



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Marilia Gato Marim

Efeito de ácidos graxos saturados sobre as propriedades físico-químicas e
digestibilidade do amido

São José do Rio Preto
2018

Marilia Gato Marim

Efeito de ácidos graxos saturados sobre as propriedades físico-químicas e
digestibilidade do amido

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos: área de concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: Capes DS

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

São José do Rio Preto
2018

Marim, Marília Gato.

Efeito de ácidos graxos saturados sobre as propriedades físico-químicas e digestibilidade do amido / Marília Gato Marim . -- São José do Rio Preto, 2018

69 f. : il., tabs.

Orientador: Célia Maria Landi Franco

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1.Tecnologia de alimentos. 2. Amido. 3. Ácidos graxos. I.

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 577.115

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Marilia Gato Marim

Efeito de ácidos graxos saturados sobre as propriedades físico-químicas e
digestibilidade do amido

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos: área de concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: Capes DS

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Célia Maria Landi Franco
UNESP – São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr^a. Marina Costa Garcia
Pós-doutoranda da UFG

Prof. Dr^a. Vânia Regina Nicoletti Telis
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
13 de abril de 2018

*“O medo se vai quando ouço a voz do alto a me dizer:
Sê valente, sê valente!”*

Marcos Almeida

AGRADECIMENTO

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me dado força, sabedoria, paciência e perseverança para alcançar mais este objetivo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Célia Maria Landi Franco, pela oportunidade, pelo direcionamento, apoio e confiança.

De forma especial, agradeço aos meus pais Cláudio Crespilho e Eleni C. Gato pelo apoio incansável, amor incondicional e incentivo.

Ao meu noivo, Rodrigo Diniz, pelo carinho, sinceridade e encorajamento.

Às amigas de convívio diário, Taís, Flávia, Mariana, Márcia, Vivian, Kamila, Jéssica, Ana Carolina, pelos conselhos, almoços, companhia e descontrações.

À aluna de iniciação científica Juliana Fiori por auxiliar em parte das análises.

Ao Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT-UNESP, Botucatu, SP) pelo fornecimento de materiais utilizados neste trabalho.

À Capes pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de Mestrado.

RESUMO

Amidos e lipídios são constituintes importantes dos alimentos capazes de interagir e formar complexos de inclusão amilose-lipídios insolúveis e resistentes às enzimas digestivas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos ácidos graxos saturados (AGS), láurico (AL) e palmítico (AP), no comportamento de gelatinização dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER), os quais continham 6,7, 17,3 e 43,2% de amilose, além de avaliar a cristalinidade, estabilidade térmica e digestibilidade dos complexos formados a partir do cozimento de misturas amido-AGS. Mistura amido-8%AGS foi cozida em água (10% m/v), precipitada, lavada com etanol, seca e analisada quanto ao índice de complexação, cristalinidade, propriedades térmicas e digestibilidade. A adição de 8% AGS (baseado no peso seco de amido) reduziu o teor de amilose lixiviada, poder de inchamento e solubilidade, independente do amido. As viscosidades de pico e de quebra reduziram e houve alargamento dos picos nos AMS e ABD, enquanto o AER, independente da adição de AGS, teve baixa viscosidade nas condições tempo/temperatura usadas devido ao denso empacotamento da amilose. A temperatura inicial de gelatinização obtida por DSC aumentou nos três amidos, independente do AGS, mas apenas o AER mostrou picos de dissociação do complexo amilose-lipídios ($T_{\text{final}} > 104^{\circ}\text{C}$). A adição de AGS influenciou o comportamento de gelatinização dos amidos, que foi mais expressivo com o AL. A análise de componentes principais mostrou que o efeito da interação dos AGS na gelatinização foi semelhante para AMS e ABD, enquanto as amostras de AER foram bem discriminadas pelas propriedades térmicas. As misturas cozidas de amido-AGS tiveram alto índice de complexação ($> 70\%$) e padrão de raios-X tipo V com picos principais a 7° , 13° e 20° em 2θ , independentemente do amido e do AGS. As cristalinidades das misturas aumentaram significativamente quando comparadas àquelas dos amidos controle (sem AGS), principalmente para ABD-AGS que mostrou picos mais resolvidos. Os termogramas de todas as misturas cozidas mostraram picos endotérmicos referentes à dissociação dos complexos helicoidais, os quais foram classificados como amorfos tipo I, com temperaturas de pico próximas a 92 e 97°C , quando AL e AP, respectivamente, foram usados. Apenas a mistura AER-AP mostrou picos de dissociação de complexo cristalino (tipo II) com temperatura de transição entre $101,5$ e $117,3^{\circ}\text{C}$. A formação do complexo amilose-AGS foi afetada por diferenças estruturais de cada amido e pela disponibilidade da amilose que no AER não estava totalmente disponível para a formação de complexos. O AL, por ser mais solúvel, teve maior efeito que o AP na gelatinização dos amidos, porém após cozimento e lavagem das amostras com etanol, as misturas amido-AP foram termicamente mais estáveis devido à maior interação hidrofóbica com as cadeias de amilose. As misturas cozidas de amido-AGS tiveram sua digestibilidade consideravelmente reduzida com maior formação de amido resistente no AER ($\sim 51\%$), seguido do ABD ($\sim 36\%$) e AMS ($\sim 32\%$), independente do AGS utilizado.

Palavras-chave: complexo amido-lipídio; amido resistente; gelatinização.

ABSTRACT

Starches and lipids are important constituents of foods capable of interacting each other and forming amylose-lipids inclusion complexes that are insoluble and resistant to digestive enzymes. The aim of this work was to evaluate the effect of the saturated fatty acids (SFA), lauric (LA) and palmitic (PA), on the gelatinization behavior of peruvian carrot (PCS), sweet potato (SPS) and wrinkled pea (WPS) starches, which contained 6.7, 17.3 and 43.2% amylose, besides evaluating the crystallinity, thermal stability and digestibility of the complexes formed from the cooking of starch-SFA mixtures. The starch-8% SFA mixture was boiled in water (10% w/v), precipitated, washed with ethanol, dried and analyzed for complexation index, crystallinity, thermal properties and digestibility. The addition of 8% SFA (based on the dry weight of starch) reduced the content of leached amylose, swelling power and solubility, regardless of the starch. Peak and break viscosities reduced and there was an enlargement of the peaks in PCS and SPS, while the WPS, regardless of the SFA addition, had low viscosity at the time/temperature conditions caused by dense packaging of amylose molecules. The initial gelatinization temperature obtained by DSC increased in the three starches, regardless of the SFA, but only the WPS showed dissociation peaks of the amylose-lipid complex ($T_{end} > 104^{\circ}\text{C}$). The addition of SFA influenced the gelatinization behavior of starches, which was more expressive with LA. Principal component analysis showed that the effect of SFA interaction on starch gelatinization was similar for PCS and SPS, while WPS samples were well discriminated by thermal properties. The cooked starch-SFA mixtures had high complexing index ($>70\%$) and X-ray type V pattern with principal peaks at 7° , 13° and 20° in 2θ , regardless of the starch and SFA used. The crystallinities of the mixtures increased when compared to those of the control starches (without SFA), especially in the SPS-SFA that showed more resolved peaks. Thermograms of all the cooked mixtures showed endothermic peaks related with the dissociation of the helical complexes, which were classified as type I amorphous, with peak temperatures ranging from 92 to 97°C , when LA and PA were used. Only WPS-PA mixture showed crystalline complex dissociation peaks (type II) with transition temperature between 101.5 and 117.3°C . The formation of the amylose-SFA complex was affected by structural differences of each starch and by the availability of the amylose which in the WPS was not fully available for the formation of complexes. The LA, being more soluble, had higher effect than PA on the gelatinization of starches, but after cooking and washing the samples with ethanol, the starches-PA mixtures were thermally more stable due to the higher hydrophobic interaction between their amylose chains. Cooked starch-SFA mixtures had their digestibility considerably reduced with higher resistance to starch formation in WPS ($\sim 51\%$), followed by SPS ($\sim 36\%$) and PCS ($\sim 32\%$), regardless of the SFA used.

Keywords: starch-lipid complex; resistant starch; gelatinization.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Diâmetro, polimorfismo e cristalinidade dos grânulos de amido de mandioquinha-salsa, batata-doce e ervilha rugosa.....	20
Tabela 2- Composição química ¹ (%) dos amidos nativos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER).....	38
Tabela 3 - Afinidade por iodo e teores de amilose aparente e absoluto dos amidos nativos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER).....	39
Tabela 4 - Distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER).	41
Tabela 5 - Teor de amilose lixiviada, em diferentes temperaturas, dos amidos de mandioquinha-salsa, batata-doce e ervilha rugosa com e sem adição de ácidos graxos saturados.....	42
Tabela 6 - Poder de inchamento (PI) e solubilidade (SOL) dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) e suas misturas com ácidos láurico (AL) e palmítico (AP) a 85°C.....	43
Tabela 7 - Propriedades de pasta ¹ dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) com e sem adição de ácidos graxos saturados.....	47
Tabela 8 - Transparência (TRA) e sinérese (SIN) das pastas de amidos nativos e das misturas amido-AGS.....	48
Tabela 9 - Propriedades térmicas dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) e suas misturas com ácidos graxos saturados.....	50
Tabela 10 - Índice de complexação (IC) das misturas cozidas de amido- AGS.....	53
Tabela 11 - Análise térmica dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) complexados com ácidos graxos saturados.....	58
Tabela 12 - Conteúdo de ARD, ALD e AR dos amidos nativos e seus respectivos complexos sintetizados.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura helicoidal compacta da amilose	16
Figura 2 - Distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina de amido de mandioquinha-salsa (AMS), amido de batata-doce (ABD) e amido de ervilha rugosa (AER).....	40
Figura 3 - Perfil de viscosidade do amido de mandioquinha-salsa (AMS) e suas misturas com AL e AP, obtido por RVA	45
Figura 4 - Perfil de viscosidade do amido de batata-doce (ABD) e suas misturas com AL e AP, obtido por RVA.	45
Figura 5 - Perfil de viscosidade do amido de ervilha rugosa (AER) e suas misturas com AL e AP, obtido por RVA.....	46
Figura 6 - Perfil endotérmico dos amidos nativos e adicionados de ácidos graxos saturados.....	49
Figura 7 - Gráfico dos componentes principais PC1 x PC2.....	52
Figura 8 - Difractogramas de Raios-X e cristalinidade relativa dos amidos nativos, dos amidos gelatinizados e das misturas amido-AGS cozidas	55
Figura 9 - Termogramas das misturas de amido-AGS cozidas, A) Aquecimento; B) Resfriamento; C) Reaquecimento.....	57

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 O AMIDO.....	14
2.2 COMPOSIÇÃO DO AMIDO	15
2.2.1 Amilose	15
2.2.2 Amilopectina	16
2.3.3 Componentes menores.....	17
2.3 AMIDOS DE FONTES NÃO-CONVENCIONAIS.....	17
2.3.1 Amido de Mandioquinha-Salsa	18
2.3.2 Amido de Batata-doce	18
2.3.3 Amido de Ervilha Rugosa	19
2.4 EFEITO DOS LIPÍDIOS NAS PROPRIEDADES DO AMIDO.....	20
2.5 COMPLEXO AMIDO-LIPÍDIO.....	22
2.6 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS COMPLEXOS	25
3 OBJETIVO	29
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1 MATERIAIS	30
4.2 MÉTODOS	30
4.2.1 Isolamento do amido de ervilha rugosa.....	30
4.2.2 Composição química dos amidos	30
4.2.3 Teor de amilose	31
4.2.3.1 Isolamento da amilopectina.....	31
4.2.3.2 Determinação dos teores de amilose aparente e absoluto	31
4.2.4 Distribuição do comprimento das cadeias laterais da amilopectina.....	32
4.2.5 Efeito dos ácidos láurico e palmítico no comportamento de gelatinização dos amidos.....	33
4.2.5.1 Teor de Amilose lixiviada	33
4.2.5.2 Poder de inchamento (PI) e solubilidade (SOL).....	33
4.2.5.3 Propriedades de pasta	33
4.2.5.4 Transparência de pasta (TRA) e sinérese (SIN)	34
4.2.5.5 Propriedade Térmica	34
4.2.6 Preparo de amostras cozidas e misturas amido-ácido graxo.....	35
4.2.6.1 Índice de complexação amilose-lipídeo (IC).....	35

4.2.6.2 Difração de raios-X e cristalinidade relativa	35
4.2.6.3 Propriedades térmicas	36
4.2.6.4 Digestibilidade	36
4.2.7 Análise estatística.....	37
5 RESULTADOS.....	38
5.1 Composição química dos amidos.....	38
5.2 Afinidade por iodo e teor de amilose aparente e absoluto dos amidos nativos.....	39
5.3 Distribuição de comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina	40
5.4 Teor de amilose lixiviada.....	41
5.5 Poder de inchamento (PI) e Solubilidade (SOL).....	43
5.6 Propriedades de pasta	44
5.7 Transparência de Pasta (TRA) e sinérese (SIN).....	47
5.8 Propriedades térmicas	48
5.9 Análise de componentes principais	51
5.10 Índice de Complexação (IC) das misturas cozidas amido-AGS	53
5.11 Raios-X dos amidos e misturas amido-AGS cozidos.....	54
5.12 Propriedades térmicas das misturas amido-AGS cozidos	56
5.13 Digestibilidade	60
6 CONCLUSÃO.....	62
7 REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

Amidos e lipídios são componentes importantes dos alimentos. Estes constituintes são capazes de interagir e formar complexos de inclusão que alteram as propriedades físico-químicas em sistemas alimentícios, pois modificam o comportamento do amido durante a gelatinização. A complexação amido-lipídio pode prevenir a lixiviação da amilose, inibir o inchamento do grânulo, reduzir a solubilidade em água, alterar as propriedades reológicas da pasta, e retardar a retrogradação, além de reduzir a susceptibilidade do amido ao ataque enzimático (AI; HASJIM; JANE, 2013; MENG et al., 2014; PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010). Estas alterações influenciam diretamente a textura, a digestibilidade e a aceitabilidade dos alimentos à base de amido pelos consumidores (SALMAN; COPELAND, 2010; EXARHOPOULOS; RAPHAELIDES, 2012; WANG et al. 2016).

Complexos amido-lipídios são encontrados naturalmente ou formados durante a gelatinização do amido na presença de lipídios e/ou emulsificantes (GARCIA et al., 2016). Especialmente as cadeias longas e lineares da amilose são capazes de interagir com a parte menos polar e não polar dos lipídios formando complexos de inclusão helicoidais insolúveis em água, denominados complexos de inclusão de amilose tipo V (MARINOPOULOU et al., 2016). Para isso, é necessário que a amilose esteja disponível e com mobilidade suficiente para sofrer as mudanças conformacionais necessárias (CONDE-PETIT; ESCHER; NUESSLI, 2006). A amilopectina possui capacidade limitada para formar complexos do tipo V devido à sua estrutura altamente ramificada. No entanto, trabalhos têm mostrado ser possível também a interação entre as cadeias mais longas da amilopectina e os lipídios (MIRA, PERSSON, VILLWOCK, 2007; GARCIA; FRANCO, 2015; WANG et al., 2016).

Estudos têm mostrado que a formação de complexos amilose-lipídio e suas propriedades cristalinas são intensamente influenciadas pelas condições de formação (tempo e temperatura), estrutura dos lipídios (quantidade, tamanhos de cadeia e estrutura cristalina), além do tamanho da cadeia de amilose (SEO; KIM; LIM, 2015; ZHANG et al., 2012). A literatura relata que amidos com alto teor de amilose são mais propensos a formar complexos, pois possuem mais moléculas disponíveis para interagir com os lipídios (EXARHOPOULOS; RAPHAELIDES, 2012; SEO; KIM; LIM, 2015; GARCIA et al., 2016). Entretanto, além do teor de amilose, a disponibilidade, o comprimento e a linearidade dessas cadeias parecem ser as características estruturais mais importantes para a formação de complexos V (SEO; KIM; LIM, 2015, DRIES et al., 2016). Por exemplo, o elevado empacotamento das cadeias de amilose pode dificultar a

interação com os lipídios, assim como longas cadeias de amilose formam complexos mais estáveis e cristalinos (KAWAI et al. 2012; SEO; KIM; LIM, 2015).

Wang et al. (2016) analisaram a interação de amilose e amilopectina com diferentes tamanhos de cadeias de ácidos graxos (C12:0, C14:0, C16:0), utilizando o amido de trigo normal (~27% de amilose) e amido de trigo ceroso (~0,82 de amilose). Esses autores relataram que os ácidos graxos com menores comprimentos de cadeia, como o ácido láurico, formam complexos mais facilmente do que ácidos graxos de cadeias longas, possivelmente pelo fato de ficarem mais dispersos em amido gelatinizado (WANG et al., 2016). Em contrapartida, Marinopolou et al. (2016) avaliaram o efeito do tamanho de cadeias de ácidos graxos na formação dos complexos com amilose isolada de ervilha e observaram que, apesar de o ácido decanóico (C10:0) apresentar maior mobilidade, este foi facilmente lixiviado do complexo durante a etapa de lavagem com etanol, enquanto o ácido esteárico (C18:0) demonstrou estar mais fortemente entrelaçado pelas hélices de amilose.

Dependendo da fonte botânica, os amidos possuem diferentes características estruturais e teores de amilose que podem influenciar na formação de complexos amilose-lipídios. Inúmeros estudos analisaram sistematicamente o grau de complexação entre amilose e ácidos graxos em amidos de fontes comuns, como milho, trigo, arroz, batata (AI, HASJIM, JANE, 2013; KAWAI et al., 2012; GARCIA et al., 2016), enquanto fontes não convencionais ainda demandam mais estudos. Além disso, embora os complexos amido-lipídios sejam conhecidos por serem resistentes à hidrólise enzimática, há poucos dados sobre a relação entre a digestibilidade e a formação natural desses complexos, sem utilização de produtos químicos, nocivos à saúde.

Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de ácidos graxos saturados com diferentes comprimentos de cadeias nas propriedades físico-químicas e na digestibilidade dos amidos de mandioquinha-salsa, batata-doce e ervilha rugosa, selecionados por representarem fontes de amidos com diferentes teores de amilose.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O AMIDO

O amido é o mais importante polissacarídeo de reserva e o constituinte mais abundante de diversas plantas, incluindo cereais, raízes e tubérculos. Sua estrutura é composta por polímeros de glicose denominados amilose e amilopectina. A amilose é uma macromolécula essencialmente linear constituída por unidades de glicose ligadas em α -(1,4) apresentando pequeno número de ramificações (BULÉON et al., 1998; FRENCH, 1984), enquanto a amilopectina é uma macromolécula altamente ramificada composta de centenas de pequenas cadeias de unidades de glicose ligadas em α -1,4, com 5 a 6% de ligações α -1,6 nos pontos de ramificação (FRENCH, 1984; LINEBACK, 1984).

A amilose e a amilopectina interagem nos grânulos de amido por ligações de hidrogênio, formando uma estrutura semicristalina com áreas mais e menos ordenadas. As áreas mais ordenadas (lamelas cristalinas) consistem principalmente em duplas hélices fortemente empacotadas, formadas pelas ramificações da amilopectina, enquanto as regiões menos ordenadas (lamela amorfa) contêm pontos de ramificação das cadeias da amilopectina e possivelmente alguma amilose (BULÉON et al., 1998). A funcionalidade do amido assim como a organização física da estrutura granular é atribuída a estes dois polímeros. Em geral, os amidos apresentam 15-30% de amilose, com exceção de algumas variedades que podem produzir essencialmente 100% de amilopectina (amido ceroso) e outras mais de 75% de amilose (amido com alta amilose) (GIDLEY; BOCIEK, 1985).

O amido, quando aquecido em meio aquoso, forma um gel num processo reversível. Esse processo ocorre por meio de uma série de eventos que levam à destruição da estrutura do grânulo de amido, transformando as partes cristalinas em regiões amorfas. A temperatura de gelatinização de um amido refere-se à faixa de temperatura acima da qual todos os grânulos são inchados inteiramente (em torno de 60 a 75°C) dependendo da origem do amido. Dessa forma, como consequência da gelatinização, a amilose pode estar presente sob a forma lixiviada ou em complexos denominados amilose-lipídios (TESTER; MORRISON, 1990).

Após a gelatinização, conforme a temperatura diminui e principalmente em condições de refrigeração ou congelamento, as cadeias de amido tendem a interagir mais fortemente entre si, exsudando a água, fenômeno denominado sinérese. A recristalização ou retrogradação das moléculas de amido ocorre quando, após solubilização durante o processo de gelatinização, as cadeias de amilose, mais rapidamente que as de amilopectina, agregam-se formando duplas

hélices cristalinas estabilizadas por ligações de hidrogênio. Durante o resfriamento, estas hélices formam estruturas cristalinas tridimensionais altamente estáveis, com padrão de difração de raios-X tipo B (AI; JANE, 2015).

2.2 COMPOSIÇÃO DO AMIDO

2.2.1 Amilose

A amilose é um polímero essencialmente linear formado por unidades de D-glicose ligadas em α -(1 $\rightarrow$ 4), com poucas ramificações (0,1 a 2,2 %) em α -(1 $\rightarrow$ 6). Como essas ramificações são separadas por grandes distâncias, as moléculas de amilose ramificadas agem como se fossem lineares e não alteram seu comportamento em solução (BULÉON et al., 1998).

A amilose é comumente encontrada entrelaçada com a amilopectina, mas pode também se apresentar em feixes, separada da amilopectina, porém, quando juntas, é a amilose que mantém a integridade dos grânulos de amido, pois mantém as moléculas de amilopectina unidas durante a transição térmica (JANE, 2006). Estas características atribuem à amilose a habilidade de formar pasta após gelatinização dos grânulos de amido. Este comportamento é evidente em certos amidos que contêm maiores teores de amilose. A formação da pasta decorre principalmente da reassociação dos polímeros de amido solubilizados após cozimento, fenômeno denominado de retrogradação, e pode ocorrer mais rapidamente com os polímeros lineares (THOMAS; ATWEEL, 1999).

Embora tenha uma cadeia de estrutura linear, a amilose se apresenta na forma de hélice como ilustra a Figura 1. Esta conformação helicoidal está relacionada com as cadeias de α -D-glucose se enrolarem em espiral, formando uma estrutura na qual a hélice é formada por ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas. O interior da α -hélice contém somente átomos de hidrogênio (lipofílico), enquanto os grupos hidroxilas posicionam-se no lado externo da mesma. A hélice consiste em média de 6 resíduos de glicose por volta (0,8 nm) e uma cavidade hidrofóbica com diâmetro de 0,5 nm (HOOVER, 2001).

As cadeias de amilose helicoidais com cavidade hidrofóbica são capazes de interagir, em condições adequadas, com um grande número de compostos lineares polares e não polares formando complexos de inclusão molecular (MARINOPOULOU et al., 2016). Dentre eles, estão os ligantes hidrofóbicos como o dimetilsulfóxido (DMSO), iodo, brometo de potássio, hidróxido de potássio, compostos aromáticos, lipídios, ácidos graxos e álcoois lineares. A

interação entre estes compostos e as cadeias de amilose é conhecida como complexo V (SEO, KIM, LIM; 2015).

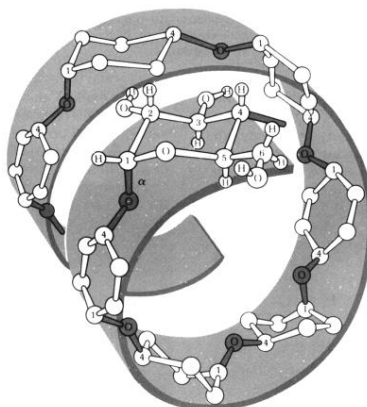


Figura 1 - Estrutura helicoidal compacta da amilose. FONTE: (LEHNINGER; NELSON, 1995).

2.2.2 Amilopectina

A amilopectina é o componente ramificado do amido, formado por unidades de D-glicose unidas em α -1,4 e α -1,6, sendo esta última responsável pela ramificação da molécula (BULÉON et al., 1998). Assim como a amilose, a amilopectina possui capacidade de complexar com lipídios, pois as longas cadeias ramificadas desta molécula também podem formar hélices (GARCIA et al., 2016). Contudo, a formação é menos intensa devido à numerosas cadeias curtas que impedem ou dificultam a conformação helicoidal necessária (WANG et al., 2016).

As cadeias de amilopectina com mais de 10 unidades de glicose são organizadas em duplas hélices e podem ser identificadas por raios-X, sendo classificadas em duas formas cristalinas, A e B (COPELAND et al., 2009). O padrão tipo A, comum em amidos de cereais, possui uma estrutura mais compacta do que o tipo B que apresenta uma estrutura mais aberta com um centro hidratado (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997). A forma polimórfica tipo C é uma mistura dos tipos A e B, podendo ser classificada em C_A e C_B , baseado na proximidade de suas semelhanças aos tipos A e B, respectivamente (BULÉON et al., 1998; TESTER, 1997).

As cadeias curtas laterais da amilopectina formam duplas hélices empacotadas lateralmente em aglomerados chamados *clusters*, que apresentam estruturas altamente compactas originando regiões cristalinas. Essas regiões cristalinas alternam com regiões amorfas, situadas dentro de uma estrutura maior denominada de bloquete, que dependendo da fonte botânica e a localização no grânulo, varia entre 20 e 500 nm, apresentando importante

papel na maior ou menor resistência dos amidos à ação enzimática (PEREZ; BALDWIN; GALLANT, 2009).

2.2.3 Componentes menores

Os componentes secundários associados ao amido em pequenas quantidades são compostos por proteínas, lipídios e cinzas (minerais e sais). Os lipídios representam a fração mais importante associada aos grânulos de amido, estando presentes principalmente em amidos de cereais na forma de ácidos graxos livres e lisofosfolípideos, os quais são positivamente correlacionados com o teor de amilose (MORRISON; LAW; SNAPE, 1993).

Além dos lipídios, os amidos apresentam fósforo em sua composição, o qual desempenha um papel importante nas propriedades físico-químicas dos amidos. O fósforo pode ser encontrado em três formas principais: monoésteres de fosfatos, fosfolípideos e fosfatos inorgânicos. Em amidos de raízes e tubérculos, ele se apresenta principalmente na forma de monoésteres de fosfato, propiciando a natureza hidrofílica do amido, por introduzir grupos fosfatos carregados negativamente nas cadeias de amido. Esta característica pode aumentar a capacidade de ligação com a água e poder de inchamento, sendo uma vantagem para muitas aplicações industriais (TESTER; MORRISON, 1990; FRANCO et al., 2001; HOOVER, 2001).

2.3 AMIDOS DE FONTES NÃO-CONVENCIONAIS

As fontes de amido mais utilizadas mundialmente são, em grande parte, os cereais como o milho e trigo, e as raízes e tubérculos, como mandioca e batata. O estudo de amidos de fontes não convencionais tem aumentado consideravelmente devido ao interesse em encontrar amidos com características físico-químicas mais adequadas aos usos industriais para substituição de amidos modificados quimicamente. Essa tendência garante produtos mais benéficos do ponto de vista da saúde, com propriedades semelhantes às dos amidos quimicamente modificados. Diante disso, as indústrias de alimentos e produtores agrícolas estão se voltando para a identificação e desenvolvimento de espécies que produzam amidos nativos com características físico-químicas especiais (FRANCO et al., 2001; ROCHA et al., 2011). Porém, ainda existe certa deficiência na produção de diferentes culturas e carência de informações físico-químicas e estruturais de amidos de fontes não convencionais, as quais devem ser exploradas quanto às suas potencialidades de aplicação em alimentos.

2.3.1 Amido de Mandioquinha-Salsa

A mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) é uma raiz da família Apiaceae, originária da região andina da América do Sul compreendida por Venezuela, Equador, Peru, Bolívia e, sobretudo, pela Colômbia. No Brasil a mandioquinha-salsa é cultivada e consumida principalmente nas regiões Sudeste e Sul do país (ROCHA; DEMIATE, FRANCO, 2008).

O amido de mandioquinha-salsa apresenta algumas características peculiares que o torna adequado em inúmeras aplicações, como sopas, papinhas infantis, pães, purês e bolos. De modo geral, é um amido de fácil cozimento, com baixa temperatura de gelatinização, elevada viscosidade, baixa retrogradação e sinérese, e apresenta ausência de fatores antinutricionais, contudo, é extremamente suscetível ao atrito mecânico, contribuindo para sua elevada digestibilidade (ROCHA et al., 2011; ROCHA; DEMIATE; FRANCO, 2008).

A presença de grânulos frágeis está relacionada, provavelmente, a uma estrutura cristalina defeituosa e fraca, resultado de grandes proporções de cadeias ramificadas longas e curtas presentes neste amido (ROCHA et al., 2011). É sabido que as cadeias ramificadas longas são capazes de formar hélices e se complexarem com lipídios (ELIASSON, 1994).

Este amido apresenta baixo teor de amilose aparente que pode variar de 17,2 a 20,0% (VIEIRA; SARMENTO, 2008; ROCHA et al., 2011). Devido à alta proporção de cadeias longas da amilopectina neste amido, o teor de amilose absoluto pode ser tão baixo quanto 9,0% (Rocha et al., 2011) e exibe padrão cristalino do tipo B (MORAES; ALVES; FRANCO, 2013). Como o comportamento de inchamento do amido é uma propriedade da amilopectina, este amido apresenta alto poder de inchamento dos grânulos e facilidade em lixiviar a amilose, influenciado pela fraca associação molecular e pela composição química.

2.3.2 Amido de Batata-doce

A batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam) é a raiz de uma planta rasteira, pertencente à família botânica das Convolvuláceas. Pode crescer em altitudes desde o nível do mar até 2.500 metros e apresentar diversas variedades de cor roxa, amarela, creme, branca ou salmão. Mundialmente, a batata-doce é o sexto alimento mais importante para a alimentação depois do arroz, trigo, batata, milho e mandioca, com produção média global anual superior a 105 milhões de toneladas (ZHU; WANG, 2014).

No Brasil, a cultura é consumida como fonte energética na alimentação humana, principalmente por famílias do Nordeste, porém o consumo nos últimos anos vem aumentando

em todas as regiões. A produção brasileira alcançou 669,45 mil toneladas, destacando-se como o principal produtor latino americano (FAOSTAT, 2016).

A batata-doce também está sendo muito pesquisada devido a suas propriedades nutricionais e funcionais, além de ser uma cultura abundantemente disponível e barata. A raiz é reconhecida mundialmente pelo seu baixo índice glicêmico e vários pesquisadores tem explorado sua utilização em indústrias alimentícias, fabricação de termoplásticos, ciências médicas e/ou substrato para a produção de ingredientes funcionais (ZHU; WANG, 2014; LAI et al., 2016).

O principal componente de armazenamento da raiz de batata-doce é o amido, representando 50 a 80% do seu peso seco (LAI et al., 2016). O amido de batata-doce apresenta teor de amilose entre 19,1 e 26,8% (HOOVER, 2001; PERONI; ROCHA; FRANCO, 2006; ROCHA; CARNEIRO; FRANCO, 2010) e seu polimorfismo é classificado como do tipo A ou C, contendo maior proporção de cadeias ramificadas curtas (ZHU; WANG, 2014). De acordo com Zhu et al. (2011), o inchamento e a solubilidade do amido de batata-doce é geralmente menor do que de amidos de batata e mandioca na faixa de temperatura entre 60-90°C devido ao menor tamanho dos grânulos deste amido.

2.3.3 Amido de Ervilha Rugosa

A ervilha (*Pisum sativum* L.) é uma das mais antigas culturas alimentares, considerada um legume de grão de estação fria que fornece uma boa fonte de proteína na dieta e energia para seres humanos e animais (SHI et al., 2014). Até a década de 80, todas as ervilhas (*Pisum sativum*) internamente consumidas no Brasil eram importadas. No entanto, atualmente, toda a demanda é atendida pela própria produção (POLESI; SARMENTO; ANJOS, 2011).

A ervilha apresenta boa fonte de nutrientes, além de componentes biologicamente ativos e elevados níveis de aminoácidos essenciais, tais como, lisina e triptofano, que são geralmente baixos em grãos de cereais. Segundo Chung e Liu (2012) a ervilha apresenta em média 22-29% de proteína, 2-4% de lipídio, 3-4% de cinzas, 10-34% de fibra bruta e 29-53% de carboidrato.

Segundo Shi et al. (2014) há dentre as espécies *Pisum sativum* L. dois fenótipos de sementes diferentes: ervilha lisa (com uma superfície de semente lisa) e ervilha rugosa (superfície da semente enrugada). Os dois tipos são geneticamente diferentes e produzem amidos com diferentes morfologias granulares e características. As ervilhas rugosas contêm uma forma única de grânulos com sulcos e fissuras profundas, além de apresentar maior quantidade de amilose (60-76%) comparada à ervilha lisa (30-40%).

Amidos de leguminosas contêm maior porcentagem de amilose do que os amidos de cereais e são geralmente caracterizados por alta temperatura de gelatinização, elevada resistência ao cisalhamento e alta elasticidade do gel. Também apresentam um inchamento restrito e baixa lixiviação da amilose indicando fortes interações entre as cadeias de amido decorrente do denso empacotamento das moléculas de amilose nas regiões amorfas do grânulo (HOOVER, 2010). Estas características fazem do amido de ervilha rugosa um ótimo recurso natural com benefícios à saúde, aumentando cada vez mais o interesse em incorporar este amido em formulações alimentares (RAGHUNATHAN et al., 2017). Por exemplo, a rápida retrogradação e a alta elasticidade do gel são necessárias para produtos alimentícios como linguiça, produtos cárneos e macarrão oriental sem glúten. A resistência ao cisalhamento é importante para alimentos enlatados e produtos extrusados (CZUCHAJOWSKA et al., 1998). Por isso, em função das características especiais do amido de ervilha rugosa, especialmente seu elevado teor de amilose, este também pode ser um potencial complexante com lipídios.

A Tabela 1 apresenta o diâmetro do grânulo, polimorfismo e cristalinidade relativa encontrados na literatura, para os amidos de mandioquinha-salsa, batata-doce e ervilha rugosa, os quais foram utilizados neste trabalho.

Tabela 1 - Diâmetro, polimorfismo e cristalinidade dos grânulos de amido de mandioquinha-salsa, batata-doce e ervilha rugosa.

Fonte	Diâmetro (µm)	Formato	Polimorfismo	Cristalinidade (%)
Mandioquinha-salsa¹	7 – 38	Poliédrico, circular e truncado	B	19,7 - 37,1 %
Batata-doce²	0,8 - 44,7	Poligonal, oval e redondo	A, C, C _A , C _B	27,8 - 37,9 %
Ervilha rugosa³	2- 40	Oval, elíptico e irregular	C, B	17 - 34%

FONTES: ¹ROCHA; DEMIATE; FRANCO, (2008) MORAES; ALVES; FRANCO, (2013); ²HOOVER, (2001); ZHU; WANG (2014); HUANG et al. (2016); ³CHUNG; LIU, (2012) RATNAYAKE; HOOVER; WARKENTIN, (2002).

2.4 EFEITO DOS LIPÍDIOS NAS PROPRIEDADES DO AMIDO

Lipídios ou emulsificantes são comumente usados nas fórmulas de muitos alimentos para melhorar o processamento e a qualidade dos produtos alimentícios finais. Ingredientes, como os lipídios, presentes durante a fase de cozimento de alimentos amiláceos interferem de maneira bem definida nas propriedades de pasta especialmente no inchamento dos grânulos e viscosidade final da pasta. De acordo com Thomas e Atwell (1999), as mudanças que ocorrem

nos grânulos de amido durante a gelatinização e retrogradação são os principais determinantes do comportamento de pasta desses amidos.

Os lipídios são definidos como um grupo de compostos que são solúveis em solventes orgânicos. Eles podem ser divididos em três grupos: lipídios simples, como monoglicérides, diglicérides e triglicérides; lipídios compostos, tais como fosfolipídeos; e lipídios derivados, tais como ácidos graxos livres (AG) e álcoois de cadeia longa (DUNCAN, 2000). Ácidos graxos de cadeia linear, comumente encontrados em alimentos, têm sido estudados na presença de amido (WANG et al. 2016; AI, JANE, HASJIM, 2013; FAROOQ et al., 2018). Particularmente, alguns ácidos graxos têm propriedades funcionais, mas os mesmos não podem ser sintetizados em quantidades suficientes pelo organismo e devem ser ingeridos por meio da dieta (SEO; KIM; LIM, 2015). Nesse sentido, é primordial a proteção desses componentes para evitar a oxidação lipídica e facilitar o consumo desses ácidos graxos.

Quando o amido é gelatinizado na presença de lipídios, as moléculas de amido e os lipídios tendem a formar compostos simples de inclusão helicoidal, denominados complexos amilose-lipídios. De acordo com Putseys, Lamberts e Delcour (2010), os complexos amilose-lipídios podem ser formados naturalmente durante alguns processamentos de produtos à base de amido, como o aquecimento em autoclave, extrusão, parboilização e panificação. Semelhantemente, os complexos também podem se formar por meio de uma simples mistura de solução de amido com lipídios ou, então, serem preparados a partir de metodologias que propiciem melhores interações entre a amilose e os lipídios (PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010).

Esta interação entre lipídio e amilose é conhecida por causar efeitos ao amido podendo reduzir a solubilidade do amido na água, alterar as propriedades reológicas das pastas, diminuir a capacidade de inchamento, aumentar a temperatura de gelatinização e diminuir a retrogradação e a rigidez do gel (COPELAND et al., 2009). Além disso, a complexação amido-lipídio reduz a susceptibilidade da amilose ao ataque enzimático (AI; HASJIM; JANE, 2013; MENG et al., 2014). Portanto, os lipídios influenciam diretamente na textura, digestibilidade e aceitabilidade dos alimentos à base de amido pelos consumidores (EXARHOPOULOS; RAPHAELIDES, 2012; WANG et al. 2016).

As alterações nas propriedades físico-químicas do amido são atribuídas à formação de complexos amilose-lipídios, os quais depositam como um filme insolúvel na superfície do grânulo e atrasam o transporte de água para o interior dos mesmos. Wang et al. (2016) avaliaram os efeitos dos ácidos graxos nas propriedades funcionais do amido de trigo normal e amido de trigo ceroso e observaram que a formação de complexo amilose-ácido graxo inibiu o inchaço

dos grânulos, a retrogradação e o desenvolvimento de pasta do amido de trigo normal. Ai, Jane e Hasjim (2013) observaram diminuição da viscosidade de pico e firmeza do gel, além de resistência à hidrólise enzimática na interação entre amidos de milho, mandioca, milho ceroso e milho com alta amilose e diferentes tipos de lipídios. Okumus et al. (2018) investigaram a formação de complexos amilose-lipídios entre amido de lentilha e diferentes lipídios/ácidos graxos (10%, p/p) e observaram que os valores da viscosidade de pico e viscosidade de quebra foram significativamente mais baixos que àqueles do amido nativo, enquanto que os valores de *setback* e viscosidade final foram mais altos apenas nas amostras contendo ácidos graxos.

2.5 COMPLEXOS AMIDO-LIPÍDIOS

As cadeias longas e lineares da amilose são capazes de interagir com uma variedade de ligantes, dentre eles os lipídios e outros compostos hospedeiros formando complexos de inclusão helicoidais insolúveis em água, chamados complexos de inclusão de amilose tipo V (MARINOPOULOU et al., 2016). Dentre os ligantes, a amilose possui a capacidade de interagir com iodo, produzindo complexo de inclusão helicoidal com aproximadamente seis moléculas de amilose por giro, no qual o iodo se encontra na cavidade central da hélice (DENARDIN; SILVA, 2009). Entretanto, a formação de complexos a partir de compostos adicionados requer que a amilose esteja acessível e possua mobilidade suficiente para sofrer as mudanças conformacionais (CONDE-PETIT; ESCHER; NUESLI, 2006).

As estruturas de V-amilose são hélices simples, com cavidade interna hidrofóbica onde o ligante complexado pode se acomodar. Kawada e Marchessault (2004) sugeriram que a parte hidrofóbica do ligante, como as cadeias alifáticas de um ácido graxo, possui maior mobilidade e se acomoda parcial ou inteiramente no interior da hélice. No entanto, cada ligante confere suas próprias características específicas à hélice, uma vez que o diâmetro e as dimensões da hélice são determinados pelo tamanho do agente complexante, conduzindo a hélices com 6, 7 ou 8 resíduos de glicose por volta (PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010; OBIRO; RAY; EMMAMBUX, 2012). As hélices com 6 resíduos de glicose acomodam lipídios ou álcoois lineares, as hélices com 7 resíduos acomodam compostos alquil de cadeias ramificadas, enquanto as hélices com 8 resíduos acomodam compostos mais volumosos (RAPPENECKER; ZUGENMAIER, 1981; NUESLI et al., 2003). No caso de alguns compostos volumosos, a hélice não sofre o alargamento necessário para acomodar o composto, e assim, este pode ficar aprisionado entre as duplas hélices de amilose (CONDE-PETIT; ESCHER; NUESLI, 2006).

Teoricamente, entre 18 e 24 unidades de glicose seriam necessárias para complexar uma molécula lipídica, em que a amilose formaria uma hélice composta de três voltas ao redor da cadeia hidrocarbonada do lipídio polar (ELIASSON, 1994; PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010). Assim, para a formação do complexo, a molécula de amilose deve ter um comprimento suficiente para acomodar duas moléculas de ácidos graxos, por exemplo, para complexação do ácido palmítico seriam necessários de 30 a 40 resíduos de glicose, enquanto que para o ácido láurico, 20 a 30 unidades de glicose seriam suficientes (GODET et al., 1996).

A complexação acontece principalmente entre amilose e lipídios, pois as moléculas de amilopectina sofrem impedimentos estéricos e possuem cadeias curtas ramificadas (CONDE-PETIT; ESCHER; NUESLI, 2006). Porém, mesmo de forma limitada, as longas cadeias de amilopectina também podem se complexar com lipídios, pois o comprimento mínimo de cadeia para a formação de um complexo amilose-lipídio seria de 18 unidades de glicose, e normalmente o grau de polimerização médio para as cadeias de amidos cerosos é de 23-24 unidades de glicose (ELIASSON, 1998). Wang et al. (2016) observaram que as misturas de amido de trigo ceroso (com apenas 0,82% amilose) com ácidos láurico, mirístico e palmítico resultaram em índices de complexação de 24,3, 19,7 e 22,2%, respectivamente. Ai, Hasjim e Jane (2013) e Garcia et al. (2016) também observaram a interação da amilopectina-lipídios utilizando amido de milho ceroso.

A complexação entre amilose e um composto de inclusão é um processo reversível, ou seja, o complexo pode se dissociar mediante altas temperaturas. Durante a análise térmica por Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) ocorre o aparecimento de uma endoterma no aquecimento e uma exoterma no resfriamento de misturas amido-lipídios (PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010). A necessidade de calor para dissociar o complexo entre amilose e seu ligante sugere a existência de forças que estabilizam a conformação helicoidal. Ligações intramoleculares, tais como as forças de Van der Waals e ligações de hidrogênio, ocorrem entre as voltas ao longo da hélice, estabilizando a cadeia helicoidal simples (PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010).

Os complexos amilose-lipídios possuem várias formas polimórficas que dependem tanto do lipídio quanto do amido e das condições para a sua formação (tempo e temperatura) (ELIASSON, 2004). Essas formas polimórficas são classificadas de acordo com a temperatura de fusão observada em termogramas obtidos de DSC. A forma polimórfica tipo I se funde a uma temperatura mais baixa ($T_p < 100^\circ\text{C}$) que a tipo II que possui temperatura de fusão superior a 100°C (OBIRO; RAY; EMMAMBUX, 2012). O complexo tipo I é caracterizado como

amorfo, enquanto o tipo II apresenta uma organização mais compacta, semicristalina (BILIADERIS, 1992; PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010), que pode ser subdividido em tipo IIa e IIb, os quais diferem ligeiramente no grau de cristalinidade ou na perfeição dos cristais. Os complexos de tipo IIa se fundem a aproximadamente 115 °C, enquanto os de tipo IIb se fundem a aproximadamente 121 °C (PANYOO; EMMAMBUX, 2016).

Os complexos amorfos são formados em temperaturas relativamente baixas (< 60°C) devido à rápida nucleação, formando uma película de complexos na superfície do grânulo capaz de impedir o inchamento do mesmo. No entanto, os complexos tipo II são formados em temperaturas mais altas (> 90°C), pois a nucleação é mais lenta para que a propagação dos cristais seja adequada, formando complexos por todo o grânulo (SEO; KIM; LIM, 2015).

A entalpia de transição endotérmica indica a dissociação conformacional das hélices e ambos os tipos I e II podem se fundir simultaneamente, porém complexos de inclusão do tipo I podem se converter em complexos do tipo II apenas se ocorrer fusão parcial de sua estrutura (BILIADERIS, 1992; ELIASSON; WAHLGREN, 2004).

Além da temperatura de formação dos complexos, estudos têm relatado que o método de adição dos lipídios também influencia nas características morfológicas e estruturais dos complexos amido-lipídios. Chang, He e Huang (2013) observaram que ao adicionar ácido graxo após o aquecimento da solução de amido houve formação de complexos V-amilose em todo grânulo, porém, ao adicionar o ácido graxo antes do aquecimento, a formação ocorreu principalmente na superfície do grânulo. Segundo Eliasson (2004), mudanças moleculares tornam possível a formação de complexos com moléculas de lipídios nas regiões superficiais do grânulo, o que inibe a degradação do amido por enzimas como fosforilase, α -amilase e β -amilase.

A concentração lipídica utilizada na formação de complexos amilose-lipídios também é de extrema importância, pois a máxima complexação depende da solubilidade em água e da concentração micelar crítica de cada lipídio utilizado. Garcia et al. (2016) utilizaram diferentes concentrações de monoestearato de glicerol na formação de complexos com amidos de milho normal, milho ceroso e milho com alto teor de amilose e observaram que em concentrações muito acima das concentrações críticas micelares, o GMS mostrou-se mais propenso a se autoassociar do que a formar complexos com a amilose.

Assim como a concentração lipídica, o tamanho da cadeia do ácido graxo também influencia na formação dos complexos. O aumento do comprimento das cadeias dos ácidos graxos diminui o índice de complexação, indicando que cadeias curtas podem formar complexos mais facilmente do que cadeias longas (TANG; COPELAND, 2007). Wang et al.

(2016) analisaram a interação de amilose e amilopectina com diferentes tamanhos de cadeias de ácidos graxos (C12:0, C14:0, C16:0), utilizando o amido de trigo normal (~27% de amilose) e amido de trigo ceroso (~0,82 de amilose). Esses autores observaram que os índices de complexação (IC) com amido de trigo normal indicaram que ácidos graxos com menores comprimentos de cadeia, como o ácido láurico C12:0, formaram complexos mais facilmente do que ácidos graxos de cadeias longas, possivelmente pelo fato de ficarem mais dispersos em amido gelatinizado. O IC para amido de trigo ceroso indicou que as moléculas de amilopectina também podem interagir com ácidos graxos formando complexos, porém o comprimento das cadeias de ácidos graxos não foi determinante para a complexação da amilopectina, pois não houve diferença significativa entre os diferentes ácidos graxos utilizados (WANG et al., 2016).

Porém, apesar da maior mobilidade, Marinopolou et al. (2016) estudaram o efeito do tamanho de cadeias de ácidos graxos na formação dos complexos e observaram que ácidos graxos de cadeias muito pequenas como o ácido decanóico (C10:0) têm maior mobilidade e pode ser facilmente lixiviado do complexo com a etapa de lavagem com etanol, enquanto o ácido esteárico (C 18:0) demonstrou estar mais fortemente entrelaçado pelas hélices de amilose.

Em relação às cadeias do amido, a fonte botânica assim como o comprimento e a linearidade das moléculas de amilose influenciam na formação e características do complexo V. A literatura diz que as cadeias mais longas de amilose são mais favoráveis à formação de complexos estáveis (SEO; KIM; LIM, 2015). Godet et al. (1995) estudaram o efeito do grau de polimerização da amilose, entre 20 e 900 unidades de glicose, na formação de complexos com ácidos graxos e concluíram que as cadeias mais longas produzem maiores quantidades de complexos com maior temperatura de dissociação.

2.6 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS COMPLEXOS

Complexos de amilose com ácidos graxos e outros produtos químicos contendo fração hidrofóbica além de proteger compostos bioativos, podem ser considerados como AR5 (amido resistente tipo 5), ou seja, resistem à hidrólise enzimática (FUENTES-ZARAGOZA et al., 2011; HASJIM et al., 2010). A suscetibilidade enzimática é menor nos complexos cristalinos que apresentam maior temperatura de fusão (tipo II) do que no complexo amorfo (tipo I) devido à maior organização das lamelas cristalinas. A formação dos complexos amido-lipídios também restringe o inchaço dos grânulos de amido durante o cozimento, o que reduz a acessibilidade da amilase para hidrolisar as moléculas de amido (TESTER; MORRISON, 1990).

Existe uma definição em relação à velocidade em que o alimento é digerido *in vitro*, que classifica o amido em: amido rapidamente digerível (ARD), definido como aquele que é convertido em glicose em até 20 min quando incubado com α -amilase pancreática e amiloglicosidase à temperatura de 37 °C; amido lentamente digerível (ALD), aquele convertido em glicose em até 120 min quando incubado nas mesmas condições; e amido resistente (AR), o amido ou fração de amido que não é digerido por enzimas amilolíticas no trato digestivo, podendo ser fermentado por bactérias no colón e produzir ácidos graxos de cadeias curtas e outros ácidos orgânicos (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

Devido às características fisiológicas dos amidos resistentes, como resistência à dispersão em água fervente e à hidrólise pela ação da amilase pancreática e da pululanase, considera-se que seus efeitos sejam, em alguns casos, comparáveis aos da fibra alimentar. O AR possibilita formular produtos com maior apelo e maior palatabilidade quando comparado com os produtos formulados com as fibras convencionais. Também podem ser aplicados em produtos com apelo *diet* e *light* pelo seu baixo teor calórico (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992; SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006).

Segundo Sajilata, Singhal e Kulkarni (2006), os amidos resistentes têm características físicas, como cor branca, sabor neutro, pequeno tamanho de partícula, e principalmente efeito fisiológico similar ao da fibra alimentar. Além disso, nos últimos anos, os complexos amido-lipídios também vêm sendo utilizados para melhorar a funcionalidade dos alimentos amiláceos e para preparar amidos novos (lentamente digeríveis ou resistentes), pois estes têm mostrado resistência à digestão enzimática (HASJIM et al., 2010; ZHANG et al., 2012; CHANG; HE; HUANG, 2013). Assim como as fibras, o amido resistente também contribui para a queda do índice glicêmico dos alimentos, sendo de alto interesse a aplicação em alimentos para a crescente população que sofre de resistência à insulina, diabetes, excesso de peso, obesidade e outras síndromes metabólicas relacionadas (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

Os amidos resistentes são classificados a partir de sua estrutura física e susceptibilidade ao ataque enzimático, dividindo-se em 5 tipos: amido resistente tipo I (AR1) é o amido fisicamente inacessível como encontrado nos grãos; amido resistente tipo II (AR2) refere-se aos grânulos de amido naturalmente resistentes às enzimas tais como aqueles de banana verde e batata; amido resistente tipo III (AR3) consiste no amido retrogradado formado a partir da reassociação das cadeias de amido gelatinizado; amido resistente tipo IV (AR4) é o amido quimicamente modificado especialmente aquele com ligações cruzadas; amido resistente tipo V (AR5) é o amido complexado com lipídios (complexo amilose-lípido) (FUENTES-ZARAGOZA et al., 2011).

O interesse na utilização de AR5 em alimentos tem aumentado devido aos benefícios à saúde que ele apresenta. Os complexos podem ser aplicados em sistemas alimentícios influenciando diretamente na qualidade dos produtos, na textura, digestibilidade e aceitação dos consumidores (PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR 2010; EXARHOPOULOS; RAPHAELIDES, 2012). Hasjim et al. (2010) produziram complexos entre amido de milho com alto teor de amilose desramificado visando produzir um novo amido resistente AR5. Os complexos foram aplicados em pães com diferentes formulações e foi analisado a concentração de glicose (glicose pós-prandial) e insulina plasmática em humanos após ingestão do produto. Os autores observaram que o pico máximo de glicose plasmática pós-prandial e de resposta à insulina para o pão contendo AR5 foi reduzido pela metade comparado ao pão branco sem uso do AR5, ou seja, efeitos funcionais nos pães puderam ser comprovados.

Outra aplicação dos complexos amido-lipídios é a utilização como substituto de gordura para alimentos de baixo teor calórico, com o intuito de diminuir o consumo de gordura e evitar doenças relacionadas à dieta, como diabetes e doenças cardiovasculares (PANYOO; EMMAMBUX, 2016). A retirada total ou parcial de gordura pode alterar algumas propriedades do produto final, como a textura, necessitando, assim, de um substituto que mantenha as características desejadas pelos consumidores (DIAMANTINO; PENNA, 2011). Singh e Byars (2009) utilizaram complexos amilose-lipídios para substituir a gordura do leite em misturas de iogurte e observaram que complexos amido-palmitato de sódio fortaleceram o gel e evitaram a sinérese de iogurtes com baixo teor de gordura armazenados por 3 semanas a 4°C. No entanto, nesses experimentos, as características sensoriais não foram avaliadas.

Teklehaimanot et al. (2013) usaram amidos de *teff* e milho, nativos e modificados com ácido esteárico em substituição a 50% e 80% de óleo em emulsão tipo maionese de baixa caloria. Os autores observaram que as emulsões de baixa caloria com 50% de substituição da gordura podem ser produzidas tanto com os amidos nativos quando com os amidos modificados com ácido esteárico. Porém, para a substituição de 80% do óleo, o uso de amidos nativos levou a uma emulsão que não fluiu como uma maionese, pois houve formação de gel. Já com os amidos modificados com ácido esteárico, as emulsões tipo maionese de baixa caloria mostraram propriedades físicas semelhantes àsquelas do produto tradicional, apresentando-se mais estáveis e com melhor consistência.

Diante dos benefícios que os amidos modificados por lipídios podem nos fornecer, como maior resistência às enzimas digestivas, substitutos de gordura e estabilizadores de alimentos, é necessário facilitar sua produção, selecionando amidos que tenham maior facilidade para se complexar, além do uso de técnicas simples e seguras que possibilitem maior índice de

complexação para aumentar o rendimento e facilitar a comercialização dos mesmos. Panyoo e Emmambux (2016) sugerem ainda que mais pesquisas são necessárias nesta área usando sistemas in vivo e estudos em humanos para determinar os efeitos probióticos dos complexos na microbiota intestinal, bem como seus efeitos benéficos contra doenças não transmissíveis.

3 OBJETIVO

Objetivo Geral

Investigar o efeito de ácidos graxos saturados com diferentes tamanhos de cadeia carbônica nas propriedades físico-químicas e na digestibilidade de amidos com diferentes teores de amilose obtidos de fontes não convencionais.

Objetivo específicos

Estudar o efeito do ácido láurico C12:0 e do ácido palmítico C16:0 no comportamento de gelatinização in vitro de amidos de mandioquinha-salsa, batata-doce e ervilha rugosa.

Estudar a capacidade de formação, características físico-químicas e digestibilidade de complexos amido-lipídios a partir do cozimento das misturas amido-ácido graxo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Amidos de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*), gentilmente doados pelo Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT/UNESP- Botucatu, SP), e amido de ervilha verde rugosa (*Pisum sativum*) isolado de acordo com Davydova et al. (1995) foram usados neste trabalho. Ácidos láurico (AL) e palmítico (AP) foram adquiridos da Acros Organics (New Jersey, EUA) e as enzimas pancreatina (4xUSP especificações), amiloglucosidase de *Aspergillus niger* (≥ 260 U/mL) e invertase (≥ 300 U/mg) foram adquiridas da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EUA). A enzima isoamilase de *Pseudomonas* (1000 U/mL) foi adquirida da Megazyme (USA).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Isolamento do amido de ervilha rugosa

O amido de ervilha rugosa foi isolado seguindo o método de Davydova et al. (1995), com modificações. Os grãos de ervilha foram debulhados e triturados em liquidificador com água destilada na proporção de 1:5. O material triturado passou pela peneira de 60 mesh (250 μ m) e posteriormente pela peneira de 325 mesh (45 μ m). O material retido pela última peneira foi lavado com água destilada para recuperar o máximo de amido. O material peneirado teve o pH ajustado para 7,6 utilizando NaOH 0,08M para remoção das proteínas e separação do amido, e foi centrifugado a 1120 *g* por 15 min. O sobrenadante foi descartado e o amido decantado re-suspendido em água destilada, passando novamente pelas peneiras de 60 e 325 mesh, respectivamente. O amido em suspensão foi re-centrifugado por 5 vezes e seco em estufa com circulação de ar a 40 °C por 12 h. Após secagem, o amido foi moído em almofariz e passado pela peneira de 60 mesh.

4.2.2 Composição química dos amidos

Os teores de umidade, lipídios, proteínas e cinzas dos amidos foram determinados de acordo com os *Approved Methods of Cereal Chemists* (AACC, 2000). O teor de carboidratos foi calculado por diferença. O teor de fósforo foi determinado de acordo com o método

espectrofotométrico de Smith e Caruso (1964). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

4.2.3 Teor de amilose

4.2.3.1 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 200 mL de solução (90% v/v) de dimetil sulfóxido (DMSO) 90% e mantidas em agitação constante por 1 h em banho de água fervente e a temperatura ambiente durante 16 h. O amido foi precipitado com 400 mL de etanol anidro e centrifugado a 12000 *g* por 15 min. O precipitado foi suspenso em 400 mL de água deionizada e o pH ajustado entre 5,9 e 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 h seguido da adição de 15-20 % de *n*-butanol e a manutenção em refluxo por mais 30 min. A amostra foi resfriada lentamente (~36 h) em garrafa térmica pré-aquecida. O complexo amilose-butanol foi separado por centrifugação a 12000 *g* por 15 min. O sobrenadante foi evaporado até a metade do volume inicial em roto-evaporador e levado novamente ao refluxo. Esta 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 *g* por 10 min. O precipitado foi lavado duas vezes com etanol anidro, filtrado a vácuo e seco em estufa a 40 °C durante 24 h. A amilopectina assim purificada foi utilizada para as determinações de teor de amilose absoluto.

4.2.3.2 Determinação dos teores de amilose aparente e absoluto

Os amidos nativos foram desengordurados conforme descrito por Franco et al. (2002). Amostras de amido (0,5 g) foram dispersas em 25 mL de solução de (DMSO) 90% e mantidas sob agitação constante em banho de fervura durante 1 h e em seguida agitadas durante 16 h a temperatura ambiente. Os amidos foram precipitados com álcool etílico anidro (~75 mL), centrifugados a 4000 *g* durante 10 min, recuperados por filtração a vácuo, e secos em estufa a 40°C por 24 h. Afinidades de iodo das amilopectinas isoladas e dos amidos desengordurados foram determinadas usando um autotitulador potenciométrico (716 SM Titrino, Metrohm, Suíça). A análise foi baseada no método de Schoch (1964). O teor de amilose aparente foi

calculado dividindo a afinidade de iodo do amido desengordurado por 0,2 (Takeda et al. 1987) e o conteúdo de amilose absoluto foi calculado levando em consideração as afinidades por iodo do amido total desengordurado (IAS) e da amilopectina isolada (IAAp) de acordo com a equação 1

$$AM_{abs} = (IAS - IAAp) / [0,2 - (IAAp/100)] \quad (1)$$

4.2.4 Distribuição do comprimento das cadeias laterais da amilopectina

A distribuição do comprimento das cadeias ramificadas da amilopectina foi determinada por cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detecção amperométrica pulsada (HPAEC-PAD) utilizando um sistema ICS 3000 (Dionex Corporation, EUA) equipado com amostrador automático AS40. As amilopectinas isoladas foram desramificadas com isoamilase (Megazyme, 3 U) como descrito por Wang e Jane (1995), filtradas (0,22 µm) e alíquotas de 20 µL das amostras foram automaticamente injetadas no sistema HPAEC-PAD. Alíquotas de 20 µL das amostras preparadas e filtradas (0,22 mm) foram automaticamente injetadas no sistema HPAEC-PAD constituído por uma coluna de troca aniônica CarboPac PA-200 em combinação com uma guarda-coluna CarboPac PA-200. A taxa de fluxo foi de 0,5 mL/min e a temperatura de 35°C. O eluente A foi composto de 200 mM de NaOH, e o eluente B de 1M de acetato de sódio e 100mM NaOH. Os eluentes foram preparados com água deionizada ultrapura (18 MΩ.cm) e degaseificados com N₂.O gradiente utilizado foi: 0 - 10 min, gradiente linear de 0 a 70 mM de acetato de sódio; 10 - 80 min, gradiente linear terminando com 350 mM de acetato de sódio; 80 a 110 min a concentração de 350 mM de acetato foi mantida. A concentração de hidróxido de sódio foi mantida constante em 100 mM durante toda a corrida. Uma mistura de maltodextrinas (GP 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).

4.2.5 Efeito dos ácidos láurico e palmítico no comportamento de gelatinização dos amidos

Para a gelatinização dos amidos, amostras de amido (base seca) ou misturas de amido-ácido graxo (8% de ácido graxo em relação ao peso seco de amido) foram usadas.

4.2.5.1 Teor de Amilose lixiviada

O teor de amilose lixiviada foi determinado segundo método descrito por Palav e Seetharaman (2006). Amostras de amido (40 mg b.s.) ou misturas amido-ácido graxo (36,8 mg amido + 3,2 mg ácido graxo, b.s.) e 20 mL de água destilada foram aquecidos a diferentes temperaturas (65, 75, 85, e 95 °C) por 30 min, resfriados a temperatura ambiente e centrifugados a 2000 *g* por 10 min. Uma alíquota do sobrenadante (0,05 mL) foi tratada com 0,25 mL de solução de iodo (0,2% KI and 0,02% I₂). A cor azul foi quantificada após 20 min a 630 nm usando uma leitora de absorbância em microplacas (ELx808, Bio-Tek, Winoosky, EUA). Uma curva padrão usando amilose pura (A0512, Sigma Chemical Co., EUA) a diferentes concentrações foi preparada nas mesmas condições do experimento.

4.2.5.2 Poder de inchamento (PI) e solubilidade (SOL)

O PI e SOL foram determinados com base no método descrito por Schoch (1964). Amostras de amido (0,5 g, b.s.) ou misturas de amido-ácido graxo (0,46 g amido + 0,04 g ácido graxo, b.s.) foram pesadas, colocadas em tubos de centrífuga contendo 25 mL de água destilada e aquecidas em banho de água a 85 °C por 30 min. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 6000 *g* por 15 min. O precipitado foi pesado e o sobrenadante coletado foi seco em estufa com circulação de ar a 105 °C até peso constante. O PI (g/g em peso seco) e SOL (%) foram calculados usando as equações 2 e 3:

$$\text{PI (g/g)} = \text{massa do sedimento} / [\text{massa de amido seco} \times (1 - \text{SOL})] \quad (2)$$

$$\text{SOL (\%)} = (\text{massa sobrenadante seco} / \text{massa de amido seco}) \times 100 \quad (3)$$

4.2.5.3 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta foram determinadas utilizando um Rápido Viscoanalisador (RVA-4, Newport Scientific, Austrália). Suspensões aquosas (2,5 g amido b.s. e 25 g água) de

amido ou misturas amido-ácido graxo (2,3 g amido, b.s. + 0,2 g ácido graxo e 25 g água) foram mantidas a 50 °C por 1 min, aquecidas a 95 °C a 6 °C/min, mantidas a 95 °C por 5 min e resfriadas a 50 °C a 6°C/min permanecendo nesta temperatura até o final da análise. Foram necessários 23 min para completar o experimento. Durante todo o experimento o RVA manteve as suspensões sob agitação a 160 rpm. Termoclínes para Windows software, version 2.2 (Newport Scientific, Warriewood, Australia) foi usado para processar os resultados.

4.2.5.4 Transparência de pasta (TRA) e sinérese (SIN)

As pastas de amidos e misturas de amido-AGS obtidas do RVA, de acordo com o item 4.2.5.3 foram utilizadas na determinação do percentual de transmitância (T%) a 650 nm, conforme metodologia de Craig et al. (1989). As pastas de AMS e ABD e suas misturas com AGS foram utilizadas diretamente após resfriamento a temperatura ambiente, enquanto aquelas obtidas do amido ER e suas misturas com AGS foram autoclavadas a 120°C por 30 min antes de serem utilizadas.

Para a sinérese, 10 g de pastas foram colocadas em tubos de 50 mL e refrigeradas a 4°C por 10 dias e a água liberada durante o armazenamento refrigerado foi coletada com auxílio de uma pipeta e pesada em placa previamente tarada. A sinérese das pastas dos amidos nativos foi determinada a partir da metodologia descrita por Hood e Seifried (1974).

4.2.5.5 Propriedades Térmicas

Amostras de amido (4 mg, b.s.) ou misturas amido-ácido graxo (3,68 mg amido , b.s. + 0,32 mg ácido graxo) foram misturadas com 12 µL de água deionizada em porta amostras de aço inox que foram hermeticamente selados em prensa específica (BO182864, Perkin Elmer, Waltham, EUA), mantidos a temperatura ambiente por 12 h para equilíbrio, e analisados em calorímetro diferencial de varredura (Pyris 1, Perkin Elmer, Waltham, EUA) a uma razão de 10°C/min de 20 a 160 °C. Um porta amostra vazio foi usado como referência. As temperaturas de gelatinização (inicial, de pico e final) e a variação de entalpia de gelatinização dos amidos, bem como as temperaturas de dissociação e entalpia dos complexos amilose-lipídios foram determinadas utilizando o software Pyris 1 (PerKin Elmer, EUA).

4.2.6 Preparo de amostras cozidas de amidos e misturas amido-ácido graxo

Amidos e misturas amido-ácido graxo (8% ácido graxo baseado no peso seco de amido) foram preparados de acordo com método descrito por Ai, Hasjim e Jane (2013). Amostras de amido (10 g, b.s.) e misturas de amido-ácido graxo (9,2 g amido b.s. + 0,8 g ácido graxo) foram dispersas em 100 mL de água destilada, aquecidas a 95 °C sob agitação por 8 min, resfriadas a temperatura ambiente, precipitadas com etanol anidro, filtradas a vácuo, secas a 45°C em estufa com circulação de ar, maceradas e peneiradas (0,5 mm). As amostras cozidas foram analisadas quanto ao índice de complexação, difractometria de raios-X, propriedades térmicas e digestibilidade.

4.2.6.1 Índice de complexação amilose-lipídio (IC)

O IC das amostras cozidas foi medido seguindo o método de Meng et al. (2014), com adaptações. Amostras cozidas (60 mg b.s.) de amido ou de amido-ácido graxo foram misturadas a 15 mL de água deionizada, submetidas à agitação em vórtex por 2 min e centrifugadas a 3000 g por 15 min. Alíquota de 1 mL do sobrenadante foi tratada com 15 mL de água deionizada e 2 mL de solução de iodo [2,0% (p/p) KI e 1,3% (p/p) I₂ em água deionizada] e a absorbância (Abs) foi lida após 20 min a 630 nm usando espectrofotômetro (Thermo Scientific Multiskan GO, Vantaa, Finlândia). O IC foi calculado de acordo com a equação 4:

$$IC = [(Abs_{\text{amido}} - Abs_{\text{mistura amido-lipídio}}) / Abs_{\text{amido}}] \times 100 \quad (4)$$

4.2.6.2 Difração de raios-X e cristalinidade relativa

A umidade das amostras cozidas foi equilibrada em dessecador contendo solução de BaCl₂ saturada (25 °C, aw = 0,9) por 10 dias. Os padrões de difração de raios-X foram determinados em difractômetro de bancada (Rigaku MiniFlex 300, Tokyo, Japan), com radiação de Cu, linha K, L = 1,542 Å. A velocidade de varredura foi de 1°/min e as condições de uso foram 30 kV e 10 mA. A cristalinidade relativa foi quantitativamente calculada baseando-se na relação entre a área dos picos e área total dos difractogramas, conforme descrito por Nara e Komiya (1983), utilizando o software Origin versão 7.5 (Microcal Inc., EUA).

4.2.6.3 Propriedades térmicas

As propriedades térmicas das amostras cozidas foram determinadas em calorímetro diferencial de varredura (Pyris 1, Perkin Elmer, Waltham, EUA) usando 4 mg (b.s) de amostra e 12 μ L de água deionizada. Os porta amostras de aço inox foram aquecidos de 25 a 160 °C, resfriados a 25 °C e reaquecidos a 160 °C a uma taxa de 20 °C/min. As temperaturas de transição (inicial, de pico e final) e a variação de entalpia dos complexos amilose-lipídios foram determinadas utilizando o software Pyris 1 (PerKin Elmer, EUA).

4.2.6.4 Digestibilidade

A digestibilidade *in vitro* foi determinada seguindo o método de Englyst; Kingman e Cummings (1992). Amostras cozidas (0,5 g) de amido ou amido-ácido graxo foram misturadas a 20 mL de tampão acetato (0,1 M, pH 5,2) contendo 4 mM de CaCl_2 e mantidas em banho de água a 37°C. Em seguida, 5 mL de preparado de enzimas (pancreatina, amiloglucosidade e invertase) foi adicionado e alíquotas de 0,5 mL foram imediatamente coletadas no tempo 0 e após 20 e 120 min, e colocadas em tubos contendo 4 mL de álcool etílico anidro. Os tubos foram centrifugados a 1500 *g* durante 5 min. Alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram retiradas e diluídas em 9 mL de água destilada. O teor de glicose foi quantificado utilizando kit para determinação de glicose (Glucose Liquiform – Labtest, Brasil).

Para determinação do amido total, as amostras previamente hidrolisadas (após 120 min) foram colocadas em banho de fervura durante 30 min. Após resfriamento até temperatura ambiente, 10 mL de solução de KOH 7 M foi adicionado e as amostras foram colocadas em banho de gelo durante 30 min. Posteriormente uma alíquota de 1 mL foi colocada em um béquer contendo 10 mL de ácido acético 0,5 M, e 1 mL de solução de amiloglucosidase (50 U/ mL) foi adicionada. As amostras foram incubadas por 30 min a 60 °C. A enzima foi inativada em banho de fervura durante 10 min e 40 mL de água destilada foram adicionados. As amostras foram centrifugadas a 1500 *g* durante 10 min e uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi diluída em 9 mL de água destilada. A glicose foi quantificada utilizando kit para determinação glicose (Glucose Liquiform, Labtest / Brazil).

Os valores de frações de amido rapidamente digerível (ARD), amido lentamente digerível (ALD) e AR foram obtidos a partir das definições de Englyst; Kingman e Cummings, (1992) que combinaram os valores de G0 (glicose livre), G20 (glicose liberada após 20 min), G120 (glicose liberada após 120 min), e TG (glicose total) usando as seguintes equações:

$$AT = (TG - G0) \times 0.9 \quad (5)$$

$$ARD = (G20 - G0) \times 0.9 \quad (6)$$

$$ALD = (G120 - G20) \times 0.9 \quad (7)$$

$$AR = AR - (ARD + ALD) \text{ ou } AR = (TG - G120) \times 0.9 \quad (8)$$

4.2.7 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas no mínimo em triplicata com exceção da distribuição de comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina e propriedades de pasta que foram determinadas em duplicata. Os dados foram avaliados usando o programa Statistica 7.0 (Statsoft, 2007), abrangendo a análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A Análise de Componentes Principais, obtida a partir da matriz de correlações, também foi usada na análise dos dados dos experimentos referentes ao efeito do ácido graxo no comportamento de gelatinização dos amidos usando o software R-project, version 3.0.3 (R Development Core Team, 2017, Los Angeles, EUA).

5 RESULTADOS

5.1. Composição química dos amidos

A composição química dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química¹ (%) dos amidos nativos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER).

Parâmetros	Amido		
	AMS	ABD	AER
Carboidratos	99,40*	99,56*	99,56*
Lipídios	0,15 ± 0,01 ^{ab}	0,14 ± 0,01 ^b	0,16 ± 0,02 ^a
Proteína	0,17 ± 0,00 ^b	0,10 ± 0,01 ^c	0,19 ± 0,02 ^a
Cinzas	0,26 ± 0,01 ^a	0,20 ± 0,04 ^b	0,07 ± 0,01 ^c
Fósforo	0,015 ± 0,003 ^a	0,018 ± 0,001 ^b	0,022 ± 0,002 ^c

¹Análises realizadas em triplicata, com apresentação das médias e seus respectivos desvios-padrão. Resultados em base seca. *Determinado por diferença. Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os constituintes menores do amido como lipídios, proteínas e cinzas quando presentes em baixos níveis revelam um amido com elevado grau de pureza. A quantidade dessas substâncias no amido é dependente da fonte botânica, da variedade e, principalmente do processo de extração realizado. Em virtude disto, os teores de carboidratos obtidos para todos os amidos foram elevados (> 99%) indicando que o processo de extração dos amidos foi eficiente e os mesmos estão puros para análises.

Em relação aos teores de lipídios, os resultados dos diferentes amidos obtidos neste trabalho foram próximos, variando de 0,14-0,16%, sendo o maior valor para o amido de ervilha rugosa e o menor para o amido de batata-doce. Rocha, Carneiro e Franco (2010) e Shi e Gao (2016) encontraram valores semelhantes de lipídios nos amidos de batata-doce, mandioquinha-salsa e ervilha rugosa. Os lipídios representam a fração mais importante associada ao grânulo de amido, estando presente principalmente em amidos de cereais, nos quais são responsáveis pela fixação da cor, desenvolvimento de aromas e complexações. Nos amidos de tuberosas, normalmente os teores de lipídios endógenos são baixos, deixando-os mais neutros e menos sujeitos à complexação (BULÉON et al., 1998). O teor de fósforo nos AMS e ABD foram

semelhantes (~0,018%) concordando com resultados obtidos por Rocha, Demiate e Franco (2008), enquanto o AER teve o maior teor entre os amidos estudados.

5.2 Afinidade por iodo e teor de amilose aparente e absoluto dos amidos nativos

Os valores encontrados para a afinidade por iodo e teores de amilose aparente e absoluto dos amidos nativos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Afinidade por iodo e teores de amilose aparente e absoluto dos amidos nativos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER).

Amido	Afinidade por iodo*		Teor de amilose (%)	
	Amido	Amilopectina	Aparente¹	Absoluta²
AMS	3,23 ± 0,10 ^c	2,03 ± 0,01 ^c	16,15	6,7
ABD	4,81 ± 0,25 ^b	1,63 ± 0,13 ^b	24,00	17,3
AER	11,21 ± 0,17 ^a	4,53 ± 0,06 ^a	56,05	43,20

*Média de três determinações, com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ¹ $AM_{ap} = 100 \times IAS / 0,2$, onde AM_{ap} = % amilose aparente; IAS = afinidade por iodo de amido total desengordurado. ² $AM_{abs} = (IAS - IAAp) / [0,2 - (IAAp/100)]$, onde AM_{abs} = % de amilose absoluta; IAS = afinidade por iodo do amido total desengordurado; IAAp = afinidade por iodo da amilopectina purificada.

O AMS apresentou 16,15% de amilose aparente e 6,7% de amilose absoluta, como apresentado na Tabela 3. Estes teores foram próximos aos valores de 15,64% e 10,17% para amilose aparente e absoluta, respectivamente, encontrados por Moraes, Alves e Franco (2013) e 17,5% de amilose aparente encontrado por Rocha, Demiate e Franco (2008) que utilizaram a mesma metodologia de análise para a determinação do teor de amilose aparente e absoluto do amido.

Rocha, Carneiro e Franco (2010) verificaram que o conteúdo de amilose aparente do amido de batata-doce esteve em torno de 20%, enquanto neste trabalho foi encontrado um valor de 24% para o ABD. Já o AER teve 56,05% de amilose, valor levemente inferior aos valores indicados pela literatura para cultivares de ervilha rugosa que estão entre 60,5 e 88,0% (RATNAYAKE; HOOVER; WARKENTIN, 2002). No entanto, Shi e Gao (2016) encontraram valor bem inferior (30,8%) para o teor de amilose aparente de ervilha rugosa. Essas diferenças podem estar relacionadas aos diferentes métodos de extração utilizados, bem como aos diferentes métodos de análise do teor de amilose, a cultivar e as condições de cultivo.

Nos três amidos analisados constatou-se que o teor de amilose absoluto foi menor que o aparente, confirmando a formação de complexo amilopectina/iodo. As cadeias ramificadas

muito longas de amilopectina são também capazes de formar complexo com iodo, o que aumenta a afinidade do amido pelo iodo e superestima o conteúdo de amilose aparente (MORAES; ALVES; FRANCO, 2013). A afinidade pelo iodo das cadeias da amilopectina do AER foi muito superior ao encontrado para as cadeias de amilopectina dos ABD e AMS, indicando assim maior proporção de cadeias muito longas da amilopectina naquele amido.

5.3 Distribuição de comprimentos de cadeias ramificadas da amilopectina

Todos os amidos tiveram distribuição bimodal com dois picos principais, o primeiro que ocorreu nos GP 14, 12 e 11, respectivamente para AMS, ABD e AER, e o segundo no GP 42 para AMS e 45 para os outros dois amidos (Figura 2). AMS e AER mostraram um ombro que foi mais proeminente no AER, em suas distribuições no GP 18-21. Ombros presentes nas distribuições de comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina estão relacionados a defeitos na estrutura cristalina devido a grande quantidade de cadeias com $GP < 10$ que não são capazes de formar cristais (HANASHIRO; ABE; HIZUKURI, 1996; JANE et al., 1999; GENKINA et al, 2007). Rocha et al. (2011) também observaram ombros nas distribuições de cadeias ramificadas de amidos de mandioquinha-salsa e mandioca.

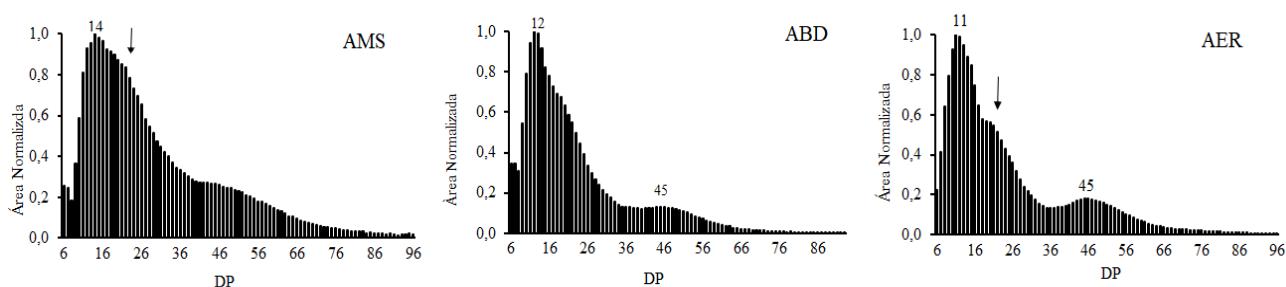


Figura 2 - Distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina de AMS (amido de mandioquinha-salsa), ABD (amido de batata-doce) e AER (amido de ervilha rugosa).

As distribuições de cadeias ramificadas de amilopectina dos AER e ABD mostraram alta proporção de cadeias curtas e o AMS teve a maior proporção de cadeias longas (Tabela 4). Amidos regulares com padrão tipo B geralmente apresentam menores porcentagens de cadeias curtas (GP 6-12) e maiores de cadeias longas ($GP \geq 37$), assim como observado no AMS (HANASHIRO; HIZUKURI, 1996; JANE et al., 1999).

A maior proporção de cadeias curtas no ABD pode estar relacionada com o padrão cristalino tipo A deste amido, que tem como característica alta proporção de cadeias curtas e

maior estabilidade da estrutura (VERMEYLEN et al., 2004). Além de alta proporção de cadeias curtas, o AER também mostrou quantidades consideráveis de cadeias longas.

Tabela 4 - Distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER).

Amidos	Distribuição do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina (%)				$\overline{GP}$
	GP (6-12)	GP (13-24)	GP (25-36)	GP (>37)	
AMS	12,4±0,0 ^c	39,0±0,2 ^b	21,2± 0,1 ^a	27,5±0,1 ^a	29,2 ±0,0 ^a
ABD	23,6±0,1 ^{ab}	45,9±0,3 ^a	14,5±0,3 ^{bc}	16,0±0,1 ^c	22,7±0,1 ^c
AER	25,8±0,4 ^a	39,6±0,1 ^b	13,9±0,1 ^b	20,7±0,1 ^b	24,3±0,1 ^b

*Média de três determinações, com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). GP=grau de polimerização.

5.4 Teor de amilose lixiviada

As porcentagens de amilose lixiviada em diferentes temperaturas dos AMS, ABD e AER com e sem adição de ácido láurico e ácido palmítico estão apresentadas na Tabela 5.

De um modo geral, o teor de amilose lixiviada aumentou com o aumento da temperatura, independentemente da fonte de amido e da adição de AGS (Tabela 5). Durante a gelatinização, à medida que as ligações de hidrogênio que mantêm a estrutura granular são rompidas, as moléculas de amilose que não estão fortemente associadas entre si ou com moléculas de amilopectina, nem complexadas com lipídios são liberadas para o meio (GARCIA; FRANCO, 2015).

Todos os grânulos de AMS já estavam gelatinizados a 65°C e toda a amilose presente foi complexada com iodo. Uma característica deste amido é o fácil cozimento, no qual os grânulos de amido começam a inchar em aproximadamente 57°C e, principalmente, as moléculas de amilose começam a ser liberadas dos grânulos devido a estrutura cristalina defeituosa e frágil deste amido (ROCHA; CARNEIRO; FRANCO, 2010). Com o aumento progressivo da temperatura é possível que as longas cadeias de amilopectina também tenham se complexado com o iodo, superestimando a quantidade de amilose lixiviada, uma vez que este amido possui grande proporção de cadeias ramificadas longas como visto na Tabela 4.

O ABD apresentou 87,06% de amilose lixiviada a 95°C, pois este amido possui estrutura mais fortemente ligada do que o AMS. De acordo com Jane et al. (1999), o tamanho dos grânulos do ABD varia de 4 a 15 μm , sendo os menores dentre os amidos estudados, o que também limita o inchamento diminuindo assim a lixiviação da amilose. Por outro lado, mesmo

a 95°C, o teor de amilose lixiviada do AER foi de apenas 35,58%. As moléculas de amilose em amidos com alto teor de amilose, como é o caso do AER que mostrou 43% de amilose absoluta, estão fortemente empacotadas sendo mais difíceis de serem lixiviadas durante aquecimento a temperaturas abaixo de 100°C (WEBER, COLLARES-QUEIROZ, CHANG, 2009). Resultado semelhante foi encontrado por Chung, Liu e Hoover (2010), os quais encontraram cerca de 20,3% de amilose lixiviada em 80°C no amido de ervilha rugosa.

Tabela 5 - Teor de amilose lixiviada, em diferentes temperaturas, dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) com e sem adição de ácidos graxos saturados.

Amidos	Amilose lixiviada*(%)			
	65°C	75°C	85°C	95°C
AMS	>100	>100	>100	>100
AMS-AL	40,02 ^b ±0,40	57,45 ^b ±0,91	>100	>100
AMS-AP	74,63 ^a ±0,34	87,19 ^a ±0,92	>100	>100
ABD	25,10 ^c ±0,69	37,75 ^c ±0,22	53,19 ^a ±0,81	87,06 ^a ±0,83
ABD-AL	10,67 ^e ±0,31	23,64 ^e ±0,67	40,35 ^c ±0,15	41,21 ^c ±0,91
ABD-AP	19,55 ^d ±0,25	28,87 ^d ±0,57	43,71 ^b ±0,74	55,16 ^b ±0,58
AER	5,32 ^f ±0,07	13,97 ^f ±0,70	18,20 ^d ±0,41	35,58 ^e ±0,41
AER-AL	3,95 ^f ±0,14	7,29 ^g ±0,72	11,78 ^e ±0,11	26,55 ^f ±0,29
AER-AP	4,56 ^f ±0,04	9,12 ^g ±0,22	16,31 ^d ±0,10	28,43 ^f ±0,16

Média de três determinações com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Amilose lixiviada (%) = (concentração final de amilose / concentração inicial de amilose absoluta no amido)*100.

A adição de AGS provocou redução do teor de amilose lixiviada nos amidos indicando que as hélices de amilose foram ocupadas com os ácidos graxos restringindo a lixiviação da molécula durante o aquecimento (TANG; COPELAND, 2007). Garcia e Franco (2015) também observaram redução no teor de amilose lixiviada quando monoestearato de glicerol foi adicionado durante o aquecimento de amido de milho normal, amido de milho ceroso e amido de milho com alta amilose. Estudos têm relatado que os complexos amilose-lipídio formados podem se depositar, como um filme insolúvel, na superfície do grânulo, atrasando o transporte de água para os grânulos e a lixiviação da amilose (WANG et al., 2016; GARCIA; FRANCO, 2015; MENG et al., 2014).

O comprimento de cadeia do ácido graxo influenciou a lixiviação da amilose, independente da fonte de amido. O ácido láurico apresentou maior mobilidade entre as

moléculas de amilose e amilopectina provocando maior interação entre eles. De acordo Tang e Copeland (2007) e Kawai et al. (2012) os ácidos graxos com menor comprimento de cadeia interagem mais facilmente com as moléculas do amido devido a maior solubilidade.

5.5 Poder de Inchamento (PI) e Solubilidade (SOL)

O poder de inchamento (PI) e solubilidade (SOL) a 85°C dos AMS, ABD e AER com e sem adição de AGS estão apresentados na Tabela 6.

Como esperado, o maior PI foi detectado para o AMS, seguido do ABD e AER, uma vez que o poder de inchamento do grânulo de amido é uma propriedade da amilopectina e varia conforme seu conteúdo (TESTER; MORRISON, 1990). Baixos valores de PI como aquele observado no AER podem ser atribuídos a baixos teores de amilopectina deste amido e/ou a fortes interações entre as cadeias de amilose. Valor semelhante de PI para amido de ervilha rugosa (3,4 g/g) foi encontrando por Zhou et al. (2004). Amidos com altos teores de amilose apresentam poder de inchamento e solubilidade restritos mesmo com longos períodos de aquecimento, indicando assim um elevado grau de associação dos grânulos (LEACH; MCGOWEN; SCHOCH, 1959).

Tabela 6 - Poder de inchamento (PI) e solubilidade (SOL) dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) e suas misturas com ácidos láurico (AL) e palmítico (AP) a 85°C.

Amidos	PI (g/g)	SOL (%)
AMS	18,12±0,20 ^a	14,05±0,32 ^b
AMS-AL	13,36±0,20 ^c	10,42±0,15 ^d
AMS-AP	16,31±0,90 ^b	9,84±0,49 ^d
ABD	11,96±0,68 ^{cd}	15,93±0,24 ^a
ABD-AL	8,66±0,83 ^e	14,60±0,00 ^b
ABD-AP	10,50±0,60 ^d	11,90±0,66 ^c
AER	3,95±0,19 ^f	3,07±0,35 ^e
AER-AL	3,04±0,14 ^f	3,26±0,00 ^e
AER-AP	3,85±0,02 ^f	1,84±0,00 ^f

Média de três determinações, com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O PI e a SOL de todos os amidos diminuíram com a adição de AGS, pois a interação amilose-lipídios impede o inchamento do grânulo e dificulta a solubilização (SEO; KIM; LIM, 2015; WANG et al., 2016; GARCIA; FRANCO, 2015; MENG et al., 2014). Os efeitos do AL foram mais expressivos nos resultados de PI que aqueles do AP. Assim como observado no teor de amilose lixiviada, o AL por ser mais solúvel em água que o AP, teve maior interação com o amido dificultando ainda mais o inchamento dos grânulos. Por outro lado, o AP, devido a seu maior tamanho de cadeia, provocou maior redução na SOL. Resultados semelhantes foram observados por Wang et al. (2016), quando aqueceram o amido de trigo na presença de ácido láurico, mirístico e palmítico.

5.6 Propriedades de Pasta

Os perfis de viscosidade dos amidos com e sem adição de AGS estão apresentados nas Figuras 3, 4, e 5 e os resultados sumarizados na Tabela 7. Geralmente, as propriedades de pasta do amido são afetadas pela relação amilopectina e amilose e pelo teor de lipídios. A amilopectina contribui para o inchamento dos grânulos de amido e formação da pasta, enquanto a amilose e os lipídios inibem o inchamento (CHANG et al., 2013).

As propriedades de pasta dos AMS e ABD exibiram padrão de viscosidade típico, com um aumento da viscosidade até um pico seguido por uma queda abrupta da viscosidade sob agitação e aquecimento (Figuras 3 e 4). Estas características demonstram que os baixos teores de amilose, assim como baixos teores de lipídios endógenos, facilitaram o inchamento dos grânulos durante o cozimento (AI; HASJIM; JANE, 2013).

Os perfis de viscosidade dos AMS e ABD foram semelhantes (Figura 3 e 4), com altas viscosidades de pico (343,6 e 373,5 RVU, respectivamente) e baixa resistência ao aquecimento e agitação indicando fragilidade dos grânulos em temperaturas mais elevadas. A temperatura de pasta do ABD foi maior que aquela apresentada pelo AMS provavelmente devido a maior associação das moléculas do amido no grânulo, bem como ao menor tamanho de grânulo do ABD. Em função do maior teor de amilose, o ABD teve maior viscosidade final e *setback* (223,3 RVU, 72,0 RVU) do que observado no AMS (153,2 RVU, 25,8 RVU).

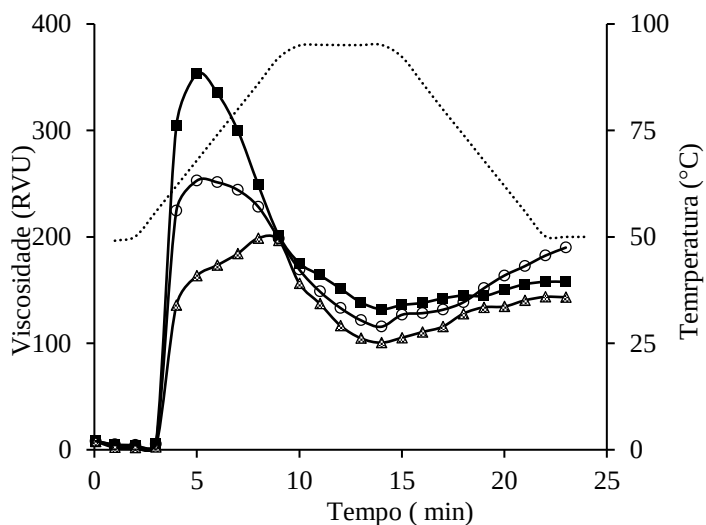


Figura 3 - Perfil de viscosidade do amido de mandioquinha-salsa (AMS) e suas misturas com AL e AP, obtido por RVA. (■)AMS; (▲) AMS-AL; (O) AMS-AP.

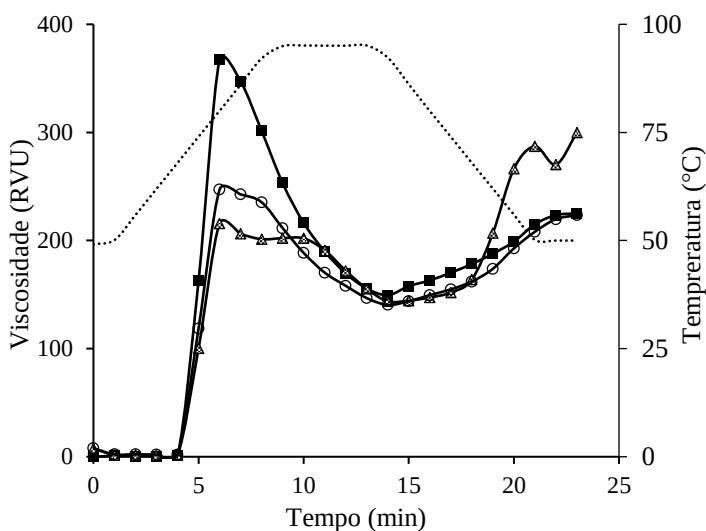


Figura 4 - Perfil de viscosidade do amido de batata-doce (ABD) e suas misturas com AL e AP, obtido por RVA. (■)ABD; (▲) ABD-AL; (O) ABD-AP.

O AER mostrou viscosidades muito baixas (próximas à zero) durante as condições tempo/temperatura utilizados no experimento (Figura 5). As moléculas dos amidos com maiores teores de amilose, como o amido de ervilha, estão fortemente ligadas mantendo a integridade do grânulo mesmo com agitação mecânica e temperaturas elevadas. Polesi, Sarmiento e Anjos (2011) verificaram comportamento similar ao estudar amido de ervilha rugosa, em suspensão aquosa (9,2% m/m) nas mesmas condições tempo/temperatura do RVA. Segundo Hilbert e MacMasters (1946) o elevado poder de associação da amilose faz com que

ela não seja prontamente dispersada para formar soluções coloidais em temperaturas abaixo de 100 °C.

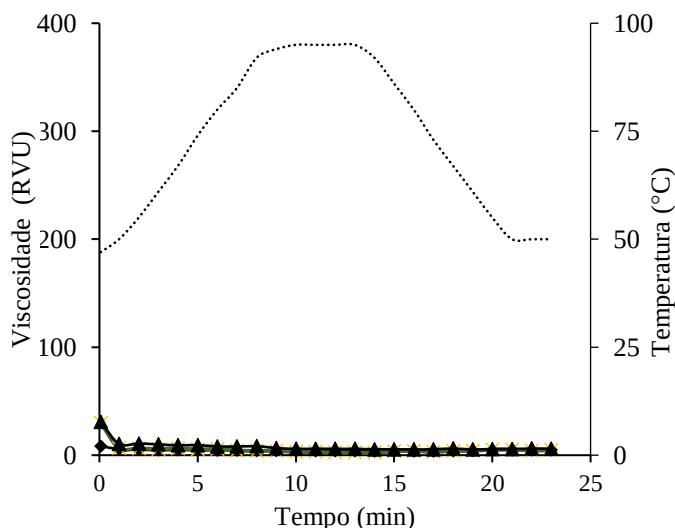


Figura 5 - Perfil de viscosidade do amido de ervilha rugosa (AER) e suas misturas com AL e AP, obtido por RVA. (■)AER; (▲) AER-AL; (O) AER-AP.

A adição dos ácidos graxos nos AMS e ABD provocou significativa redução da viscosidade máxima e um alargamento dos picos que foi mais pronunciada quando AL foi usado (Figura 3 e 4). Os amidos também tornaram-se mais resistentes (GELENCSEY et al., 2008) ao atrito mecânico e a altas temperaturas, resultando em picos mais alargados e viscosidades de quebra reduzidas, decorrente da diminuição do inchamento dos grânulos causada pela interação dos amidos com os lipídios.

No entanto, pode-se observar que a adição de AL provocou aumento na temperatura de pasta, na viscosidade final e no *setback* do ABD, enquanto que estes parâmetros aumentaram no AMS com a adição de AP. A adição de AL no ABD mostrou um pico de alta viscosidade durante o resfriamento (~50,2°C). Este pico poderia ser referente à recristalização do complexo formado entre ABD e AL durante a gelatinização. Apenas nesta mistura (ABD-AL) a quantidade de complexo formada foi suficientemente detectável, possivelmente devido a uma maior concentração de amilose disponível e a maior solubilidade do AL. Também foi observado no experimento de amilose lixiviada (Tabela 5) que em 95°C, a mistura ABD-AL foi a que mais reteve as moléculas de amilose. Picos de viscosidade observados durante o resfriamento também foram observados com amido de milho e ácido palmítico (AI; HASJIM; JANE, 2013) e amido de trigo normal e ácido láurico (WANG et al., 2016). Okumus et al. (2018), também observaram que a formação de complexos amilose-lipídios entre amido de lentilha e ácidos

graxos (10%, w/w) diminuiu a viscosidade de pico, viscosidade de quebra e aumentou os valores de *setback* e viscosidade final.

Tabela 7 - Propriedades de pasta¹ dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) com e sem adição de ácidos graxos saturados.

Amidos	Temperatura	Viscosidade (RVU) ²			
	de Pasta (°C)	Pico	Quebra	Final	Setback
AMS	63,1 ± 0,0 ^e	343,6 ^b ± 0,8	216,3 ^b ± 0,2	153,2 ^d ± 4,4	25,8 ^c ± 4,4
AMS-AL	63,1 ± 0,0 ^e	199,2 ^d ± 14,0	104,1 ^d ± 9,4	139,2 ^d ± 5,4	44,1 ^c ± 0,8
AMS-AP	63,7 ± 0,0 ^d	246,3 ^c ± 6,1	134,7 ^c ± 8,8	184,0 ^c ± 2,8	72,8 ^b ± 4,9
ABD	71,6 ± 0,1 ^b	373,5 ^a ± 0,8	230,7 ^a ± 4,3	223,3 ^b ± 2,0	72,0 ^b ± 1,4
ABD-AL	72,3 ± 0,0 ^a	210,0 ^d ± 6,8	70,7 ^e ± 5,4	291,3 ^a ± 7,0	151,9 ^a ± 10,0
ABD-AP	71,1 ± 0,0 ^c	241,8 ^c ± 3,4	105,9 ^d ± 4,3	217,0 ^b ± 4,7	80,8 ^b ± 12,0
AER	-	5,1 ^e ± 0,5	1,8 ^f ± 0,1	4,7 ^e ± 0,2	1,4 ^d ± 0,2
AER-AL	-	3,2 ^e ± 0,1	1,0 ^f ± 0,5	1,1 ^e ± 0,7	0,7 ^d ± 0,9
AER-AP	-	2,6 ^e ± 0,9	1,6 ^f ± 0,8	1,5 ^e ± 0,2	0,4 ^d ± 0,2

- Valores não disponíveis; ¹ Suspensões de amido 10% (m/m); ² RVU: Rapid Visco Units; Médias das duplicatas seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p > 0,05).

5.7 Transparência de Pasta e Sinérese

As pastas de AMS e ABD mostraram alta transparência em função do baixo teor de amilose nesses amidos, enquanto o alto teor de amilose no AER foi o responsável pela sua alta opacidade. A adição de AGS provocou quedas significativas na transparência das pastas dos AMS e ABD devido a interação da amilose e ácidos graxos, capaz de aumentar a opacidade de pasta de amido (FRANCO et al., 2001). A redução da transparência também pode estar relacionada com a solidificação dos ácidos graxos e com o aumento da retrogradação, observado pelo RVA, onde as moléculas de amilose não complexadas podem ter se reassociado. No AER a transparência da pasta reduziu levemente após a adição dos AGS, pois a mesma já era muito baixa devido ao alto teor de amilose do amido. Embora a adição de AGS tenha provocado aumento na opacidade das pastas dos amidos, o tamanho das cadeias carbônicas dos lipídios não interferiu neste processo.

Como esperado, não houve sinérese nos géis de amido no dia em que foram preparados, porém, após 10 dias a 7°C, a pasta de AER teve 6,8% de sinérese devido à alta quantidade de

amilose que, durante o armazenamento refrigerado, teve suas moléculas reassociadas expulsando a água do meio. Já nas pastas de AMS e ABD não houve interação suficiente das moléculas de amilose para que houvesse a exsudação de água dos géis. A adição dos ácidos graxos provocou aumento na sinérese apenas na pasta de ERA, que foi mais uma vez foi mais intensa quando AL foi adicionado ao amido. De acordo com Ai, Hasjim e Jane (2013) complexos amido-lipídios podem desenvolver lamelas cristalinas em altas concentrações, capazes de perder a ligação com a água e a formação de gel.

Tabela 8 - Transparência (TRA) e sinérese (SIN) das pastas de amidos de mandioca-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) nativos e das misturas amido-AGS.

Amidos	TRA (%)	SIN (%)
AMS	56,80±0,20 ^a	-
AMS-AL	0,28±0,00 ^b	-
AMS-AP	0,26±0,00 ^b	-
ABD	58,7±0,10 ^a	-
ABD-AL	2,00±0,10 ^b	-
ABD-AP	1,80±0,10 ^b	-
AER	0,15±0,00 ^a	6,80±0,50 ^c
AER-AL	0,12±0,00 ^b	19,60±0,29 ^a
AER-AP	0,13±0,00 ^b	11,63±0,22 ^b

Média de três determinações, com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna, para cada amido, diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.8 Propriedades térmicas

O perfil térmico dos amidos nativos e dos adicionados de AGS estão apresentados na Figura 6 e os resultados estão sumarizados na Tabela 9. Os amidos nativos mostraram apenas uma endoterma, referente à gelatinização do amido. As temperaturas de pico e entalpias foram de 62,0 °C e 14,7 J/g, 69,2 °C e 13,4 J/g e 80,3 °C e 3,2 J/g para AMS, ABD e AER, respectivamente.

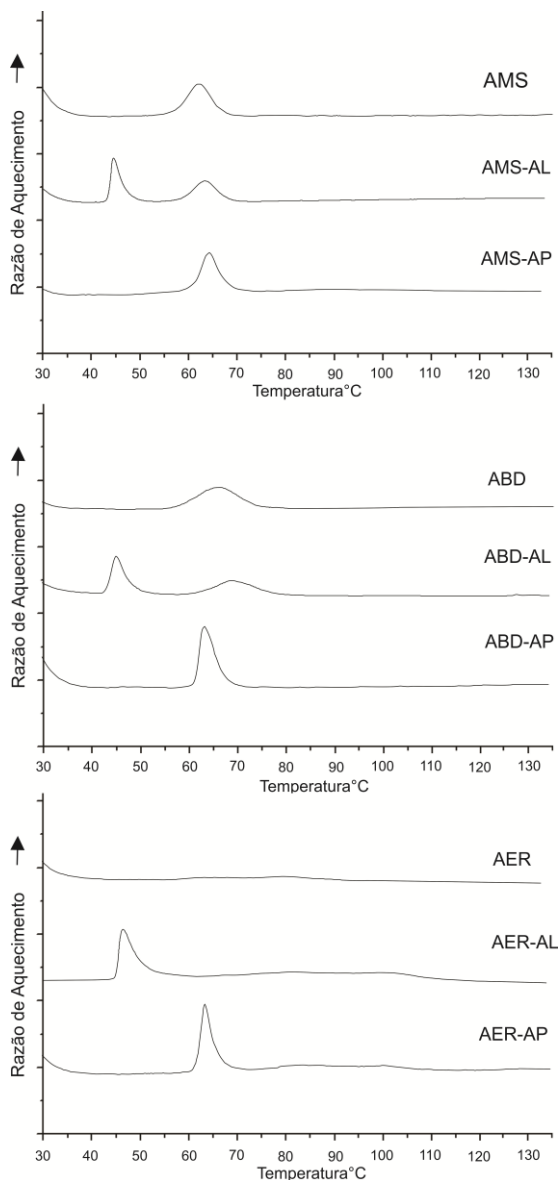


Figura 6 - Perfil endotérmico dos amidos nativos e adicionados de ácidos graxos saturados. AMS: amido de mandioca-salsa; ABD: amido de batata-doce; AER: amido de ervilha rugosa; AL: ácido láurico; AP: ácido palmítico.

O AMS, por possuir cristais mais homogêneos, apresentou uma faixa de gelatinização estreita comparada aos ABD e AER, assim como observado por Moraes, Alves e Franco (2013). Uma ampla faixa de temperatura de gelatinização foi observada no AER, característica comum entre amidos de alto teor de amilose, pois possuem estruturas cristalinas mais densamente empacotadas e maior ordem molecular, conferindo maior estabilidade estrutural e deixando os grânulos mais resistentes à gelatinização (TESTER; MORRISON, 1990). Não foram observados picos de dissociação de complexos formados com lipídios endógenos devido a baixas quantidades de lipídios (<0,16%) encontrados nestes amidos.

Tabela 9 - Propriedades térmicas dos amidos de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) e suas misturas com ácidos graxos saturados.

Amidos	Fusão dos Ácidos Graxos				Gelatinização			
	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)
AMS	-	-	-	-	57,6 ^f ±0,8	62,5 ^d ±0,9	67,9 ^{ef} ±0,3	14,3 ^c ±0,7
AMS-AL	43,9±0,1	45,0±0,3	47,4±0,5	8,0±0,2	59,6 ^e ±0,3	64,1 ^d ±0,2	68,7 ^e ±0,2	12,4 ^d ±0,5
AMS-AP	-	-	-	-	62,2 ^c ±0,7	63,9 ^d ±0,8	67,2 ^f ±1,0	28,4 ^a ±0,3
ABD	-	-	-	-	61,5 ^{cd} ±0,3	69,2 ^c ±0,3	77,1 ^d ±0,3	13,4 ^c ±0,8
ABD-AL	43,2±0,1	44,4±0,1	46,7±0,3	14,5±0,3	62,3 ^c ±0,4	70,4 ^c ±0,3	77,4 ^d ±0,5	12,5 ^d ±0,3
ABD-AP	-	-	-	-	60,8 ^d ±0,3	63,6 ^d ±0,8	67,1 ^f ±0,1	24,3 ^b ±0,5
AER	-	-	-	-	59,7 ^e ±0,7	80,3 ^b ±1,0	90,6 ^c ±0,7	3,2 ^f ±0,5
AER-AL	45,9±0,0	47,2±0,0	51,4±0,0	7,4±0,0	67,1 ^b ±0,5	83,1 ^a ±0,9	109,5 ^a ±0,2	6,2 ^e ±0,6
AER-AP	62,9±0,3	64,3±0,4	66,7±0,5	15,6±0,5	78,7 ^a ±0,2	84,0 ^a ±0,1	104,6 ^b ±0,3	5,5 ^e ±0,3

Média de três determinações com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Nas misturas amido-AL, independente da fonte de amido, foi possível observar uma primeira endoterma em aproximadamente 45°C referente à fusão do ácido láurico. A temperatura de fusão do AL puro ocorreu a 35°C (dado não mostrado), ou seja, houve a interação entre esses dois compostos, amido e ácido láurico, atrasando a fusão deste ácido graxo. A adição do ácido láurico causou atraso significativo na temperatura inicial de gelatinização (T_o) e redução na entalpia dos AMS e ABD. Apesar de interações e indícios de formação de complexos amilose-lipídios, como redução no teor de amilose lixiviada, poder de inchamento, solubilidade e alterações nas propriedades de pasta, as endotermas entre o AL e os AMS e ABD não mostraram picos de dissociação referentes aos complexos, possivelmente pela baixa quantidade de amilose (<17%) e pouca sensibilidade do equipamento. Por outro lado, no AER a T_o aumentou de 59,7 para 67,1 °C, enquanto a entalpia praticamente dobrou e a T_f atingiu 109,5°C com adição do AL. Esses dados sugerem a sobreposição das endotermas de gelatinização e dissociação dos complexos amilose-AL. Ai, Jane e Hasjim (2013) também observaram um pico de dissociação de complexo amido-lipídio entre amido de alta amilose e ácido graxo sobreposto parcialmente com o pico de gelatinização de amido.

O efeito da adição do AP resultou no aparecimento de um único pico endotérmico nos AMS e ABD, enquanto no AER dois picos endotérmicos foram observados. Estes resultados confirmam a sobreposição das endotermas de gelatinização do amido e fusão do ácido palmítico (T_{fusão C16:0} = 62,1°C, AI; HASJIM; JANE, 2013) nos primeiros dois amidos. Já na mistura AER-AP o primeiro pico é referente à fusão do ácido graxo enquanto o outro refere-se a sobreposição

das endotermas de gelatinização do amido e dissociação do complexo amilose-AP, demonstrado pelo aumento da entalpia e temperatura final de transição de 104,6 °C. Segundo Karkalas et al. (1995) a temperatura de fusão dos complexos está relacionada à estrutura do cristal e os complexos de inclusão de amilose semicristalinos normalmente se fundem em torno de 95-105°C. Isso sugere que durante a gelatinização houve a formação de complexos tipo II nas misturas AER-AGS.

5.9 Análise de componentes principais

Somente duas componentes principais (CP) foram necessárias para explicar, aproximadamente 83% do total da variância. Os scores da PC1 acumularam 68% do total da variação e do PC2, 15% (Figura 7). As variáveis temperatura de pico (Tp), poder de inchamento (PI) e viscosidade de pico (VP) tiveram maior peso na explicação do CP1 (Figura 7), enquanto as variáveis *setback* (SB), viscosidade final (VF), amilose lixiviada nas temperaturas de 65, 75, 85 e 95 (LA 65, LA 75, LA 85, LA 95) influenciaram mais fortemente a CP2. A grande vantagem da análise de componentes principais é transformar o conjunto de dados com variáveis intercorrelacionadas, em um novo espaço de vetores não correlacionados (eixos ortogonais). Verificou-se dependência (correlação) entre as variáveis em estudo, pois foram necessários somente dois componentes para explicar 83% da variância. As variáveis *setback* (SB), viscosidade final (VF), temperatura de pasta (TP), entalpia (ΔH), e poder de inchamento (PI) mostraram correlação positiva entre si, pois estão localizadas no mesmo quadrante, e, essas variáveis apresentaram correlação negativa com as variáveis Tf, Tp, Ti, e sinérese, pois estão em quadrantes opostos.

A CPA permitiu discriminar as amostras em grupos distintos. As amostras AER, AER-LA e AER-AP foram muito bem caracterizadas e discriminadas pelos maiores valores de temperatura de gelatinização (Ti, Tp e Tf) e sinérese em relação aos outros amidos nativos e com adição de ácidos graxos. As respostas dos parâmetros de temperatura de gelatinização (Ti, Tp e Tf) do AER foram semelhantes, independentes do tipo de ácido graxo adicionado. A amostra AMS foi bem discriminada pelas variáveis amilose lixiviada LA 65, LA75, LA85 e LA95 e (T) transparência em relação às amostras AMS-AL e AMS-AP. Estas últimas mostraram aumento dos parâmetros *breakdown* (BV) e SOL. As amostras de AMS nativo quando adicionadas de AL ou AP apresentaram os parâmetros em estudo semelhantes ao do ABD nativo, principalmente em relação às propriedades de pasta. Esse fato mostra que a interação do AMS com AGS possibilitou um melhoramento na funcionalidade do amido,

observado pela maior resistência dos grânulos ao atrito mecânico e menor susceptibilidade ao ataque enzimático, uma vez que o AMS nativo é um amido frágil e de fácil cozimento.

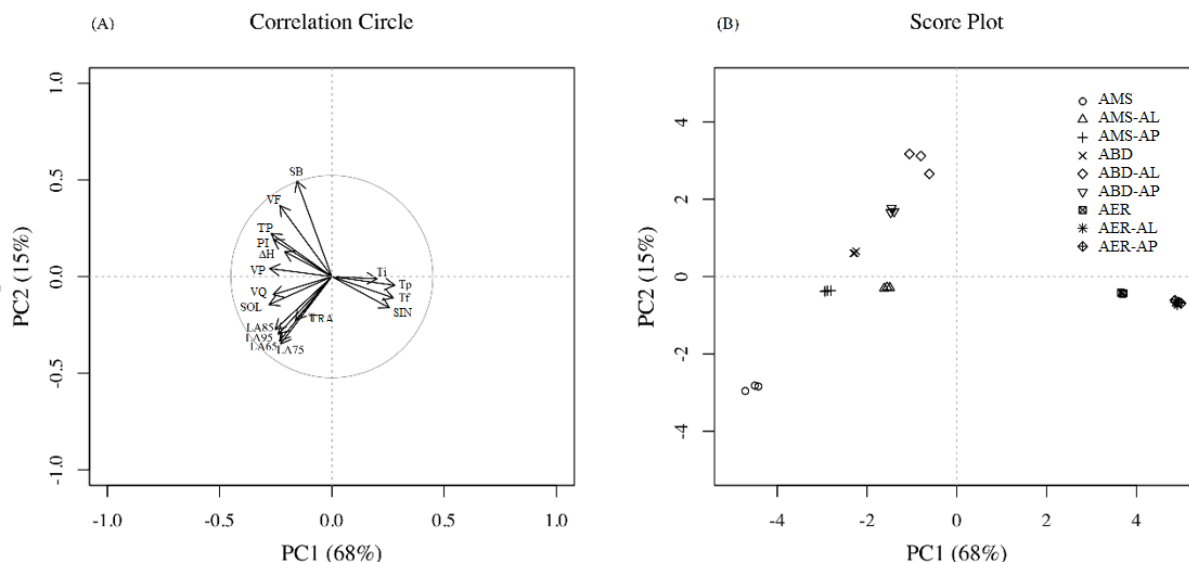


Figura 7 - Gráfico dos componentes principais PC1 x PC2. AMS-AL: amido de mandioca-salsa-ácido láurico, AMS-AP: amido de mandioca-salsa-ácido palmítico, ABD-AL: amido de batata-doce-ácido láurico, ABD-AP: amido de batata-doce-ácido palmítico, AER-AL: amido de ervilha rugosa-ácido láurico, AER-AP: amido de ervilha rugosa-ácido palmítico, SB: setback, VF: viscosidade final, TP: temperatura de pasta, PI: poder de inchamento, ΔH : entalpia, VP: viscosidade de pico, VQ: viscosidade de quebra, SOL: solubilidade, LA 65, 75, 85 e 95: amilose lixiviada, TRA: transparência, SIN: sinérese, Ti: temperatura inicial, Tp: temperatura de pico, Tf: temperatura final.

A amostra de ABD apresentou maiores valores de VP (viscosidade de pico); a adição de AP provocou maiores aumentos de ΔH (entalpia), PI (poder de inchamento) e TP (temperatura de pasta), enquanto a adição de AL provocou aumento dos parâmetros VF (viscosidade final) e SB (setback), devido à recristalização do complexo observado no RVA.

Considerando a importância de todas as variáveis analisadas, a análise de componentes principais permitiu observar com mais propriedade a interação entre os diferentes amidos e ácidos graxos, sendo possível notar que, nas condições dos experimentos realizados, os amidos de mandioca-salsa e batata-doce mostraram semelhança na interação dos ácidos graxos e amido durante a gelatinização, enquanto o amido de ervilha rugosa apesar do alto teor de amilose mostrou menor interação entre ácidos graxos e este amido, pois somente Tf, Ti, Tp e S (sinérese) foram os parâmetros altos na sua discriminação. Esse fato pode ser explicado, pois

todas as análises, exceto as propriedades térmicas, utilizaram temperaturas abaixo de 100°C mantendo parte da estrutura altamente empacotada do amido de ervilha rugosa, sem grandes alterações nas propriedades de gelatinização, por isso os efeitos da interação durante o cozimento neste amido foram menores.

5.10 Índice de Complexação (IC) das misturas cozidas de amido-AGS

O IC das misturas cozidas foi alto (> 70%), independentemente do amido e do ácido graxo utilizado (Tabela 10). Os IC das misturas de AMS e AER com AP foram superiores àqueles das misturas com AL, enquanto para as misturas de ABD-AGS, o comprimento de cadeia do ácido graxo não influenciou o IC.

Tabela 10 - Índice de complexação (IC) das misturas cozidas de amido-AGS

Misturas cozidas amido-AGS	IC (%)
AMS-AL	77
AMS-AP	81
ABD-AL	91
ABD-AP	91
AER-AL	72
AER-AP	84

AMS-AL: amido de mandioquinha-salsa-ácido láurico, AMS-AP: amido de mandioquinha-salsa-ácido palmítico, ABD-AL: amido de batata-doce-ácido láurico, ABD-AP: amido de batata-doce-ácido palmítico, AER-AL: amido de ervilha rugosa-ácido láurico, AER-AP: amido de ervilha rugosa-ácido palmítico.

Alguns autores relataram que o IC aumenta à medida que os comprimentos de cadeias carbônicas dos ácidos graxos diminuem devido à maior acomodação das moléculas dentro das hélices hidrofóbicas de amilose (KAWAI et al., 2012; TANG; COPELAND, 2007; WANG et al., 2016). Kawai et al. (2012) trabalhando com amido de batata encontraram os seguintes IC com diferentes ácidos graxos: (49.9%) ácido láurico, (47.6%) ácido linoleico, (42.4%) ácido mirístico, (36.7%) ácido oleico, (35.3%) ácido esteárico e (30,9%) ácido palmítico. Porém, outros autores têm observado que ácidos graxos de cadeias muito pequenas como o ácido decanóico (C10:0) têm maior mobilidade e podem ser facilmente lixiviados quando a mistura é lavada com etanol, enquanto cadeias maiores como o ácido esteárico (C18:0) ficam mais

fortemente entrelaçadas pelas hélices de amilose (MARINOPOULOU et al., 2016). Fato semelhante aconteceu neste trabalho, onde o ácido láurico (C12:0) foi parcialmente lixiviado com o etanol enquanto o AP (C16:0) ficou mais fortemente ligado às moléculas de amilose nos AMS e AER resultando em maior porcentagem de IC.

5.11 Raios-X dos amidos e misturas cozidas de amido-AGS

Os difratogramas de raios-X e a cristalinidade relativa dos amidos nativos, amidos cozidos e misturas cozidas de amido-AGS estão mostrados na Figura 8. Amostras de AGS puros também foram analisadas e seus respectivos difractogramas mostraram dois picos principais em 21 e 24° em 2 θ (dados não mostrados).

Os AMS e ABD nativos, como já extensivamente demonstrado na literatura (ROCHA; DEMIATE; FRANCO, 2008; MORAES; ALVES; FRANCO, 2013; ZHU; WANG, 2014; HUANG et al. 2016), apresentaram padrões cristalinos tipos B e C_A, respectivamente. O AER, por sua vez, também apresentou um padrão cristalino tipo B, o que corrobora com estudos de (RATNAYAKE; HOOVER; WARKENTIN, 2002). A cristalinidade relativa dos amidos nativos variou de 24,0% para o AER a 35,2% para o AMS. Segundo Raghunathan et al. (2017), as diferenças de cristalinidade relativa podem ser influenciadas pelo grau de empacotamento das duplas hélices na lamela cristalina, pela presença de uma alta proporção de cadeias de amilopectina curtas (DP < 6), pela extensão da ramificação da amilopectina (RAGHUNATHAN et al., 2017). É sabido que em amidos com alto teor de amilose, as hélices de amilose também contribuem para sua cristalinidade (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

Como esperado, os AMS e ABD cozidos não apresentaram picos específicos em seus difractogramas e a cristalinidade relativa foi muito reduzida, no entanto, o AER manteve cerca de 66% de sua cristalinidade, mesmo após ser submetido a 120°C/30min, devido ao elevado empacotamento das moléculas de amilose.

As misturas cozidas de AMS-AGS e ABD-AGS mostraram picos principais a 13° e 20° em 2 θ , além de um pico de menor intensidade em 7°. Estes picos correspondem à estrutura cristalina do complexo tipo V (SEO; KIM; LIM, 2015; ZHANG et al., 2012). Na mistura ABD-AP, pico em 21,6 e 24,1° também foram observados e corresponderam às moléculas de AP que se autoassociaram (MARINOPOULOU et al., 2016; KAWAI et al. 2012). A ausência de picos residuais de AL na mistura com ABD pode estar relacionada com seu menor comprimento de cadeia, aumentando sua mobilidade e tornando-o mais fácil de ser removido durante a lavagem

com etanol (MARINOPOULOU et al., 2016). No entanto, esses picos não foram observados na mistura de AMS-AP.

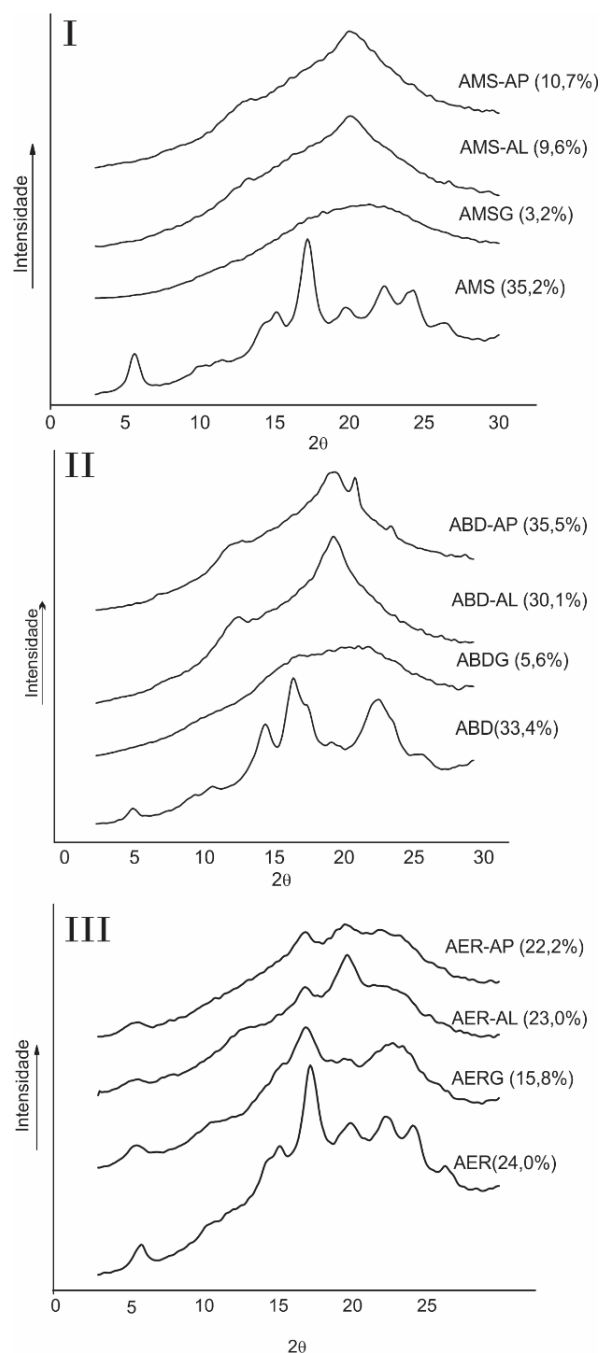


Figura 8 - Difractogramas de raios-X e cristalinidade relativa (%) dos amidos nativos, amidos gelatinizados e das misturas cozidas de amido-AGS: I) AMS: amido de mandioquinha-salsa nativo, AMSG: amido de mandioquinha-salsa gelatinizado, AMS-AL: amido de mandioquinha-salsa-ácido láurico, AMS-AP: amido de mandioquinha-salsa-ácido palmítico, II) ABD: amido de batata-doce nativo, ABDG: amido de batata-doce gelatinizado, ABD-AL: amido de batata-doce-ácido láurico, ABD-AP: amido de batata-doce-ácido palmítico, AER: amido de ervilha

rugosa, AERG: amido de ervilha rugosa gelatinizado, AER-AL: amido de ervilha rugosa-ácido láurico, AER-AP: amido de ervilha rugosa-ácido palmítico.

No AER a adição dos AGS causou redução na intensidade dos picos referentes ao padrão B e aumento na intensidade do pico a 20°, principalmente quando AL foi usado na mistura. Este fato indica que apenas uma porção da amilose deste amido foi utilizada para a formação do complexo amilose-lipídio, pois a estrutura altamente empacotada contribuiu para que a amilose ficasse indisponível, dificultando a interação com os AGS. Observações semelhantes foram feitas por Dries et al. (2016) e Seo, Kim e Lim (2015), os quais observaram que as moléculas de amilose dos amidos de ervilha e milho com alta amilose não estavam totalmente dispersas na solução para se complexarem.

5.12 Propriedades térmicas das misturas cozidas amido-AGS

A análise térmica das misturas cozidas de amido-AGS foi realizada em três etapas e os resultados estão apresentados na Figura 9 e Tabela 11. No primeiro ciclo de aquecimento (Figura 9-A) foi observada a dissociação dos complexos amido-lipídios, no resfriamento (Figura 9-B) foi observada a recristalização dos complexos dissociados e no segundo ciclo de aquecimento foi observada a dissociação dos complexos recompostos (Figura 9-C).

As misturas contendo AP apresentaram picos endotérmicos a 55°C, devido à presença de moléculas de ácido palmítico que se auto associaram e ficaram presas entre as hélices dos complexos cristalizados (TANG; COPELAND, 2007; ZHANG et al., 2012). Assim como observado no difractograma de Raios-X (Figura 8), não houve picos residuais do AL. A temperatura de dissociação (T_p) das misturas amido-AL variaram de 90,0 a 93,2°C enquanto as misturas de amido-AP variaram de 96,6 a 97,4°C. Os complexos formados com o AP, independente do amido utilizado, tiveram maiores temperaturas de dissociação pois sabe-se que longas cadeias de ácidos graxos proporcionam maiores interações hidrofóbicas com as cadeias de amilose (PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010; GARCIA et al., 2016).

A V-amilose é classificada como tipo I ou tipo II dependendo da temperatura de fusão dos componentes cristalinos. Os cristais de amilose tipo I geralmente têm temperaturas de fusão entre 94 e 104 °C, enquanto os do tipo II fundem entre 115 e 121°C (PANYOO, EMMAMBUX, 2016). No primeiro aquecimento, os complexos tiveram características do tipo I, consistindo em uma estrutura considerada amorfa. Kawai et al. (2012) também encontraram complexos tipo I, com temperaturas de pico de 90°C e 92°C entre amido de batata e ácido láurico e palmítico,

respectivamente. A formação do complexo com polimorfismo tipo I geralmente é favorecida por uma rápida nucleação acoplada a uma disposição de segmentos helicoidais de forma aleatória (GODET et al., 1995, SEO, KIM; LIM, 2015).

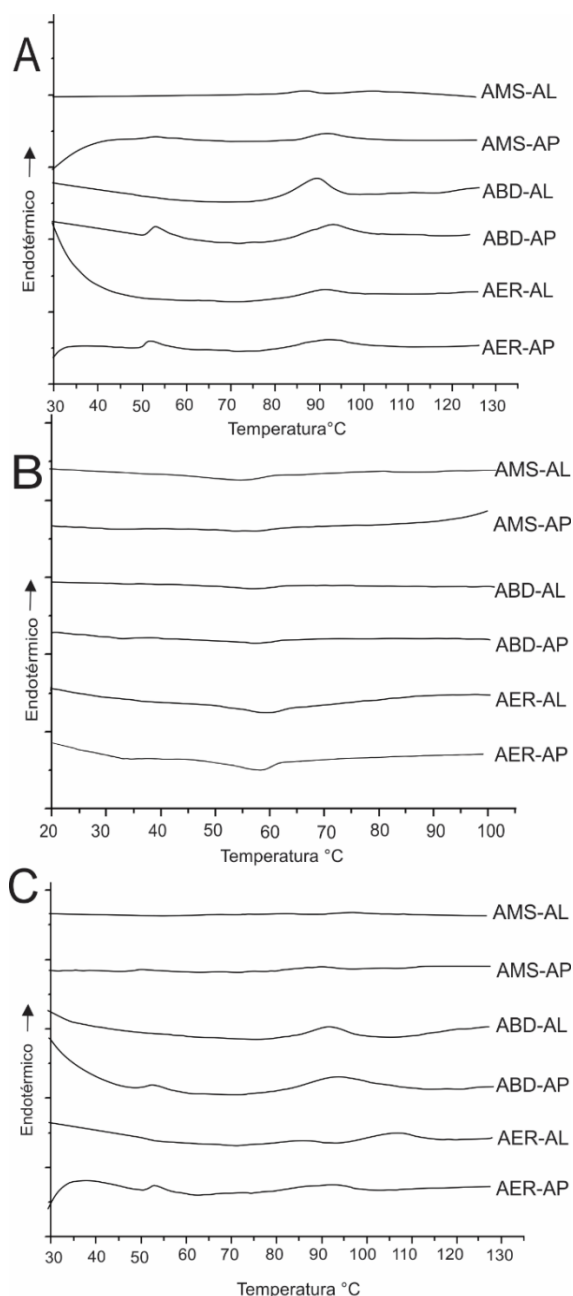


Figura 9 - Termogramas das misturas cozidas de amido-AGS, A) Aquecimento, B) Resfriamento, C) Reaquecimento. AMS-AL: amido de mandioquinha-salsa-ácido láurico, AMS-AP: amido de mandioquinha-salsa-ácido palmítico, ABD-AL: amido de batata-doce-ácido láurico, ABD-AP: amido de batata-doce-ácido palmítico, AER-AL: amido de ervilha rugosa-ácido láurico, AER-AP: amido de ervilha rugosa-ácido palmítico.

Os termogramas de resfriamento (Figura 9-B) mostraram picos exotérmicos indicando a recristalização dos complexos, com temperaturas abaixo da dissociação dos complexos variando de 56,1 a 59,4°C. Garcia e Franco (2015) também observaram que os picos exotérmicos referentes à recristalização dos complexos amido-monostearato de glicerol ocorreram em temperaturas mais baixas que aquelas dos picos de fusão dos complexos. As misturas de ABD-AP e AER-AP também mostraram leves picos a 35°C referentes à solidificação do AP não complexado.

Tabela 11 - Propriedades térmicas das misturas de mandioquinha-salsa (AMS), batata-doce (ABD) e ervilha rugosa (AER) complexados com ácidos graxos saturados.

A) Aquecimento				
Amidos	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)
AMS-AL	83,2±0,1 ^e	90,0±0,0 ^c	96,1±0,3 ^d	1,0±0,1 ^c
AMS-AP	89,1±0,9 ^a	96,7±0,3 ^a	103,3±0,8 ^b	1,5±0,1 ^c
ABD-AL	83,9±0,2 ^{de}	92,6±0,8 ^b	99,4±0,6 ^c	3,6±0,4 ^a
ABD-AP	87,2±0,6 ^b	97,4±0,4 ^a	106,6±0,5 ^a	3,5±0,3 ^a
AER-AL	85,2±0,3 ^{cd}	93,2±0,2 ^b	102,3±0,2 ^b	2,8±0,1 ^b
AER-AP	86,3±0,6 ^{bc}	96,6±0,1 ^a	107,3±0,5 ^a	3,1±0,2 ^{ab}
B) Resfriamento				
Amidos	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)
AMS-AL	60,2±0,2 ^e	56,1±0,4 ^c	47,7±0,8 ^c	-0,6±0,1 ^c
AMS-AP	63,7±0,9 ^{ab}	58,6±0,3 ^{ab}	47,2±0,0 ^c	-1,2±0,0 ^{ab}
ABD-AL	62,4±0,7 ^{bc}	57,3±0,6 ^{bc}	50,2±0,5 ^b	-2,6±0,4 ^a
ABD-AP	65,0±0,1 ^a	57,8±0,2 ^b	46,5±0,3 ^c	-2,9±0,5 ^a
AER-AL	61,7±0,9 ^{de}	58,1±0,7 ^{ab}	52,2±0,7 ^a	-0,8±0,1 ^c
AER-AP	62,9±0,8 ^{bd}	59,4±0,7 ^a	53,3±0,1 ^a	-1,5±0,2 ^b
C) Reaquecimento				
Amidos	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)
AMS-AL	83,8±0,1 ^{ab}	89,8±0,3 ^c	96,5±0,8 ^d	0,5±0,1 ^c
AMS-AP	84,6±0,6 ^a	95,1±0,4 ^a	100,7±0,2 ^b	0,6±0,0 ^c
ABD-AL	82,6±0,7 ^{bc}	91,5±0,7 ^b	98,2±0,5 ^c	3,1±0,2 ^a
ABD-AP	84,9±0,1 ^a	95,6±0,5 ^a	104,5±0,4 ^a	2,7±0,1 ^a
AER-AL	81,6±0,9 ^c	90,3±0,0 ^c	95,2±0,9 ^e	0,70±0,0 ^c
AER-AP	79,9±0,6 ^d	92,2±0,2 ^b	99,0±0,0 ^c	1,5±0,5 ^b
Dissociação T_p >100°C (Reaquecimento)				
AER-AL	101,5±0,8	110,4±0,2	117,3±0,4	1,60±0,50

Média de três determinações com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Segundo Kawai et al. (2012) o valor de entalpia está associado com a quantidade de complexo e a cristalinidade, porém, a relação da entalpia está mais fortemente relacionada com a quantidade de complexo amido-lipídio formado. Diante disso, nota-se que houve maior formação de complexos nas misturas de ABD ($\Delta H = -2,6 \text{ J/g}$ e $-2,9 \text{ J/g}$ para AL e AP, respectivamente), seguido das misturas de AER e AMS (Tabela 11), pois apresentaram os maiores valores de entalpia. É possível que o maior tamanho das moléculas de amilose do ABD tenha contribuído para a maior interação com os AGS resultando em maior formação de complexos tipo V, pois as cadeias mais longas de amilose são mais favoráveis à formação de complexos estáveis (SEO; KIM; LIM, 2015).

Dentre os amidos, as raízes e tubérculos destacam-se por apresentar massas moleculares da amilose maiores que as de amido de cereais, enquanto as moléculas de amilose de leguminosas tem massa molecular intermediária (DRIES et al., 2016). Por exemplo, o grau de polimerização do amido de batata-doce é de 3280 enquanto o do amido de ervilha é de 2150 (TAKEDA et al., 1987; DRIES et al. 2016). Diante dessas informações, sugere-se que estas características tiveram influência na formação dos complexos, pois apesar do menor teor de amilose do ABD, as misturas contendo esse amido mostraram-se com maior capacidade de formar complexos do que as misturas com AER.

No ciclo de reaquecimento (Figura 9-C), as temperaturas de dissociação dos complexos foram inferiores às daquelas do primeiro aquecimento, pois a dissociação do complexo recristalizado acontece com menor força do que no primeiro aquecimento (ELIASSON, 1994). Neste ciclo também foi possível observar a dissociação de complexos com estruturas semicristalinas do tipo I, porém na mistura AER-AL, além da estrutura tipo I, também foi identificado uma estrutura do tipo IIa, com temperatura de dissociação entre 101,5 e 117,3 °C e entalpia de 1,6 J/g (Figura 9, II, C; Tabela 11). Nos difractogramas de raios-X, a mistura AER-AL também mostrou um pico mais intenso a 20° em 2θ que a mistura AER-AP (Figura 8-III), indicando a formação de complexos tipo IIa, os quais se fundem em aproximadamente 115°C (PANYOO; EMMAMBUX, 2016).

Os picos de dissociação dos complexos das misturas cozidas amido-AGS foram mais facilmente detectáveis e mostraram maiores entalpias, quando comparado com os picos de dissociação dos amidos nativos adicionados de AGS durante a gelatinização (Figura 5). Okumus et al. (2018) e Ai, Jane, Hasjim (2013) também observaram que o cozimento das misturas amido-lipídios favoreceu a formação dos complexos amido-lipídios, provavelmente devido ao maior tempo de reação, agitação e secagem das amostras.

5.13 Digestibilidade das misturas cozidas amido-AGS

As diferenças nas susceptibilidades enzimáticas dos amidos têm sido atribuídas a interações de muitos fatores tais como fonte de amido, tamanho do grânulo, extensão da associação entre componentes de amido, taxa de amilose e amilopectina, retrogradação da amilose/grau de cristalinidade (CHUNG, LIU, HOOVER, 2009; OKUMUS et al., 2018) e complexo amilose-lípido (RATNAYAKE et al., 2001).

Os amidos gelatinizados exibiram alta digestibilidade (Tabela 12), a qual é atribuída à perda da estrutura granular durante a gelatinização, com o teor de amido rapidamente digerível (ARD) variando de 77,8 a 90,7%, para AER e AMS, respectivamente. O teor de amilose é um dos principais fatores que influenciam a resistência enzimática do amido (CAI et al., 2014; GALLANT et al., 1992). Amidos com alto teor de amilose (como é o caso do AER) são mais resistentes ao ataque enzimático do que amidos regulares, pois as moléculas de amilose estão mais densamente empacotadas (JIANG et al., 2010). Este amido também apresentou o maior conteúdo de amido lentamente digerível (ALD).

Tabela 12 - Conteúdo de ARD, ALD e AR dos amidos gelatinizados e das misturas cozidas de amido-AGS.

Amidos	ARD	ALD	AR
AMSG	90,7±0,5 ^a	8,5±0,4 ^b	1,4±0,2 ^e
AMS-AL	65,9±0,7 ^d	2,0±0,5 ^e	31,9±0,2 ^c
AMS-AP	65,0±0,9 ^d	3,8±0,5 ^d	31,4±0,3 ^c
ABDG	84,4±0,4 ^b	13,2±0,7 ^b	2,2±0,1 ^e
ABD-AL	60,7±0,7 ^e	3,4±0,3 ^d	35,5±0,7 ^b
ABD-AP	60,8±0,8 ^e	3,8±0,3 ^d	36,3±0,8 ^b
AERG	77,8±0,2 ^c	16,6±0,1 ^a	5,5±0,3 ^d
AER-AL	42,5±0,8 ^f	7,0±0,3 ^c	51,3±0,3 ^a
AER-AP	41,8±0,5 ^f	7,7±0,4 ^c	50,5±0,9 ^a

Média de três determinações, com o respectivo desvio padrão. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A susceptibilidade enzimática dos complexos amilose-lipídios pode ser explicada por dois mecanismos, o primeiro consiste no fato de que o lipídio é capaz de restringir o inchamento dos grânulos e, portanto, a enzima tem dificuldade em alcançar o interior do grânulo de amido. Já o segundo afirma que os complexos são insolúveis e que são mais resistentes à digestão enzimática do que a amilose livre (AI, JANE, HASJIM, 2013; ZHANG et al., 2012). Dessa forma, a adição dos AGS provocou uma redução significativa nos teores de ARD e ALD, com um consequente aumento no teor de AR concordando com estudos anteriores (HASJIM et al., 2010; TESTE; MORRISSON, 1990; OKUMUS et al., 2018).

Os maiores teores de AR foram encontrados nas misturas de AER seguido de ABD e AMS e normalmente estão relacionados com a maior quantidade e estabilidade dos cristais de complexos cristalinos. Entretanto, os resultados anteriores mostraram que as misturas ABD-AL e ABD-AP tiveram maior cristalinidade (30,1 e 35,5%), maior entalpia (-2,6 e -2,9 J/g) e maior índice de complexação (91,1 e 91%) que as misturas AER-AGS. O elevado teor de amido resistente nas misturas de AER-AGS pode estar relacionado tanto com a formação de complexos amilose-lipídios insolúveis (AR5) quanto com a retrogradação da amilose livre (AR3), provavelmente devido ao alto teor de amilose deste amido que se retrogradou durante o processo de obtenção das misturas cozidas.

6 CONCLUSÃO

O efeito dos AGS no comportamento de gelatinização dos amidos mostrou evidências de complexos formados na superfície dos grânulos e alterações nas propriedades físico-químicas dos amidos, como diminuição da amilose lixiviada, redução do inchamento e solubilidade, alterações nas propriedades de pasta e atraso na temperatura de gelatinização. A análise de componentes principais mostrou que o efeito da interação dos ácidos graxos na gelatinização dos amidos foi semelhante para AMS e ABD. O AL, por ser mais solúvel, teve maior influência que o AP durante a gelatinização. As misturas cozidas de amidos-AGS mostraram altos índices de complexação e seus difractogramas apresentaram picos característicos de complexos tipo V. Houve formação de complexos amorfos (tipo I) em todas as misturas, mas as misturas AER-AGS também mostraram formação de complexos cristalinos. As misturas cozidas amido-AGS mostraram-se resistentes à ação enzimática, independente do AGS utilizado. O teor de AR foi alto em todas as misturas atingido valores superiores a 50% nas misturas AER-AGS, seguido de ABD-AGS e AMS-AGS. Esses resultados são promissores, uma vez que os complexos foram produzidos de maneira simples e sem utilização de qualquer produto químico, potencializando seu uso como um ingrediente seguro e funcional.

7 REFERÊNCIAS

- AI, Y.; HASJIM, J.; JANE, J. Effects of lipids on enzymatic hydrolysis and physical properties of starch. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 92, p. 120-127, 2013.
- AI, Y.; JANE, J. Gelatinization and rheological properties of starch. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 65, p. 213-224, 2015.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC). **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. Saint Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, 2000.
- BILIADERIS, C. G. Structures and phase-transitions of starch in food systems. **Food Technology**, v. 46, n. 6, p. 98-109, 1992.
- BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granule: structure and biosynthesis: – mini review. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 23, n. 2, p. 85–112, 1998.
- CAI, C.; ZHAO, L.; HUANG, J.; CHEN, Y.; WEI, C. Morphology, structure and gelatinization properties of heterogeneous starch granules from high-amylose maize. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 606-614, 2014.
- CHANG, F.; HE, X.; HUANG, Q. Effect of lauric acid on the V-amylose complex distribution and properties of swelled normal corn starch granules. **Journal of Cereal Science**, London, v. 58, p. 89-95, 2013.
- CHUNG, H. J; LIU, Q. Physicochemical properties and in vitro digestibility of flour and starch from pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 50, p. 131– 137, 2012.
- CONDE-PETIT, B.; ESCHER, F.; NUESSELI, J. Structural features of starch-flavor complexation in food model systems. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 17, p. 227–235, 2006.
- COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, p. 1527–1534, 2009.
- CRAIG, A. S.; MANINGAT, C. C.; SEIB, P. A.; HOSENEY, R. C. Starch pasta clarity. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 66, n. 3, p. 173-182, 1989.
- CZUCHAJOWSKA, Z.; OTTO, T.; PASZCZYNSKA, B.; BAIK, B. Composition, Thermal Behavior, and Gel Texture of Prime and Tailings Starches from Garbanzo Beans and Peas. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 4, p. 466-472, 1998.
- DAVYDOVA, N. I., LEONT'EV S.P., GENIN Y.V, SASOVA.Y., BOGRACHEVAT.Y. Some physico-chemical properties of smooth pea starches. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 27, n. 2, p. 109-115, 1995.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

DIAMANTINO, I. M.; PENNA, A. L. B. Efeito da utilização de substitutos de gordura em queijos *light*. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 70, n. 3, p. 258-267, 2011.

DRIES D.M.; GOMAND S.V; DELCOUR J.A.; GODERIS B. V-type crystal formation in starch by aqueous ethanol treatment: The effect of amylose degree of polymerization. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 6, p.649-661, 2016.

DUNCAN, S. E. **Food Chemistry: Principles and Applications**. In: CHRISTEN, G. L.; SMITH, J. *Lipids: Basic concepts*. West Sacramento, CA: Science Technology System, p. 79-96, 2000.

ELIASSON, A. C. Interactions between starch and lipids studied by DSC. **Thermochimica Acta**, v. 246, p. 343-356, 1994.

ELIASSON, A. C. Lipid-Carbohydrate Interactions. In: HAMER, R.J; HOSENEY, R.C. **Interactions: The Keys to Cereal Quality**. St. Paul: American Association of Cereal Chemistry, 374, 1998.

ELIASSON, A. C. **Starch in food** - structure, function and applications. New York: Boca Raton, CRC, 2004.

ENGLYST, H. N.; KINGMAN, S. M.; CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 46, p. 33-50, 1992.

EXARHOPOULOS, S.; RAPHAELIDES, S. N. Morphological and structural studies of thermally treated starch-fatty acid systems. **Journal of Cereal Science**, London, v. 55, p. 139-152, 2012.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. STATISTICS DIVISION. 2016. **Production of cassava and sweet potato in world**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em mar. 2017.

FAROOQ, A. M.; DHITAL, S.; LI, CHAO. ZHANG, B. HUANG, Q. Effects of palm oil on structural and in vitro digestion properties of cooked rice starches. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1080-1085, 2018.

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. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**: Propriedades gerais do amido. Campinas: Fundação Cargill, 2001.v.1, 224p, 2001.

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

FRENCH, D. Organization of starch granules. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; PASCHAL, E. F. **Starch: chemistry and technology**, v.2, p. 183-247, 1984.

FUENTES-ZARAGOZA, E.; RIQUELME-NAVARRETE, M.J.; SÁNCHEZ-ZAPATA,E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. Resistant starch as functional ingredient: a review. **Food Research International**, Canada, v. 43, p. 931-942, 2011.

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

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BULÉON, A.; PEREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, p. 3-16, 1992.

GARCIA, M. C.; FRANCO, C. M. L. Effect of glycerol monostearate on the gelatinization behavior of maize starches with different amylose contents. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 67, p. 107-116, 2015.

GARCIA, M. C.; PEREIRA-DA-SILVA, M. A.; TABOGA, S.; FRANCO, C. M. L. Structural characterization of complexes prepared with glycerol monoestearate and maize starches with different amylose contents. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.148, p. 371-379, 2016.

GELENCSE, T.; JUHASZ, R.; HODSAGI, M.; GERGELY, SZ; SALGO, A. Comparative study of native and resistant starches. **Acta Alimentaria**, Budapest, v. 37, n. 2, p. 255-270, 2008.

GIDLEY, M. J.; BOCIEK, S. M. Molecular organization in starches: A C¹³ CP/MAS NMR study. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 107, n. 24, p. 7040-7044, 1985.

GODET M.C., BIZOT H., BULÉON A. Crystallization of amylose-fatty acid complexes prepared with different amylose chain lengths. **Carbohydrate Polymers**, v. 27, n. 1, p. 47-52, 1995.

GODET, M., BOUCHET, B., COLONNA, P., GALLANT, D. J., BULEON, A. Crystalline amylose fatty acid complexes: morphology and crystal thickness. **Journal of Food Science**, v. 6, n. 6, p. 1196-1201, 1996.

HASJIM, J.; LEE, S. O.; HENDRICH, S.; SETIAWAN, S.; AI, Y.; JANE, J. I. Characterization of a novel resistant-starch and its effects on postprandial plasmagluose and insulin responses. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 87, p. 257-262, 2010.

HILBERT, G. E.; MACMASTERS, M. M. Pea starch, a starch of high amylase content. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 162, p. 229-238, 1946.

HOOD, L. F.; SEIFRIED, A. S. Effect of storage on the microstructure and syneresis of modified tapioca starch-milk gels. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 39, p. 121-124, 1974.

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

HUANG, T- T.; ZHOU, D- N.; JIN, Z- Y.; XU, X- M.; CHEN, H- Q. Effect of repeated heat-moisture treatments on digestibility, physicochemical and structural properties of sweet potato starch. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 54, p. 202-210, 2016.

JANE, J. Current understanding on starch granule structure. **Journal of Applied Glycoscience**, Tokyo, v. 53, n. 3, p. 205-213, 2006.

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

JIANG, H.; CAMPBELL, M.; BLANCO, M.; JANE, J. Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches: Part II. Structures and properties of starch residues remaining after enzymatic hydrolysis at boiling water temperature. **Carbohydrate Polymers**, v.80, p. 1-12, 2010.

KARKALAS, J., MA, S., MORRISON, W. R., PETHRICK, R. A. Some factors determining the thermal properties of amylose inclusion complexes with fatty acids. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 268, n. 2, p. 233-247, 1995.

KAWADA, J.; MARCHESSAULT, R.H. Solid State NMR and X-ray Studies on amylose complexes with small organic molecules. **Starch/Stärke**, v. 56, p. 13-19, 2004.

KAWAI, K.; TAKATO, S.; SASAKI T.; KAJIWARA, K. Complex formation, thermal properties, and in-vitro digestibility of gelatinized potato starch-fatty acid mixtures. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, p. 228-234, 2012.

LAI, Y. C., SHU Y. W., HUAN Y. G., KHIEM M. N., CHINH H. N., MING C. S., KUAN H. L. Physicochemical properties of starches and expression and activity of starch biosynthesis related genes in sweet potatoes. **Food Chemistry**, v. 199, p. 556-564, 2016.

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

LEHNINGER, A. L.; NELSON D. L. **Princípios de Bioquímica**. New York: Sarvier, 1995.

LINEBACK, D. R. The starch granule: organization and properties. **Bakers's Digest**, Beloit, v. 58, n. 2, p. 16-21, 1984.

MARINOPOULOU A.; PAPASTERGIADIS E.; RAPHAELIDES S. N.; KONTOMINAS, M. G. Structural characterization and thermal properties of amylose-fatty acid complexes prepared at different temperatures. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 141, p. 106-115, 2016.

MENG, S., MA, Y.; SUN, D.W.; WANG, L.; LIU, T. Properties of starch-palmitic acid complexes prepared by high pressure homogenization. **Journal of Cereal Science**, London, v. 59 p. 25-32, 2014.

MIRA, I.; PERSSON, K.; VILLWOCK, V. K. On the effect of surface active agents and their structure on the temperature-induced changes of normal and waxy wheat starch in aqueous suspension. Part 1.Pasting and calorimetric studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 665-678, 2007.

MORAES, J.; ALVES, F. S.; FRANCO, C. M. L. Effect of ball milling on structural and physicochemical characteristics of cassava and peruvian carrot starches. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 65, p. 200-209, 2013.

MORRISON, W. R.; LAW, R. V.; SNAPE, C. E. Evidence for inclusion complexes of lipids with V-amylose in maize, rice and oat starches. **Journal of Cereal Science**, London, v. 18, p. 107-109, 1993.

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

OBIRO, W. C.; RAY, S. S.; EMMAMBUX, M. N. V-amylose Structural Characteristics, Methods of Preparation, Significance, and Potential Applications. **Food Reviews International**, v. 28, p. 412-438, 2012.

OKUMUS, B. N.; TACER-CABA, Z.; KAHRAMAN, K., NILUFER-ERDIL, D. Resistant starch type V formation in brown lentil (*Lens culinaris Medikus*) starch with different lipids/fatty acids. **Food Chemistry**, v. 240, p.550–558, 2018.

PALAV, T.; SEETHARAMAN, K. Mechanism of starch gelatinization and polymer leaching during microwave heating. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 65, n. 3, p. 364-370, 2006.

PANYOO, A. E.; EMMAMBUX, M. N. Amylose–lipid complex production and potential health benefits: A mini-review. **Starch - Stärke**, v. 69: n/a, 1600203. doi:10.1002/star.201600203, 2017.

PEREZ, S.; BALDWIN, P. M.; GALLANT, D. J. Structural features of starch granules I. In: BEMILLER, J.; WHISTLER, R. **Starch: chemistry and technology**. Burlington: Academic Press. 2009. p. 149-192. Disponível em: <<http://197.14.51.10:81/pmb/AGROALIMENTAIRE/Starch.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2017.

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**, London, v.12, p. 505-513, 2006.

POLESI, L. F.; SARMENTO, S. B. S.; ANJOS, C. B. P. Composition and characterization of pea and chickpea starches. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 74-81, 2011.

PUTSEYS, J. A.; LAMBERTS, L.; DELCOUR, J. A. Amylose-inclusion complexes: formation, identity and physico-chemical properties. **Journal of Cereal Science**, London, v. 51, n. 3, p. 238-247, 2010.

RAGHUNATHAN, R., HOOVER, R., WADUGE, R., LIU, Q., WARKENTIN, T.D. Impact of molecular structure on the physicochemical properties of starches isolated from different field pea (*Pisum sativum L.*) cultivars grown in Saskatchewan, Canada. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1514-1521, 2017.

RATNAYAKE, W. S.; HOOVER, R.; WARKENTIN, T. Pea starch: composition, structure and properties: - a review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 54, n. 6, p. 217-234, 2002.

ROCHA, T. S.; CARNEIRO, A. P. A.; FRANCO, C. M. L. Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 544-551, 2010.

ROCHA, T. S.; CUNHA, V. A. G.; JANE, J.-L.; 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**, Easton, v. 59, p. 4208-4216, 2011.

ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M.; FRANCO, C. M. L. Características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 620-628, 2008.

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

SALMAN, H.; COPELAND, L. Effect of repeated heating and cooling cycles on the pasting properties of starch. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 105-109, 2010.

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.

SEO, T. R.; KIM J. Y.; LIM, S. T. Preparation and characterization of crystalline complexes between amylose and C18 fatty acids. **Food Science and Technology**, London, v. 64 p. 889-897, 2015.

SHI, M.; GAO, Q. Recrystallization and in vitro digestibility of wrinkled pea starch gel by temperature cycling. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 61, p. 712-719, 2016.

SHI, M.; ZHANG, Z.; YU, S.; WANG, K.; GILBERT, R. G.; GAO, Q. Pea starch (*Pisum sativum* L.) with slow digestion property produced using α -amylase and transglucosidase. **Food Chemistry**, London, v. 164, p. 317-323, 2014

SINGH, M., BYARS, J. A., Starch-lipid composites in plain set yogurt. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, 106-110, 2009.

SINGH, M., KIM, S., Yogurt fermentation in the presence of starch–lipid composite. **Journal Food Science**, v. 74, p. 85-89, 2009.

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

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

TANG, M. C.; COPELAND, L. Analysis of complexes between lipids and wheat starch. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 67, p. 80-85, 2007.

TEKLEHAIMANOT, W. H., DUODU, K. G., EMMAMBUX, M. N., Maize and teff starches modified with stearic acid as potential fat replacer in low calorie mayonnaise-type emulsions. **Starch-Stärke**, v. 65, p. 773-781, 2013.

TESTER, R. F. Starch: the polysaccharide fractions. In: FRAZIER, P. J.; RICHMOND, P.; DONALD, A. M. (Ed.). **Starch, structure and functionality**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, p. 163-171, 1997.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches: II: waxy rice starches. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.67, n. 6, p 558-563, 1990.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A.; **Starches**. Saint Paul: Eagan Press, 1999.

VIEIRA, F. C.; SARMENTO, S. B. S. Heat-Moisture Treatment and Enzymatic Digestibility of Peruvian Carrot, Sweet Potato and Ging. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 223–232, 2008.

WANG, S.; WANG, J.; YU, J.; WANG, S. Effect of fatty acids on functional properties of normal wheat and waxy wheat starches: a structural basis. **Food Chemistry**, Oxford, v. 190, p. 285-292, 2016.

ZHANG, B.; HUANG, Q.; LUO, F. X.; FU, X. Structural characterizations and digestibility of debranched high-amylose maize starch complexed with lauric acid. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.28, p. 174-181, 2012.

ZHU, F., YANG, X. S., CAI, Y. Z., BERTOFT, E., CORKE, H. Physicochemical properties of sweet potato starch, **Starch/Stärke**, v. 63, p. 249–259, 2011.

ZHU, F.; WANG, S. Physicochemical properties, molecular structure, and uses of sweet potato starch. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 36, p. 68-78, 2014.