

Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo

Effect of granule size on the structural and physicochemical characteristics of wheat starch

Patrícia Guedes YONEMOTO¹, Maria Antonia CALORI-DOMINGUES², Celia Maria Landi FRANCO^{1*}

Resumo

A distribuição de tamanho dos grânulos influencia diretamente a composição química do amido, afetando sua funcionalidade, características de gelatinização, susceptibilidade enzimática, e cristalinidade. Os grânulos de amido de trigo possuem distribuição bimodal de tamanho e são divididos em grânulos tipo A (10-40 μm) e B ($\leq 10 \mu\text{m}$). Neste trabalho amidos de trigo obtidos de quatro diferentes cultivares foram isolados e fracionados por tamanho. Amidos de diferentes tamanhos foram analisados quanto ao teor de lisofosfolídeos e amilose, difração de raios-X, microscopia eletrônica de varredura, susceptibilidade enzimática, poder de inchamento e propriedades térmicas e de pasta. O fracionamento possibilitou a divisão dos grânulos em grandes ($> 15 \mu\text{m}$) e pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$). Independente da cultivar, grânulos grandes apresentaram diâmetro médio de 22 μm e formato lenticular, enquanto grânulos pequenos mostraram diâmetro médio de 6 μm e forma arredondada. Grânulos grandes apresentaram menor teor de lisofosfolídeos, maior teor de amilose e menor índice de cristalinidade (IC) quando comparados aos pequenos. Apesar da maior cristalinidade, os grânulos pequenos foram mais susceptíveis à hidrólise que os grânulos grandes, sugerindo que a susceptibilidade enzimática dos grânulos pequenos está relacionada à sua maior área superficial.

Palavras-chave: amido; trigo; tamanho de grânulos; propriedades físico-químicas.

Abstract

Granule size distribution directly influences the chemical composition of starch, affecting its functionality, characteristics of gelatinization, enzymatic susceptibility and crystallinity. Wheat starch granules exhibit a bimodal size distribution and are divided into type A (10-40 μm) and type B ($\leq 10 \mu\text{m}$) granules. In this work, wheat starches obtained from four different cultivars were isolated and fractionated by size. This fractionation allowed the granules to be divided into large ($> 15 \mu\text{m}$) and small granules ($\leq 10 \mu\text{m}$). Starches of different sizes were analyzed to determine their lysophospholipid and amylose content, X-ray patterns, enzymatic susceptibility, swelling power, and thermal and pasting properties. They were also examined under a scanning electron microscope. Independent of the cultivar studied, large granules showed an average diameter of 22 μm and were lentil-shaped, while small granules showed an average diameter of 6 μm and were spherical. The large granules exhibited lower lysophospholipids content, higher amylose content and a lower index of crystallinity (IC) than the small granules. Despite their higher crystallinity, small granules were more susceptible to hydrolysis than large ones, suggesting that the enzymatic susceptibility of small granules is related to its larger surface area.

Keywords: starch; wheat; granule size; physicochemical properties.

1 Introdução

Amido é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza, sendo encontrado em raízes, sementes e frutos de vegetais superiores. Sua aplicação, entretanto, depende de suas propriedades físicas e químicas, as quais dependem da fonte botânica. Sua funcionalidade influencia ou controla propriedades como textura, volume, consistência, umidade e vida de prateleira de alimentos²⁶.

O trigo é o cereal mais cultivado no mundo, e o amido, o componente que está presente em maior quantidade no grão e na farinha. A aptidão dos trigos para diferentes usos industriais pode ser determinada por várias características do grão e da farinha, as quais dependem tanto do genótipo como das condições ambientais de produção³.

As cultivares de trigo mais comumente plantadas (*Triticum aestivum*) são separadas em duas classes distintas de dureza:

trigos duro e mole. Os termos duro e mole, quando aplicados aos cereais, estão relacionados à textura da semente. Trigos duros requerem maior força para se desintegrarem e apresentam maior tamanho de partículas em relação aos trigos moles². Existe também o trigo durum (*Triticum durum*) que é caracterizado por apresentar alto grau de vitreosidade, endosperma com dureza relativamente alta e cor âmbar.

Essas classes de trigo também diferem entre si pela composição de proteína e absorção de água. Trigos durum e duros apresentam alto teor de proteína e alta absorção de água, ao contrário do trigo mole que possui baixo teor de proteína e baixa absorção de água. Farinhas obtidas dessas diferentes classes de trigo possuem características próprias que influenciam seu destino final. Trigos duros são geralmente usados em panificação e produtos fermentados, e trigos moles são usados na fabricação de bolos, "crackers" e biscoitos. Já o trigo durum é usado basicamente para a produção de massas². No Brasil, além do trigo durum, o trigo duro também é utilizado para a produção de massas.

O amido de trigo possui distribuição bimodal em relação ao tamanho, com grânulos tipo A que apresentam diâmetro $> 10 \mu\text{m}$ e formato lenticular, e grânulos tipo B com diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$ e formato esférico^{24,27}.

Recebido para publicação em 6/12/2006

Aceito para publicação em 13/4/2007 (002107)

¹ Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – UNESP, CEP 15054-000, São José do Rio Preto - SP, Brasil, E-mail: celia@ibilce.unesp.br

² Departamento de Agroindústria Alimentos e Nutrição, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ, CEP 13418-900, Piracicaba - SP, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

Os dois tipos de grânulos diferem em suas propriedades químicas e físicas podendo apresentar diferentes usos finais. Grânulos pequenos podem ser usados como substitutos de gorduras¹⁷, enquanto os grandes podem ser aplicados na manufatura de filmes plásticos biodegradáveis²².

O tamanho dos grânulos afeta a composição do amido e suas características físico-químicas e funcionais. Grânulos tipo B possuem menor teor de amilose e maior conteúdo de lisofosfolídeos quando comparados aos grânulos tipo A^{1,26,31}. O poder de inchamento, gelatinização e propriedades de pasta são influenciados pelo conteúdo de amilose e lisofosfolídeos³¹.

O efeito do tamanho dos grânulos no potencial de panificação do amido de trigo é controverso. Enquanto LELIEVRE et al.¹⁶ empregando preparações contendo diferentes proporções de tamanho de grânulos não verificaram efeitos claros sobre a absorção de água e volume do pão, KULP¹⁵ observou que grânulos pequenos apresentavam menor potencial de panificação do que o amido normal correspondente. SALHSTROM et al.²⁸ avaliando o efeito da distribuição do tamanho dos grânulos de amido isolados de oito farinhas de trigo sobre as características do pão, verificaram que esta afeta o peso e a relação altura x largura, mas não afeta o volume do pão nem a firmeza da crosta. Esses resultados, em última análise, estão diretamente relacionados às características estruturais dos grânulos de diferentes tamanhos.

A maioria dos estudos envolvendo amidos de trigo diz respeito a variedades obtidas em outros países, e o estudo de cultivares nacionais se faz necessário.

Este trabalho teve como objetivo investigar o efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas de amidos isolados de quatro diferentes genótipos de trigo nacional. Os resultados obtidos poderão posteriormente ser relacionados à moagem, panificação e outras aplicações do amido de trigo.

2 Material e métodos

Neste trabalho, amidos isolados de quatro genótipos de trigo: ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24 foram utilizados. Esses genótipos, oriundos do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), foram semeados e colhidos na Estação Experimental de Tietê - SP. A colheita foi realizada dependendo do ponto de maturação dos grãos, bem como da ocorrência de chuvas. Em todas as amostras, a secagem dos grãos foi natural. Os grãos de trigo permaneceram congelados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento de sua utilização.

Esses genótipos apresentaram características tecnológicas e agronômicas distintas já avaliadas anteriormente em outros trabalhos de pesquisa⁴ e, quanto à dureza, classificam-se em: Anauhac (duro), IAC17 (mole), BH1146 (semi-mole) e IAC24 (semi-duro)⁵.

2.1 Isolamento do amido

O amido foi isolado dos grãos de trigo segundo o método de RAEKER et al.²⁶.

2.2 Separação dos grânulos de amido por tamanho

Os amidos dos quatro genótipos de trigo foram fracionados através de decantações sucessivas em água, em diversos tempos de sedimentação⁸. As frações foram coletadas após 30, 60, 90, 120, 1200 e +1200 minutos de sedimentação.

2.3 Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido

A forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtidos, antes e após separação por tamanho, foram determinadas através de microscópio óptico de luz (Marca Olympus, mod. BX60), acoplado a um sistema de análise de imagem "IMAGE-PRÓ-PLUS" (Média Cybernetics). Três lâminas para cada amostra foram preparadas com duas gotas de suspensão de 100 mg de amido em 5 mL de solução 1:1 de glicerina/água. De cada lâmina foram tomadas medidas de 100 grânulos. O tamanho foi determinado a partir da medição do diâmetro maior dos grânulos.

2.4 Microscopia eletrônica de varredura

A observação dos grânulos de amido, antes e após separação por tamanho, a partir de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada através de um microscópio modelo DSM 960 Zeiss. Uma pequena quantidade de amostra de amido foi colocada sobre uma fita adesiva de carbono, aderida a um disco metálico e conduzida a um Metalizador Balzers, modelo SCD 050, para aplicação de uma camada de ouro de 20 nm. As amostras assim preparadas foram observadas em microscópio eletrônico de varredura e imagens com aumento de 1000x foram obtidas.

2.5 Teor de fósforo e de lisofosfolídeos

O teor de fósforo total das amostras de amidos, antes e após separação por tamanho, foi determinado, em duplicata, de acordo com o método colorimétrico de SMITH e CARUSO³². A quantificação foi realizada a partir de curva padrão de fósforo.

A determinação do teor de lipídeos no amido de cereais pode ser simplificada, assumindo-se que para cada cereal, os lipídeos dentro dos grânulos têm uma composição bem definida. Para amido de trigo, o teor de fósforo multiplicado por 16,39 fornece o teor total de lisofosfolídeos¹⁹. Dessa maneira, foi utilizado o teor total de fósforo para calcular o teor de lisofosfolídeos nas diferentes amostras de amido de trigo.

2.6 Teor de amilose total e amilose complexada com lipídeos

As amostras de amido foram previamente desengorduradas⁹. O teor de amilose total das amostras de amido, antes e após separação por tamanho, foi determinado de acordo com a metodologia ISO 6647 (International Organization for Standardization)¹¹. Curvas padrões de amilose e amilopectina foram utilizadas.

Para trigo e cevada, o teor de amilose complexada com lipídeos (ΔAM_l) pode ser calculado multiplicando-se o teor

de lisofosfolípidos (LFL) por 7, ou seja, $\Delta AM_L = 7 \times LFL^{21}$. Segundo MORRISON¹⁹, o teor de LFL é igual a 16,39 x teor de fósforo (%P). Deste modo, $\Delta AM_L = 7 \times \%P \times 16,39$.

2.7 Difração de raios-X

Os padrões de difração de raios-X das diferentes amostras foram determinados utilizando-se uma unidade RINT2000 (Wide Angle Goniometer), com radiação de Cu, linha K, $L = 1,542 \text{ \AA}$. A velocidade de varredura foi de 2° por minuto e as condições de uso foram 50 kV e 100 mA.

O índice de cristalinidade relativa (IC) foi quantitativamente estimado como sendo a razão entre a área da região cristalina (Ac) e área total coberta pela curva (Ac + Aa), composta pela área da região cristalina (Ac) e a área da região amorfa (Aa)²⁵.

2.8 Hidrólise enzimática

As diferentes amostras de amido foram submetidas à hidrólise enzimática⁷ com α -amilase bacteriana (A6380, Sigma). Amostras de amido (200 mg, b.s.) foram suspensas em 17 mL de solução tampão fosfato 0,2 M, pH 6,0. Alíquotas de 2,0 mL de solução (0,30% p.v⁻¹) de enzima α -amilase bacteriana, com atividade de 2150 unidades.mg⁻¹ de sólidos declarada no rótulo da mesma, foi adicionada. 1,0 mL de solução de azida de sódio (10% p.v⁻¹) foi adicionada para evitar crescimento bacteriano. As dispersões de amido foram incubadas em *shaker* com agitação orbital (120 rpm) durante 28 horas a 37 °C. A extensão da hidrólise foi determinada pela quantidade de açúcares redutores presentes no sobrenadante³³.

2.9 Propriedades de pasta e térmicas dos amidos

As propriedades de pasta e térmicas (temperaturas e entalpia de gelatinização) dos amidos foram determinadas usando Rápido Visco Analisador (Modelo RVA-4, Newport Scientific, Austrália) e Calorímetro Diferencial de Varredura (Modelo Pyris 1 - Perkin Elmer, USA), respectivamente, de acordo com FRANCO et al.⁹

2.10 Poder de inchamento

O poder de inchamento das amostras de amido foi determinado a 70 °C²⁹.

2.11 Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, sendo cada tratamento composto por duas ou três repetições. Os dados foram avaliados através do programa ESTAT – Sistema para Análises Estatísticas, versão 2.0, abrangendo a análise de comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3 Resultados e discussão

3.1 Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido

Os grânulos de amido de trigo isolados dos diferentes cultivares (ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24) apresentaram distribuição bimodal (Figura 1). Grânulos com diâmetro $>10 \mu\text{m}$ e formato lenticular são considerados tipo A, enquanto os que

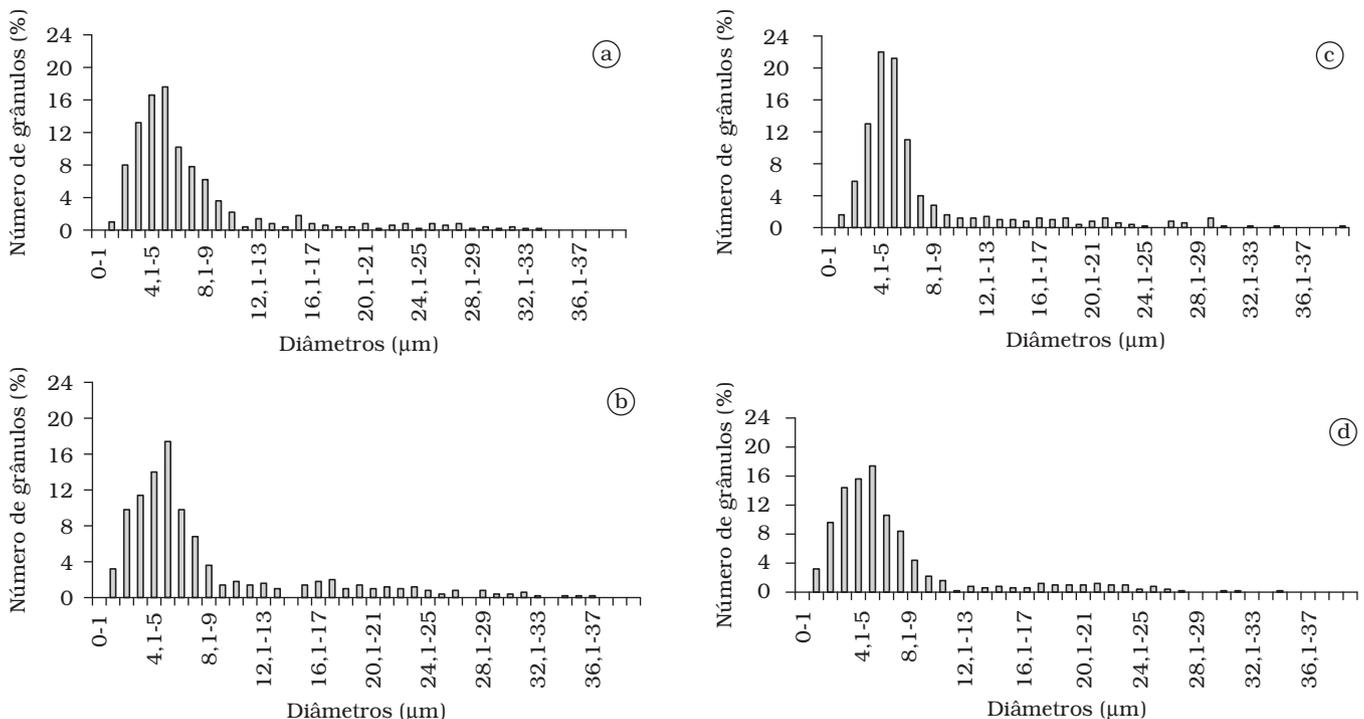


Figura 1. Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtidos das diferentes cultivares. a) ANAHUAC; b) BH1146; c) IAC17; e d) IAC24.

possuem diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$ e formato esférico são denominados tipo B^{24,27}. Para todas as cultivares analisadas, foi observada maior porcentagem de grânulos com diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$. Com exceção da cultivar IAC17, representante de trigo mole, todas as outras cultivares apresentaram pelo menos 83% de grânulos com diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$. A cultivar IAC17 apresentou 77,4% dos grânulos pertencentes ao tipo B. Vários autores têm reportado que grânulos tipo A contribuem com mais de 70% do peso total dos grânulos, mas representam apenas cerca de 3% do número total de grânulos no amido. Por outro lado, grânulos tipo B correspondem a mais que 90% do número total de grânulos, porém contribuem com menos de 30% do peso total do amido no endosperma do grão^{24,26}.

O tamanho médio dos grânulos grandes e pequenos para cada cultivar foi de 22,3 e 5,4 μm ; 22,1 e 5,1 μm ; 22,4 e 5,2 μm ; 21,5 e 5,2 μm para ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24, respectivamente. Mesmo com a menor porcentagem de grânulos pequenos obtida da cultivar IAC17, o diâmetro médio obtido para os grânulos tipo B desta cultivar praticamente não diferiu das demais.

Após fracionamento por tamanho dos grânulos de amido das diferentes cultivares de trigo, cada fração foi submetida à análise de distribuição de tamanho (dados não mostrados) e em função dos resultados obtidos e da quantidade em peso de cada uma delas, os amidos obtidos após 30 e 60 minutos foram misturados e constituíram a fração a, e os amidos obtidos após 120, 1200 e +1200 minutos foram também misturados e constituíram a fração b. As frações a e b foram então consi-

deradas para estudo e submetidas à análise de distribuição de tamanho (Figura 2), apresentando:

Fração a: grânulos de amido fracionados nos tempos de sedimentação de 30 e 60 minutos, com pelo menos 81,7% dos grânulos com diâmetro $> 15 \mu\text{m}$.

Fração b: grânulos de amido fracionados nos tempos de sedimentação de 120, 1200 e +1200 minutos, com mais de 90% dos grânulos com diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$.

O diâmetro médio para cada uma das frações a e b obtidas das diferentes cultivares foi de 21,8 e 6,4 μm , 21,1 e 6,2 μm , 19,4 e 5,8 μm e 21,9 e 6,3 μm para ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24, respectivamente.

A partir de microscopia eletrônica de varredura, foi possível observar para todas as cultivares antes do fracionamento, os dois tipos de grânulos A e B (Figura 3). Grânulos tipo A (maiores) mostraram formatos lenticulares, enquanto os tipo B (menores) se mostraram arredondados ou poligonais. Não foi possível observar qualquer diferença entre os grânulos das diferentes cultivares.

Os grânulos de amido de trigo de todas as cultivares apresentaram superfície lisa e alguns poucos grânulos grandes mostraram saliências ou cavidades próprias do amido de trigo¹². Essas cavidades seriam decorrentes da força de interação amido-proteína nos grãos de trigo, fazendo com que a matrix protéica pressionasse alguns grânulos de amido, criando assim essas saliências observadas após extração. Em trigos duros a interação

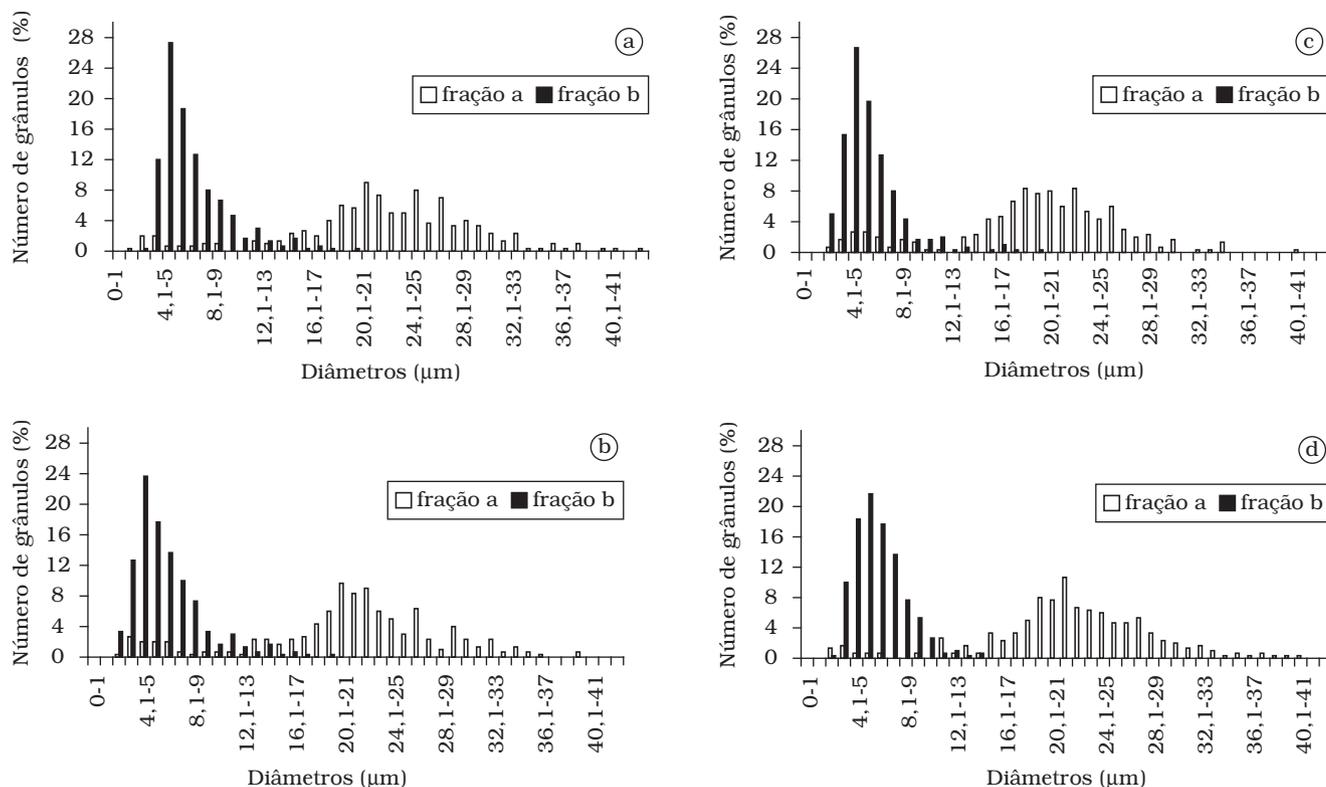


Figura 2. Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos das diferentes cultivares após separação por tamanho nas frações a) pelo menos 81,7% de grânulos com $\phi > 15 \mu\text{m}$; e b) mais de 90% de grânulos com $\phi \leq 10 \mu\text{m}$. a) ANAHUAC; b) BH1146; c) IAC17; e d) IAC24.

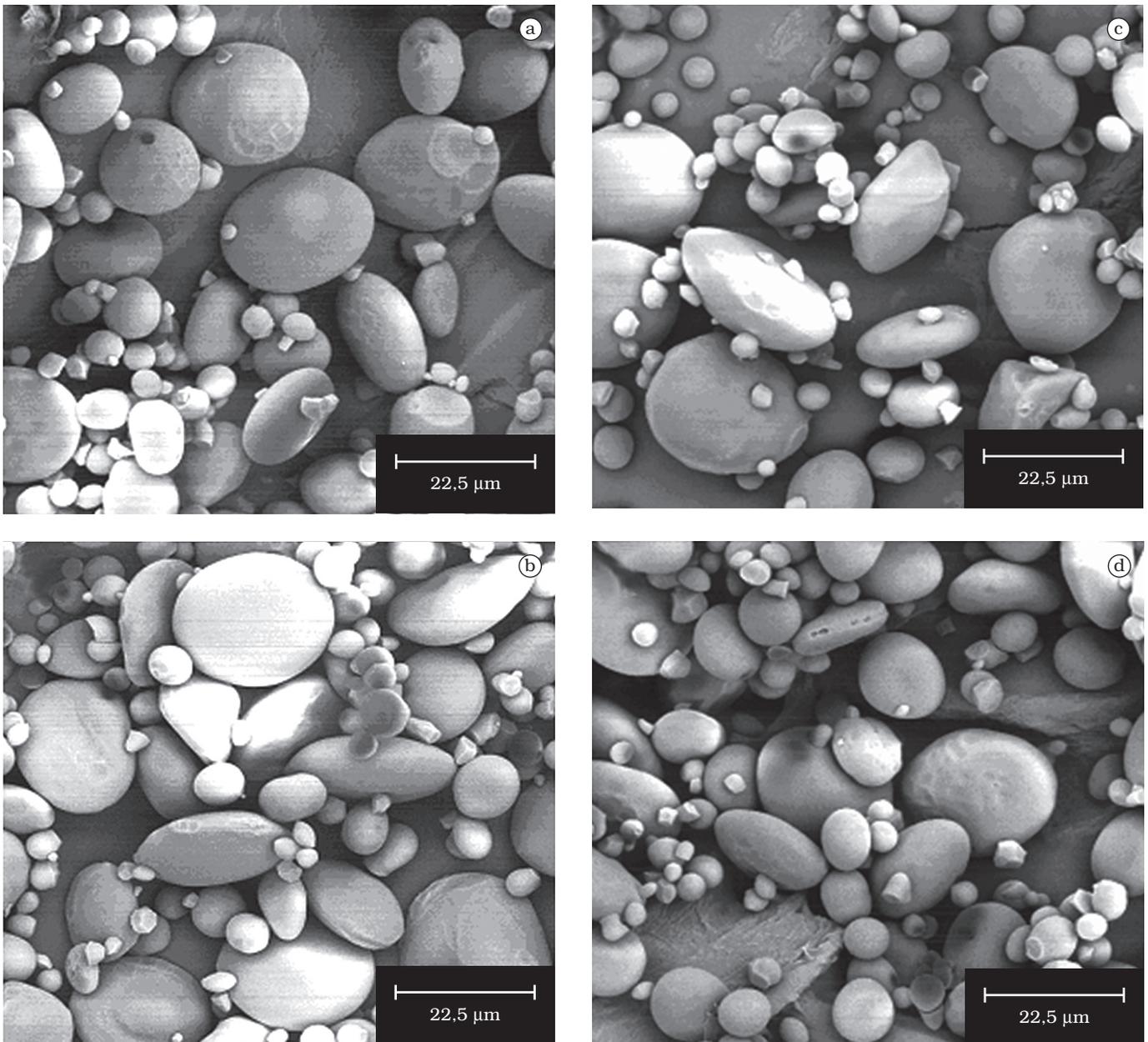


Figura 3. Micrografias observadas em MEV (aumento de 1000x) dos amidos de trigo isolados dos diferentes genótipos de trigo. a) ANAUHAC; b) IAC17; c) BH1146; e d) IAC24.

amido-proteína é mais forte que em trigos moles. Também não foi possível observar qualquer dano nos grânulos de amido em função do procedimento de isolamento dos mesmos.

Após fracionamento, as frações a e b com grânulos de amido grandes ($>15 \mu\text{m}$) e pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$), respectivamente, das diferentes cultivares foram observadas em MEV (Figura 4). A eficiência do método de separação por tamanho dos grânulos de amido e o formato dos mesmos pode ser confirmada.

3.2 Teor de lisofosfolídeos

O teor de LFL das diferentes amostras variou de 0,754 a 1,246% (Tabela 1). Valores entre 0,802 e 0,990% foram observados para amidos de 12 variedades de trigo²⁶. Segundo

Tabela 1. Teor de lisofosfolídeos* dos amidos, antes e após separação por tamanho, isolados das diferentes cultivares de trigo^a.

Cultivares	LFL (%)		
	Sem separação	$>15 \mu\text{m}$	$\leq 10 \mu\text{m}$
ANAUHAC	$1,016 \pm 0,023^{\text{Ab}}$	$0,959 \pm 0,035^{\text{Ab}}$	$1,246 \pm 0,070^{\text{Aa}}$
IAC17	$0,860 \pm 0,035^{\text{Bb}}$	$0,860 \pm 0,012^{\text{Bb}}$	$1,123 \pm 0,012^{\text{ABa}}$
BH1146	$0,926 \pm 0,035^{\text{ABab}}$	$0,885 \pm 0,000^{\text{ABb}}$	$1,065 \pm 0,046^{\text{Ba}}$
IAC24	$0,820 \pm 0,023^{\text{Bb}}$	$0,754 \pm 0,000^{\text{Cb}}$	$1,033 \pm 0,023^{\text{Ba}}$

*Cada valor representa a média de duas replicatas; e ^aValores seguidos da mesma letra maiúscula na mesma coluna e da mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

MORRISON¹⁹, o amido de trigo talvez seja a fonte mais pura de LFL apresentando cerca de 0,729 a 1,047% e cujas moléculas duplamente carregadas possuem excelentes características

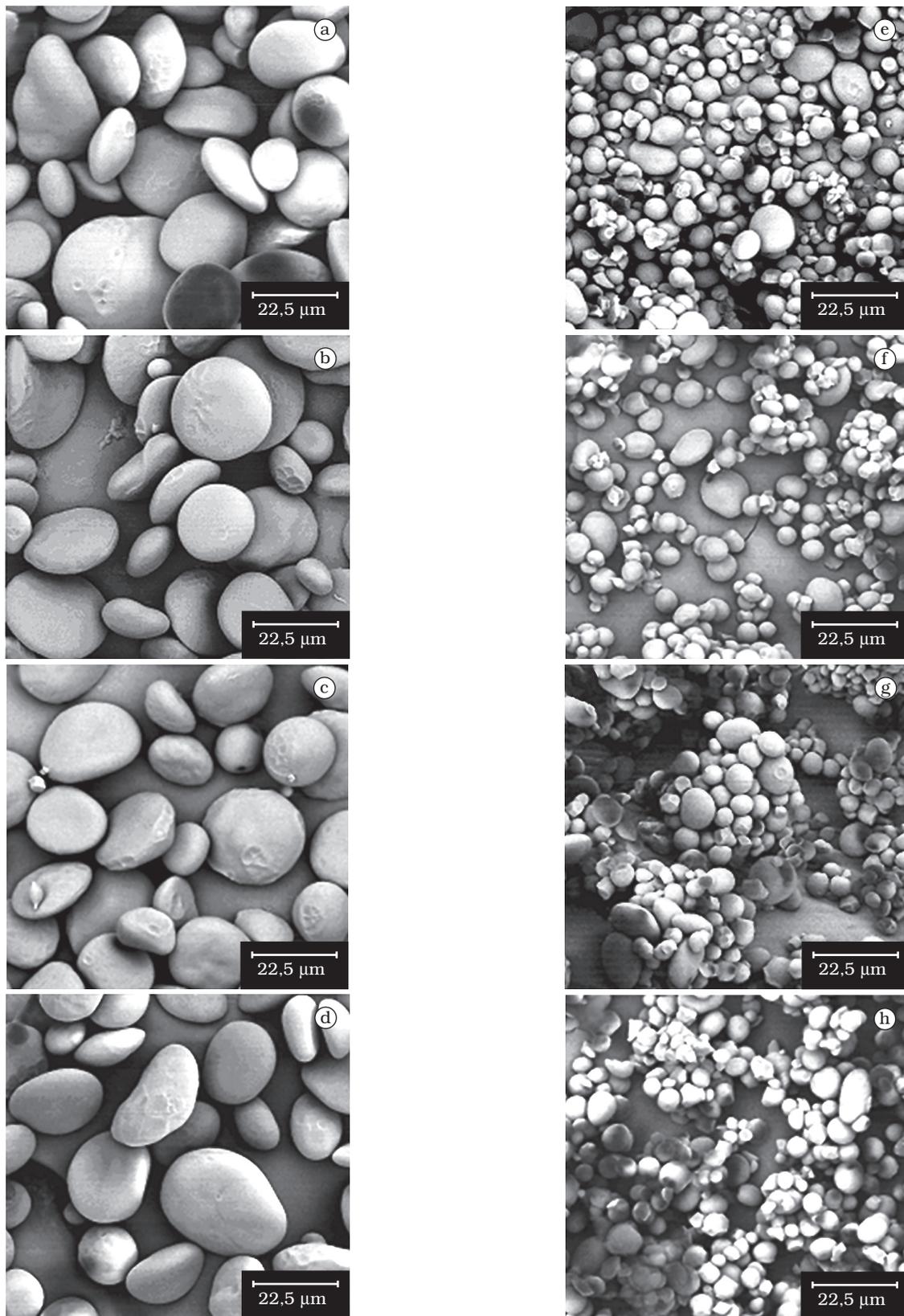


Figura 4. Micrografias observadas em MEV (aumento de 1000 x) dos grânulos grandes (a, b, c, d) e pequenos (e, f, g, h) de amidos isolados dos diferentes genótipos de trigo após fracionamento. a e e) ANAHUAC; b e f) IAC17; c e g) BH1146; e d e h) IAC24.

emulsificantes. O amido obtido da cultivar ANAHUAC (trigo duro) mostrou maior teor de LFL que os obtidos de outras cultivares.

O teor de LFL em amidos de trigo durum é 0,20% maior que aquele apresentado em amidos de trigo mole e 0,05 a 0,16% maior que em amidos de trigo duro³⁰.

Os grânulos com diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$, para todas as cultivares estudadas, apresentaram maior teor de LFL que os demais concordando com resultados apresentados por SHINDE et al.³¹. Já os grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$) mostraram teor de LFL semelhante aos obtidos pelas amostras antes da separação por tamanho. É possível que os lipídeos estejam preferencialmente associados com a biossíntese de grânulos de amidos pequenos e, portanto, estes apresentem maiores teores de LFL²⁶.

3.3 Teores de amilose total e amilose complexada com lipídeos

O teor de amilose total, ou seja, de amilose livre de lipídeos foi determinado e está apresentado na Tabela 2. Este seria o único procedimento satisfatório para a determinação da amilose total a partir de método iodométrico¹⁸.

Não houve diferença significativa no teor de amilose total dos amidos obtidos de diferentes cultivares, antes da separação por tamanho. Esses amidos mostraram valores entre 27,46 e 28,31%. Valores entre 26,7 e 28,8%²⁶ e 27,2 e 28,7%⁹ foram encontrados para teor de amilose de amidos de trigo de diferentes genótipos.

O teor de amilose total em amido de trigo mole é aproximadamente 2,0 a 2,5% menor que aquele encontrado em amidos de trigo durum e 1,0 a 1,5% menor que aquele observado em trigo duro³⁰. No entanto, neste trabalho, não foi observada qualquer diferença significativa para o teor de amilose total entre os diferentes genótipos de trigo, nem tampouco qualquer correlação entre teor de fósforo e teor de amilose total como também observado por SEIB³⁰.

O teor de amilose total para amostras de amido com grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$) variou de 26,95 a 29,75%, enquanto que

Tabela 2. Teor de amilose* total e complexada com lipídeos dos amidos, isolados das diferentes cultivares de trigo, antes e após separação por tamanho^a.

Cultivares	Teor de amilose total (AM _L) (%)		
	Sem separação	$> 15 \mu\text{m}$	$\leq 10 \mu\text{m}$
ANAHUAC	27,75 \pm 0,30 ^{Aa}	26,95 \pm 0,30 ^{Ca}	27,16 \pm 0,30 ^{Aa}
IAC17	27,46 \pm 0,45 ^{Ab}	29,75 \pm 0,19 ^{Aa}	26,91 \pm 0,40 ^{Ab}
BH1146	28,31 \pm 0,19 ^{Aa}	28,71 \pm 0,34 ^{ABa}	26,66 \pm 0,26 ^{Ab}
IAC24	27,64 \pm 0,00 ^{Aa}	27,80 \pm 0,30 ^{CBa}	26,77 \pm 0,04 ^{Ab}
Cultivares	Teor de amilose complexada (ΔAM_L) (%)		
	Sem separação	$> 15 \mu\text{m}$	$\leq 10 \mu\text{m}$
ANAHUAC	7,11 \pm 0,16 ^{Ab}	6,71 \pm 0,24 ^{Ab}	8,72 \pm 0,49 ^{Aa}
IAC17	6,02 \pm 0,24 ^{Bb}	6,02 \pm 0,08 ^{Ab}	7,86 \pm 0,08 ^{ABa}
BH1146	6,71 \pm 0,41 ^{ABab}	6,20 \pm 0,00 ^{Ab}	7,46 \pm 0,32 ^{Ba}
IAC24	5,74 \pm 0,16 ^{Bb}	5,28 \pm 0,00 ^{Ab}	7,23 \pm 0,16 ^{Ba}

*Cada valor representa a média de duas replicatas; e ^aValores seguidos da mesma letra maiúscula na mesma coluna e da mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

para os grânulos pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$) a variação foi de 26,66 a 27,16% (Tabela 2). Valores de 27,2 a 30,4% e 25,9 a 29,1% foram encontrados para grânulos tipo A e tipo B, respectivamente, para três variedades de trigo²⁰.

Dos resultados obtidos pode-se observar que os grânulos maiores concentram, de maneira geral, maior teor de amilose que os grânulos pequenos. Esses resultados concordam com muitos dos encontrados na literatura^{1,10,24}.

O teor de amilose complexada com lipídeos (ΔAM_L) dos amidos isolados dos diferentes genótipos de trigo variou de 5,74 a 7,11% (Tabela 2). Valores semelhantes foram observados para doze variedades de amido de trigo mole²⁶ e quatorze diferentes cultivares de trigo normal⁴¹.

Como já observado anteriormente para LFL, o amido de trigo duro (ANAHUAC) apresentou maior quantidade de ΔAM_L que os amidos obtidos de trigo mole ou híbrido.

O teor de amilose complexada com lipídeos no amido de trigo aumenta durante o desenvolvimento do grão, em parte devido ao aumento da proporção de grânulos pequenos durante esta fase¹⁴. Neste trabalho os grânulos pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$) apresentaram maior teor de amilose complexada com lipídeos em relação aos grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$) para todas as cultivares estudadas.

3.4 Difração de raios-X

O índice de cristalinidade (IC) das diferentes amostras variou de 22,35 a 28,24% (Tabela 3). Os amidos das cultivares ANAHUAC e IAC17 antes da separação por tamanho apresentaram os menores IC, enquanto BH1146 e IAC24 mostraram os maiores. Os níveis de cristalinidade e ordem molecular em amidos de trigo são os menores encontrados em amidos comerciais, girando em torno de 20%, enquanto o amido de milho apresenta cerca de 27%³⁰.

O teor de amilose correlaciona-se negativamente com o grau de cristalinidade dos amidos^{37,40}, ou seja, quanto maior o teor de amilose do amido, menor sua cristalinidade. Não foi observada neste trabalho diferença significativa entre o teor de amilose total das diferentes amostras (Tabela 2), sugerindo que outros fatores também podem ter influenciado o maior IC apresentado pelas amostras BH1146 e IAC24.

Não houve diferença significativa entre o IC para os grânulos grandes e pequenos da amostra ANAHUAC. No entanto, para as cultivares IAC17, BH1146 e IAC 24 os grânulos

Tabela 3. Índice de cristalinidade* dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo, antes e após separação por tamanho^a.

Cultivares	IC (%)		
	Sem separação	Grânulos $> 15 \mu\text{m}$	Grânulos $\leq 10 \mu\text{m}$
ANAHUAC	22,35 \pm 0,42 ^{Db}	25,43 \pm 0,53 ^{Aa}	25,40 \pm 0,42 ^{Ca}
IAC17	23,21 \pm 0,17 ^{Cc}	24,49 \pm 0,55 ^{Ab}	26,27 \pm 0,32 ^{Bca}
BH1146	26,85 \pm 0,12 ^{Ab}	24,96 \pm 0,30 ^{Ac}	28,24 \pm 0,34 ^{Aa}
IAC24	25,81 \pm 0,37 ^{Bab}	25,05 \pm 0,28 ^{Ab}	26,52 \pm 0,53 ^{Ba}

*Cada valor representa a média de três replicatas; e ^aValores seguidos da mesma letra maiúscula na mesma coluna e da mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$) apresentaram maior IC que os grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$).

Esses resultados concordam com aqueles encontrados por TANG et al.³⁴ ao estudarem amido de cevada, cujos grânulos também foram separados por tamanho.

Dos resultados anteriores, observou-se que os grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$) apresentaram maior teor de amilose que os grânulos pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$), com exceção da amostra obtida da cultivar ANAHUAC. Maiores teores de amilose nos grânulos de amido estão relacionados a menores IC^{37,40}, o que pode ser observado para os grânulos grandes das variedades IAC17, BH1146 e IAC24. Os grânulos grandes e pequenos da variedade ANAHUAC não apresentaram diferença significativa em seu teor de amilose (Tabela 2), o que provavelmente contribuiu para que os mesmos não apresentassem diferença no IC.

3.5 Susceptibilidade enzimática

O perfil de hidrólise foi semelhante para todos os amidos obtidos das diferentes cultivares (Figura 5). Os amidos obtidos dos genótipos ANAHUAC e IAC17, que apresentaram menores índices de cristalinidade (Tabela 3), também se mostraram mais susceptíveis à hidrólise enzimática.

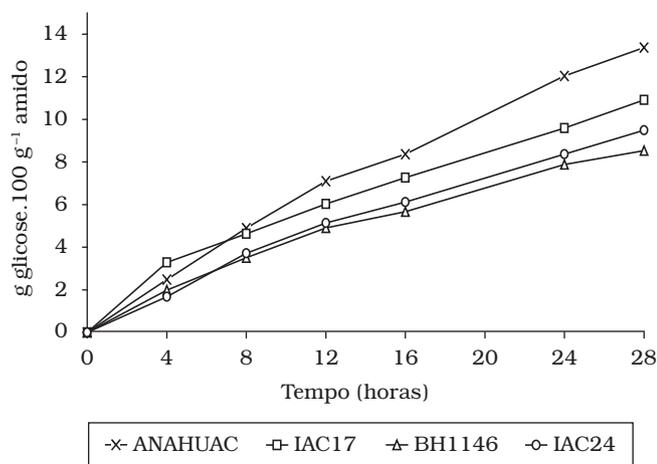


Figura 5. Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido, em função do tempo de incubação, durante a hidrólise dos amidos isolados das diferentes cultivares de trigo com α -amilase bacteriana.

Uma vez que a enzima ataca mais rapidamente e principalmente as zonas mais amorfas dos grânulos⁸, aqueles amidos que possuíam maiores concentrações de áreas amorfas apresentaram maior facilidade à ação da enzima.

Para todas as cultivares estudadas, os amidos que apresentaram menor tamanho de grânulos mostraram-se mais susceptíveis à hidrólise (Figura 6). Estudos realizados com milho⁸ e cevada³⁴ mostraram maior susceptibilidade enzimática para grânulos de menor diâmetro.

Das análises anteriores foi observado que os grânulos pequenos apresentaram menor teor de amilose e maior IC que os grânulos grandes. Estes resultados poderiam sugerir

que em função da maior cristalinidade, esses grânulos também fossem os menos susceptíveis à hidrólise. No entanto, as maiores taxas de hidrólise para os grânulos pequenos parecem estar relacionadas à maior área superficial dos grânulos. A hidrólise enzimática de grânulos de amido envolve enzimas em solução agindo sobre um substrato sólido, e assim a área superficial acessível às enzimas se torna um parâmetro cinético crítico³⁶.

3.6 Propriedades térmicas

As temperaturas iniciais de gelatinização (T_0) variaram de 53,50 a 55,27 °C e as entalpias de 8,12 a 12,33 J.g⁻¹. (Tabela 4).

As amostras de amido obtidas das cultivares BH1146 e IAC24 apresentaram temperaturas de gelatinização e entalpia maiores que as apresentadas pelas amostras obtidas das cultivares ANAHUAC e IAC17. Estes resultados podem estar relacionados com o maior IC apresentado pelos primeiros amidos (Tabela 3) em relação aos demais. Em amidos que apresentam altas cristalinidades, suas áreas amorfas são mais resistentes à hidratação, e conseqüentemente o início do inchamento e gelatinização são atrasados³⁵. O maior valor de entalpia apresentado pelos amidos obtidos das cultivares BH1146 e IAC24 também sugeriu maior porcentagem de arranjos organizados ou uma maior estabilidade dos cristais. Esses dados também explicam a maior resistência desses amidos frente à ação enzimática (Figura 5).

Para as amostras de amido de diferentes tamanhos de grânulos pode ser observado, que com exceção da temperatura inicial de gelatinização das amostras obtidas das cultivares ANAHUAC e IAC24, todas as demais temperaturas obtidas para todas as amostras analisadas mostraram-se maiores para os grânulos pequenos em relação àqueles antes da separação por tamanho e aos de diâmetro $> 15 \mu\text{m}$. Estes resultados confirmam aqueles observados para IC e teor de amilose dessas amostras. As propriedades de gelatinização e inchamento são controladas, em parte, pela estrutura da amilopectina. Como as regiões cristalinas do grânulo de amido são geralmente compostas de amilopectina e não de amilose, amidos com alto teor de amilose apresentam menores temperaturas de gelatinização²³.

Não foi observada diferença significativa entre as entalpias de gelatinização dos grânulos grandes e pequenos. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por ANDO et al.¹ e HUNG e MORITA¹⁰. A entalpia de gelatinização do amido de trigo é independente da distribuição de tamanho de grânulos⁶.

A faixa de temperatura de gelatinização das amostras foi maior para os grânulos menores ($\leq 10 \mu\text{m}$). ANDO et al.¹ e VERMEYLEN et al.³⁸ sugeriram que a maior faixa de temperatura de gelatinização dos grânulos pequenos de amido pode ser devido ao maior número de grânulos por peso de amido.

3.7 Poder de inchamento

Valores observados na Tabela 5 para o poder de inchamento a 70 °C variaram de 7,09 a 9,82 g.g⁻¹ (b.s.). Valores entre

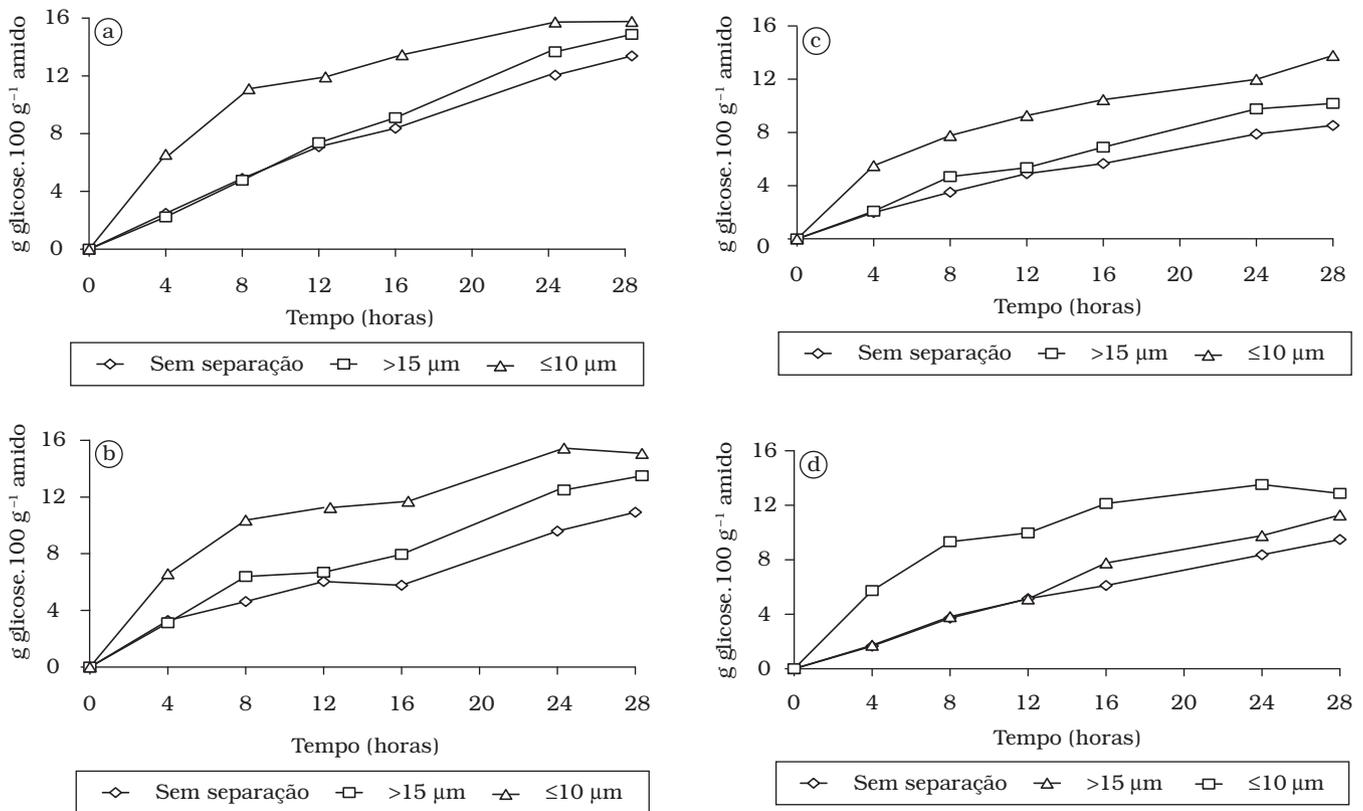


Figura 6. Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido, em função do tempo de incubação, durante a hidrólise dos amidos de trigo isolados das diferentes cultivares, com α -amilase bacteriana, antes e após separação por tamanho. a) ANAHUAC; b) BH1146; c) IAC17; e d) IAC24.

Tabela 4. Propriedades térmicas* dos amidos isolados das diferentes cultivares de trigo, antes e após separação por tamanho^a.

Cultivares	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)
ANAHUAC				
S/ separação	53,50 ± 0,15 ^d	58,10 ± 0,11 ^f	62,98 ± 0,04 ^e	8,12 ± 0,24 ^e
>15 μm	53,75 ± 0,01 ^{cd}	58,23 ± 0,12 ^f	63,00 ± 0,10 ^e	8,65 ± 0,85 ^{bc}
≤10 μm	53,52 ± 0,11 ^d	59,20 ± 0,02 ^{de}	65,09 ± 0,10 ^e	8,23 ± 1,14 ^e
IAC17				
S/ separação	53,81 ± 0,05 ^{cd}	60,14 ± 0,29 ^{bc}	66,26 ± 0,59 ^{ab}	10,69 ± 0,62 ^{ab}
>15 μm	52,45 ± 0,05 ^e	57,96 ± 0,04 ^f	63,18 ± 0,23 ^e	9,04 ± 0,04 ^{bc}
≤10 μm	54,00 ± 0,06 ^{cd}	59,71 ± 0,06 ^{cde}	65,42 ± 0,02 ^{bc}	8,05 ± 0,65 ^e
BH1146				
S/ separação	54,99 ± 0,02 ^b	60,70 ± 0,49 ^{ab}	66,98 ± 0,24 ^a	12,33 ± 0,04 ^a
>15 μm	53,87 ± 0,09 ^{cd}	58,83 ± 0,10 ^{ef}	63,81 ± 0,06 ^{de}	9,83 ± 0,82 ^{bc}
≤10 μm	55,90 ± 0,12 ^a	61,13 ± 0,06 ^a	66,35 ± 0,01 ^a	9,51 ± 0,01 ^{bc}
IAC24				
S/ separação	55,27 ± 0,47 ^{ab}	59,90 ± 0,42 ^{bcd}	64,69 ± 0,37 ^{cd}	12,20 ± 0,11 ^a
>15 μm	54,31 ± 0,11 ^c	58,09 ± 0,10 ^f	61,79 ± 0,04 ^f	10,22 ± 0,04 ^{abc}
≤10 μm	54,17 ± 0,09 ^c	59,30 ± 0,17 ^{cde}	64,12 ± 0,06 ^d	9,32 ± 0,79 ^{bc}

*T₀, T_p, T_c = temperatura inicial, de pico e de conclusão, respectivamente; ΔH : variação de entalpia; ^aCada valor representa a média de três replicatas; e ^bValores seguidos da mesma letra na mesma coluna não são estatisticamente diferentes (p < 0,05).

7,4 e 8,8 g.g⁻¹ foram observados para nove amostras de amido de trigo mole e duro quando o PI foi determinado a 70 °C³⁹.

Dos genótipos estudados, o amido obtido da cultivar ANAHUAC (trigo duro) apresentou o menor valor de PI. Menor poder de inchamento para amidos obtidos de grãos duros

também foi observado por outros pesquisadores^{30,39}. O amido obtido do trigo duro também apresentou o maior teor de LFL e, conseqüentemente, maiores concentrações de amilose complexada com lipídeos (Tabela 2), responsável pelo menor poder de inchamento apresentado.

Tabela 5. Poder de inchamento* (PI) dos amidos isolados de diferentes cultivares de trigo, antes e após separação por tamanho, determinado a 70 °C^a.

Cultivares	PI (g.g ⁻¹ b.s.)		
	Sem separação	>15 µm	≤10 µm
ANAHUAC	7,71 ± 0,15 ^{Bb}	8,87 ± 0,19 ^{ABa}	7,09 ± 0,14 ^{Bb}
IAC17	8,60 ± 0,26 ^{Ba}	8,57 ± 0,12 ^{ABa}	7,25 ± 0,10 ^{Bb}
BH1146	8,49 ± 0,25 ^{Ba}	8,28 ± 0,17 ^{Ba}	7,21 ± 0,25 ^{Bb}
IAC24	9,82 ± 0,13 ^{Aa}	8,93 ± 0,09 ^{Ab}	7,98 ± 0,14 ^{Ac}

*Cada valor representa a média de duas replicatas; e ^aValores seguidos da mesma letra minúscula na mesma coluna e da mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes (p < 0,05).

Para todas as amostras estudadas os grânulos pequenos apresentaram menor PI do que os grânulos grandes. Os grânulos pequenos também apresentaram maior teor de LFL (Tabela 1) e, conseqüentemente, maior teor de amilose complexada com lipídeos (Tabela 2). Esses complexos restringem o inchamento e solubilidade dos grânulos.

3.8 Propriedades de pasta

Em função da quantidade limitada de amostras obtidas após a separação dos grânulos por tamanho, as propriedades de pasta foram determinadas apenas para as amostras de amido obtidas das diferentes cultivares antes do fracionamento.

O perfil de viscosidade obtido a partir dos amidos de trigo isolados dos diferentes genótipos apresentou uma curva típica para este amido (Tabela 6), com altas temperaturas de pasta (90 - 92 °C), baixo pico de viscosidade (147 - 194 RVU), maior resistência ao cisalhamento e alta tendência à retrogradação (114 - 132 RVU).

Tabela 6. Propriedades de pasta* dos amidos isolados das diferentes cultivares de trigo^a.

Cultivares	Viscosidade (RVU)				Temp. pasta (°C)
	Pico	Quebra	Final	"Set back"	
ANAHUAC	163 ± 3 ^b	51 ± 2 ^{bc}	235 ± 4 ^b	124 ± 3 ^b	91,5 ± 0,1 ^b
IAC17	153 ± 1 ^c	47 ± 0 ^c	229 ± 0 ^b	124 ± 0 ^b	91,8 ± 0,0 ^{ab}
BH1146	147 ± 1 ^c	52 ± 0 ^b	210 ± 2 ^c	114 ± 0 ^c	92,5 ± 0,3 ^a
IAC24	194 ± 0 ^a	63 ± 1 ^a	263 ± 1 ^a	132 ± 0 ^a	90,1 ± 0,3 ^c

*Cada valor representa a média de duas replicatas; e ^aValores seguidos da mesma letra na mesma coluna não são estatisticamente diferentes (p < 0,05).

Essas características apresentadas pelas amostras estudadas estão relacionadas ao teor de amilose apresentado para amidos de trigo, que neste trabalho ficou entre 27,46 a 28,31%. Altos teores de amilose, como apresentados pelo amido de trigo, estão associados a menores viscosidades de pico e alta retrogradação. Altos teores de amilose aumentam a estabilidade dos grânulos à ruptura sob agitação, pois as moléculas lineares fortemente associadas mantêm a integridade do grânulo de amido aumentando sua resistência à agitação mecânica além de apresentar temperaturas de pasta mais elevadas e contribuir para a alta tendência a retrogradação¹³.

4 Conclusões

Os amidos obtidos das diferentes cultivares apresentaram distribuição bimodal de tamanho com grânulos grandes apre-

sentando diâmetro médio próximo a 22 µm e formato lenticular e grânulos pequenos com diâmetro médio próximo a 6 µm e formato arredondado.

O amido obtido da cultivar ANAHUAC apresentou maior teor de lisofosfolídeos, porém não houve diferença significativa entre o teor de amilose total para as diferentes cultivares estudadas. Os amidos obtidos das cultivares ANAHUAC e IAC17 apresentaram menor índice de cristalinidade que os demais e mostraram maior susceptibilidade enzimática. As temperaturas de gelatinização iniciais e entalpias obtidas foram menores do que as obtidas para os amidos das cultivares BH1146 e IAC24.

Os grânulos pequenos (≤10 µm) apresentaram maior teor de lisofosfolídeos, maior teor de amilose complexada com lipídeos e maior IC que os grânulos grandes, enquanto esses últimos mostraram maior concentração de amilose total. Em razão dessas características, os grânulos pequenos apresentaram maiores temperaturas de gelatinização e menor poder de inchamento. Apesar de apresentarem maior concentração de regiões cristalinas, os grânulos pequenos mostraram maior susceptibilidade enzimática em relação aos grânulos grandes, indicando que outros fatores como por exemplo, a área superficial, também interferem na susceptibilidade enzimática dos grânulos de amido.

As diferenças observadas nas características físico-químicas e estruturais entre grânulos grandes e pequenos do amido de trigo sugerem que a distribuição de tamanho de grânulos é fator importante a ser considerado quando aplicações deste amido, por exemplo, em panificação, são estudadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES pela bolsa de estudo concedida ao primeiro autor.

Referências bibliográficas

1. ANDO, H. et al. Some physicochemical properties of large, medium and small granule starches in fractions of wheat grain. **Food Sci. Technol. Res.**, v. 8, n. 1, p. 24-27, 2002.
2. ATWELL, W. A. **Wheat Flour**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 2001. 5 p.
3. BEQUETE, R. K. Influence of variety and environment on wheat quality. **Bulletin of Association of Operative Millers**, p. 5443-5450, 1989.
4. BRUSANTIN, R. C. V. **Composição protéica e qualidade tecnológica de trigos desenvolvidos no Estado de São Paulo**. 2000. 115f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.
5. DOMINGUES, M. A. C. **Efeito da interação genótipo x ambiente no Estado de São Paulo sobre parâmetros de qualidade do trigo e nas características físico-químicas e funcionais do amido**. 2002. 140 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
6. ELIASSON, A. C.; KARLSSON, R. Gelatinization properties of different size classes of wheat starch granules measured with differential scanning calorimetry. **Starch/Starke**, v. 35, n. 4, p. 130-133, 1983.

7. FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack. Part I: Study of the conditions of hydrolysis. **Starch/Starke**, v. 39, n. 12, p. 432-435, 1987.
8. FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. Factors that affect the enzymatic degradation of natural starch granules – effect of the size of the granules. **Starch/Starke**, v. 44, n. 11, p. 422-426, 1992.
9. FRANCO, C. M. L. et al. Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. **Cereal Chem.**, v. 79, n. 2, p. 243-248, 2002.
10. HUNG, P. V.; MORITA, N. Physicochemical properties of hydroxypropylated and cross-linked starches from A-type and B-type wheat starch granules. **Carbohydr. Polym.**, v. 59, n. 2, p. 239-246, 2005.
11. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Norme internationale:** Riz-détermination de la teneur em amylose. S. I., 1987. 5 p. (ISO 6647).
12. JANE, J. et al. Anthopology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. **Starch/Starke**, v. 46, n. 4, p. 121-129, 1994.
13. JANE, J. et al. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chem.**, v. 46, n. 5, p. 629-37, 1999.
14. KARLSSON, R.; OLERED, R.; ELIASSON, A. C. Changes in starch granule size distribution and starch gelatinization properties during development an maturation of wheat, barley and rye. **Starch/Starke**, v. 35, n. 10, p. 335-340, 1983.
15. KULP, K. Characteristics of small-granule starch of flour and wheat. **Cereal Chem.**, v. 50, n. 6, p. 666-679, 1973.
16. LELIEVRE, J. et al. Effects of starch particle size and protein concentration on breadmaking performance. **Starch/Starke**, v. 39, n. 10, p. 347-352, 1987.
17. LIM, S. et al. Effect of starch granule size on physical properties of starch-filled polyethylene film. **Biotechnol. Prog.**, v. 8, n. 1, p. 51-57, 1992.
18. MORRISON, W. R.; LAIGNELET, B. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and others starches. **J. Cereal Sci.**, v. 1, n. 1, p. 9-20, 1983.
19. MORRISON, W. R. Lipids in cereal starches: a review. **J. Cereal Sci.**, v. 1, n. 8, p. 1-15, 1988.
20. MORRISON, W. R. Uniqueness of wheat starch. In: POMERANZ, Y. **Wheat is Unique: structure, composition, processing, end-use properties, and products**. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1989. cap. 12, p. 193-214.
21. MORRISON, W. R. et al. Swelling and gelatinization of cereal starches. IV: some effects of lipid-complexed amylose and free amylose in waxy and normal barley starches. **Cereal Chem.**, v. 70, n. 4, p. 385-391, 1993.
22. NACHTERGAELE, W.; VAN NUFFEL, J. Starch as stilt material in carbonless copy paper – New developments. **Starch/Starke**, v. 41, n. 10, p. 386-392, 1989.
23. NODA T. et al. Relationships between chain lenght distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat. **Carbohydr. Polym.**, v. 37, n. 2, p. 153-158, 1998.
24. PENG, M. et al. Separation and characterization of A- and B- type starch granules in wheat endosperm. **Cereal Chem.**, v. 76, n. 3, p. 375-379, 1999.
25. RABEK, J. F. Applications of wide-angle X-ray diffraction (WAXD) to the study of the structure of polymers. In: RABEK, J. F. (Ed.) **Experimental Methods in Polymer Chemistry**, 1° ed. Chichester: Wiley-Interscience, 1980, p. 505-508.
26. RAEKER, M. et al. Granule size distribution and chemical composition of starches from 12 soft wheat cultivars. **Cereal Chem.**, v. 75, n. 5, p. 721-728, 1998.
27. ROLÉE, A.; LE MESTE, M. Thermomechanical behavior of concentrated starch-water preparations. **Cereal Chem.**, v. 74, n. 5, p. 581-588, 1997.
28. SAHLSTROM, S. et al. Influence of starch granule size distribution on bread characteristics. **J. Cereal Sci.**, v. 28, n. 2, p. 157-164, 1998.
29. SASAKI, T.; MATSUKI, J. Effect oh wheat starch structure on swelling power. **Cereal Chem.**, v. 75, n. 4, p. 525-529, 1998.
30. SEIB, P. A. **Wheat starch:** isolation, structure and properties. v. 41, n. 1, p. 49-69, 1994.
31. SHINDE, S. V.; NELSON, J. E.; HUBER, K. C. Soft wheat starch pasting behavior in relation to A- and B-type granule content and composition. **Cereal Chem.**, v. 80, n. 1, p. 91-98, 2003.
32. SMITH, A. R.; CARUSO, T. E. Determination of phosphorous. In: **Methods in Carbohydrate Chemistry**. R. L. Whistler ed., New York: Academic Press, v. 4, p. 42-46, 1964.
33. SOMOGY, M. New reagent for the determination of sugars. **J. Biol. Chem.**, v. 160, n. 1, p. 61-68, 1945.
34. TANG, H.; WATANABE, K.; MITSUNAGA, T. Structure and functionality of large, medium and small granule starches in normal and waxy barley endosperms. **Carbohydr. Polym.**, v. 49, n. 2, p. 217-224, 2002.
35. Tester, R.F. et al. Amylopectin crystallisation in starch. In: Barsby, T. L.; Donald, A. M.; Frazier, P. J. Editors, **Starch. Advances in Structure and Function**, Royal Society of Chemistry, Cambridge: 2001, p. 97-102.
36. TESTER, R. F.; QI, X.; KARKALAS, J. Hydrolysis of natives starches with amylases. **Animal Feed Sci. Technol.** v. 130, n. 1-2, p. 39-54.
37. VANDEPUTTE, G. E. et al. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. **J. Cereal Sci.**, v. 38, n. 1, p. 43-52, 2003.
38. VERMEYLEN R.; GODERIS, B.; DELCOUR, J. A. An X-ray study of hydrothermally treated potato starch. **Carbohydr. Polym.**, v. 64, n. 2, p. 1-12, 2006.
39. WICKRAMASINGHE, H. A. M. et al. Comparison of the starch properties of Japanese wheat varieties with those of popular commercial wheat classes from the USA, Canada and Australia. **Food Chem.**, v. 93, n. 1, p. 9-15, 2005.
40. YOO, S-H.; JANE, J. Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. **Carbohydr. Polym.**, v. 49, n. 3, p. 297-305, 2002.
41. ZENG, M. et al. Sources of variation for starch gelatinizatin, pasting, and gelation properties in wheat. **Cereal Chem.**, v. 74, n. 1, p. 63-71, 1997.