido, que varia entre 20-25%, e altos rendimentos agrônômicos obtidos no campo é considerada uma fonte potencial de amido para utilização em grande escala (PÉREZ et al. 1999). Segundo Horimoto e Cabello (2007) o amido de mandioquinha-salsa apresenta alta capacidade de retenção de água, antes do rompimento dos grânulos, apresentando ainda alta viscosidade de quebra que representa baixa resistência à temperatura e agitação mecânica.

De acordo com Rocha, Demiate e Franco (2008), este é um amido de fácil cozimento, apresentando baixa temperatura de gelatinização e alta viscosidade de pico, apresenta baixa tendência a retrogradação e sinérese, contribuindo para sua alta digestibilidade. Devido a suas características especiais, é uma matéria-prima bastante utilizada no preparo de sopas, papinhas infantis, pães, purês e bolos.

2.5 MANDIOCA

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das principais culturas dos trópicos da qual dependem mais de meio milhão de pessoas no mundo (ARYEE et al., 2006). No Brasil, é uma cultura produzida em praticamente todo o território nacional, sendo que a região Sul concentra unidades produtoras de farinha e amido (APLEVICZ; DEMIATE, 2007).

O amido de mandioca apresenta baixo custo devido ao grande volume de produção no Brasil. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para agricultura e alimentação (FAO) divulgados em 2010, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de mandioca, e a produção estimada para o ano de 2011 é de 27,1 milhões de toneladas (IBGE, 2011).

Além disso, o amido de mandioca apresenta características físico-químicas de grande interesse industrial (APLEVICZ; DEMIATE, 2007). Quando aquecido em água este amido apresenta alta viscosidade a quente, alta viscosidade de quebra e baixa tendência a retrogradação. Sua pasta é transparente e apresenta boa claridade. Apresenta temperatura inicial de gelatinização baixa e forma gel pouco estável, no entanto sua baixa temperatura de pasta, sabor neutro, baixa tendência a retrogradação, alta claridade da pasta o tornam um bom ingrediente para utilização em produtos alimentícios (SERRANO; FRANCO, 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Raízes frescas de mandioca (*Manihot esculenta*) da variedade Fécula Branca, colhidas 10 meses após o plantio e, de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) da variedade Senador Amaral, colhidas 9 meses após o plantio, foram utilizadas neste trabalho. Todos os reagentes utilizados foram puros para análise.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Extração dos amidos

O isolamento dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa foi realizado conforme metodologia descrita por Peroni, Rocha e Franco (2006). As raízes foram lavadas em água corrente em seguida descascadas, picadas e então trituradas com água destilada (aproximadamente 10 °C) em liquidificador industrial durante 1 min para mandioca e 30 s para mandioquinha-salsa, em uma proporção de 1:1 (v/v).

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

3.2.2 Caracterização dos amidos

3.2.2.1 Composição química

Os teores de umidade, lipídeos, proteínas e cinzas dos amidos foram determinados de acordo com os *Approved Methods of Cereal Chemists* (AACC, 2000). O teor de fósforo foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de Smith e Caruso (1964). O teor

de carboidratos foi determinado por diferença. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

3.2.3 Tratamentos físicos dos amidos

3.2.3.1 Moagem em moinho de bolas

Os amidos foram moídos em moinho de bolas (modelo MA 500, Marconi) por períodos de 2, 4, 8, 16 e 32 h a uma velocidade de 108 rpm. Bolas de cerâmica alumina (ϕ 20 mm, 1058 g) foram adicionadas às amostras de 150 g de amido em um jarro de 90 mm de diâmetro e 150 mm de altura. Para cada tempo de moagem foram feitas duas repetições.

3.2.3.2 Tratamento térmico a baixa umidade (TTBU)

O tratamento térmico dos amidos foi realizado utilizando o método descrito por Chung, Liu e Hoover (2009), com modificações.

A umidade dos amidos foi elevada a 30 % e 35 %. A quantidade de água destilada necessária para condicionamento das amostras foi calculada utilizando a Equação 1.

$$A = \left[\left(\frac{100 - U_i}{100 - U_f} \right) - 1 \right] * m \quad (1)$$

Onde:

$A(g)$ = quantidade de água a ser adicionada

$U_i (\%)$ = umidade inicial da amostra

$U_f(\%)$ = umidade desejada da amostra

$m (g)$ = massa de amostra.

Amostras (300 g) de amido foram misturadas à água destilada, que foi adicionada com auxílio de conta-gotas, em batedeira a velocidade mínima, em intervalos de 5 min entre cada adição de água. Após adição de toda a água, as amostras foram misturadas por mais 10 min para perfeita homogeneização. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração por 24 h para equilíbrio da umidade.

As amostras de amido com umidades de 30 e 35 % foram então colocadas em placas de Petri que foram tampadas e vedadas com fita adesiva. As placas foram levadas à estufa com circulação de ar a uma temperatura de 90 °C durante 8 h. Após o tratamento o amido foi

retirado das placas e seco em estufa a 38 °C. Os tratamentos foram realizados com duas repetições para cada condição.

3.2.4 Distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina

3.2.4.1 Desramificação dos amidos

Os amidos nativos e modificados foram inicialmente desengordurados segundo procedimento descrito por Jane e Chen (1992), com modificações. Amostras de 50 mg de amido foram dispersas em 5 mL de solução de DMSO 90 %. A suspensão foi mantida em banho de água fervente durante 1 h com agitação, e por mais 16 h à temperatura ambiente. Uma alíquota de 0,5 mL da dispersão de amido foi misturada a 2 mL de etanol absoluto e o amido precipitado foi recuperado por centrifugação a 12000 x g por 10 min. As amostras desengorduradas foram desramificadas seguindo o procedimento descrito por Wong e Jane (1995). A 5 mg de amido desengordurado foram adicionados 1,8 mL de água ultra pura (18 MΩ.cm) e as amostras foram mantidas em banho de água fervente por 30 min com agitação. Após resfriamento, 0,2 mL de tampão acetato 0,1 M pH 3,5, 6 µL de solução de azida 10 % (m/v) e 3 µL de isoamilase (Megazyme, 3 U), foram adicionados e a suspensão foi incubada a 40 °C por 16 h sob agitação de 100 rpm. Após este período, o pH foi ajustado para 6,5 - 7,0 com NaOH 1M e a suspensão foi colocada em banho de água fervente por 15 min, para inativação da enzima. Após atingirem a temperatura ambiente as amostras foram filtradas em membranas de teflon de 0,22 µm.

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

A distribuição do comprimento de cadeias ramificadas das amilopectinas dos amidos desramificados com isoamilase foi analisada usando o HPAEC-PAD (ICS 3000, Dionex Corporation, EUA) equipado com amostrador automático AS40.

Alíquotas de 20 µL das amostras preparadas e filtradas anteriormente foram automaticamente injetadas no sistema HPAEC-PAD constituído por uma coluna de troca aniônica CarboPac PA-100 (250x4 mm) em combinação com uma guarda-coluna CarboPac PA-100. A forma de onda empregada foi a *standard quadruple* com os seguintes potenciais de pulso e durações: E1 = 0,10 V (t_1 = 0,40 s); E2 = -2,00 V (t_2 = 0,02 s); E3 = 0,60 V (t_3 =

0,01 s); $E_4 = -0,10 \text{ V}$ ($t_4 = 0,06 \text{ s}$). Seguindo-se o procedimento descrito por Campanha (2010), os parâmetros da fase móvel utilizada para a separação foi constituída pelo eluente A (150 mM NaOH) e eluente B (500 mM acetato de sódio e 150 mM NaOH) com fluxo de 0,8 mL/ min e temperatura de 40 °C. Os eluentes foram preparados com água deionizada ultra pura (18 MΩ.cm) e degaseificados com N_2 . O gradiente ótimo foi: 0 - 15 min, gradiente linear de 28 a 40 % de eluente B; e 15 - 95 min, gradiente linear terminando com 72 % de eluente B. Uma mistura de maltodextrinas (grau de polimerização 1-7) foi usada para identificação da série homóloga de comprimento de cadeias. Os dados foram coletados e analisados utilizando-se o software Chromeleon, versão 6.8 (Dionex Corporation, EUA). A análise foi realizada em duplicata.

3.2.5 Distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos por Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos nativos, submetidos a tratamento térmico e moídos durante 8, 16 e 32 horas foi realizada segundo procedimento de Wang et al. (1993).

As amostras foram preparadas segundo procedimento de Song e Jane (2000). Os amidos foram inicialmente desengordurados, como descrito no método de Jane e Chen (1992). Ao amido desengordurado (15 mg) foram adicionados 1 mg de glicose e 5 mL de eluente (NaCl 25 mM e Na OH 1 mM). A mistura foi mantida sob constante agitação em banho de fervura por 30 min e então resfriada a temperatura ambiente.

Uma alíquota de 3 mL da amostra, contendo 9 mg de amido foi aplicada em coluna empacotada com gel Sepharose CL-2B e eluída de forma ascendente. O eluente consistia de NaCl (25 mM) e NaOH (1 mM), com fluxo de 0,5 mL/min. Frações de 2,5 mL cada foram coletadas a cada 5 min e submetidas à análise de carboidratos totais e teor de amilose através dos métodos de fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) e de reação de coloração com iodo (JULIANO, 1971), respectivamente, para determinar o perfil de eluição dos amidos. As análises foram realizadas em duplicata.

3.2.6 Teor de Amilose

3.2.6.1 Isolamento da amilopectina

As amilopectinas dos amidos nativos foram isoladas segundo Jane e Chen (1992), com modificações. As amostras de amido (2 g) foram dispersas em 100 mL de solução de DMSO 90 % e mantidas em agitação constante por 1 hora em banho de água fervente e a temperatura ambiente durante 16 horas. O amido foi precipitado com 400 mL de etanol anidro e centrifugado a 12000 x g por 15 minutos. O precipitado foi suspenso em 400 mL de água deionizada e o pH ajustado entre 5,9 – 6,3 utilizando tampão fosfato (16,4 % de KH_2PO_4 e 3,6 % de K_2HPO_4). A suspensão foi mantida em banho de água fervente com refluxo durante 1 hora seguido da adição de 15 – 20 % de n-butanol e a suspensão mantida em refluxo por mais 30 minutos. A amostra foi resfriada lentamente em garrafa térmica pré-aquecida. O complexo amilose-butanol foi separado por centrifugação a 12000 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi evaporado até a metade do volume inicial em rotaevaporador e levado novamente ao refluxo. Essa etapa foi repetida até não haver mais a formação de precipitado após a centrifugação.

A amilopectina foi precipitada com etanol anidro e recuperada por centrifugação a 12000 x g por 10 minutos. O precipitado foi lavado duas vezes com etanol anidro, filtrado a vácuo e seco em estufa a 40 °C durante 24 horas.

3.2.6.2 Determinação do teor de amilose aparente e absoluto

Os amidos nativos e modificados foram desengordurados conforme descrito por Franco et al. (2002). As amostras de amido (0,5 g) foram dispersas em solução de DMSO 90% e mantidas sob agitação constante em banho de fervura durante 1 hora e em seguida agitadas durante 16 horas a temperatura ambiente. Os amidos foram precipitados com álcool etílico anidro, centrifugados a 4000 x g durante 10 minutos, recuperados por filtração a vácuo e secos em estufa a 40 °C por 24 horas.

A afinidade por iodo dos amidos e das amilopectinas isoladas foi determinada em titulador potenciométrico automático (716 SM Titrino, Metrohm, Herisau, Switzerland). Os teores de amilose aparente e absoluta foram obtidos conforme descrito por Schoch (1964) e Kasemsuwan et al. (1995). O teor de amilose aparente foi obtido pela equação 2, e o teor de amilose absoluto pela equação 3.

$$AM_{ap} = 100 \times AI_A / 20\% \quad (2)$$

$$AM_{abs} = 100 \times (AI_A - AI_{AP}) / (20\% - AI_{AP}) \quad (3)$$

Onde:

AM_{ap} = teor de amilose aparente

AM_{abs} = teor de amilose absoluta

AI_A = afinidade por iodo do amido integral

AI_{AP} = afinidade por iodo da amilopectina isolada

20 % = afinidade por iodo da amilose pura (TAKEDA; HIZUKURI; JULIANO, 1987).

3.2.7 Viscosidade Intrínseca

Soluções de amidos nativos e moídos foram preparadas segundo Lansky, Kooi e Schoch (1949). Dispersões de 0,4, 0,3, 0,2 e 0,1% (m/v) preparadas com KOH 1N foram mantidas em banho de água fervente sob agitação por 30 minutos. As amostras foram resfriadas, ainda sob agitação a temperatura ambiente, e centrifugadas a 900 x g durante 5 minutos.

A viscosidade intrínseca das soluções de amidos foi determinada segundo Leach (1963). Para determinar o tempo de escoamento do solvente (KOH 1N) e das soluções de amidos a diferentes concentrações, 12 mL do solvente ou solução de amido foram transferidos para um viscosímetro Cannon Fenske nº 50 com auxílio de bomba a vácuo. O viscosímetro contendo a amostra foi mantido em banho-maria com temperatura constante a 35 °C por 5 minutos para equilíbrio da temperatura, então a amostra escoou pelo capilar até o menisco atingir a primeira marca onde era iniciada a contagem do tempo. No mínimo duas determinações foram feitas para cada solução. A viscosidade inerente das soluções foi determinada utilizando a equação 4. A viscosidade intrínseca dos amidos foi calculada pela extrapolação, a concentração zero da reta obtida pelo ajuste da curva da viscosidade inerente em função da concentração da solução.

$$viscosidade\ inerente = \frac{[\ln(t/t_0)]}{C} \quad (4)$$

Onde:

t = tempo de escoamento da solução pelo viscosímetro

t_0 = tempo de escoamento do solvente pelo viscosímetro

C = Concentração da solução de amido.

3.2.8 Difração de raios-X e Cristalinidade relativa

Os amidos nativos e tratados foram mantidos em dessecador contendo solução de $BaCl_2$ saturada (25 °C, $a_w = 0,9$) durante 10 dias para equilíbrio da umidade. Os padrões de difração de raios-x foram determinados utilizando uma unidade RINT2000 *Wide Angle*

Goniometer (Rigaku, Tokio, Japan), com radiação de Cu, linha K_L = 1,542 Å. A velocidade de varredura foi de 1°.min⁻¹ e as condições de uso foram 50 Kv e 100 mA. A cristalinidade relativa foi determinada segundo método de Nara e Komiya (1983) baseado na relação entre a área sob os picos e a área total, utilizando o software Origin versão 7.5 (Microcal Inc., EUA). A análise foi realizada no Instituto de Física da Universidade de São Paulo, Campus de São Carlos.

3.2.9 Microscopia óptica, óptica com luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura

Os grânulos de amidos foram observados em microscópio eletrônico de varredura (DSM 960, Zeiss, Oberkochen, Alemanha). As amostras foram desidratadas em etanol e colocadas em fita adesiva dupla face de carbono aderida a um disco metálico, uma camada de 20 nm de ouro foi aplicada. A aceleração de voltagem utilizada foi de 10 a 20 kV. Foram obtidas imagens com ampliação de 1000 e 2000 vezes. Os amidos também foram observados em Microscópio Ótico de Luz Leica DM750 acoplado a um sistema de análise LAS V3.6, e sob luz polarizada. A análise foi realizada no laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise da Universidade de São Paulo, Campus de São Carlos.

3.2.10 Índice de absorção (IAA) e Solubilidade em água (ISA)

A solubilidade em água fria dos amidos e a capacidade de absorção de água foram medidas de acordo com o método de Linko et. al. (1980). Uma alíquota de 2,5 g (b.s) de amido foi adicionada a um tubo de centrífuga, previamente pesado. Em seguida foram acrescentados 30 mL de água destilada. A suspensão foi mantida em banho de água a 30 °C durante 30 min sob leve agitação. A suspensão foi então centrifugada a 3000 x g durante 15 min e o precipitado pesado. Uma alíquota (10 mL) do sobrenadante foi seca em estufa a 105 °C até peso constante. As análises foram realizadas em triplicata. O índice de solubilidade em água foi determinado a partir da Equação 5 e a capacidade de absorção de água pela Equação 6.

$$ISA (\%) = \left(\frac{ms}{ma} \right) \times 300 \quad (5)$$

$$IAA (g/g) = \left(\frac{mp}{ma} \right) \quad (6)$$

Onde:

ms (g) = massa do sobrenadante seco

ma (g) = massa da amostra em base seca

mp (g) = massa do precipitado.

3.2.11 Fator de expansão (FE)

O fator de expansão dos grânulos foi avaliado de acordo com método proposto por Tester e Morrison (1990). Amostras de 50 mg de amido nativo ou modificado foram pesadas em tubos de centrífuga (25 mL) e 5 mL de água deionizada foram adicionados. Os tubos foram tampados e colocados em banho Dubnoff nas temperaturas de 70 e 80 °C, sob agitação constante, por 30 min. A seguir os tubos foram rapidamente resfriados e 0,5 mL de dextrana azul (5 mg.mL⁻¹) foram adicionados. Os tubos foram agitados delicadamente sendo invertidos várias vezes e então, centrifugados a 1500 x g por 5 min. A absorbância do sobrenadante (As) foi medida a 620 nm em espectrofotômetro. A absorbância do tubo de referência (Ar), no qual não havia amido, também foi medida. A análise foi realizada em triplicata.

O cálculo do fator de expansão (FE) foi realizado baseado na massa (m) do amido corrigido para base seca, assumindo como densidade do amido o valor de 1,4 g.mL⁻¹. Água livre ou sobrenadante intersticial (AL) é dada por:

$$AL \text{ (mL)} = 5,5 (Ar / As) - 0,5 \quad (7)$$

O volume inicial do amido (V₀) é:

$$V_0 \text{ (mL)} = m \text{ (g)} / 1,4 \quad (8)$$

E o volume de água intragranular absorvida (V₁):

$$V_1 = 5,0 - AL \quad (9)$$

Então, tem-se que o volume de inchamento dos grânulos de amido (V₂) é:

$$V_2 = V_0 + V_1 \quad (10)$$

$$FE = V_2 / V_0 \quad (11)$$

Onde:

m - massa de amostra (em gramas)

As - absorbância do sobrenadante

Ar - absorbância do tubo de referência.

3.2.12 Propriedades de pasta

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

Suspensões de amido a 10% (m/m) em um total de 27,5 g foram colocadas em recipientes próprios do equipamento, e acopladas ao RVA. A análise foi realizada mantendo-se as amostras a 50 °C por 1 min, após isso a temperatura foi elevada a 95 °C a uma taxa de 6 °C/ min, mantida a 95 °C por 5 min e então resfriada a 50 °C a taxa de 6 °C/min. O tempo total da análise foi de 23 min. A agitação foi mantida constante a 160 rpm. Os dados foram processados utilizando o programa *Termocline for Windows*, versão 2.2 (*Newport Scientific*, Austrália). Todas as determinações foram realizadas em duplicata.

3.2.13 Propriedades térmicas

As temperaturas de gelatinização e mudanças de entalpia dos amidos nativos e modificados foram determinadas utilizando um calorímetro diferencial de varredura (DSC) Pyris 1 (Perkin Elmer, EUA) de acordo com Franco et al. (2002). Amostras de amido (3 mg, b.s.) foram pesadas em porta amostras de alumínio, misturadas com água deionizada (9 µL) e hermeticamente selados em prensa universal. Os porta amostras selados foram mantidos a temperatura ambiente por 24 h para equilíbrio e aquecidos a uma razão de 5 °C/ min de 25 a 100 °C. Um porta amostra vazio foi usado como referência. As análises foram feitas em triplicata. As temperaturas de gelatinização (inicial, de pico e final) e a variação de entalpia dos amidos nativos e retrogradados foram determinadas utilizando o *software* Pyris 1 (PerKin Elmer, EUA).

3.2.14 Determinação do grau de gelatinização

O grau de gelatinização dos amidos modificados foi determinado a partir da variação de entalpia de gelatinização como descrito por Di Paola, Asis e Aldao (2003). A variação de entalpia das amostras foi determinada como descrito no item 3.2.13 e o grau de gelatinização obtido pela equação 5.

$$DG (\%) = \left[1 - \left(\frac{\Delta H_t}{\Delta H_g} \right) \right] \times 100 \quad (12)$$

Onde:

DG = grau de gelatinização

ΔH_t = variação de entalpia do amido tratado

ΔH_g = variação de entalpia do amido nativo.

3.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os tratamentos foram realizados com duas repetições e as análises com duas ou três replicatas. Os dados foram avaliados pelo emprego do programa Statistica for Windows (v. 7.0, Statsoft, Tulsa, OK) abrangendo a análise de comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os amidos estudados apresentaram baixas quantidades de constituintes menores (<1%), indicando que a extração resultou em amidos com alto grau de pureza. A composição físico-química dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa está apresentada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Composição química^a dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa nativos (% em relação à matéria seca).

Parâmetro	Amido	
	Mandioquinha-salsa	Mandioca
Carboidratos totais*	99,80	99,65
Lípídeos	0,05 ± 0,00	0,13 ± 0,01
Proteínas	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,00
Cinzas	0,09 ± 0,02	0,15 ± 0,01
Fósforo	0,019 ± 0,000	0,015 ± 0,001

^a média de três determinações, com o respectivo desvio-padrão. *determinado por diferença.

Segundo Buléon et al. (1998) os lipídeos são a fração mais importante associada aos grânulos de amido. Altos conteúdos são geralmente observados em amidos de cereais. Os lipídeos são os responsáveis pela fixação de cor, desenvolvimento de aromas e complexos. Nos amidos de tuberosas são encontrados em pequenas quantidades, tornando esses amidos mais neutros e menos sujeitos a formação de complexos (FRANCO et al., 2001). O teor de lipídeos encontrado nesse trabalho para o amido de mandioca foi semelhante aos encontrados por Peroni, Rocha e Franco (2006), que observaram 0,15 %, e maior que o obtido por Cavalini e Franco (2010) e Perez et al. (1999) que observaram 0,07 e 0,10 %, respectivamente. Para o amido de mandioquinha-salsa o teor de lipídeos encontrado foi inferior ao obtido por Rocha, Demiate e Franco (2008), que observaram 0,010 %, e bastante inferior aos encontrados por Vieira e Sarmento (2008) e Matsuguma et al. (2009) que encontraram 0,19 e 0,42 %, respectivamente.

O fósforo é outro componente importante que pode interferir nas propriedades funcionais do amido. Nos amidos de raízes e tubérculos o fósforo está presente principalmente na forma de monoéster fosfato, localizado principalmente no C₆ de suas unidades glicosídicas (KASEMSUWAN et al., 1995). Presente em grandes quantidades

principalmente em amido de batata, o monoéster fosfato tem papel importante na claridade de pasta, viscosidade, consistência e estabilidade de pasta (FRANCO et al., 2001). O teor de fósforo encontrado nos amidos estudados é pequeno. Para o amido de mandioca o valor encontrado (0,015 %) foi superior ao encontrado por Peroni, Rocha e Franco (2006) de 0,007 % e por Perez et al. (1999) de 0,010 %. Para o amido de mandioquinha-salsa o teor de fósforo encontrado (0,019 %) esteve próximo aos 0,017 % encontrado por Rocha, Demiate e Franco (2008). No entanto Vieira e Sarmiento (2008) encontraram valores bem superiores (0,032 %). Essas diferenças podem ser decorrentes de diferentes variedades, condições de cultivo e/ou metodologias utilizadas.

Para facilitar a leitura e o entendimento do texto, os resultados serão apresentados na seguinte seqüência: Caracterização físico-química e estrutural dos amidos modificados por moagem em moinho de bolas; Caracterização físico-química e estrutural dos amidos modificados por tratamento térmico a baixa umidade.

4.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E FÍSICO-QUÍMICA DOS AMIDOS MODIFICADOS POR MOAGEM EM MOINHO DE BOLAS

4.2.1 Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina

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

Os amidos nativos de mandioca e mandioquinha-salsa apresentaram distribuição bimodal, como se observa na Figura 4.1. Para ambos os amidos o primeiro pico ocorreu no GP (grau de polimerização) 11, e o segundo no GP 41 para o amido de mandioca e 42 para o amido de mandioquinha-salsa. O comprimento médio de cadeia ($\overline{GP}$) foi praticamente o mesmo para os dois amidos (19,27 para o amido de mandioca e 19,22 para o amido de mandioquinha-salsa).

Os amidos exibiram entre os GPs 17 e 21 a formação de um ombro. De acordo com Jane et al. (1999) o comprimento das cadeias de GP 18 a 21 estaria entre 6,3 -7,4 nm, considerando que o comprimento de cada unidade de glicose anidra seja de 0,35 nm. Esta faixa de comprimento seria próxima à espessura da lamela cristalina da amilopectina, com

isso as cadeias de GP 17 a 21 representariam a extensão total da lamela cristalina, e a razão entre o pico de distribuição e o ombro indicaria a proporção de cadeias curtas que resultam em defeitos cristalinos. No amido de mandioquinha-salsa este ombro se apresentou de forma mais marcante, indicando uma estrutura cristalina mais defeituosa que a do amido de mandioca. Além disso, o amido de mandioquinha-salsa apresenta uma grande proporção de cadeias curtas (GP 6 -12), que desestabilizam a estrutura lamelar. Essas características do amido de mandioquinha-salsa resultam em uma estrutura cristalina fraca, que é incapaz de manter os *clusters* juntos ou manter a integridade dos grânulos de amido (CAMPANHA, 2010; ROCHA et al. 2011).

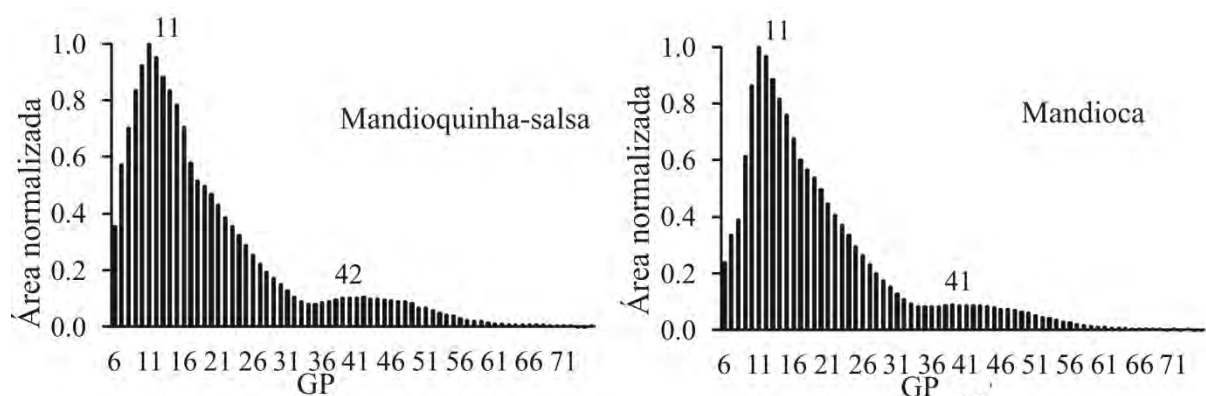


Figura 4.1: Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina nos amidos nativos de mandioquinha-salsa e mandioca determinada por HPAEC-PAD.

O amido nativo (0 h) de mandioquinha-salsa apresentou maior quantidade de cadeias laterais mais curtas (GP 6-10) e longas (GP > 37), comparado ao amido de mandioca, como se pode observar na Tabela 4.2. A maior proporção de cadeias ramificadas curtas da amilopectina do amido de mandioquinha-salsa em relação ao de mandioca contribuiu para que o seu GP médio fosse praticamente igual ao GP médio do amido de mandioca.

A moagem em moinho de bolas, independente do tempo, não alterou a distribuição dos comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina em ambos os amidos. Esses resultados sugeriram que não houve, nas condições usadas neste experimento, degradação das ligações α (1 $\rightarrow$ 4) das cadeias de amilopectina.

Tabela 4.2: Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina^a dos amidos de mandioca-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos

Tempo moagem	Distribuição do comprimento de cadeias (%)					$\overline{GP}$	>GP
	GP 1-5	GP 6-12	GP 13-24	GP 25-36	GP >37		

Mandioquinha-salsa							
0 h	0,54 ± 0,40 ^a	33,53 ± 0,37 ^a	43,45 ± 0,94 ^a	11,57 ± 0,08 ^a	10,91 ± 0,10 ^a	19,22 ± 0,06 ^a	78
2 h	0,60 ± 0,34 ^a	33,76 ± 0,18 ^a	43,42 ± 0,14 ^a	11,47 ± 0,06 ^a	10,76 ± 0,32 ^a	19,13 ± 0,19 ^a	78
4 h	0,43 ± 0,29 ^a	33,52 ± 0,11 ^a	43,53 ± 0,40 ^a	11,60 ± 0,01 ^a	10,91 ± 0,00 ^a	19,25 ± 0,09 ^a	78
8 h	0,56 ± 0,11 ^a	33,59 ± 0,43 ^a	43,46 ± 0,10 ^a	11,54 ± 0,24 ^a	10,85 ± 0,20 ^a	19,19 ± 0,12 ^a	78
16 h	0,54 ± 0,19 ^a	33,75 ± 0,25 ^a	43,44 ± 0,27 ^a	11,46 ± 0,09 ^a	10,81 ± 0,19 ^a	19,17 ± 0,11 ^a	78
32 h	0,69 ± 0,20 ^a	33,74 ± 0,41 ^a	43,43 ± 0,29 ^a	11,56 ± 0,07 ^a	10,59 ± 0,56 ^a	19,09 ± 0,22 ^a	78
Mandioca							
0 h	0,66 ± 0,40 ^a	30,44 ± 0,61 ^a	46,81 ± 0,20 ^a	12,51 ± 0,45 ^a	9,57 ± 0,36 ^a	19,27 ± 0,28 ^a	77
2 h	0,48 ± 0,19 ^a	30,84 ± 0,02 ^a	46,85 ± 0,19 ^a	12,40 ± 0,16 ^a	9,43 ± 0,14 ^a	19,18 ± 0,06 ^a	77
4 h	0,54 ± 0,41 ^a	31,12 ± 0,41 ^a	46,66 ± 0,59 ^a	12,31 ± 0,02 ^a	9,38 ± 0,25 ^a	19,12 ± 0,17 ^a	77
8 h	0,75 ± 0,31 ^a	31,57 ± 0,27 ^a	46,09 ± 0,29 ^a	12,20 ± 0,02 ^a	9,39 ± 0,28 ^a	19,04 ± 0,15 ^a	77
16 h	0,32 ± 0,20 ^a	30,66 ± 0,17 ^a	47,17 ± 0,26 ^a	12,31 ± 0,09 ^a	9,55 ± 0,03 ^a	19,25 ± 0,05 ^a	77
32 h	0,44 ± 0,22 ^a	30,57 ± 0,02 ^a	47,15 ± 0,16 ^a	12,32 ± 0,07 ^a	9,51 ± 0,03 ^a	19,24 ± 0,04 ^a	77

^aMédia de duas repetições com duas replicatas, com respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05). GP: grau de polimerização.

Cavallini e Franco (2010) não observaram degradação das moléculas de amilopectina do amido de mandioca submetidos à moagem, mesmo após estes amidos terem sido hidrolisados com solução ácido-etanólica antes da moagem. Segundo esses autores, a moagem quebrou outras ligações dos grânulos, como as pontes de hidrogênio, causando o aumento das áreas amorfas, com conseqüente enfraquecimento e redução das áreas cristalinas do amido. No entanto, Tamaki et al. (1997) observaram redução na proporção de cadeias longas e aumento nas cadeias com GP entre 17 e 37 da amilopectina após moagem do amido de batata, porém, o tempo de moagem usado nesse trabalho (320 h) foi muito superior ao usado neste experimento.

A ação das bolas não é homogênea durante a moagem do amido. O rompimento das ligações glicosídicas é dependente da frequência da ação das bolas e da força do impacto que dependem do diâmetro do cilindro, quantidade de bolas e velocidade de rotação durante a moagem (TAMAKI et al., 1997). É provável que o tempo e as condições de moagem usadas

neste experimento não tenham sido suficientes para provocar a degradação das ligações do tipo α (1 $\rightarrow$ 4).

4.2.2 Distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos por cromatografia de permeação em gel (GPC)

Os perfis de distribuição do tamanho molecular dos amidos nativos e moídos estão apresentados na Figura 4.2. Os amido nativos de mandioquinha-salsa e mandioca apresentaram dois picos distintos. O primeiro pico que eluiu no volume vazio da coluna correspondente a amilopectina e o segundo que apresentou uma alta resposta de *blue value* correspondente a amilose. Um terceiro pico indica a glicose adicionada para marcar o final da eluição. O amido de mandioquinha-salsa nativo apresentou uma maior intensidade no pico da amilopectina, comparado ao amido de mandioca, enquanto o pico correspondente à amilose apresentou-se com baixa intensidade e bastante largo, o que demonstra o baixo teor de amilose apresentado por esse amido.

A moagem em moinho de bolas alterou a distribuição de tamanho molecular dos componentes de ambos os amidos. Os perfis de eluição mostram uma redução progressiva do pico da amilopectina e aumento do pico da amilose com o aumento do tempo de moagem e o amido de mandioquinha-salsa foi mais afetado. Isso sugere que as ligações do tipo α (1 $\rightarrow$ 6) foram rompidas durante a moagem liberando cadeias laterais da amilopectina que passaram a eluir juntamente com a amilose.

Zhang, Zhao e Xiong (2010) também relataram a despolimerização da amilopectina e formação de componentes com menor peso molecular após a moagem em moinho de bolas de amido de arroz por longos períodos (10, 50 e 100 h). Resultados similares foram observados por Tamaki et al. (1997) durante a moagem de amido de milho por 10, 20, 40, 80 e 320 h. Esses resultados aliados àqueles obtidos pela determinação da distribuição do comprimento das cadeias laterais da amilopectina, sugerem que as ligações do tipo α (1 $\rightarrow$ 6), presentes principalmente nas regiões amorfas dos grânulos, foram preferencialmente atacadas durante a moagem em moinho de bolas.

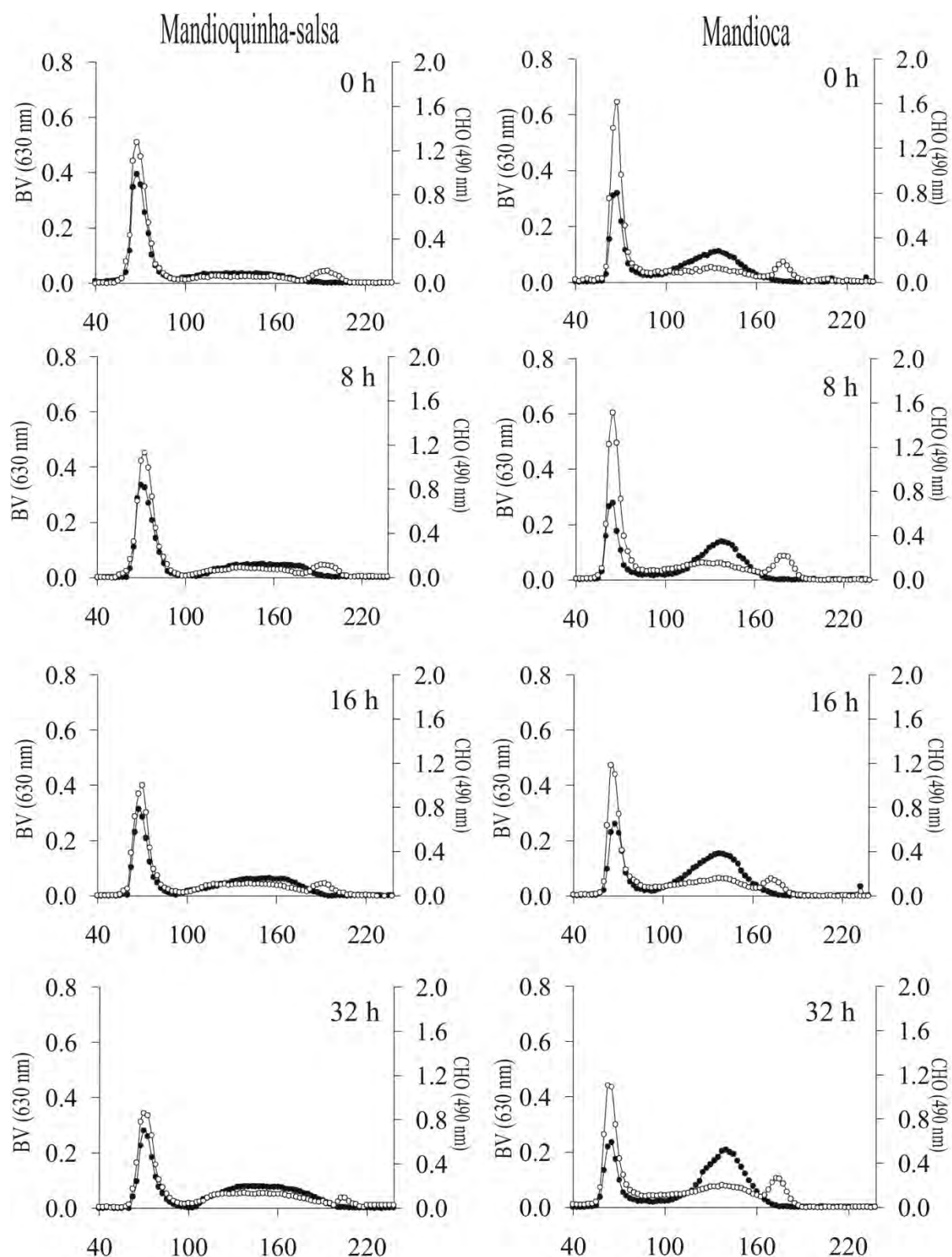


Figura 4.2: Perfis de eluição dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos durante 0 h, 8 h, 16 h e 32 h obtidos por cromatografia de permeação em gel Sepharose CL2B. (●) *Blue value*; (○) carboidratos totais.

4.2.3 Teor de Amilose

Os valores encontrados para a afinidade por iodo e o teor de amilose aparente dos amidos nativos e moídos são apresentados na Tabela 4.3. As frações de amilose e amilopectina dos amidos nativos foram separadas para a determinação da afinidade por iodo, pois cadeias laterais longas da amilopectina também tem a capacidade de formar complexo com o iodo e desenvolver coloração azul durante a titulação potenciométrica, superestimando dessa forma o teor de amilose dos amidos (JANE et al., 1999).

Tabela 4.3: Afinidade por iodo^a e teor de amilose aparente dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.

Tempo de moagem	Mandioquinha-salsa		Mandioca	
	Afinidade por Iodo	Teor de Amilose (%)	Afinidade por Iodo	Teor de Amilose (%)
0 h	3,13 ± 0,20 ^a	15,64	4,56 ± 0,02 ^{ab}	22,81
2 h	3,23 ± 0,07 ^{ab}	16,17	4,48 ± 0,04 ^a	22,41
4 h	3,39 ± 0,01 ^{ab}	16,95	4,67 ± 0,08 ^{ab}	23,33
8 h	3,26 ± 0,17 ^{ab}	16,28	4,61 ± 0,04 ^{ab}	23,04
16 h	3,29 ± 0,09 ^{ab}	16,44	4,77 ± 0,13 ^b	23,87
32 h	3,60 ± 0,15 ^b	18,00	5,10 ± 0,11 ^c	25,52

^aMédia de duas repetições com três replicatas, com respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

O amido nativo de mandioquinha-salsa apresentou um baixo teor de amilose aparente (15,64 %), que foi inferior ao encontrado por Rocha, Demiate e Franco (2008) e Vieira e Sarmiento (2008) (aproximadamente 17,5 %). Para o amido nativo de mandioca o teor de amilose aparente encontrado foi 22,81 %, superior ao valor encontrado para o amido de mandioquinha-salsa, como já havia sido demonstrado pela distribuição de tamanho molecular na Figura 4.2. Os resultados obtidos por Peroni, Rocha e Franco (2006), para amido de mandioca foram de 19,8 %, Huang et al. (2008) encontraram um teor 17,01 % , valores inferiores ao encontrado neste trabalho. Essas diferenças podem ser relacionadas aos diferentes métodos de determinação usados, de acordo com Jane et al. (1999), as cadeias laterais longas da amilopectina provocam a superestimação nos valores de amilose aparente quando se utiliza os métodos de titulação potenciométrica e *blue value*.

As afinidades por iodo das amilopectinas dos amidos nativos de mandioquinha-salsa e mandioca foram de 1,75 e 1,50 e os teores de amilose absoluta foram de 10,17 e 16,55%, respectivamente. Para ambos os amidos o teor de amilose absoluta foi menor que o aparente,

confirmando a formação de complexo amilopectina/iodo. A afinidade por iodo da amilopectina de mandioquinha-salsa foi superior a da amilopectina de mandioca, devido a sua maior proporção de cadeias longas como verificado na Tabela 4.2. Rocha et al. (2011) encontraram 9,1 % de amilose total para o amido de mandioquinha-salsa e 17 % para o amido de mandioca, valores próximos aos encontrados nesse trabalho. Santa Cruz et al. (2002) observaram, através de cromatografia de exclusão por tamanho, um valor de apenas 4% de amilose para este amido.

O teor de amilose aparente aumentou com 16 e 32 h de moagem para os amidos de mandioca e mandioquinha-salsa, respectivamente. Esse aumento confirmou a hipótese de que a moagem tenha causado o rompimento das ligações α (1 $\rightarrow$ 6) da amilopectina (Figura 4.2), formando assim cadeias lineares capazes de complexar com iodo, como sugerido por Huang et al. (2008). O amido de mandioquinha-salsa apresentou uma menor variação no teor de amilose do que o amido de mandioca, uma vez que este amido apresenta uma maior proporção de cadeias ramificadas longas que o amido de mandioca e que possivelmente já estariam complexadas com o iodo.

4.2.4 Viscosidade Intrínseca

A viscosidade intrínseca é uma característica diretamente relacionada à habilidade das macromoléculas de alterar um fluxo e indiretamente relacionada à forma e tamanho das moléculas (ISLAM et al., 2001). As viscosidades intrínsecas dos amidos nativos e moídos são apresentadas na Tabela 4.4.

O amido de mandioca apresentou viscosidade intrínseca semelhante ao observado por Cavallini e Franco (2010), de 2,57, e os valores obtidos para o amido de mandioquinha-salsa foi semelhante encontrado por Rocha, Demiate e Franco (2008) de 2,18. O amido de mandioca apresentou um maior valor de viscosidade intrínseca quando comparado ao amido de mandioquinha-salsa, concordando com o observado na distribuição de tamanho molecular (Figura 4.2) em que o amido de mandioquinha-salsa apresentou um segundo pico mais largo do que o apresentado pelo amido de mandioca. O segundo pico da distribuição é relativo às moléculas de menor tamanho molecular, que ficam retidas na coluna por mais tempo. O pico mais largo apresentado pelo amido de mandioquinha-salsa indica maior heterogeneidade dessas moléculas, e a presença de moléculas de menor tamanho molecular, que resultam em menores valores de viscosidade intrínseca.

Tabela 4.4: Viscosidade intrínseca^a dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos

Tempo de moagem	Viscosidade Intrínseca	
	Mandioquinha-salsa	Mandioca
0 h	2,07 ± 0,05 ^c	2,41 ± 0,02 ^a
2 h	2,29 ± 0,03 ^b	2,43 ± 0,09 ^a
4 h	2,32 ± 0,08 ^b	2,47 ± 0,03 ^a
8 h	2,40 ± 0,01 ^{ab}	2,42 ± 0,17 ^a
16 h	2,47 ± 0,12 ^a	2,50 ± 0,06 ^a
32 h	2,51 ± 0,02 ^a	2,52 ± 0,05 ^a

^a Média de duas repetições com duas replicatas, com respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tykey ($p < 0,05$).

A viscosidade intrínseca do amido de mandioquinha-salsa apresentou um aumento gradativo, enquanto a do amido de mandioca praticamente não se alterou com a moagem. No entanto, os resultados obtidos na distribuição do tamanho molecular dos amidos (Figura 4.2) e no teor de amilose (Tabela 4.3) sugeriram que houve quebra das ligações glicosídicas α (1→6), reduzindo o tamanho molecular das cadeias de amilopectina o que deveria resultar na redução da viscosidade intrínseca dos amidos.

Após a moagem, principalmente nos períodos mais longos de tratamento, os amidos se apresentaram como pós muito finos, com tamanho de partículas que dificultaram a dispersão dos mesmos. Esse comportamento foi verificado principalmente nos amidos de mandioquinha-salsa que foram os mais afetados pela moagem gerando dificuldade na execução de várias análises. Ao entrar em contato com a água, ocorria a formação de um filme na superfície do amido impedindo que toda amostra fosse solubilizada, ou seja, a amostra não era completamente dispersa restando alguns grumos de amido. Esse fato pode ter contribuído para os valores obtidos nas determinações de viscosidade intrínseca. Millard et al. (1997) estudou a influência de diferentes métodos de dispersão do amido nos resultados de viscosidade intrínseca e observou que quando preparadas em solução de DMSO 90 % as amostras apresentavam melhor dispersão, e os valores de altos pesos moleculares podiam ser resultado de agregados formados por cadeias de amilopectina que não foram completamente solubilizadas.

Esse problema não foi verificado nas análises de distribuição do comprimento das ramificações de amilopectina, distribuição do tamanho molecular dos componentes do amido e teor de amilose, pois as amostras foram preparadas em solução de DMSO 90 %.

4.2.5 Difração de raios-X e Cristalinidade relativa

Os difractogramas de raios-X dos amidos juntamente com suas cristalinidades relativas estão apresentados na Figura 4.3. O amido de mandioquinha-salsa apresentou padrão cristalino do tipo B, caracterizado por picos singletos em 5,6° e 17° e um dubleto em 22° e 24° em 2 θ . O padrão cristalino do tipo B para a mandioquinha-salsa também foi relatado por Viera e Sarmiento (2008), Yoo et al. (2009) e Rocha et al. (2011). O amido de mandioca apresentou um pico dubleto em 17 ° e 18 ° e um pico singlete em 23 ° característicos do polimorfo do tipo A, no entanto um leve pico a 5,6 ° foi observado, pico este característico do tipo B, o que levou a classificação desse amido como tipo C_A (BÚLEON et al., 1998; THYS et al., 2008), concordando com os estudos Jyothi, Sajeev e Sreekumar (2010). No entanto, nos trabalhos de Cavallini e Franco (2010) e Rocha et al. (2011), o amido de mandioca foi classificado como tipo A.

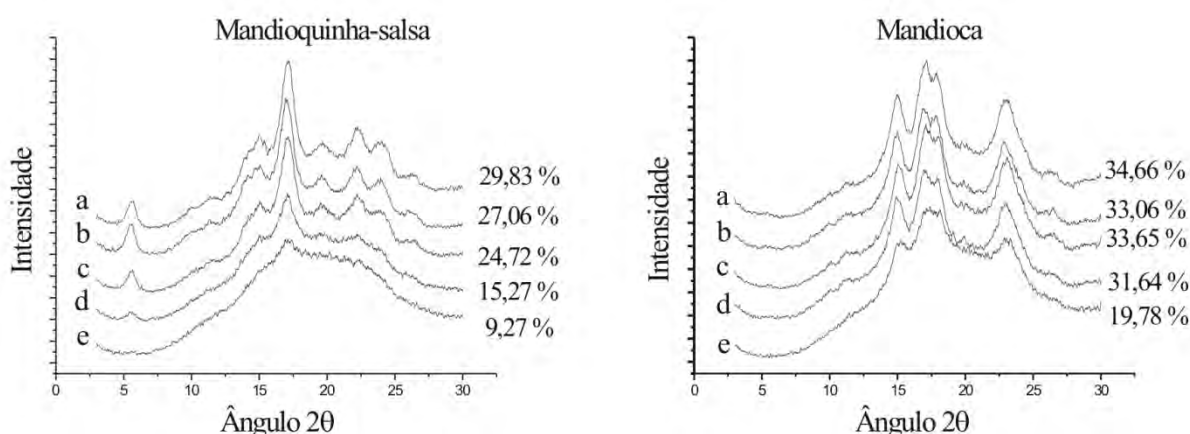


Figura 4.3: Difractogramas de raios-X e cristalinidade relativa dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos durante 0 h (a) 4 h (b), 8 h (c), 16 h (d) e 32 h (e).

Segundo Hizukuri et al. (1997) os tipos de polimorfismos A, B ou C são determinados principalmente pelo comprimento médio das cadeias da amilopectina. Amidos com polimorfismo cristalino do tipo A tem maior proporção de cadeias curtas, enquanto o polimorfo do tipo B apresenta maior quantidade de cadeias longas e o polimorfo do tipo C é uma mistura dos tipos A e B, apresentando quantidades significativas de cadeias curtas e longas (JANE, 2006). Nesse caso, era de esperar que o amido de mandioquinha-salsa apresentasse padrão tipo C, já que este amido contém quantidades substanciais tanto de cadeias curtas como de cadeias muito longas (Tabela 4.2). Mas para este amido foi observado padrão tipo B, mostrando ser este uma exceção.

A cristalinidade relativa em ambos os amidos foi gradualmente reduzida com o aumento do tempo de moagem. Segundo Zhang, Zhao e Xiong (2010) a força mecânica do processo de moagem pode provocar a destruição da estrutura do grânulo, o relaxamento dos clusters e o aparecimento de distorções e defeitos nos cristais. Para o amido de mandioquinha-salsa após 32 horas de moagem não foram mais observados picos no difractograma, indicando que a maioria das pontes de hidrogênio das duplas hélices de amilopectina, responsáveis pela formação dos cristais, foram rompidas reduzindo a região cristalina dos amidos (ANZAI et al., 2011). O amido de mandioquinha-salsa foi mais afetado em função da maior fragilidade de sua estrutura, provocada pelo maior número de defeitos (ROCHA et al. 2011) e baixo conteúdo de amilose desse amido (Tabela 4.3). De acordo com Tester (1997), os amidos que apresentam baixo teor de amilose são mais facilmente danificados, pois a amilose exerceria um efeito protetor nos grânulos, amortecendo o impacto nas regiões cristalinas.

Zhang, Zhao e Xiong (2010) também verificaram a redução gradativa da área cristalina do amido de arroz com o aumento do tempo de moagem, sendo que após 10 horas de tratamento não foram mais identificados picos nos difractogramas indicando que a estrutura cristalina foi destruída. O desaparecimento dos picos também foi relatado por Tamaki et al. (1997; 1998) em amidos de milho e batata tratados durante 20 horas e por Kim et al. (2001) em amido de batata moídos por 17 horas. Huang et al. (2007) relataram a conversão do amido de mandioca a um estado não cristalino com 2 horas de tratamento enquanto Cavallini e Franco (2010) obtiveram uma redução de 30 % da cristalinidade do amido de mandioca após a moagem por 1 hora.

4.2.6 Microscopia óptica, óptica com luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura

As imagens de microscopia óptica dos amidos nativos mostram, em ambos os amidos, populações de grânulos grandes e pequenos, sendo que o amido de mandioquinha-salsa apresentou maior diferença entre o tamanho dos grânulos e maior proporção de grânulos pequenos. Nos grânulos de amido de mandioca foi possível visualizar o hilo centralizado (Figura 4.4 0h). Quando observados sob luz polarizada os grânulos de amidos nativos apresentaram forte birrefringência (Figura 4.5 0h) indicando a organização das regiões cristalinas. A intensidade da birrefringência observada no amido de mandioquinha-salsa foi menor comparada àquela do amido de mandioca. Segundo Franco et al. (2002) a forma e

intensidade da cruz de malta são características de cada fonte de amido. Os grânulos de amido mandioquinha-salsa apresentaram superfície lisa e formato irregular e algumas fissuras (Figura 4.6, 0h), enquanto o amido de mandioca apresentou superfície lisa e formato oval com alguns grânulos truncados (Figura 4.6, 0h).

A moagem em moinho de bolas alterou a morfologia dos grânulos em ambos os amidos que apresentaram grânulos com superfície menos uniforme e maior número de grânulos quebrados. Com o aumento do tempo de moagem foi possível observar a perda da Cruz de Malta como consequência da gelatinização parcial dos grânulos de ambas as fontes botânicas. Os grânulos de amido de mandioquinha-salsa formaram aglomerados a partir de 4 h de moagem (Figura 4.6) e com 8 h de tratamento um filme recobrindo os grânulos foi observado através de MEV (Figura 4.6), indicando a gelatinização parcial. Como discutido anteriormente, esse amido foi o mais afetado pela moagem e após 16 h os grânulos deixaram de apresentar estrutura definida. No amido de mandioca a formação de aglomerados foi observada com 8 h de moagem, quando já se via também alguns pontos de gelatinização (Figura 4.6). Com 16 e 32 h de moagem a gelatinização parcial dos grânulos aumentou, mas alguns grânulos com estrutura definida ainda eram visualizados (Figura 4.6).

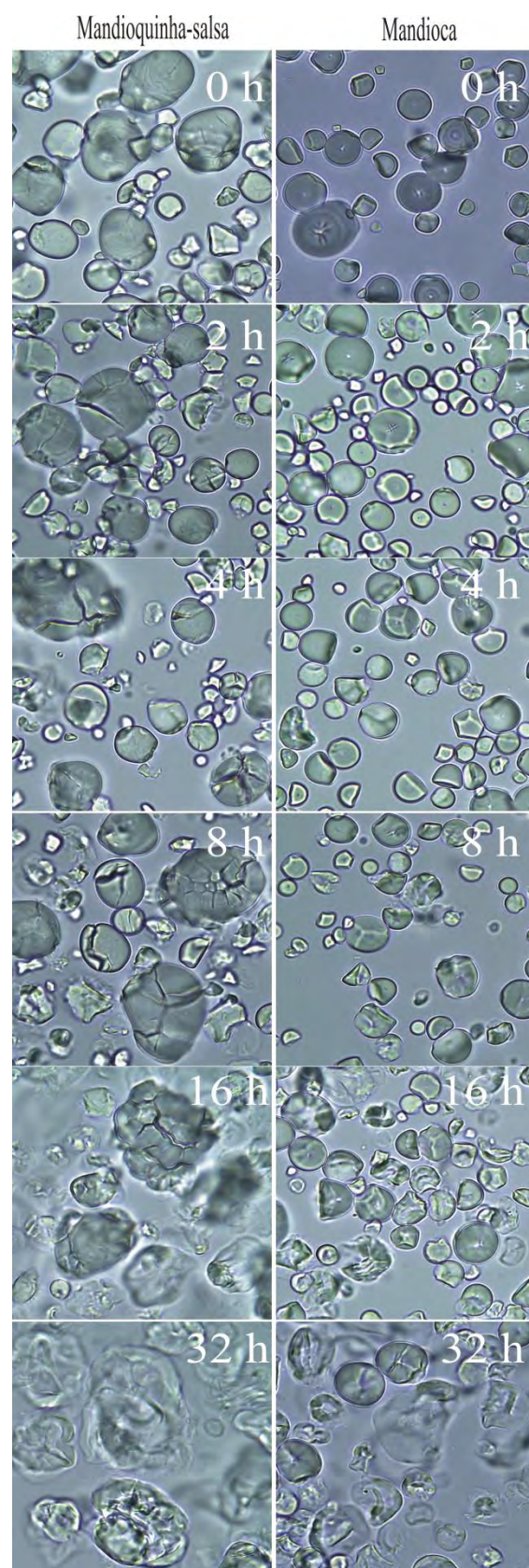


Figura 4.4: Microscopia óptica dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0h, 2h, 4 h, 8 h, 16 h e 32h.

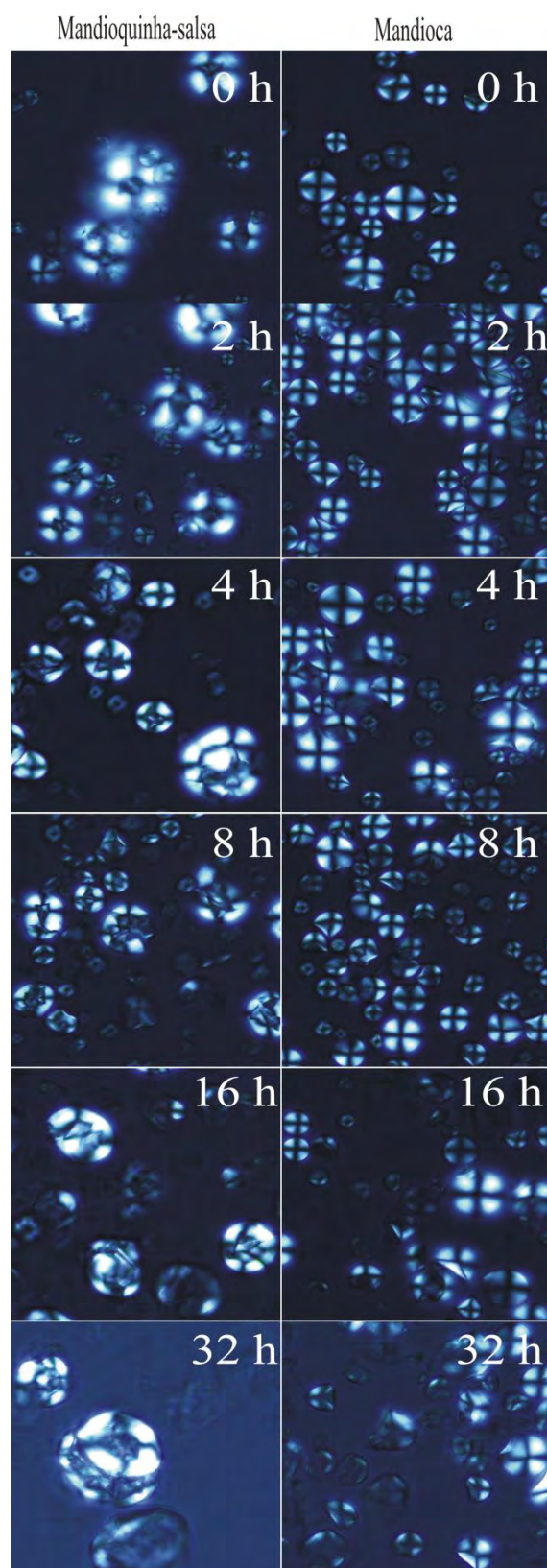


Figura 4.5: Microscopia óptica sob luz polarizada dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0h, 2h, 4 h, 8 h, 16 h e 32h.

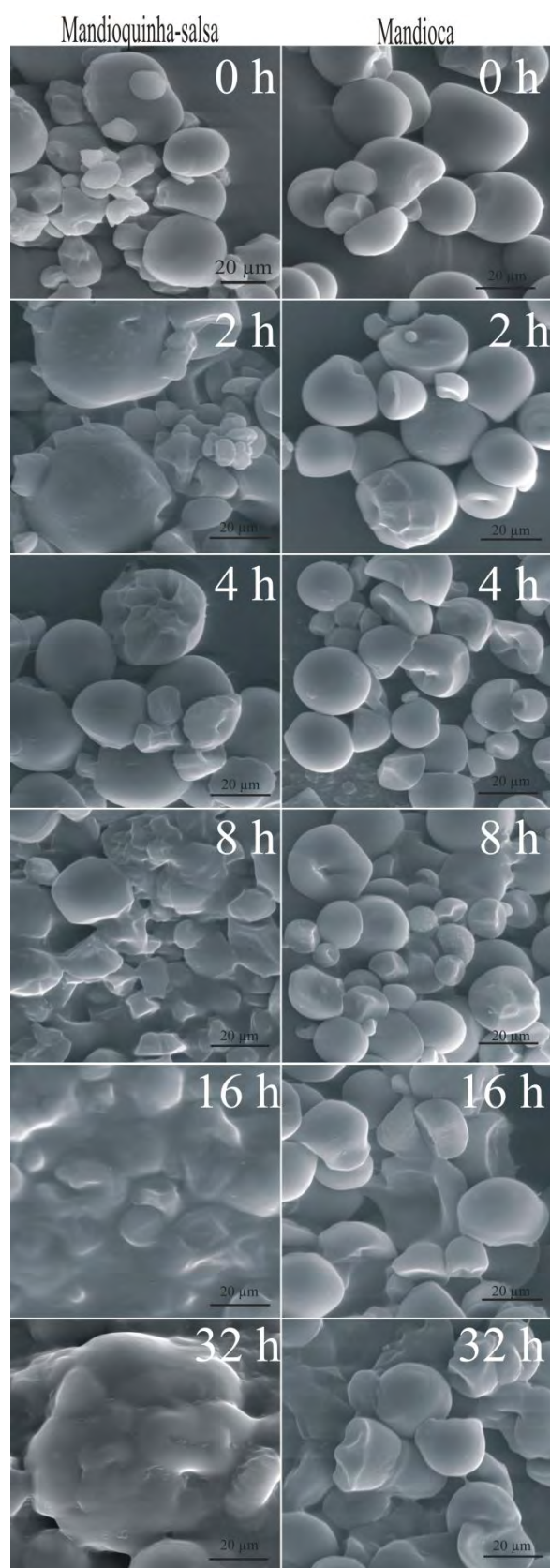


Figura 4.6 : Microscopia Eletrônica de Varredura dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0h, 2h, 4 h, 8 h, 16 h e 32h.

4.2.7 Índice de absorção (IAA) e solubilidade em água (ISA)

Os índices de absorção e solubilidade em água dos amidos nativos e moídos são apresentados na Figura 4.7 e Figura 4.8. Os amidos nativos são praticamente insolúveis em água fria, devido a sua estrutura semicristalina. O amido de mandioquinha-salsa apresentou maior IAA e menor ISA que o amido de mandioca (Figura 4.7). A maior proporção de cadeias laterais longas (GP >37) do amido de mandioquinha-salsa em relação ao amido de mandioca pode ter contribuído para esses resultados, uma vez que cadeias mais longas apresentam um maior número de hidroxilas que podem se ligar a água aumentando o IAA.

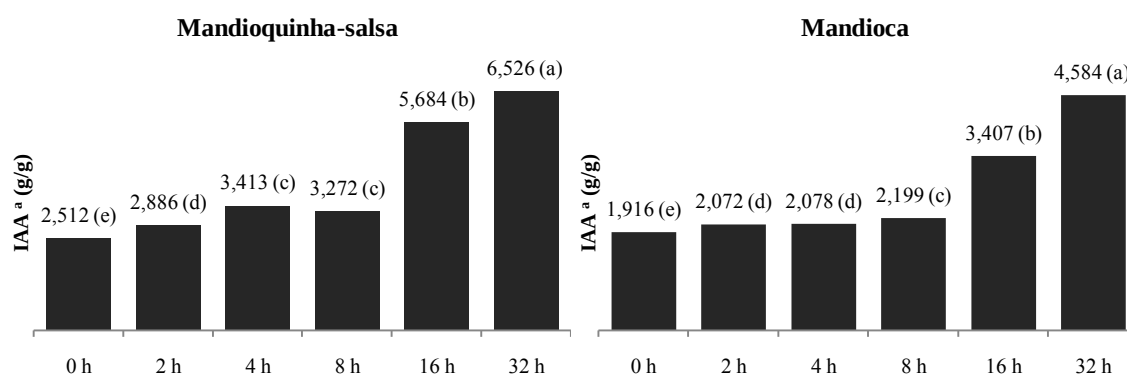


Figura 4.7: Índice de absorção de água dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em diferentes tempos. ^aMédia de duas repetições com três replicatas. Valores seguidos pela mesma letra no mesmo gráfico não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Após a moagem os IAA e o ISA dos amidos aumentaram principalmente após 16 h de tratamento quando os amidos já estavam parcialmente gelatinizados. O ISA do amido de mandioquinha-salsa apresentou maior aumento do que o observado para o amido de mandioca (Figura 4.8) contudo o IAA para o amido de mandioquinha-salsa não aumentou na mesma proporção e apresentou um pequeno aumento quando comparado ao amido de mandioca. Isso se deve ao fato dos grânulos do amido mandioquinha-salsa terem sido mais danificados durante a moagem (Figura 4.6). A quebra das pontes de hidrogênio das duplas hélices, ocorrida durante a moagem, provocou a liberação de grande quantidade de hidroxilas livres para se ligarem à água aumentando a solubilidade do amido, mas a grande degradação da área cristalina limitou sua capacidade de reter água.

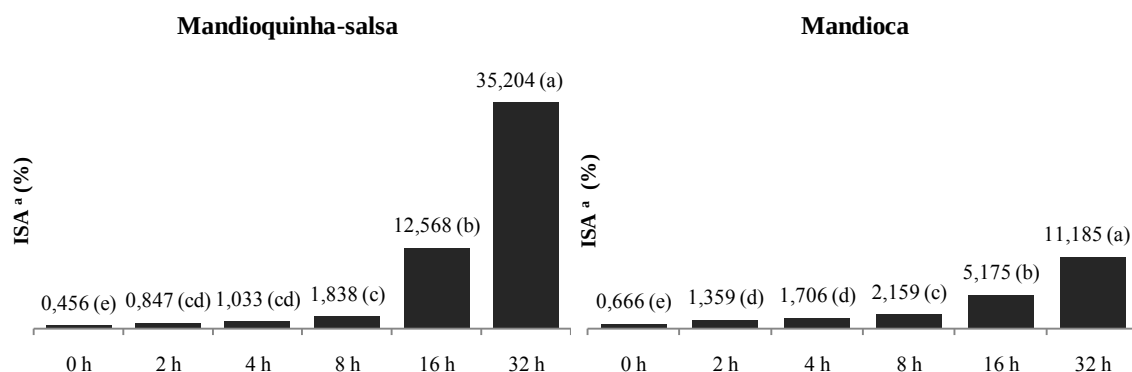


Figura 4.8: Porcentagem de solubilidade em água fria dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em diferentes tempos. ^aMédia de duas repetições com três replicatas. Valores seguidos pela mesma letra no mesmo gráfico não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.2.8 Fator de expansão

A capacidade que o grânulo apresenta em expandir permite obter informações sobre as interações entre as cadeias de amido nas regiões cristalinas e amorfas do grânulo. Os resultados obtidos para o fator de expansão dos amidos tratados e nativos em diferentes temperaturas estão apresentados na Tabela 4.5.

Nos amidos nativos, foi observada uma maior expansão dos grânulos do amido de mandioquinha-salsa, em comparação ao amido de mandioca. Esse amido também apresentou maior IAA, o que segundo Rickard et al. (1991) influencia a capacidade de expansão dos grânulos. O maior FE observado para o amido de mandioquinha-salsa também pode ser explicado pela maior quantidade de ramificações curtas e longas da amilopectina encontrada para este amido. Singh et al. (2010) em um estudo realizado em amidos de trigo, observaram uma relação positiva entre o FE dos grânulos e a proporção de cadeias laterais curtas (GP 6-12) da amilopectina. Segundo estes autores as cadeias curtas provocam a desestabilização da estrutura lamelar facilitando o inchamento do grânulo. As cadeias longas (GP > 37) ao contrário apresentam maior número de hidroxilas que se ligam às moléculas de água. Uma menor quantidade de cadeias com GP entre 18 e 21 também foi observado no amido de mandioquinha-salsa, o que indicou maior número de defeitos, que tornaram a estrutura cristalina mais frágil e por isso com a expansão facilitada.

Tabela 4.5: Fator de expansão^a dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos.

Tempo de moagem	Temperatura			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
Mandioquinha-salsa				
0 h	30,05 ± 1,28 ^b	36,37 ± 0,24 ^b	38,71 ± 0,51 ^b	21,42 ± 0,60 ^b
2 h	32,96 ± 1,25 ^a	39,12 ± 0,30 ^a	40,43 ± 0,18 ^a	23,46 ± 0,77 ^a
4 h	34,02 ± 0,05 ^a	36,94 ± 1,26 ^{ab}	40,03 ± 0,44 ^{ab}	22,36 ± 0,23 ^b
8 h	27,68 ± 0,26 ^c	30,25 ± 1,38 ^c	32,37 ± 0,90 ^c	19,92 ± 0,38 ^c
16 h	23,08 ± 0,33 ^d	25,95 ± 0,64 ^d	29,85 ± 0,79 ^d	17,10 ± 0,51 ^d
32 h	16,58 ± 0,52 ^e	18,52 ± 0,43 ^e	21,73 ± 0,91 ^e	10,16 ± 0,24 ^e
Mandioca				
0 h	14,45 ± 0,48 ^c	33,44 ± 1,71 ^a	37,09 ± 0,68 ^b	26,00 ± 0,73 ^{ab}
2 h	25,32 ± 0,50 ^a	34,61 ± 0,34 ^a	37,71 ± 0,45 ^{ab}	26,99 ± 1,29 ^a
4 h	24,40 ± 1,43 ^a	32,46 ± 0,43 ^a	39,23 ± 0,32 ^a	24,45 ± 0,44 ^b
8 h	18,78 ± 1,22 ^b	29,05 ± 0,52 ^b	34,71 ± 0,25 ^c	20,49 ± 0,94 ^c
16 h	16,19 ± 0,56 ^c	24,35 ± 0,70 ^c	29,99 ± 1,05 ^d	18,77 ± 0,43 ^d
32 h	12,02 ± 0,53 ^d	18,64 ± 0,40 ^d	25,99 ± 0,73 ^e	15,06 ± 0,74 ^e

^a Média de duas repetições com três replicatas, com respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna para cada amido não diferem significativamente pelo teste de Tykey (p<0,05).

O fator de expansão dos dois amidos aumentou nas primeiras horas da moagem e a partir de 8 horas reduziu. Segundo Tester (1997), o atrito das bolas com o amido durante a moagem é responsável por formar diferentes frações do grânulo: grânulos nativos, que não foram alterados pelo processo; grânulos remanescentes, que são fragmentos dos grânulos nativos, mas que ainda mantêm uma estrutura ordenada e por isso não são facilmente solúveis em água fria; material gelificante, que são fragmentos dos grânulos que perderam a ordem estrutural e são prontamente hidratáveis em água fria para formar gel; e material solúvel, que são os fragmentos da amilopectina. Como observado por MEV, os amidos moídos durante 2, 4 e 8h (Figura 4.6) resultaram em fragmentos de grânulos, grânulos quebrados e alguns grânulos maiores danificados, mas com capacidade de manter a expansão granular, enquanto aqueles moídos por 16 e 32 h (Figura 4.6) foram parcialmente gelatinizados e seus grânulos não apresentavam mais estrutura granular.

Com o aumento da temperatura até 80 °C obteve-se maior expansão dos grânulos dos amidos, pois a capacidade de absorção de água foi aumentada devido à perda de associação das cadeias no interior dos grânulos aumentando a quantidade de hidroxilas livres para se ligarem à água (FRANCO et al., 2001). Quando a temperatura utilizada foi de 90 °C a

expansão dos grânulos diminuiu, porque a esta temperatura os grânulos já estavam totalmente rompidos.

4.2.9 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta e os perfis amilográficos dos amidos nativos e moídos estão apresentados na Tabela 4.6 e Figura 4.9. Os amidos nativos apresentaram perfil característico de amidos de raízes com alta viscosidade de pico, alta quebra e baixa tendência a retrogradação. O amido de mandioquinha-salsa exibiu maiores viscosidades de pico e quebra que o amido de mandioca em função de seu maior teor de amilopectina e fragilidade de seus grânulos. Por outro lado, o amido de mandioca apresentou maior tendência a retrogradação, o que também pode estar relacionado ao seu maior conteúdo de amilose. Por serem lineares as cadeias de amilose retrogradam mais facilmente, por apresentarem uma maior tendência a reassociação durante o resfriamento.

Tabela 4.6: Propriedades de pasta^a dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos

Tempo de moagem	T° Pasta (°C)	Viscosidades (RVU)			
		Pico	Quebra	Final	Setback
Mandioquinha-salsa					
0 h	61,3 ± 0,3 ^a	411 ± 8 ^a	299 ± 8 ^a	160 ± 2 ^{ab}	48 ± 1 ^a
2 h	61,2 ± 0,0 ^a	428 ± 2 ^a	317 ± 2 ^a	159 ± 3 ^{ab}	48 ± 3 ^a
4 h	61,0 ± 0,3 ^a	423 ± 3 ^a	313 ± 3 ^a	156 ± 1 ^{ab}	46 ± 1 ^a
8 h	60,6 ± 0,3 ^a	429 ± 4 ^a	318 ± 3 ^a	167 ± 0 ^a	56 ± 2 ^a
16 h	59,4 ± 0,3 ^b	364 ± 2 ^b	261 ± 2 ^b	154 ± 0 ^b	51 ± 0 ^a
32 h	53,0 ± 1,4 ^c	197 ± 2 ^c	122 ± 4 ^c	124 ± 3 ^c	55 ± 5 ^a
Mandioca					
0 h	68,2 ± 0,4 ^a	280 ± 1 ^a	184 ± 2 ^a	160 ± 2 ^a	87 ± 1 ^b
2 h	68,0 ± 0,0 ^a	290 ± 1 ^a	199 ± 1 ^a	189 ± 3 ^a	99 ± 4 ^a
4 h	67,8 ± 0,3 ^a	279 ± 3 ^b	192 ± 3 ^{ab}	183 ± 4 ^{ab}	96 ± 3 ^{ab}
8 h	67,6 ± 0,1 ^a	275 ± 1 ^b	188 ± 3 ^b	184 ± 2 ^{ab}	97 ± 0 ^{ab}
16 h	66,4 ± 0,0 ^b	249 ± 0 ^c	166 ± 0 ^c	176 ± 0 ^b	93 ± 0 ^{ab}
32 h	63,4 ± 0,8 ^c	198 ± 1 ^d	128 ± 3 ^d	140 ± 1 ^c	72 ± 1 ^c

^a Média de duas repetições com duas determinações, com respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna para cada amido não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

As propriedades de pasta dos amidos moídos de ambas as fontes botânicas praticamente não sofreram alterações nas primeiras horas de moagem, porém foram afetadas

com 16 e 32 h de tratamento. Nesses tempos a moagem resultou na redução da temperatura de pasta e das viscosidades de pico, de quebra e final para ambos os amidos. A viscosidade de *setback* apresentou diferença estatística apenas para o amido de mandioca tratado por 32 h. Esses resultados confirmaram a alteração da estrutura cristalina dos amidos com a moagem.

Segundo Zhang, Zhao e Xiong (2010) a redução nas viscosidades dos amidos após o moagem é resultado do menor número de grânulos que ainda estão intactos e apresentam capacidade de inchamento. Resultados semelhantes foram observados Cavallini e Franco (2010) para a moagem de amido de mandioca em moinho de bolas e por Dhital, Shrestha e Gidley (2010) para os amidos de batata e milho moídos em moinho criogênico.

Nos perfis viscoamilográficos foi possível observar, para os amidos tratados por 16 e 32 h o desenvolvimento de viscosidade inicial, resultado da gelatinização parcial do amido confirmando os resultados obtidos das análises microscópicas, IAA, ISA e FE. O atrito provocado durante o tratamento rompeu as pontes de hidrogênio existentes entre as moléculas do grânulo provocando o colapso da ordem cristalina mesmo sem a presença de água e calor. O amido de mandioquinha-salsa apresentou maiores alterações em suas propriedades de pasta, assim como foi observado na determinação da distribuição do tamanho molecular e índice de solubilidade, reafirmando a maior suscetibilidade desse amido a modificação.

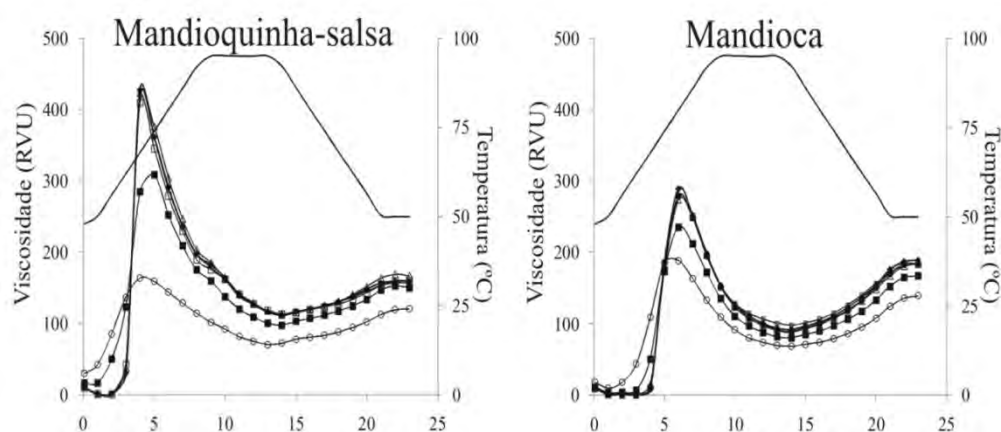


Figura 4.9: Perfil viscoamilográfico dos amidos de mandioquinha – salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0h (□), 2 h (◆), 4 h (●), 8 h (Δ), 16 h (■) e 32 h (○) obtidos por RVA.

4.2.10 Propriedades Térmicas

As propriedades de gelatinização dos amidos nativos e moídos são apresentadas na Tabela 4.7 e os perfis endotérmicos na Figura 4.10. Ambos os amidos na sua forma nativa

apresentaram baixas temperaturas iniciais de gelatinização, sendo que o amido de mandioca apresentou o menor valor. Os resultados encontrados são semelhantes aos obtidos por Rocha et al. (2011) e por Campanha e Franco (2011) para os dois amidos.

Segundo Singh et al. (2003), o grau de perfeição cristalina é refletido nas temperaturas de gelatinização. A temperatura de pico de gelatinização fornece uma medida da qualidade dos cristais, o que está relacionado ao comprimento das duplas hélices. As baixas temperaturas de gelatinização desses amidos estão relacionadas à suas estruturas cristalinas que apresenta certo grau de defeitos devido à baixa proporção de cadeias de GP entre 18 e 21, mais acentuada no amido de mandioca (Figura 4.1) (Jane et al., 1999) e a grande proporção de cadeias curtas também apresentada por esse amido (ROCHA et al., 2011). O amido de mandioca apresentou também maior valor de ΔH , que pode ser relacionado à maior proporção de cadeias longas, como mostrado na Tabela 4.2, que formam duplas hélices mais longas.

Tabela 4.7: Propriedades de gelatinização^a dos amidos de mandioca e mandioca moídos em moído de bolas por diferentes tempos.

Tempo de moagem	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	(T _c - T ₀) (°C)	ΔH (J,g ⁻¹)
Mandioca					
0 h	56,73 ± 0,59 ^a	60,25 ± 0,71 ^a	63,97 ± 0,70 ^a	7,24	15,58 ± 0,61 ^a
2 h	55,99 ± 0,15 ^{ab}	59,63 ± 0,05 ^a	63,48 ± 0,30 ^{ab}	7,49	12,43 ± 0,24 ^b
4 h	55,94 ± 0,02 ^{ab}	59,92 ± 0,00 ^a	63,01 ± 0,10 ^{ab}	7,07	11,07 ± 0,45 ^c
8 h	55,70 ± 0,21 ^b	59,34 ± 0,27 ^a	62,70 ± 0,20 ^b	7,00	9,91 ± 0,19 ^d
16 h	47,53 ± 0,23 ^c	58,07 ± 0,12 ^b	61,47 ± 0,29 ^c	13,94	7,30 ± 0,60 ^e
32 h	46,26 ± 0,53 ^d	50,89 ± 0,48 ^c	56,08 ± 0,38 ^d	9,81	2,72 ± 0,18 ^f
Mandioca					
0 h	60,97 ± 0,06 ^a	67,31 ± 0,35 ^a	74,49 ± 0,04 ^a	13,53	15,47 ± 1,64 ^a
2 h	59,56 ± 0,50 ^{ab}	66,38 ± 0,24 ^b	72,99 ± 0,37 ^a	13,43	13,67 ± 0,25 ^{ab}
4 h	59,14 ± 0,13 ^{ab}	66,65 ± 0,12 ^{ab}	73,63 ± 0,25 ^a	14,50	11,90 ± 0,32 ^{bc}
8 h	58,39 ± 0,61 ^b	66,53 ± 0,13 ^b	73,30 ± 0,19 ^a	14,91	10,82 ± 0,34 ^c
16 h	51,84 ± 1,57 ^c	61,11 ± 0,01 ^c	69,98 ± 0,31 ^b	18,14	8,38 ± 0,08 ^d
32 h	49,82 ± 0,11 ^c	55,28 ± 0,19 ^d	66,62 ± 1,15 ^c	16,80	5,36 ± 0,43 ^e

^a Média de duas repetições com três replicatas, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra, numa mesma coluna para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05); T₀, T_p, T_f = temperatura inicial, de pico e final. ΔT = (T_f - T₀); ΔH = variação de entalpia.

O amido de mandioquinha-salsa apresentou um pico de gelatinização estreito ($\Delta T = 7,73$) e de alta intensidade. O pico de gelatinização do amido de mandioca foi menos intenso e mais largo ($\Delta T = 13,80$), apresentando uma faixa de temperatura de gelatinização mais ampla (Figura 4.10), o que indica uma maior heterogeneidade dos cristais desse amido. De acordo com Ellis et al. (1998) a faixa de temperatura de gelatinização do amido é afetada pelas condições do meio durante a síntese do amido, principalmente pela temperatura durante o desenvolvimento do grânulo.

Após a moagem os picos endotérmicos de ambos os amidos foram deslocados para a esquerda e tiveram sua altura reduzida indicando a redução nas temperaturas de gelatinização e variação de entalpia. A redução na variação de entalpia foi mais intensa no amido de mandioquinha-salsa (Tabela 4.7) sugerindo que as duplas hélices da amilopectina desse amido foram fortemente atingidas. Após 16 h de moagem, para ambos os amidos, foram observados picos endotérmicos mais largos sugerindo uma maior heterogeneidade nos cristais. Após 32 h de moagem o amido de mandioquinha-salsa praticamente não apresentou pico endotérmico indicando a gelatinização quase total desse amido nessa condição de tratamento.

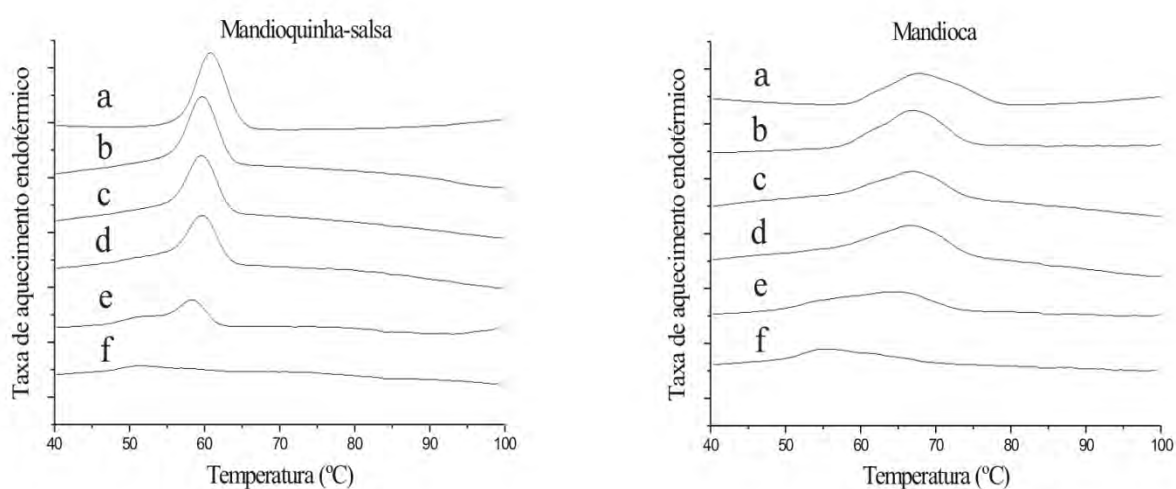


Figura 4.10: Perfil endotérmico dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por 0 h (a), 2 h (b), 4 h (c), 8 h (d), 16 h (e) e 32 h (f) determinados por DSC.

4.2.11 Determinação do Grau de gelatinização

O grau de gelatinização dos amidos moídos, determinados a partir da relação entre a variação de entalpia dos amidos nativos e moídos, aumentou gradativamente com o aumento do tempo de moagem como pode ser observado na Tabela 4.8. O amido de mandioquinha-salsa foi quase totalmente gelatinizado (82 %) após 32 h de moagem enquanto o amido de mandioca apresentou 65 % de gelatinização nas mesmas condições de tratamento. Esses resultados concordam com aqueles observados nas imagens de microscopia óptica, microscopia de luz polarizada e MEV (Figuras 4.4; 4.5 e 4.6). O atrito entre as bolas e os grânulos de amido e o aquecimento produzido durante a moagem produziram a energia requerida para a degradação das moléculas de amido. O rompimento das pontes de hidrogênio provocou o colapso da ordem cristalina dos grânulos. Do mesmo modo que o processo de gelatinização na presença de água, a gelatinização do amido provocada pelo moagem em moinho de bolas pode ser observada pela perda de birrefringência (Figura 4.5), perda de cristalinidade (Figura 4.3) e redução nos picos endotérmicos de gelatinização (Figura 4.10) modificando de modo irreversível as propriedades físico-química dos amidos (CHEN, SHEN, YEH, 2010).

Tabela 4.8: Grau de gelatinização dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca moídos em moinho de bolas por diferentes tempos

Tempo de moagem	% Gelatinização	
	Mandioquinha-salsa	Mandioca
2 h	20,22	11,61
4 h	28,98	23,04
8 h	36,40	30,08
16 h	53,14	45,80
32 h	82,57	65,37

Amidos gelatinizados são usados industrialmente por apresentarem vantagens como dispersabilidade, solubilidade e viscosidade à baixas temperaturas e podem ser usados na preparação de alimentos instantâneos que necessitam de rápida dispersão (HAGHAYEGH, SCHOENLECHNER, 2011).

4.3 TRATAMENTO TÉRMICO A BAIXA UMIDADE

4.3.1 Distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina

A distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos nativos submetidos ao TTBU estão apresentados na Tabela 4.9.

Como esperado, o TTBU não alterou a distribuição de comprimento de cadeias laterais da amilopectina de ambos os amidos. Segundo Gunaratne e Hoover (2002) o TTBU promove a interação das cadeias poliméricas pelo rompimento da estrutura cristalina e dissociação das duplas hélices na região amorfa e posterior rearranjo desses cristais, sem que a estrutura granular seja destruída. Desse modo as ligações glicosídicas não são afetadas. Resultados semelhantes foram observados por Vatatharajan et al. (2010) para amidos de batata normal e ceroso, tratados por 16 horas a 100 °C com 24% de umidade.

Tabela 4.9: Distribuição do comprimento das cadeias de amilopectina dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e modificados por TTBU.

Amidos	Comprimento de Cadeia (%) ^a				$\overline{GP}$	>GP
	GP 6-12	GP 13-24	GP 25-36	GP >37		
Mandioquinha-salsa						
Nativo	33,72 ± 0,51 ^a	43,69 ± 0,77 ^a	11,64 ± 0,13 ^a	10,95 ± 0,14 ^a	19,30 ± 0,00 ^a	78
TTBU 30 %	33,06 ± 0,86 ^a	44,28 ± 1,61 ^a	11,96 ± 0,34 ^a	10,53 ± 0,97 ^a	19,25 ± 0,16 ^a	78
TTBU 35 %	34,09 ± 0,35 ^a	43,35 ± 0,24 ^a	11,87 ± 0,34 ^a	10,69 ± 0,06 ^a	19,20 ± 0,08 ^a	78
Mandioca						
Nativo	30,66 ± 0,73 ^a	47,14 ± 0,02 ^a	12,59 ± 0,41 ^a	9,61 ± 0,30 ^a	19,35 ± 0,20 ^a	77
TTBU 30 %	31,36 ± 0,72 ^a	46,77 ± 0,39 ^a	12,55 ± 0,19 ^a	9,32 ± 0,21 ^a	19,19 ± 0,15 ^a	77
TTBU 35 %	31,40 ± 0,18 ^a	47,00 ± 0,20 ^a	12,39 ± 0,04 ^a	9,21 ± 0,04 ^a	19,13 ± 0,03 ^a	77

^aMédia de duas repetições com duas replicatas, com respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

4.3.2 Distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos por cromatografia de permeação em gel (GPC)

A Figura 4.11 apresenta os perfis de eluição dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa nativos e após o tratamento por TTBU a 30 e 35 % de umidade. Não foram verificadas alterações na intensidade dos picos correspondentes a amilopectina e a amilose, e também não ocorreu a formação de material intermediário, de forma que se pode dizer que o TTBU não alterou a distribuição do tamanho molecular dos componentes dos amidos. Como mencionado

anteriormente (item 4.2.1) o tratamento térmico altera a estrutura cristalina pela reorganização das cadeias liberadas pela quebra das duplas hélices, sem que as ligações glicosídicas sejam afetadas. Os resultados obtidos por GPC e por HPAEC-PAD (Tabela 4.9) mostram que as ligações glicosídicas do tipo α (1 $\rightarrow$ 4) e α (1 $\rightarrow$ 6) não foram atingidas e a estrutura das cadeias não foi afetada em nenhuma das condições em que o tratamento foi conduzido.

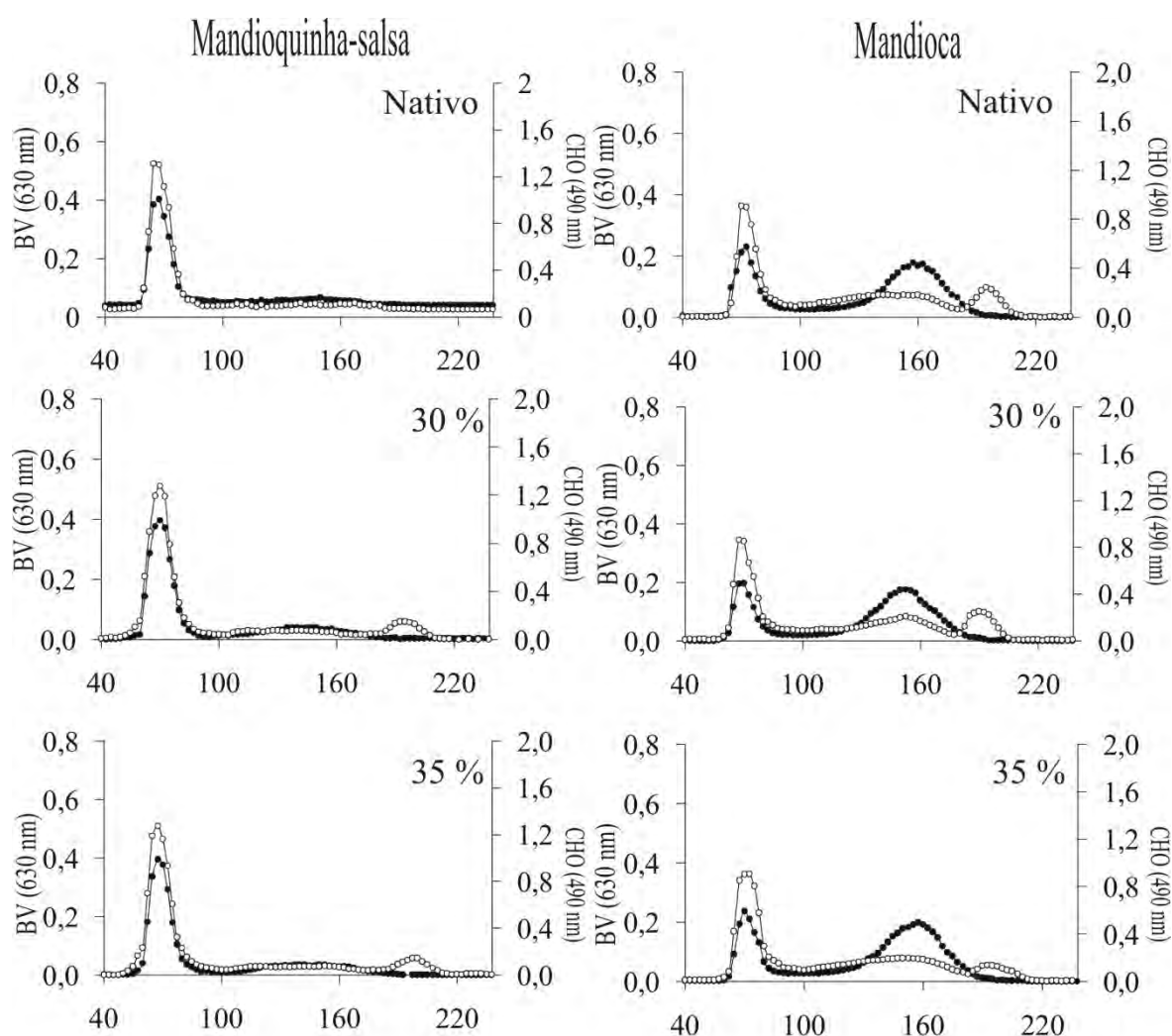


Figura 4.11: Perfil de eluição dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU com teor de umidade de 30 e 35 % obtidos por cromatografia de permeação em gel Sepharose CL2B. (●) *Blue value*; (○) carboidratos totais.

4.3.3 Teor de amilose

O teor de amilose aparente dos amidos nativos e tratados por TTBU são apresentados na Tabela 4.10. O tratamento não provocou alteração significativa no teor de amilose dos

amidos, confirmando os resultados obtidos pela distribuição do tamanho molecular (Figura 4.11).

Tabela 4.10: Afinidade por iodo^a e teor de amilose aparente dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e modificados por TTBU

Amido	Mandioquinha-salsa		Mandioca	
	Afinidade por Iodo	Teor de Amilose	Afinidade por Iodo	Teor de Amilose
Nativo	3,13 ± 0,20 ^a	15,64	4,56 ± 0,02 ^a	22,81
TTBU 30 %	3,12 ± 0,04 ^a	15,62	4,32 ± 0,11 ^a	21,32
TTBU 35 %	3,03 ± 0,06 ^a	15,16	4,21 ± 0,16 ^a	21,05

^aMédia de duas repetições com três replicatas, com respectivo desvio-padrão entre parênteses. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna para cada amido não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

4.3.4 Difração de raios-X e cristalinidade relativa

Os difractogramas de raios-X e a cristalinidade relativa dos amidos nativos e tratados por TTBU são apresentados na Figura 4.12. O padrão cristalino do tipo B do amido de mandioquinha-salsa foi alterado para tipo C após o TTBU nas duas condições testadas. Os difractogramas dos amidos tratados mostraram redução na intensidade do pico a 5,6 ° e surgimento de um pico singlete a 23 ° no lugar dos picos dubletos em 22 ° e 24 ° em 2θ anteriormente observados no difractograma do amido nativo. Por outro lado, o padrão de cristalinidade do amido de mandioca foi alterado de C_A para A com o TTBU, observado nos difractogramas pelo desaparecimento do pico a 5,6 ° em 2θ.

O padrão cristalino do tipo C é uma mistura dos tipos A e B em diferentes proporções (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; HIZUKURI et al. 1997), portanto a alteração do padrão cristalino do tipo B para tipo C observada no amido de mandioquinha-salsa e do tipo C_A para A no amido de mandioca foi resultado da alteração de cristais do tipo B para o tipo A durante o TTBU. Essa alteração pode ser atribuída a vaporização de 36 moléculas de água no canal central das células do tipo B seguida da movimentação de um par de duplas hélices para o centro da unidade celular passando de um estado de menor estabilidade termodinâmica para um modelo de maior estabilidade em uma unidade celular monocíclica com 8 moléculas de água em seu interior (ZAVARESE; DIAS, 2011). A mudança do padrão cristalino do tipo B para o tipo C também foi relatada por Vatatharajan et al. (2010) em amidos de batata e por Gunaratne e Hoover (2002) em amidos de batata e inhame.

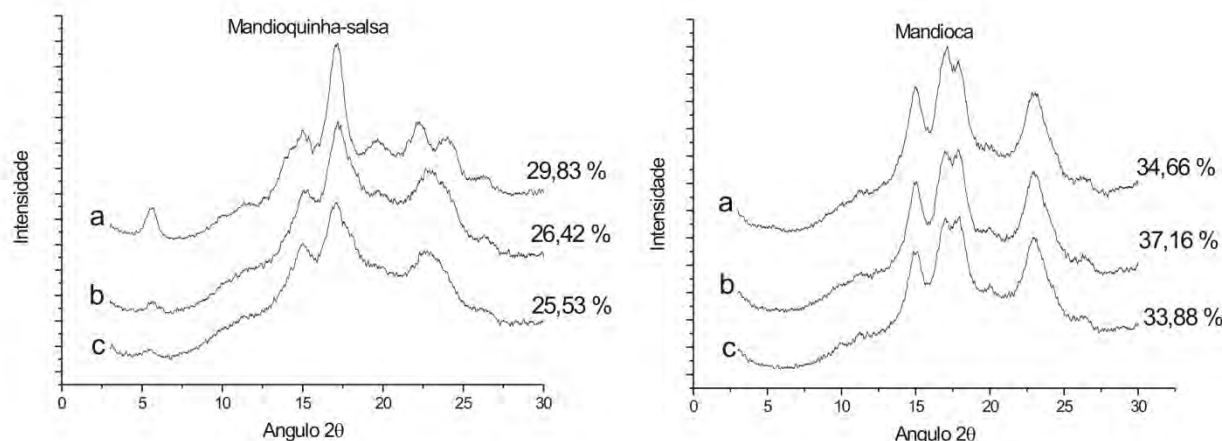


Figura 4.12: Difractogramas de raios-X dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos (a) e modificados por TTBU com 30 % (b) e 35 % (c) de umidade com suas respectivas cristalinidades relativas.

A cristalinidade relativa foi reduzida para o amido de mandioquinha-salsa submetido às duas condições de TTBU, enquanto que para o amido de mandioca tratado com 30 % de umidade a cristalinidade relativa aumentou e com 35 % ela reduziu. Como o TTBU provoca uma reorganização das moléculas de amido aumentando a interação entre elas, era esperado que a cristalinidade relativa desses amidos aumentasse, porém é possível ter ocorrido uma gelatinização parcial dos amidos, principalmente a maiores teores de umidade. Jyothi, Sajeev e Sreekumar (2010) também relataram redução na cristalinidade relativa do amido de mandioca tratado com 20 % de umidade a 120 °C, enquanto Khunae, Tran e Sirivongpaisal (2007) observaram redução na cristalinidade relativa em amidos de arroz com o aumento no conteúdo de umidade.

4.3.5 Microscopia óptica, óptica com luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura

O TTBU é conhecido por não provocar alterações morfológicas nos grânulos do amido (GUNARATNE, HOOVER, 2002), no entanto foi possível observar nas imagens obtidas por microscopia óptica (Figura 4.13), óptica com luz polarizada (Figura 4.14) e eletrônica de varredura (Figura 4.15) que o TTBU provocou a aglomeração dos grânulos dos amidos após o tratamento. A formação de aglomerados no amido de mandioca foi mais intensa no tratamento a 35 %, enquanto para o amido de mandioquinha-salsa nas duas condições de tratamento

empregadas houve grande aglomeração (Figura 4.15). Zavarese et al. (2010), também relataram a alteração na superfície dos grânulos e a formação de aglomerados de grânulos de amidos de arroz normal e de alto teor de amilose após o TTBU com 25 % de umidade. Segundo Zavarese e Dias (2011), essas alterações são provocadas pela gelatinização parcial dos grânulos. As imagens de microscopia óptica dos amidos de mandioquinha-salsa mostram que alguns grânulos perderam sua estrutura, sugerindo a gelatinização dos mesmos. As imagens com luz polarizada (Figura 4.14) mostraram a perda de birrefringência de grande parte dos grânulos desses amidos, enquanto que no amido de mandioca foi possível observar apenas a formação de aglomerados.

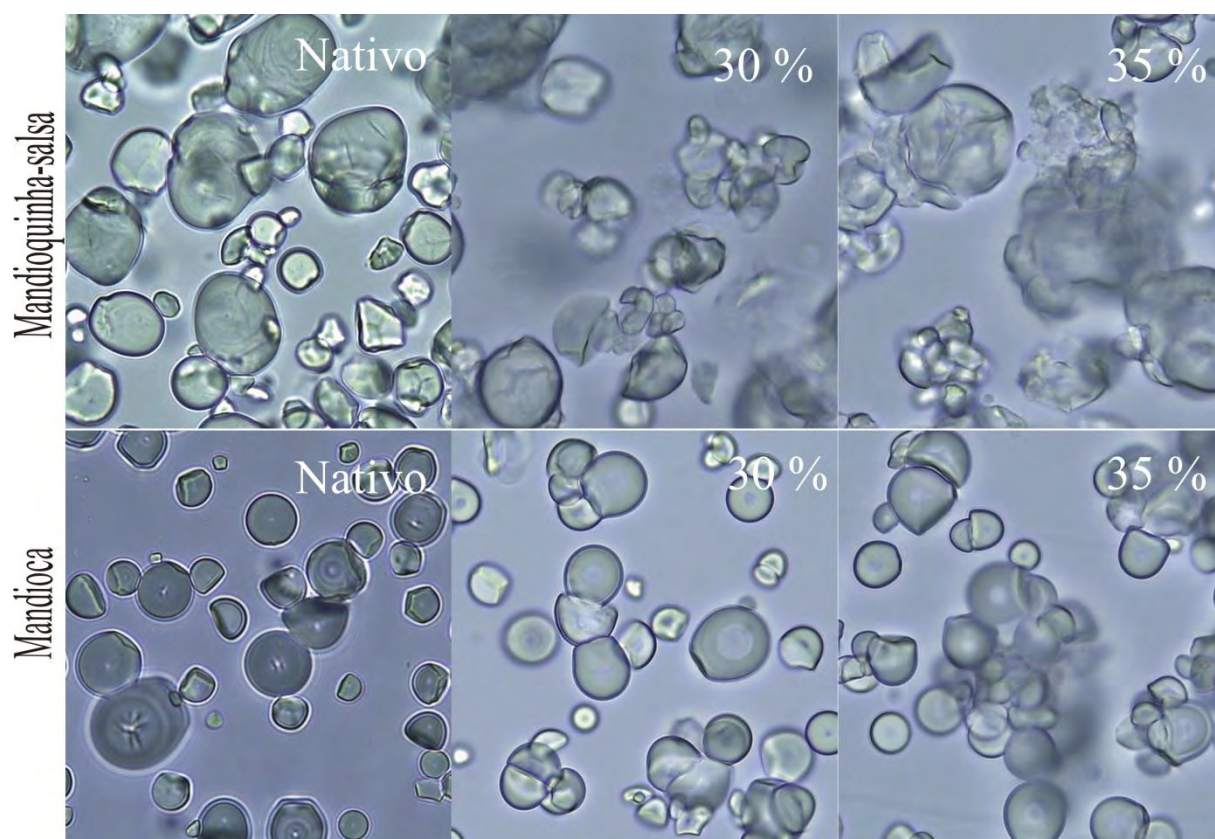


Figura 4.13: Microscopia óptica dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos, e tratados por TTBU com umidade de 30 % e 35 %.

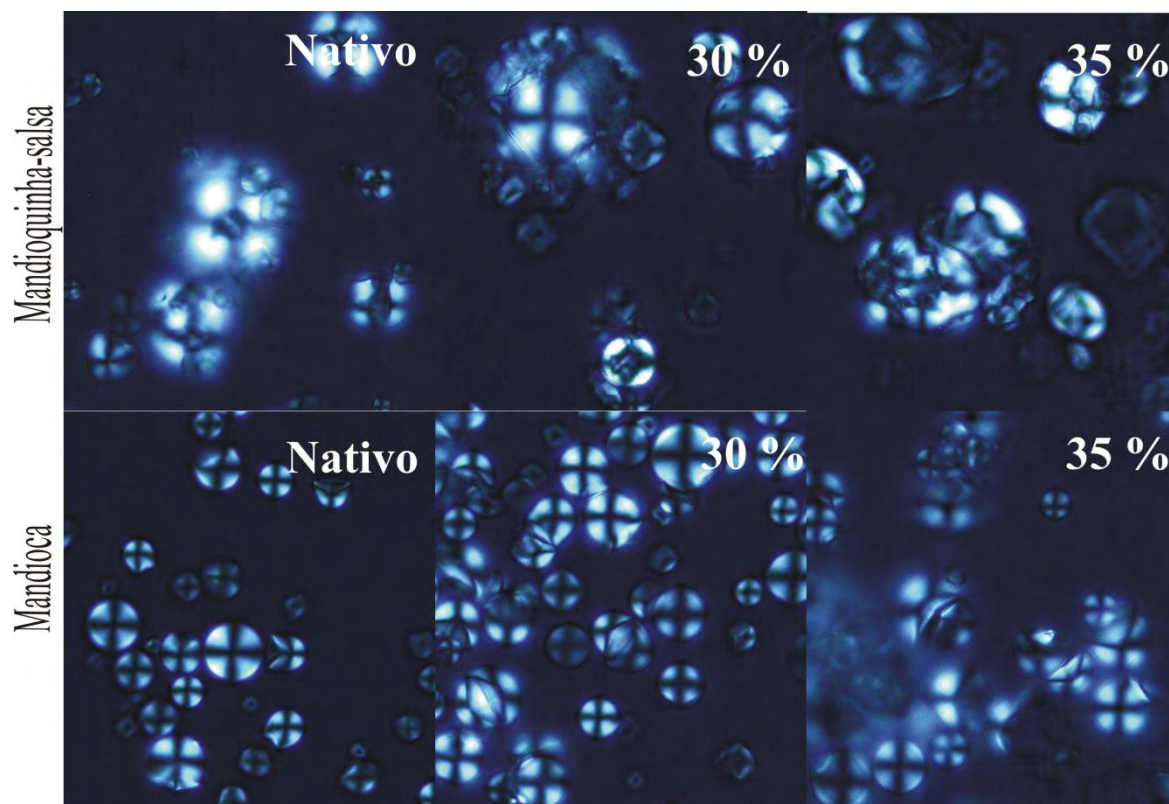


Figura 4.14: Microscopia óptica com luz polarizada dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU com umidade de 30 % e 35 %.

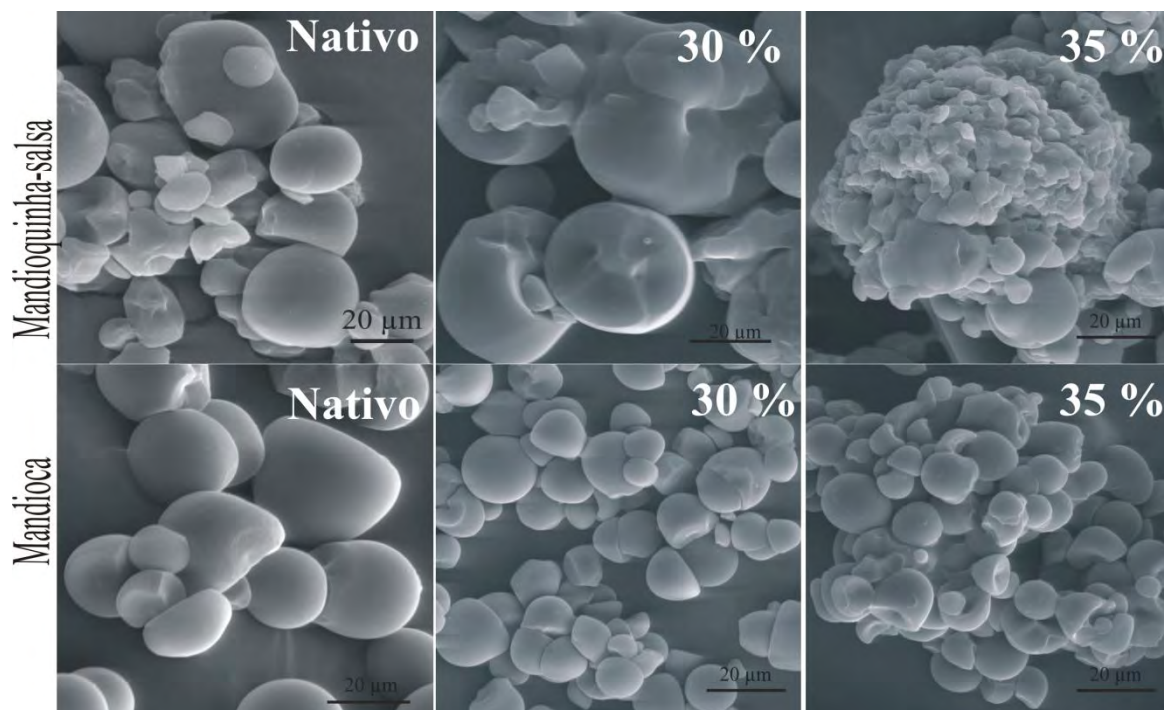


Figura 4.15: Microscopia eletrônica de varredura dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU com umidade de 30 % e 35 %.

4.3.6 Índice de absorção e solubilidade em água

Após o TTBU pode-se observar para ambos os amidos, considerável aumento no IAA e ISA como mostram a Figura 4.16 e Figura 4.17. O aumento na solubilidade e na absorção de água após o TTBU pode ser explicado pela gelatinização parcial produzida no grânulo durante o tratamento, como nas imagens de microscopia óptica com luz polarizada e MEV (Figura 4.14 e 4.15). O rompimento das duplas hélices provoca a liberação de uma maior quantidade de hidroxilas que ficam livres para ligarem-se a água. O aumento da solubilidade em água também foi observado por Jyothi, Sajeev e Sreekumar (2010), após o TTBU em amidos de mandioca, batata-doce e araruta.

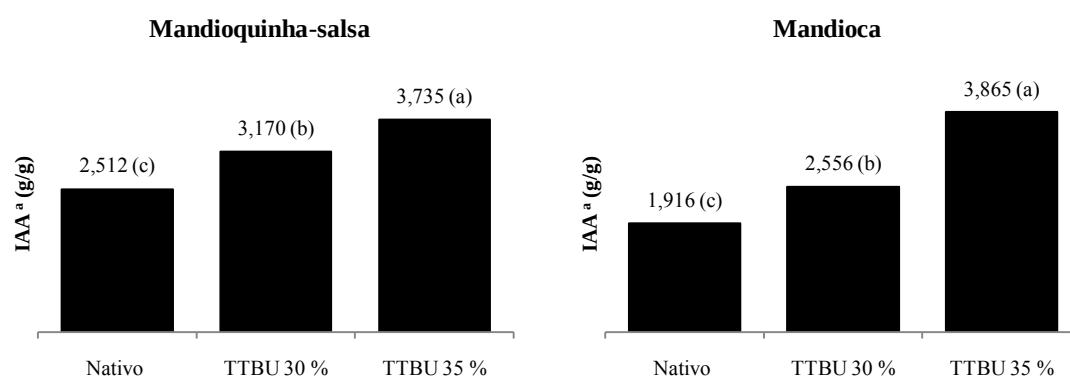


Figura 4.16: Índice de absorção de água dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU. ^a Média de duas repetições com três replicatas. Valores seguidos pela mesma letra no mesmo gráfico não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores para o IAA e ISA aumentaram significativamente com o aumento da umidade aplicada no tratamento para os dois amidos. O aumento no teor de umidade diminui a temperatura de gelatinização, e por isso a fração gelatinizada após o tratamento é maior. No trabalho realizado por Lawal (2005) com amido de taioba tratado por TTBU a 18% de umidade, a solubilidade do amido foi reduzida após tratamento. Uma redução na capacidade de absorção de água também foi verificada por Franco, Ciacco e Tavares (1995) para amido de milho tratado por TTBU a 18 % de umidade, essa divergência no comportamento sugere que quando conduzido a menores teores de umidade a gelatinização parcial dos amidos é evitada, causando apenas o fortalecimento das ligações no interior dos grânulos.

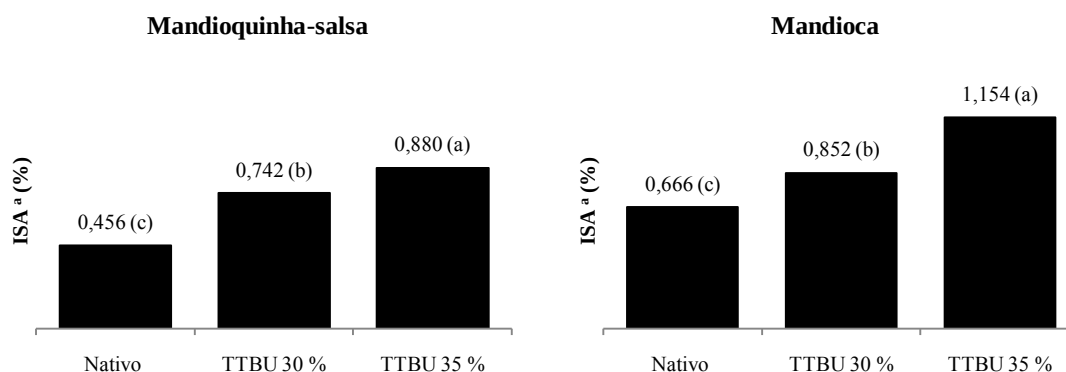


Figura 4.17: Porcentagem de solubilidade em água fria dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU. ^aMédia de duas repetições com três replicatas. Valores seguidos pela mesma letra no mesmo gráfico não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.3.7 Fator de expansão

Após o tratamento térmico a capacidade de expansão dos amidos foi reduzida, independente do teor de umidade em que o tratamento foi conduzido, indicando o fortalecimento das ligações no interior do grânulo, como pode ser observado na Tabela 4.11. O TTBU permite o realinhamento das forças de ligação das cadeias do amido, alterando sua estrutura e aumentando sua cristalinidade (LAWAL, 2005). De acordo com Gunaratne e Hoover (2002), o tratamento pode provocar uma maior interação entre as cadeias de amilose/amilose e amilose/amilopectina diminuindo a capacidade do grânulo de inchar. Com o aumento na temperatura, a capacidade de expansão foi aumentada, para os amidos tratados, pois as interações entre as cadeias foram rompidas.

Durante o TTBU dois eventos aconteceram, o realinhamento das cadeias com o fortalecimento das ligações internas dos grânulos e a gelatinização de parte dos grânulos em função das umidades mais elevadas empregadas o que explica os resultados, a princípio, incongruentes, de FE, ISA e IAA.

O amido de mandioquinha-salsa apresentou uma maior redução na capacidade de expansão nos amidos tratados do que o amido de mandioca e o aumento da expansão devido à elevação da temperatura foram menores, indicando maior interação entre as moléculas desse amido.

A capacidade de expansão a 90 °C foi reduzida para todos os amidos, pois a essa temperatura a quantidade de grânulos rompidos foi grande, diminuindo a capacidade de retenção da água no interior do grânulo.

Tabela 4.11: Fator de expansão^a dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU.

Amostra	Temperatura			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
Mandioquinha-salsa				
Nativo	30,05 ± 1,28 ^a	36,37 ± 0,24 ^a	38,71 ± 0,51 ^a	21,42 ± 0,60 ^a
TTBU 30 %	8,38 ± 0,47 ^c	13,13 ± 0,62 ^b	19,82 ± 0,11 ^c	14,10 ± 0,68 ^b
TTBU 35 %	10,62 ± 0,57 ^b	12,38 ± 0,20 ^b	24,25 ± 0,98 ^b	12,96 ± 0,74 ^b
Mandioca				
Nativo	14,45 ± 0,48 ^a	33,44 ± 1,71 ^a	37,09 ± 0,68 ^a	26,00 ± 0,73 ^a
TTBU 30 %	7,53 ± 0,37 ^b	9,28 ± 0,36 ^b	20,95 ± 0,39 ^c	15,42 ± 0,74 ^c
TTBU 35 %	6,39 ± 0,28 ^c	8,10 ± 0,13 ^b	25,14 ± 1,40 ^b	19,20 ± 0,66 ^b

^a Média de duas repetições com três replicatas, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05);

4.3.8 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta dos amidos nativos e submetidos ao TTBU são apresentadas na Tabela 4.12, e os perfis viscoamilográficos exibidos na Figura 4.18.

O TTBU alterou todas as propriedades de pasta dos amidos, reduzindo as viscosidades de pico e praticamente eliminando a viscosidade de quebra, principalmente do amido de mandioquinha-salsa. Esse tratamento promove o rearranjo da estrutura cristalina do grânulo, pelo realinhamento das forças de ligação e possível formação de duplas hélices das cadeias laterais da amilopectina. Essa nova estrutura reduz a capacidade do grânulo de inchar e romper, diminuindo assim a quantidade de amilose lixiviada e consequentemente a viscosidade da pasta (LAWAL, 2005). Esses resultados corroboram aqueles encontrados para o FE (Tabela 4.12).

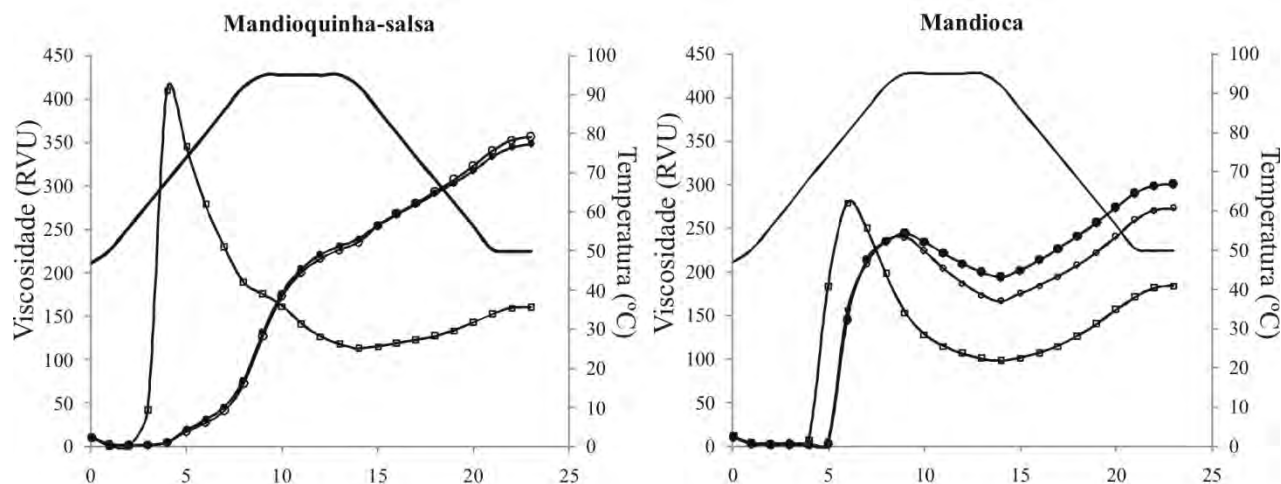


Figura 4.18: Perfil viscoamilográfico dos amidos mandioquinha – salsa e mandioca nativos ($\square$), e modificados por TTBU com 30% ($\bullet$) e 35 % ($\circ$) de umidade.

A temperatura de pasta foi aumentada em 8 °C para o amido de mandioca e 9 °C para o amido de mandioquinha-salsa, a viscosidade final e a tendência a retrogradação também aumentaram, indicando que o tratamento resultou em maior estabilidade dos amidos frente a agitação e calor, provavelmente devido ao fortalecimento das ligações intramoleculares e intermoleculares. As alterações no amido de mandioquinha-salsa foram mais intensas do que no amido de mandioca, assim como observado no fator de expansão (Tabela 4.11), indicando uma maior interação entre as cadeias de amilose e amilopectina desse amido. A maior proporção de cadeias ramificadas longas da amilopectina observadas para este amido (Tabela 4.9) pode explicar estes resultados. O teor de umidade aplicado no tratamento foi significativo apenas nos valores encontrados para a viscosidade final e de *setback*.

Jyothi, Sajeev e Sreekumar (2010), também obtiveram resultados semelhantes para amido de mandioca submetido ao TTBU em diversas condições. Para todos os parâmetros de tempo (6, 10 e 14 horas), de umidade (15, 20 e 25%) e de temperatura (80, 100 e 120 °C) utilizados foram observados redução nas viscosidades de pico, quebra e aumento de *setback*. O mesmo padrão foi também verificado por Singh et al. (2005) em amido de batata doce (28 % de umidade, 3 horas, 110 °C), e por Vieira e Sarmento (2008) em amidos de mandioquinha-salsa, batata-doce e gengibre (27 % de umidade, 16 horas, 100 °C).

Tabela 4.12: Propriedades de pasta^a dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e tratados por TTBU

Amidos	T° Pasta (°C)	Viscosidades (RVU)			
		Pico	Quebra	Final	Setback
Mandioquinha-salsa					
Nativo	61,3 ± 0,3 ^b	411 ± 8 ^a	299 ± 8 ^a	160 ± 2 ^c	48 ± 1 ^c
TTBU 30 %	68,5 ± 0,3 ^a	207 ± 2 ^b	0 ± 0 ^b	326 ± 4 ^b	118 ± 2 ^b
TTBU 35 %	70,1 ± 0,3 ^a	209 ± 4 ^b	0 ± 0 ^b	339 ± 1 ^a	130 ± 3 ^a
Mandioca					
Nativo	68,2 ± 0,4 ^b	280 ± 1 ^a	184 ± 2 ^a	184 ± 4 ^c	87 ± 5 ^b
TTBU 30 %	76,3 ± 0,9 ^a	249 ± 3 ^b	69 ± 7 ^b	277 ± 0 ^b	97 ± 3 ^{ab}
TTBU 35 %	75,6 ± 0,6 ^a	255 ± 1 ^b	77 ± 6 ^b	297 ± 5 ^a	119 ± 3 ^a

^a Média de duas repetições com três replicatas, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05);

4.3.9 Propriedades Térmicas

O tratamento térmico resultou, em ambos os amidos, no aumento das temperaturas de gelatinização e redução na entalpia, como mostram os dados apresentados na Tabela 4.13 e os perfis isotérmicos da Figura 4.19.

O aumento das temperaturas de gelatinização indicou que o TTBU fortaleceu as ligações intermoleculares entre as cadeias tornando os grânulos mais resistentes a ação da temperatura, o que também foi evidenciado nas propriedades de pasta dos amidos (Tabela 4.12). A entalpia de gelatinização é um indicativo da cristalinidade dos grânulos e da perda de ordem molecular interna (SINGH et al., 2003). A redução da entalpia após o tratamento sugeriu o rompimento das duplas hélices. Segundo Gunaratne e Hoover (2002), o TTBU provoca a dissociação das duplas hélices na região amorfa e posteriormente uma reorganização da estrutura cristalina. A redução nos valores de entalpia confirmou a ocorrência de gelatinização parcial dos amidos, como sugerido anteriormente. O teor de umidade não afetou significativamente as propriedades de gelatinização nos amidos de mandioquinha-salsa, enquanto que no amido de mandioca apenas a temperatura inicial de gelatinização não sofreu influência do conteúdo de umidade, contudo, essas diferenças foram pequenas.

Tabela 4.13: Propriedades de gelatinização^a dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca nativos e modificados por TTBU

Amidos	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _f (°C)	ΔT	ΔH (J.g ⁻¹)
Mandioquinha-salsa					
Nativo	56,73 ± 0,59 ^b	60,25 ± 0,71 ^a	63,97 ± 0,70 ^b	7,24	15,58 ± 0,61 ^a
TTBU 30 %	59,00 ± 0,65 ^a	64,72 ± 0,18 ^b	71,50 ± 0,59 ^a	12,50	5,47 ± 0,25 ^b
TTBU 35 %	58,38 ± 0,66 ^a	64,31 ± 0,99 ^b	70,76 ± 0,38 ^a	12,38	4,37 ± 0,15 ^c
Mandioca					
Nativo	60,97 ± 0,06 ^b	67,31 ± 0,35 ^c	74,49 ± 0,04 ^c	13,53	15,47 ± 1,64 ^a
TTBU 30 %	71,39 ± 0,98 ^a	76,64 ± 0,46 ^a	80,50 ± 0,19 ^a	9,11	11,51 ± 0,44 ^b
TTBU 35 %	71,31 ± 0,68 ^a	75,48 ± 0,52 ^b	79,86 ± 0,48 ^b	8,55	10,32 ± 0,40 ^c

^a Média de duas repetições com três replicatas, com o respectivo desvio-padrão. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna, para cada amido, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05); T₀, T_p, T_f = temperatura inicial, de pico e final. ΔT = (T_f - T₀); ΔH = variação de entalpia;

A redução no ΔH foi mais intensa no amido de mandioquinha-salsa. Esse amido, em sua forma nativa, apresenta menor temperatura de gelatinização devido à maior fragilidade de seus grânulos e ao menor teor de amilose. Os tratamentos para os dois amidos foram conduzidos sob as mesmas condições, de forma que a gelatinização do amido de mandioquinha-salsa iniciou em menor temperatura do que a do amido de mandioca, o que pode ter provocado um maior grau de gelatinização.

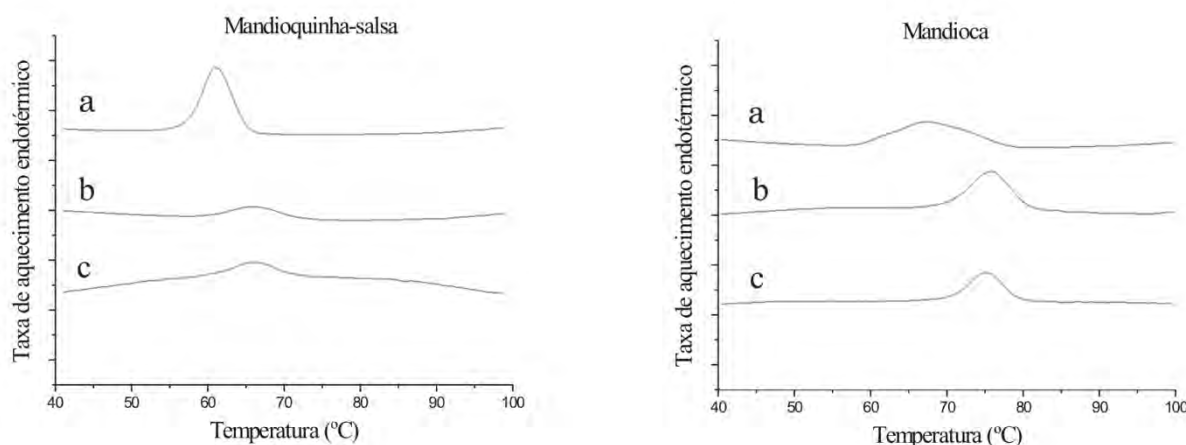


Figura 4.19: Perfil endotérmico dos amidos de mandioca e mandioquinha-salsa (a) nativos e tratados por TTBU com (b) 30 % e (c) 35 % de umidade determinados por DSC.

Segundo Nwokocha et al. (2009), a faixa de temperatura de gelatinização (ΔT) é correlacionada ao grau de heterogeneidade dos cristais nos grânulos, de modo que maiores intervalos de temperatura indicam uma maior heterogeneidade dos cristais. A variação de temperatura foi alterada de forma distinta para o amido de mandioca e de mandioquinha-salsa após o TTBU.

O amido de mandioca teve a faixa de temperatura de gelatinização reduzida após o tratamento, o que pode ter sido resultado do rearranjo molecular com fortalecimento das ligações internas resultando em maior homogeneidade dos cristais, ou resultado da fusão dos cristais que eram mais heterogêneos e mais sensíveis antes do tratamento. Já para o amido de mandioquinha-salsa o intervalo de gelatinização aumentou com tratamento sugerindo maior heterogeneidade dos cristais, provavelmente em função da gelatinização parcial mais intensa dos grânulos deste amido. A variação de ΔT é facilmente verificada nos perfis endotérmicos apresentados na Figura 4.19. Percebe-se que o amido de mandioca apresentou picos mais estreitos após o tratamento, comparado ao amido nativo, enquanto as endotermas dos amidos de mandioquinha-salsa após o tratamento se mostraram mais largas do que as do amido nativo.

4.3.10 Determinação do grau de gelatinização

A gelatinização do amido consiste na perda da ordem molecular dos grânulos. A baixa umidade empregada durante o tratamento térmico limita a mobilidade das cadeias poliméricas aumentando a temperatura de gelatinização dos amidos (ZAVARESE; DIAS, 2011). As porcentagens de gelatinização dos amidos tratados por TTBU são apresentadas na Tabela 4.14. O amido de mandioca apresentou um grau de gelatinização inferior ao do amido de mandioquinha salsa nas duas condições do tratamento, resultado que confirmou o observado nas análises de absorção e solubilidade em água, microscópicas, e propriedades térmicas.

Tabela 4.14: Grau de gelatinização dos amidos de mandioquinha-salsa e mandioca tratados por TTBU

Amostra	% Gelatinização	
	Mandioquinha-salsa	Mandioca
TTBU 30 %	64,89	25,60
TTBU 35 %	71,95	33,29

Como citado anteriormente o amido de mandioquinha-salsa apresenta uma fragilidade devido a peculiaridades de sua estrutura cristalina, com temperaturas de gelatinização mais baixas. Para os dois amidos as condições de tratamento foram as mesmas, dessa forma a perda na ordem molecular foi mais intensa para o amido de mandioquinha-salsa.

Embora as análises das propriedades de pasta e FE dos amidos submetidos ao TTBU indicaram o fortalecimento das interações entre as cadeias, resultando na maior estabilidade dos amidos frente a temperatura e ação mecânica a gelatinização ocorrida durante o tratamento devido aos níveis de umidade empregados foi bastante significativa, principalmente para o amido de mandioquinha-salsa. Amidos pré-gelatinizados são de grande interesse na produção de alimentos pré-preparados, solúveis e instantâneos onde se deseja produtos de fácil dispersão e cocção rápida.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostraram que os amidos submetidos ao a moagem em moinho de bolas não apresentaram alterações na distribuição do comprimento das cadeias laterais de amilopectina, no entanto houve alteração na distribuição do tamanho molecular, indicando a quebra das ligações do tipo α (1 $\rightarrow$ 6), que estão presentes principalmente nas áreas amorfas dos grânulos, aumentando a proporção de cadeias menores e lineares. Os tratamentos conduzidos por longos tempos (16 e 32 h) provocaram a degradação da estrutura cristalina dos grânulos resultando no aumento da solubilidade a frio e capacidade de ligação com a água e redução da cristalinidade relativa. As propriedades de pasta e térmicas também foram afetadas, com redução das viscosidades e temperaturas de gelatinização e aumento da viscosidade a frio em função da gelatinização provocada pela energia mecânica gerada pelo atrito durante a moagem causando o rompimento das ligações de hidrogênio. O amido de mandioquinha-salsa em função da maior proporção de defeitos em sua estrutura cristalina e também em função de seu baixo teor de amilose foi o mais afetado pela moagem em moinho de bolas atingindo 82 % de gelatinização com 32 horas de tratamento.

Os amidos tratados por TTBU sofreram alterações nas propriedades de pasta, térmicas e capacidade de expansão dos grânulos, sugerindo o fortalecimento das ligações intra e intermoleculares que mantém a estrutura cristalina do grânulo, ao mesmo tempo em que ocorreu a gelatinização parcial dos grânulos de modo que a capacidade de absorção de água e a solubilidade foram aumentadas. O tratamento resultou na alteração do padrão cristalino dos amidos que assumiu uma conformação termodinâmica mais estável. O nível de umidade aplicado foi mais significativo para o amido de mandioca, no entanto para os dois amidos nas duas condições, houve gelatinização parcial. O amido de mandioquinha-salsa foi o mais afetado pelo TTBU. O TTBU resultou em amidos mais estáveis ao calor e agitação e de menores viscosidades, ao mesmo tempo em que foram obtidos amidos pré-gelatinizados.

O amido de mandioquinha-salsa foi mais afetado do que o amido de mandioca nos dois tratamentos provavelmente devido aos defeitos presentes em sua estrutura cristalina.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANZAI, M., HAGIWARA, T., WATANABE, M., KOMIYAMA, J., SUZUKI, T. Relationship between enthalpy relaxation and water sorption of ball-milled. **Journal of Food Engineering**, v.104, p.43-48, 2011.

APLEVICZ, K.S.; DEMIATE, I.M. Caracterização de amidos de mandioca nativos e modificados e utilização em produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p. 787-792, 2007.

ARYEE, F.N.A., ODURO, I., ELLIS, W.O., AFAAKWA, J.J. The physicochemical properties of flour samples from the roots of 31 varieties of cassava. **Food Control**, v.17, p. 916-922, 2006.

BALDWIN, P.M., ADLER, J., DAVIES, M.C., AMELIA, C.D. Starch damage. Part 1: Characterization of granule damage in ball-milled potato starch study by SEM. **Starch/ Stärke**, v.46, p.247-251, 1994.

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

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

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

CAMPANHA, R. B.; **Características físico-químicas e estruturais de amidos nativos e suas dextrinas naegeli**. São José do Rio Preto, 2010. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), IBILCE – UNESP.

CAMPANHA, R.B.; FRANCO, C.M.L. Gelatinization properties of native starches and their Nægeli dextrins. **Journal of thermal analysis and calorimetry**. DOI 10.1007/s10973-011-1682-7, 2011

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

CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I.M. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. Campinas: Fundação Cargill. cap. 12, p 246-332, 2003.

CHEN, C., SHEN, Y., YEH, A. Physicochemical characteristics of media-milled corn starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p. 9083-9091, 2010.

CHUNG, H.J., LIU, Q., HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 436-447, 2009.

CIACCO, C.F.; CRUZ, R. **Fabricação de amido e sua utilização**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, (Série Tecnologia Agroindustrial, 7) 152 p., 1982.

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

DEVI, A.F., FIBRIANTO, K., TORLEY, P.J., BHANDARI, B. Physical properties of cryomilled rice starch. **Journal of Cereal Science**, v.49, p. 278-284, 2009.

DHITAL, S., SHRESTHA, A.K., GIDLEY, M.J. Effect of cryo-milling on starches: Functionality and digestibility. **Food Hydrocolloids**, v.24, p. 152-163, 2010.

DI PAOLA, R., ASIS, R., ALDAO, M.A.J. Evaluation of the degree of starch gelatinization by a new enzymatic method. **Starch/ Stärke**, v.55, p.403-409, 2003.

DIOP, C.I.K., LI, H.L., XIE, B.J., SHI, J. Combinatorial effects of mechanical activation and chemical stimulation on the microwave assisted acetylation of corn (*Zea mays*) starch. **Starch/ Stärke**, v.63, p.96-105, 2011.

DONOVAN, J.W., LORENZ, K., KULP, K. Differential scanning calorimetry of heat-moisture treated wheat and potato starches. **Cereal Chemistry**, v.60, p.381 – 387, 1983.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A., SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, V.28, p. 350-353, 1956.

ELFSTRAND, L., FRIGARD, T., ANDERSSON, R., ELIASSON, A.C., JÖNSSON, M., RESLOW, M., WAHLGREN, M. Recrystallisation behavior of native and processed waxy maize starch in relation to the molecular characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v.57, p.389-400, 2004.

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

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

FRANCO, C.M.L., DAIUTO, E.R., DEMIATE, I.M., CARVALHO, L.J.C.B., LEONEL, M., CEREDA, M.P., VILPOUX, O. F., SARMENTO, S.B.S. **Propriedades gerais do amido**, Fundação Cargill, São Paulo 2001.

FRANCO, C.M.L., CIACCO, C.F., TAVARES, D.Q. Effect of the heat-moisture treatment on the enzymatic susceptibility of corn starch granules. **Starch/Stärke**, v.47, p.223-228, 1995.

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

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

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

HAGHAYEGH, G., SCHOENLECHNER, R. Physically modified starches: A review. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.9, p.27-29, 2011.

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

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

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

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

HORIMOTO, L.K., CABELLO, C. Propriedades viscosgráficas de amidos de mandioca, batata doce e mandioquinha-salsa nativos e cationizados por diferentes tratamentos. **Revista Energia na Agricultura**, v.22, p.74-85, 2007.

HUANG, Z., LU, J., LI, X., TONG, Z. Effect of mechanical activation on physicochemical properties and structure of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.68, p.128-135, 2007.

HUANG, Z., XIE, X., CHEN, Y. LU, J., TONG, Z. Ball-milling treatment effect on physicochemical properties and features for cassava and maize starches. **Cereal Chemistry**, v.11, p.73-79, 2008.

IBGE **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Comunicação Social, 06 de janeiro de 2011. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/>> Acesso em 01 de fevereiro de 2010.

ISLAM, M.N., MOHD, A.M.D., NOOR, M.A.B.M. Effect of temperature and starch concentration on the intrinsic viscosity and critical concentration of sago starch (Metroxylon sagu). **Starch/ Stärke**, v.53, p.90-94, 2001.

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

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

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

JANE, J. Starch: Structure and properties. In: TOMASIK, P. **Chemical and functional properties of food saccharides**. Boca Raton: CRC Press, cap. 7, p. 81-102, 2003.

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

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

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

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

KAUR, B., ARIFFIN, F., BHAT, R., KARIM, A.A. Progress in starch modification in the last decade. **Food Hydrocolloids**, v.26, p.398-404, 2012.

KHUNAE, P., TRAN, T., SIRIVONGPAISAL, P. Effect of Heat-Moisture Treatment on structural and thermal properties of rice starches differing in amylose content. **Starch/ Stärke**, v.59, p.593-599, 2007.

KIM, Y.J., SUZUKI, T., HAGIWARA, T., YAMAJI, I., TAKAI, R. Enthalpy relaxation and glass to rubber transition of amorphous potato starch formed by ball-milling. **Carbohydrate Polymers**, v.46, p.1-6, 2001.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. **Carbohidratos em alimentos regionales iberoamericano**. São Paulo: Edusp, 2006. Cap. 1, p. 17-46.

LANSKY, S., KOOI, M., SCHOCH, J. Properties of the fractions and linear subfractions from various starches. **Cereal Chemistry**, v.71, p.4067-4075, 1949.

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

LAWAL, O.S., ADEBOWALE, K.O. An assessment of changes in thermal and physicochemical parameters of jack bean starch following hydrothermal modifications. **European Food Research and Technology**, v.221, p.631-638, 2005.

LEACH, H.W. Determination of intrinsic viscosity of starches. **Cereal Chemistry**, v.40, p.593-600, 1963.

LINEBACK, D. R. Current concepts of starch structure and its impact on properties. **Journal of the Japanese Society of Starch Science**, v.33, p. 80-88, 1986.

LINKO, Y. Y., VUORINEN, H, LINKO, P. The effect of HTST extrusion on retention of cereal amylase activity on enzymatic hydrolysis of barley starch. In: **Food Processing Engineering**. Ed. Linko and Y. Larinkan, Applied Science Publishers, London, 1980.

LIU, H. et al. Effect of ultrasonic treatment on the biochemophysical properties of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, p. 553-559, 2006.

LIU, T.Y., MA, Y., YU, S.F., SHI, J., XUE, S. The effect of ball milling treatment on structure and porosity of maize starch granule. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, doi:10.1016/j.ifset.2011.06.009, 2011.

LOBO, A.R., SILVA, G.M. de L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, v.16, p. 219-226, 2003.

MALINSKI, E., DANIEL, J.R., ZHANG, X.X., WHISTLER, R. Isolation of Small Starch Granules and Determination of Their Fat Mimetic Characteristics, **Cereal Chemistry**, v.80, p. 1-4, 2003.

MARTÍNEZ-BUSTOS, F., LÓPEZ-SOTO, M., MARTÍN-MARTÍNEZ, E.S., ZAZUETA-MORALES, J.J., VELEZ-MEDINA, J.J. Effects of high energy milling on some functional properties of jicama starch (*Pachyrrhizus erosus* L. Urban) and cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Food Engineering**, v.78, p.1212-1220, 2007.

MATSUGUMA, L.S., LACERDA, L.G., SCHNITZLER, E., CARVALHO FILHO, M.A.S., FRANCO, C.M.L., DEMIATE, I.M. Characterization of native and oxidized starches of two varieties of Peruvian Carrot (*Arracacia xanthorrhiza*, B.) from two production areas of Paraná State, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 701-713, 2009.

MENEGASSI, B., LEONEL, M., MISCHAN, M.M., PINHO, S.Z. Extrusão de farinha de mandioquinha-salsa: Efeito da temperatura, rotação e umidade nas características físicas dos extrusados. **Brasilian Journal of Food Technology**, v. 10, p. 252-258, 2007.

MILLARD, M. M., DINTZIS, F. R., WILLETT, J. L., KLAVONS, J. A. Light-scattering molecular weights, intrinsic viscosities of processed waxy maize starches in 90% Dimethyl Sulfoxide and H₂O. **Cereal Chemistry**, v.74, p.687-691, 1997.

MORRISON, W.R., TESTER, R.F. Properties of damaged starch granules. IV. Composition of ball-milled wheat starches and of fractions obtained on hydration. **Journal of Cereal Science**, v. 20, p. 69-77, 1994.

MORRISON, W.R., TESTER, R.F., GIDLEY, M.J. Properties of damaged starch granules. II. Crystallinity, molecular order and gelatinization of ball-milled starches. **Journal of Cereal Science**, v.19, p.209-217, 1994.

MUNHOZ, M.P., WEBER, F.H., CHANG, Y.K. Influência de hidrocolóides na textura de gel de amido de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 403-406, 2004.

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

NIKUNI, Z. et al. The effect to temperature during the maturation period on the physicochemical properties of potato and rice starches. **Memoirs of the Institute of Scientific and Industrial Research (Osaka University)**, v.26, p.1-27, 1969.

NWOKOCHA, L.M., WILLIAMS, P.A. New starches: Physicochemical properties of sweetsop (*Annona squamosa*) and soursop (*Annona muricata*) starches. **Carbohydrate Polymers**, v.78, p.462-468, 2009.

PEREIRA, A.S. O valor nutritivo da mandioquinha-salsa. In: Encontro Nacional sobre Mandioquinha-salsa, 5., 1995, Venda Nova do Imigrante. **Palestra e Trabalhos Técnicos**. Venda Nova do Imigrante: SOB, p.14-16, 1995.

PÉREZ, E.E., BORNEO, R., MELITO, C.G., TOVAR, J. Chemical, physical and morphometric properties of peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza* B.) starch. **Acta Científica Venezolana**, v.50, p.240-244, 1999.

PÉREZ, S., BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch/ Stärke**, v. 62, p. 389-420, 2010.

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

REN, G., LI, D., WANG, L., ÖZKAN, N., MAO, Z. Morphological properties and thermoanalysis of micronized cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p.101-105, 2010.

RIBEIRO, E.P., SERAVALLI, E.A.G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.

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

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

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

ROCHA, T.S., DEMIATE, I.M., FRANCO, C.M.L. Características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 620-628, 2008.

SAJILATA, M.G., SHINGAL, R.S., KULKARNI, P.R. Resistant starch – A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v.5, p. 1-17, 2006.

SANTACRUZ, S., KOCH, K.; SVENSSON, E., RUALES, J., ELIASSON, A. C. Three underutilized sources of starch from the Andean region in Ecuador. Part 1. Physico-chemical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 63-70, 2002.

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

SCHOCH, T. J. Swelling power and solubility of granular starches. In: WHISTLER, R. L. **Methods in Carbohydrate Chemistry**; Starch. New York: Academic Press. v. 4. p. 106-109, 1964.

SCHOENE, R., Increasing the activating of the surface of crystals by bombardment with solid particles. **Chemie Ingenieur Technik**, v. 41, p. 282– 288, 1969.

SERRANO, P.O., FRANCO, C.M.L. Modificação hidrotérmica (“*Annealing*”) e hidrólise enzimática do amido de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, p. 220-232, 2005.

SILVA, G.O., TAKIZAWA, F.F., PEDROSO, R.A., FRANCO, C.M.L., LEONEL, M., SARMENTO, S.B.S., DEMIATE, I.M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p.188-19, 2006.

SINGH, N., SINGH, J., KAUR, L., SODHI, N.S., GILL, B, S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v.81, p.219-231, 2003

SINGH, S., RAINA, C.S., BAWA, A.S., SAXENA, D.C. Effect of heat-moisture treatment and acid modification on rheological, textural, and differential scanning calorimetry characteristics of sweetpotato starch. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 373-378, 2005.

SINGH, S., SINGH, N., ISONO, N., NODA, T. Relationship of granule size distribution and amylopectin structure with pasting, thermal, and retrogradation properties in wheat starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.1180-1188, 2010.

SLATERRY, C.J., KAVAKLI, I.H., OKITA, T.W. Engineering starch for increased quantity and quality. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 291 – 298, 2000.

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

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

TAGGART, P. Starch as an ingredient: manufacture and applications. In: ELIASSON, A.C. **Starch in food: Structure, function and applications**. CRC Press, Boca Raton, cap 12, 2004.

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

TAMAKI, S., HISAMATSU, M., TERANISHI, K., ADACHI, T., YAMADA, T. Structural change of maize starch granules by ball-mill treatment. **Starch/Stärke**, v.50, p.342-348, 1998.

TAMAKI, S., HISAMATSU, M., TERANISHI, K., YAMADA, T. Structure change of potato starch granules by ball-mill treatment. **Starch/Stärke**, v.49, p.431-438, 1997.

TESTER, R.F. Properties of damaged starch granules: composition and swelling properties of maize, rice, pea and potato starch fractions in water at various temperatures. **Food Hydrocolloids**, v.11, p.293-301, 1997.

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

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

THYS, R.C.S., WESTFAHL, H., NOREÑA, C.P.Z., MARCZAK, L.D.F., SILVEIRA, N.P., CARDOSO, M.B. Effect of the alkaline treatment on the ultrastructure of C-type starch granules. **Biomacromolecules**, v.9, p.1894-1901, 2008.

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

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

WANG, S.W. Starches and starch derivates in expanded snachs. **Cereal Foods World**, v.42, p.743-745, 1997.

WANG, Y. J.; WHITE, P.; POLLAK, L.; JANE, J. –L. Amylopectin and intermediate materials in starches from mutant genotypes of inbred line. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 5, p. 521-525, 1993.

WHISTLER, R. L., BEMILLER, J. N. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. San Diego: Academia Press, 214 p. 1997.

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

YOO, S.H., PERERA, C., SHEN, J., YE, L., SUH, D. S., JANE, J. L. Molecular structure of selected tuber and root starches and effect of amylopectin structure on their physical properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1556 - 1564, 2009.

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

ZAVAREZE, E.R. RODRIGUES, A.O., STORCK, A.R., ASSIS, L.M., WALLY, A.P.S., DIAS, A.R.G. Poder de inchamento e solubilidade de amido de arroz submetido ao tratamento térmico com baixa umidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, p. 31-35, 2009.

ZAVAREZE, E.R., STORCK, C.R., CASTRO, L.A.S., SCHIRMER, M.A., DIAS, A.R.G. Effect of heat-moisture treatment on rice starch f varying amylose content. **Food Chemistry**, v.121, p. 358-365, 2010.

ZEEMAN, S.C., KOSMANN, J., SMITH, A.M. Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 209-234, 2010.

ZHANG, Z., ZHAO, S., XIONG, S. Morphology and physicochemical properties of mechanically activated rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 341-348, 2010.

ZHANG, Z., ZHAO, S., XIONG, S. Morphology and physicochemical properties of mechanically activated rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p.341-348, 2010.

ZOBEL, H. F. Starch crystal transformations and their industrial importance. **Starch / Stärke**, v. 40, p. 1-7, 1988.