

PATRÍCIA GUEDES YONEMOTO

**“EFEITO DO TAMANHO DOS GRÂNULOS NAS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-
QUÍMICAS DO AMIDO DE TRIGO”**

São José do Rio Preto - SP

Setembro/2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PATRICIA GUEDES YONEMOTO

**“EFEITO DO TAMANHO DOS GRÂNULOS NAS
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-
QUÍMICAS DO AMIDO DE TRIGO”**

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

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

Yonemoto, Patrícia Guedes.

Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo / Patrícia Guedes Yonemoto. - São José do Rio Preto : [s.n], 2006.

101 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Célia Maria Landi Franco

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Amido - Características estruturais. 3. Amido - Características físico-químicas. 4. Amido de trigo - Anelamento. 5. Amido de trigo - Annealing. 6. Amido de trigo - Tamanho dos grânulos. I. Franco, Célia Maria Landi. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 664.231

PATRICIA GUEDES YONEMOTO

**“EFEITO DO TAMANHO DOS GRÂNULOS NAS CARACTERÍSTICAS
ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DO AMIDO DE TRIGO”**

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

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Célia Maria Landi Franco - Universidade Estadual Paulista – Campus de São José do Rio Preto, SP (Orientadora)

Prof. Dr, Ivo Mottin Demiate – Universidade Estadual de Ponta Grossa – Ponta Grossa – PR (Titular)

Profª Drª Ana Lúcia Barreto Penna – Universidade Estadual Paulista – Campus São José do Rio Preto, SP (Titular)

Profª Drª Silene Bruder Silveira Sarmento – ESALQ – USP - Piracicaba – SP (Suplente)

Prof. Dr. Elizeu Trabuco – Universidade Estadual Paulista – Campus de São José do Rio Preto, SP (Suplente)

São José do Rio Preto, 29 de Setembro de 2006.

“Alcançar o sucesso pelos próprios méritos,
vitoriosos os que assim procedem.”
(Sócrates)

Dedico este trabalho aos meus pais, Nelson e Margarida, aos meus irmãos Priscila, Vivian, Guilherme e Renata pelo amor, compreensão e apoio...

AGRADECIMENTOS

A Deus pela presença constante em minha vida, sempre me iluminando e dando forças para realização de todos os meus sonhos;

À Prof^a Dr^a Célia Maria Landi Franco pela oportunidade, confiança, paciência, amizade e orientação deste trabalho;

À Prof^a Dr^a Maria Antônia Calori Domingues pela concessão das amostras para realização desse trabalho;

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

Aos professores integrantes da banca examinadora, Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate, Prof^a Dr^a Ana Lúcia Barreto Penna, Prof^a Dr^a Silene Bruder Silveira Sarmiento, Prof. Dr. Elizeu Trabuco, pelas correções e sugestões que enriqueceram a pesquisa realizada;

Ao Prof. Dr. Sebastião Taboga, por ceder o equipamento necessário à realização das análises de microscopia óptica;

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação, pelos preciosos ensinamentos durante o desenvolvimento do Curso de Mestrado;

Aos técnicos dos laboratórios do DETA, em especial ao Ginaldo, Newton e Tânia, por toda ajuda concedida durante a realização dos experimentos;

À Capes pela concessão da bolsa de mestrado;

Ao Instituto de Física de São Carlos – USP, pela realização das análises de difração de raio-X e microscopia eletrônica de varredura;

A todos da Seção de Pós-Graduação pela atenção e eficiência;

Às todas as amigas da pós-graduação, Andréia, Cláudia, Fabiana, Fernanda, Luara e Malu, pela amizade e companheirismos vividos;

Às minhas amigas do laboratório de cereais, Bia, Bianca, Carolina J., Carol, Denise, Fernanda, Luara, Marô, Paula, Susi, Tati e Thaís por todo auxílio prestado em todos os momentos, além da grande amizade;

Aos meus pais, Nelson e Margarida, por todo esforço, paciência e dedicação para que eu alcançasse meus objetivos;

Aos meus irmãos Priscila, Vivian, Guilherme e Renata pelo amor, amizade e companheirismo;

Ao meu namorado Matheus pelo amor, compreensão e apoio;

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

RESUMO

A distribuição de tamanho dos grânulos de amido é uma característica importante que influencia diretamente a composição química do amido afetando sua funcionalidade, gelatinização, propriedades de pasta, susceptibilidade enzimática, características de panificação e cristalinidade. Os grânulos de amido de trigo possuem distribuição bimodal de tamanho e geralmente são divididos em grânulos tipo A (10-40 μm) e tipo B ($\leq 10 \mu\text{m}$). “Annealing” é uma modificação física que consiste no aquecimento de uma suspensão de amido abaixo de sua temperatura de gelatinização e acima de sua temperatura vítrea. Essa modificação altera as propriedades térmicas e a susceptibilidade enzimática dos amidos, as quais influenciam diretamente a utilização dos mesmos em produtos alimentícios. Neste trabalho amidos de trigo obtidos de quatro diferentes cultivares foram isolados e fracionados por tamanho. Amostras dos amidos de diferentes tamanhos foram analisadas quanto ao teor de fósforo e lisofosfolípídeos, teor de amilose, difração de raios-X, microscopia eletrônica de varredura, susceptibilidade enzimática, propriedades térmicas e poder de inchamento. Os amidos de diferentes tamanhos também foram submetidos ao “annealing” e analisados quanto às suas propriedades térmicas e susceptibilidade enzimática além de serem observados em microscópio eletrônico de varredura. O fracionamento possibilitou a divisão dos grânulos de amido em grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$) e grânulos pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$). Independente do cultivar estudado, os grânulos grandes mostraram diâmetro médio de 22 μm e formato lenticular, enquanto os grânulos pequenos apresentaram diâmetro médio de 6 μm e formato arredondado. Grânulos grandes apresentaram menor teor de fósforo e lisofosfolípídeos que os pequenos, porém maior teor de amilose. Os grânulos pequenos apresentaram maior índice de cristalinidade quando comparados aos grandes, sugerindo que o teor de amilose se correlaciona negativamente com o índice de cristalinidade. Apesar da maior cristalinidade, os grânulos pequenos, por apresentarem maior área superficial, foram mais suscetíveis à hidrólise que os grânulos grandes e apresentaram maior temperatura de gelatinização. O tratamento hidrotérmico aumentou as temperaturas de gelatinização de todas as amostras analisadas, porém não se observou diferença em relação ao tamanho de grânulos após “annealing”. Através de microscópio eletrônico de varredura, foram observadas alterações nos grânulos grandes diferentes daquelas

observadas nos grânulos pequenos que apresentaram perfurações após tratamento. Os amidos submetidos ao “annealing” foram mais susceptíveis à hidrólise enzimática sugerindo que o tratamento aumenta a acessibilidade da enzima às regiões mais amorfas dos grânulos.

Palavras-chave: amido, trigo, tamanho de grânulos, “annealing”, propriedades físico - químicas.

ABSTRACT

Size distribution of starch granules is an important characteristic that has direct influence on the chemical composition of the starch affecting its functionality, gelatinization, pasting properties, enzymatic susceptibility, baking characteristics and crystallinity. Wheat starch granules exhibit a bimodal size distribution and are generally divided in type A granules (10-40 μm) and type B (< 10 μm). Annealing is a physical change that involves heating a starch slurry below its gelatinization temperature and above its glass transition temperature. This modification alters thermal properties and enzymatic susceptibility, which directly affect the use of these modified starches in food products. In this work wheat starches obtained from four different cultivars were isolated and separated by size. Samples from the different size starches were analyzed regarding phosphorus and lysophospholipids content, amylose content, X-ray diffraction, scanning electron microscopy, enzymatic susceptibility, thermal properties and swelling power. Starches from different sizes were submitted to annealing and analyzed regarding its thermal properties and enzymatic susceptibility besides being observed in scanning electron microscopy. Separation made possible for the granules to be divided in large granules (> 15 μm) and small granules (\leq 10 μm). Independent of the cultivar studied, large granules showed average diameter of 22 μm and lenticular shape, while small granules showed average diameter of 6 μm and rounded shape. Large granules exhibited less phosphorus and lysophospholipids content than small granules but had higher amylose content. Small granules exhibited higher degree of crystallinity when compared to large granules, suggesting that amylose content is negatively related to the degree of crystallinity. In spite of having higher crystallinity, small granules, by exhibiting larger surface area, were more susceptible to hydrolysis and exhibited higher gelatinization temperature than large granules. The hydrothermal treatment increased gelatinization temperatures of all samples analyzed, however no difference regarding granule size after the annealing was observed. Through scanning electron microscopy, it could be seen changes in the large granules that differed from the changes in the small granules, which exhibited holes after the treatment. Starches submitted to annealing were more susceptible to enzymatic hydrolysis what suggest that treatment increases enzyme access to more amorphous regions of the granules.

Keywords: starch, wheat, granule size, annealing, physicochemical properties.

SUMARIO

	INDICE DE TABELAS	13
	INDICE DE FIGURAS	15
1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivos gerais.....	21
2.2	Objetivos específicos.....	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1	Amido.....	22
3.2	Amido de trigo.....	27
3.2.1	Efeito da classe dos grãos de trigo nas características do amido.....	28
3.2.2	Tamanho de grânulos do amido de trigo.....	29
3.2.3	Tratamento hidrotérmico (“ <i>Annealing</i> ”).....	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1	Material.....	36
4.2	Métodos.....	37
4.2.1	Isolamento do amido.....	37
4.2.2	Teor de umidade.....	38
4.2.3	Teor de nitrogênio.....	38
4.2.4	Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido.....	38
4.2.5	Separação dos grânulos de amido por tamanho.....	39
4.2.6	Microscopia eletrônica de varredura.....	39
4.2.7	Teor de fósforo e lisofosfolídeos.....	39
4.2.8	Teor de amilose total, amilose complexada com lipídeos e amilose aparente.....	40
4.2.9	Difração de Raios-X.....	41
4.2.10	Susceptibilidade enzimática.....	42
4.2.11	Propriedades térmicas.....	42
4.2.12	Poder de inchamento.....	43
4.2.13	Propriedades de pasta.....	43
4.2.14	“ <i>Annealing</i> ” dos amidos “ <i>integrais</i> ” e separados por tamanho.....	44
4.2.15	Propriedades térmicas dos amidos submetidos ao “ <i>annealing</i> ”.....	44
4.2.16	Microscopia eletrônica de varredura dos amidos submetidos ao “ <i>annealing</i> ”.....	44

4.2.17	Susceptibilidade enzimática dos amidos submetidos ao “annealing”.....	45
4.2.18	Análises Estatísticas.....	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	46
5.1	Teor de nitrogênio.....	46
5.2	Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido.....	46
5.3	Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido dos diferentes cultivares após separação por tamanho.....	50
5.4	Microscopia eletrônica de varredura.....	57
5.5	Teor de fósforo e de lisofosfolídeos.....	59
5.6	Teores de amilose total, amilose complexada com lipídeos e amilose aparente.....	61
5.7	Difração de Raios-X.....	64
5.8	Susceptibilidade enzimática.....	68
5.9	Propriedades térmicas.....	72
5.10	Poder de inchamento.....	74
5.11	Propriedades de pasta.....	76
5.12	CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DOS AMIDOS SUBMETIDOS AO “ANNEALING”	78
5.12.1	Propriedades térmicas dos amidos submetidos ao “annealing”.....	78
5.12.2	Microscopia eletrônica de varredura dos amidos submetidos ao “annealing”.....	79
5.12.3	Susceptibilidade enzimática dos amidos submetidos ao “annealing”.....	80
6	CONCLUSÕES	86
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Características agronômicas e tecnológicas dos genótipos de trigo avaliados.....	36
Tabela 2	Teor de nitrogênio e proteína dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	46
Tabela 3	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar ANAHUAC de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação.....	51
Tabela 4	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar IAC17 de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação.....	52
Tabela 5	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar BH1146 de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação.....	52
Tabela 6	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar IAC24 de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação.....	52
Tabela 7	Teor de fósforo dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	60
Tabela 8	Teor de lisofosfolípídeos dos amidos “integrais” e separados por tamanho isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	60
Tabela 9	Teor de amilose total dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados de diferentes cultivares de trigo.....	61
Tabela 10	Teor de amilose complexada com lipídeos dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados de diferentes cultivares de trigo.....	62
Tabela 11	Teor de amilose aparente dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados de diferentes cultivares de trigo.....	63
Tabela 12	Índice de cristalinidade dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	67
Tabela 13	Propriedades térmicas dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	73

Tabela 14	Poder de inchamento (PI) dos amidos "integrais" e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo, determinados a 70°C.....	75
Tabela 15	Propriedades de pasta dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	77
Tabela 16	Propriedades térmicas dos amidos "integrais" e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo, antes e após "annealing".....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química da amilose.....	23
Figura 2	Estrutura química da amilopectina.....	23
Figura 3	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar ANAHUAC.....	48
Figura 4	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar IAC17.....	48
Figura 5	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar BH1146.....	49
Figura 6	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar IAC24.....	49
Figura 7	Micrografias dos grânulos de amido de trigo, observados em microscópio óptico comum a: ANAHUAC; b: IAC17; c: BH1146; d: IAC24.....	50
Figura 8	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar ANAHUAC, após fracionamento.....	53
Figura 9	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar IAC17, após fracionamento.....	54
Figura 10	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar BH1146, após fracionamento.....	54
Figura 11	Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar IAC24, após fracionamento.....	55
Figura 12	Micrografias dos grânulos de amido de trigo obtidos após fracionamento apresentando mais que 81,7% de grânulos com diâmetros > 15µm, a: ANAHUAC, b: IAC17, c: BH1146, d: IAC17..	56
Figura 13	Micrografias dos grânulos de amido de trigo obtidos após fracionamento apresentando mais que 90% de grânulos com diâmetros ≤ 10µm, a: ANAHUAC , b: IAC17 , c: BH1146 , d: IAC17	57
Figura 14	Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo ANAHUAC antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15µm, c: ≤ 10 µm.....	58
Figura 15	Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo IAC17 antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15µm, c: ≤ 10 µm.....	58

Figura 16	Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo BH1146 antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15µm, c: ≤ 10 µm.....	58
Figura 17	Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo IAC24 antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15µm, c: ≤ 10 µm.....	59
Figura 18	Difractogramas de raios-X dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	65
Figura 19	Difractograma de raios-X descritivo do método de Índice de Cristalinidade adaptado à razão das intensidades difratadas (Amostra ANAHUAC).....	66
Figura 20	Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido, em função do tempo de incubação, durante a hidrólise dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo com α-amilase.....	69
Figura 21	Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar ANAHUAC, com α-amilase antes e após separação por tamanho.....	70
Figura 22	Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar IAC17, com α-amilase antes e após separação por tamanho.....	71
Figura 23	Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar BH1146, com α-amilase antes e após separação por tamanho.....	71
Figura 24	Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar IAC24, com α-amilase antes e após separação por tamanho.....	72
Figura 25	Perfil viscoamilográfico dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo.....	77

- Figura 26** Amidos de trigo “integral” e separados por tamanho obtidos do cultivar ANAHUAC, submetidos ao “annealing” observados ao microscópio eletrônico de varredura com aumentos de 2000 e 4000X: a: amido integral; b: amido integral + tratamento; c: > 15 μm ; d: > 15 μm + tratamento; e: $\leq 10 \mu\text{m}$; f: $\leq 10 \mu\text{m}$ + tratamento.. 81
- Figura 27** Amido de trigo “integral” e separados por tamanho obtidos do cultivar IAC17 submetidos ao “annealing” observados ao microscópio eletrônico de varredura com aumentos de 1000, 2000 e 4000X: a: amido “integral”; b: amido integral + tratamento; c: > 15 μm ; d: > 15 μm + tratamento; e: $\leq 10 \mu\text{m}$; f: $\leq 10 \mu\text{m}$ + tratamento... 82
- Figura 28** Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral” e separados por tamanho obtido dos diferentes cultivares, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas..... 83
- Figura 29** Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral” e separados por tamanho obtido do cultivar ANAHUAC, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas..... 84
- Figura 30** Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral” e separados por tamanho obtido do cultivar IAC17, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas..... 84
- Figura 31** Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral” e separados por tamanho obtido do cultivar BH1146, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas..... 85
- Figura 32** Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral” e separados por tamanho obtido do cultivar IAC24, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas..... 85

1 INTRODUÇÃO

Amido, depois da celulose, é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza. É encontrado nas raízes, sementes e frutos de vegetais superiores. As aplicações de amidos são, entretanto, dependentes de suas propriedades físicas e químicas, as quais variam de uma cultura para outra, ou são influenciadas por fatores ecológicos e agronômicos (ADEBOWALE et al., 2005). A funcionalidade dos amidos influencia ou controla propriedades, como textura, volume, consistência, umidade e vida de prateleira dos alimentos (RAEKER et al., 1998).

O trigo é o cereal mais cultivado no mundo, e o amido é o componente que está em maior quantidade no grão e na farinha de trigo. A aptidão dos trigos para diferentes usos industriais pode ser determinada por várias características do grão e da farinha, que dependem tanto do genótipo quanto das condições ambientais de produção (BEQUETE, 1989). Assim trigo adequado para um determinado uso pode apresentar certas qualidades que o faz totalmente insatisfatório para outro uso (HALVERSON; ZELENY, 1988).

Os cultivares de trigo mais comumente plantados (*Triticum aestivum*) são separados em duas classes distintas de dureza: trigo duro e trigo mole. Os termos duro e mole, quando aplicados aos cereais, estão relacionados à textura do endosperma (ATWELL, 2001). Os trigos duros requerem mais força para se desintegrarem e apresentam partículas mais grossas em relação aos trigos moles (HOSENEY et al., 1988; POMERANZ; WILLIAN, 1990). O trigo durum (*Triticum durum*) é caracterizado por apresentar alto grau de vitreosidade, endosperma com dureza relativamente alta e cor âmbar (EL-KHAYAT; SAMAAAN; BRENNAN, 2003).

Além dessas diferenças estruturais essas classes de trigo se diferem pela composição de proteína e absorção de água. Os trigos durum e duros apresentam alto teor de proteína e alta absorção de água, ao contrário do trigo mole que tem baixo teor de proteína e baixa absorção de água. Já o trigo semi-duro é um híbrido de trigo duro e mole e possui um teor de proteína intermediário. Os amidos obtidos dessas diferentes classes de trigo apresentam características próprias que influenciam o destino final deste polissacarídeo (ATWELL, 2001).

Nem todos os tipos de trigo são adequados para todos os usos. Trigos duros são geralmente usados na panificação e produtos fermentados e trigos moles são

usados na fabricação de bolos e outros produtos, como “crackers” e biscoitos (ATWELL, 2001). Já o trigo durum é usado basicamente para a produção de massas. No Brasil, além do trigo durum, o trigo duro também é utilizado para a produção de massas.

As condições de cultivo, colheita e armazenamento além da constituição genética da cada genótipo ditam a qualidade dos grãos que é refletida na qualidade dos produtos elaborados com a farinha obtida dos mesmos (DOMINGUES, 2002).

O papel do amido na formação de produtos panificáveis não está completamente esclarecido. Diversos autores têm reportado que amidos de outras fontes como arroz, milho, milho ceroso e batata não possuem as qualidades de panificação que o amido de trigo possui (SANSTED, 1961; HOSENEY et al., 1971, apud LII; LINEBACK, 1977). No entanto, os pesquisadores discordam sobre a relativa qualidade panificável do amido de diferentes variedades de trigo. Essas diferenças se dão devido às diferentes propriedades funcionais que esses amidos apresentam e que estão diretamente relacionadas às suas características estruturais.

As propriedades funcionais do amido, as quais são responsáveis pelas características singulares de alguns alimentos podem ser, em parte explicadas, pelas variações no tamanho dos grânulos de amido e na sua distribuição (PETERSON; FULCHER, 2001).

O amido de trigo, de acordo com vários pesquisadores (SOULAKA; MORRISON, 1985; MORRISON; SCOTT, 1986; ROLÉE; LE MESTE, 1997), possui uma distribuição bimodal em relação ao tamanho, apresentando grânulos tipo A ($> 10\mu\text{m}$), que são grandes e de forma lenticular, e grânulos tipo B ($\leq 10\mu\text{m}$), que são pequenos e de formato esférico.

Os dois tipos de grânulos de amido diferem em suas propriedades químicas e físicas e também têm diferentes usos finais (CHIOTELLI; LE MESTE, 2002). Grânulos pequenos podem ser usados como substitutos de gorduras (LIM et al., 1992), enquanto os grandes podem ser aplicados na manufatura de filmes plásticos biodegradáveis (NACHTERGAELE; VAN NUFFEL, 1989).

De acordo com Ando et al. (2002), o tamanho dos grânulos afeta a composição do amido, propriedades de pasta e gelatinização, características de panificação, cristalinidade e poder de inchamento. No entanto, alguns resultados são ainda conflitantes.

O tratamento hidrotérmico denominado “annealing”, é uma modificação física que altera as propriedades físico-químicas do amido sem modificar sua estrutura granular (ADEBOWALE et al., 2005). Por este procedimento, amidos são aquecidos em excesso de água à temperatura abaixo de sua temperatura de gelatinização e acima de sua temperatura vítrea (TESTER et al., 1998; JACOBS et al, 1998).

Modificações físicas como o “annealing” têm sido aplicadas em amidos para alterar suas propriedades físicas com a finalidade de suprir necessidades das indústrias (ADEBOWALE; LAVAL, 2002). O “annealing” pode fornecer aos amidos algumas características importantes. Como, por exemplo, quando esses amidos submetidos a gelatinização não retrogradam durante o resfriamento e por isso são mais estáveis durante a estocagem. Este comportamento é muito útil para as indústrias de alimentos, pois formulações que contêm esses amidos não perdem suas características e não endurecem com o tempo de estocagem (GOMES et al., 2005).

Muito do que se encontra na literatura sobre amido de trigo diz respeito ao trigo produzido em outros países e pesquisas utilizando variedades nacionais são necessárias.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas de amidos isolados de quatro diferentes genótipos de trigo nacional bem como estudar o efeito do tratamento hidrotérmico (“annealing”) sobre esses grânulos de diferentes tamanhos.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os amidos de trigo obtidos de quatro genótipos de trigo nacional;
- Investigar o efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas dos amidos obtidos;
- Investigar o efeito do “annealing” nas características estruturais e físico-químicas de grânulos de diferentes tamanhos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Amido

O amido é a principal fonte de energia dos grãos de cereais. Embora a quantidade de amido contida nos grãos varie geralmente se encontra entre 60 e 75% do peso do grão, produzindo 70-80% das calorias consumidas pelo homem.

Adicionalmente ao seu valor nutritivo, amidos naturais e modificados podem ser usados para modificar as propriedades funcionais de muitos alimentos. Amidos comerciais obtidos de grãos de cereais como milho, trigo, arroz, e de tuberosas como batata, batata doce e mandioca podem ser usados como gelificantes, espessantes, adesivos, retentores de umidade, estabilizantes e texturizantes. Amidos e produtos derivados de amido são também importantes em outras indústrias, como as de papel e têxtil. Suas características químicas e físicas exclusivas os diferenciam de todos os outros carboidratos. (THOMAS; ATWELL, 1997).

Os grânulos de amido são compostos por dois tipos de α -glucanas, amilose e amilopectina, as quais representam aproximadamente 98-99% do peso seco. A proporção dos dois polissacarídeos varia de acordo com a origem botânica do amido (TESTER; KARKALAS; QI, 2004). A maioria dos amidos contém entre 20 e 25% de amilose (p/p), porém alguns amidos cerosos contêm < 1% enquanto outros, como o amilomilho, possuem 65% deste polímero (PARKER; RING, 2001).

A amilose é uma α -glucana linear, relativamente longa contendo aproximadamente 99% de ligações α -(1-4) (Figura 1) e difere em tamanho e estrutura dependendo da origem botânica. Possui massa molar de aproximadamente $10^5 - 10^6$ g/mol, grau de polimerização (DP) de 324-4920 com aproximadamente 9 a 20 pontos de ramificação equivalentes a 3 a 11 cadeias por molécula (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

A amilopectina é um polímero maior que a amilose e apresenta uma estrutura bem ramificada de aproximadamente 95% de ligações α -(1-4) e 5% de ligações α -(1-6) (Figura 2) (TESTER; KARKALAS; QI, 2004). Sua massa molar varia entre $10^7 -$

10^9 g/mol, com a maioria na faixa de 10^8 . No entanto, estes polímeros possuem baixa viscosidade intrínseca (120 – 190 mL/g), em função do seu caráter altamente ramificado (BULÉON et al., 1998).

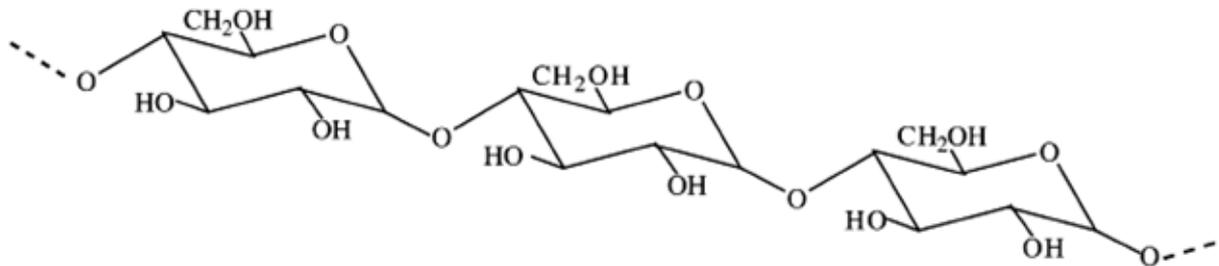


FIGURA 1 – Estrutura Química da Amilose
Fonte: MURALIKRISHNA; NIRMALA, 2005

A organização básica das cadeias da amilopectina é descrita em termos de cadeias A, B e C. As cadeias A são conectadas às cadeias B ou C via ligações $\alpha(1-6)$, mas não carregam qualquer ramificação, enquanto as cadeias B, também conectadas a outras cadeias via ligações $\alpha(1-6)$, possuem uma ou mais cadeias A ou B ligadas a ela nos pontos de ramificação. A cadeia C carrega o grupo redutor. (FRENCH, 1973, ROBIN et al., 1974)

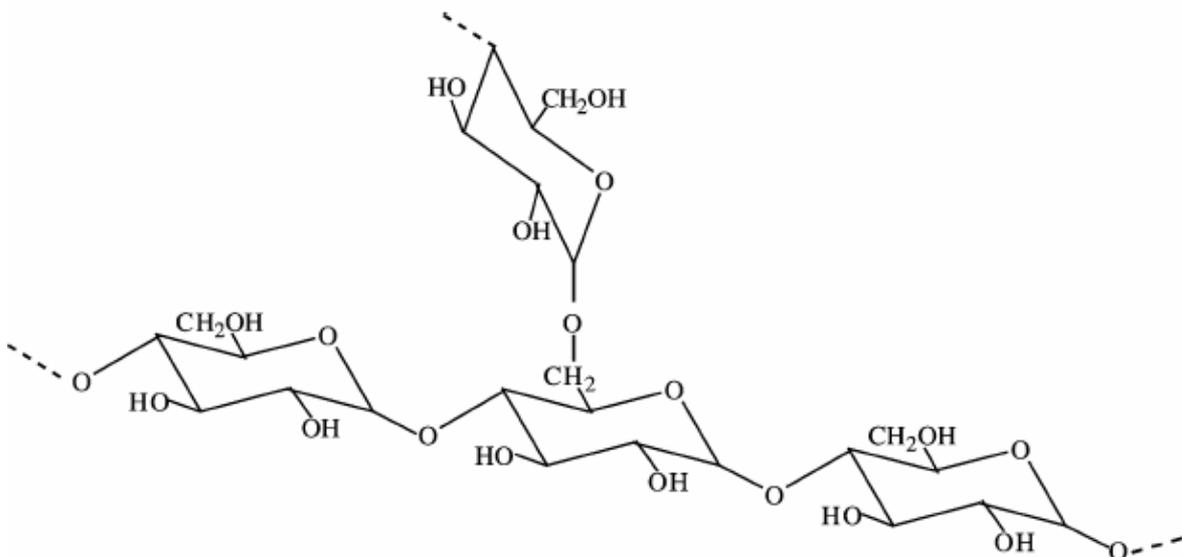


FIGURA 2 – Estrutura Química da Amilopectina
Fonte: MURALIKRISHNA; NIRMALA, 2005

Segundo Thomas e Atwell (1997), proteínas, lipídeos, e cinzas (minerais e sais) estão também presentes nos grânulos de amido em pequenas quantidades e no amido de trigo representam 0,4, 0,9 e 0,5%, respectivamente.

Os lipídeos representam a fração mais importante associada aos grânulos de amido. Teores altos de lipídeos são geralmente encontrados em amidos de cereais: 0,8-1,2 e 0,6-0,8% para amidos de trigo e milho regular, respectivamente, quando comparados aos amidos de tuberosas, como é o caso da batata que apresenta aproximadamente 0,1% de lipídeos. Em contraste com amidos de tuberosas e legumes, amidos de cereais são caracterizados pela presença de monoacil lipídeos (ácidos graxos livres (AGL) e lisofosfolipídeos (LFL)) em quantidades positivamente correlacionadas ao teor de amilose. Amidos de trigo, cevada e arroz contêm somente LFL, enquanto outros cereais contêm principalmente AGL e uma quantidade mínima de LFL. Trabalhos têm demonstrado uma correlação entre monoacil lipídeos e as propriedades funcionais de amidos de cevada (MORRISON; MILLIGAN; AZUDIN, 1984), aveia (WANG; WHITE, 1994) e trigo (TESTER; MORRISON, 1990). Monoacil lipídeos induziriam a formação de complexos de amilose-lipídeo durante gelatinização, limitando o inchamento, a dispersão dos grânulos de amido e a solubilização da amilose, gerando, desta forma, pastas opacas com viscosidade reduzida e maiores temperaturas de pasta (BULÉON et al., 1998).

Os amidos contêm também quantidades relativamente pequenas de sais minerais (cálcio, magnésio, fósforo, potássio e sódio) os quais são, com exceção do fósforo, de pouca significância funcional. O fósforo é encontrado em três principais formas: monoéster fosfato, fosfolipídeos e fosfato inorgânico. Monoésteres fosfato estão seletivamente ligados em regiões específicas dentro da molécula de amilopectina (TESTER; KARKALAS; QI, 2004). Nos amidos de cereais o fósforo está principalmente na forma de fosfolipídeos, enquanto amidos de tubérculos e raízes são os únicos que contêm monoéster fosfato, com um nível excepcionalmente alto em amido de batata (0,089%) (BULÉON et al, 1998).

O amido é encontrado na forma de grânulos nos amiloplastos da célula, e suas características morfológicas variam com sua fonte botânica (SANGUANPONG et al., 2002).

Os amidos de diferentes fontes botânicas apresentam grânulos de forma e tamanho distintos, além de outras particularidades superficiais, como posição do

híum e temperatura de gelatinização (FRANCO et al., 2001). Microscopicamente, os grânulos de amido comumente medem de 1 a 35 μm de diâmetro de fontes como trigo, cevada, milho e aveia, e acima de 100 μm para batata (MOON; GIDDINGS, 1993). A forma desses grânulos também varia de acordo com a fonte botânica, podendo ser regular (esférico, oval ou angular) ou completamente irregular.

Quando vistos através de luz polarizada, todos os grânulos de amido sem modificações aparecem claros, enquanto exibem uma “Cruz de Malta” escura. Este fenômeno é conhecido como “birrefringência” e é um indicador do grau de organização dos grânulos (THOMAS; ATWELL, 1997).

Os grânulos de amido estão organizados em regiões cristalinas e amorfas, sendo a transição entre essas regiões gradual. A amilopectina é a principal responsável pela cristalinidade do amido (PARKER; RING, 2001).

A cristalinidade dos grânulos varia de 15-45% e pode ser caracterizada em três principais padrões através de difração de raios-X (tipos A, B e C) como resultado do diferente empacotamento em dupla hélice das cadeias ramificadas da amilopectina (ZOBEL, 1988). Amidos nativos de cereais como trigo, milho e arroz apresentam um padrão tipo A, e amidos de tuberosas como batata apresentam um padrão tipo B (THOMAS; ATWELL, 1997).

O microscópio eletrônico de varredura permite visualizar as formas e superfícies dos grânulos de amido em três dimensões. Ao observar os grânulos de amido de trigo no microscópio eletrônico de varredura é possível visualizar claramente os grânulos grandes de formato lenticular e os grânulos pequenos de formato esférico (THOMAS; ATWELL, 1997).

O amido, quando aquecido numa dispersão aquosa, sofre uma série de mudanças conhecidas como gelatinização. Esta série de eventos é uma das transformações mais importantes do amido em termos de funcionalidade nos produtos alimentícios, reatividade, susceptibilidade ao ataque enzimático e formação de géis ou pastas (LINEBACK; RASPER, 1988).

Atwell e colaboradores (1988) definiram termos como gelatinização, propriedades de pasta e retrogradação.

Gelatinização é o colapso (rompimento) da ordem das moléculas dentro dos grânulos de amido com mudanças de propriedades concomitantes e irreversíveis como aumento do tamanho granular, fusão de cristais, perda de birrefringência, desenvolvimento de viscosidade, e solubilização do amido. A temperatura inicial de

gelatinização e a variação em que a mesma ocorre é determinada pela concentração de amido, método de observação, tipo de grânulo e heterogeneidades dentro da população de grânulos sob observação.

Empastamento é o fenômeno seguinte à gelatinização na dissolução de amido. Envolve inchamento granular, exsudação dos componentes granulares moleculares, e eventualmente, total rompimento dos grânulos.

Retrogradação do amido é o evento que ocorre quando as moléculas de amido começam a se reassociar em uma estrutura mais ordenada. Em suas fases iniciais, duas ou mais moléculas podem formar um simples ponto de união o qual pode se desenvolver dentro de regiões mais extensamente ordenadas. Sob condições favoráveis, a ordem cristalina aparece e a precipitação da solução ocorre.

As mudanças que ocorrem nos grânulos de amido durante a gelatinização e retrogradação são os principais determinantes do comportamento de pasta desses amidos, as quais têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido usando equipamentos como viscoamilógrafo Brabender e mais recentemente, o Rápido Visco Analisador (RVA) (THOMAS; ATWELL, 1997).

Estes viscosímetros funcionam com programas controlados de mistura, aquecimento e resfriamento que geram perfis de gelatinização e pasta altamente reproduzíveis.

As propriedades térmicas de amidos podem ajudar a determinar sua funcionalidade específica e, portanto, sua utilidade na indústria de alimentos (KRUEGER et al, 1997).

O estudo do comportamento térmico de amidos, incluindo temperaturas de gelatinização, retrogradação, temperatura de transição vítrea e cristalização têm sido feito, nos últimos vinte anos utilizando-se a Calorimetria Diferencial de Varredura (YU; CHRISTIE, 2001). Esta técnica mede a quebra de ligações (principalmente pontes de hidrogênio que estabilizam as duplas hélices) dentro dos grânulos de amido quando eles são aquecidos em água e quantifica a temperatura e energia envolvida (entalpia) na transição de um grânulo semicristalino para um gel amorfo. Esta técnica pode também ser empregada para medir maiores transições de temperaturas em amidos quando complexos amilose-lipídeo se dissociam (TESTER, 1997).

A temperatura inicial (T_0) detectada pelo DSC reflete o início do processo de gelatinização, a qual é seguida pelas temperaturas de pico (T_p) e de conclusão (T_c) (TESTER; DEBON, 2000).

3.2 Amido de trigo

O trigo (*Triticum aestivum L.*) é o cereal mais plantado no mundo e apresenta grande importância na alimentação humana sendo considerado uma das principais fontes de nutrientes da dieta (DOMINGUES, 2002).

O trigo é o maior componente de muitas dietas do mundo porque ele é agronomicamente adaptável, fácil de estocar, possui alto valor nutricional, além da habilidade de sua farinha produzir uma variedade de alimentos de boa palatabilidade (ORTH; SHELLENBERGER, 1988).

Amido, o componente predominante dos grãos de trigo, constitui dois-terços a três-quartos do peso seco da semente, dependendo do cultivar (ANDO et al., 2002).

A maior parte do grão de trigo é usada como farinha, a qual serve como um ingrediente multifuncional para a indústria de alimentos e outras indústrias. Massas produzidas de farinha de trigo se diferem de outras feitas de outros cereais nas suas propriedades viscoelásticas, característica esta, única do amido de trigo (ORTH; SHELLENBERGER, 1988).

O amido, uma vez hidratado e aquecido, se submete a transformações químicas, de textura e estruturais que são muito importantes para a qualidade dos produtos quando este polímero é incorporado em alimentos como: pães, massas e molhos (DAVIS, 1994).

As propriedades do amido de trigo são semelhantes às dos amidos de milho e sorgo. Entretanto, o amido de trigo produz pasta com maior viscosidade e géis mais macios que estes últimos. A adição do amido de trigo nas farinhas melhora o volume, textura, granulometria e palatabilidade do produto final (CIACCO; CRUZ, sd).

3.2.1 Efeito da classe dos grãos de trigo nas características do amido

O conhecimento das características tecnológicas de diferentes genótipos de trigo cultivados é de grande importância para que os mesmos possam ser empregados nos diversos segmentos da indústria alimentícia que utiliza farinha de trigo, uma vez que a qualidade da matéria prima é fundamental para obtenção de produtos de panificação e de pastas alimentícias de boa qualidade.

Para propósitos comerciais, os trigos comuns podem ser classificados por outras propriedades além das características botânicas. Os principais fatores usados para distinguir trigos são dureza do grão (duro ou mole), época de plantio (verão ou primavera), cor do grão (vermelho ou branco), e, mais, recentemente, teor de proteína (ORTH; SHELLENBERGER, 1988).

No Brasil, a partir da safra de 1999, o trigo nacional foi enquadrado em cinco classes: trigo branco, trigo pão, trigo melhorador, trigo durum e trigo para outros usos. Na classe de trigo branco, são enquadrados os grãos de genótipos de trigo aptos para a produção de bolos, bolachas (biscoitos doces), produtos de confeitaria, pizzas e massa tipo caseira fresca. Na classe trigo pão, estão os grãos de genótipos de trigo com aptidão para a produção do tradicional pãozinho (tipo francês ou d'água) consumido no Brasil. Esse trigo, também pode ser utilizado para a produção de massas alimentícias secas, de folhados ou em uso doméstico, dependendo das suas características de força de glúten. A classe de trigo melhorador envolve os grãos de genótipos de trigo aptos para mesclas com grãos de genótipos de trigo branco, para fins de panificação, produção de massas alimentícias, biscoitos tipo "crackers" e pães industriais (como pão de forma e pão para hamburger). Na classe trigo durum, especificamente os grãos da espécie *Triticum durum* L., estão os grãos de genótipos de trigo para a produção de massas alimentícias secas (tipo italiana). E, na última classe, estão os trigos para outros usos, que são aqueles destinados à alimentação animal ou outro uso industrial. Estes envolvem os grãos de genótipos de trigo não enquadrados em nenhuma das outras classes, por apresentarem número de queda (Falling Number) inferior a 200 (SCHEEREN; MIRANDA, 1999)

De modo geral, o mercado de farinhas de trigo no Brasil destina-se: à panificação (46%), ao uso doméstico (20%), a massas (14%), a biscoitos (8%), ao pão industrial (5%), a confeitaria (4%) e outros (3%) (SCHEEREN; MIRANDA, 1999).

A dureza do grão é em grande parte determinada pelo grau de adesão entre os grânulos de amido e a matriz protéica (principalmente o glúten). Nos trigos moles a adesão entre os grânulos de amido e a matriz protéica é mais fraca e, portanto, os grânulos são mais facilmente separados enquanto que, em trigos duros, eles estão mais fortemente aderidos resultando em maior dificuldade de separação, com conseqüente aumento de gasto de energia e aumento da porcentagem de amido danificado durante a moagem (DARLINGTON et al., 2000).

A dureza do grão de trigo é altamente controlada por fatores genéticos, mas ela pode ser afetada pelo ambiente assim como por fatores como teor de umidade, lipídeos e pentosanas (TURNBULL; RAHMAN, 2002).

As proteínas e o amido são os principais constituintes dos grãos de trigo e assim seus teores e propriedades são determinantes na qualidade dos produtos alimentícios derivados deste cereal (DOMINGUES, 2002).

As sementes de trigo duro requerem mais força para se desintegrarem do que as sementes de trigo mole. A farinha obtida de sementes de trigo duro tem tamanhos de partículas mais grossas que farinhas de trigo mole (HOSENEY et al., 1988).

Os trigos durum e duros, apresentam um alto teor de proteína e alta absorção de água, e o trigo mole possui um baixo teor de proteína e baixa absorção de água. Já o trigo semiduro é um híbrido de trigo duro e mole o qual possui um teor de proteína intermediário (ATWELL, 2001).

Macroscopicamente, a morfologia dos grãos de trigo duro e mole é similar. Nenhuma diferença no peso e tamanho das sementes são observadas em grãos de trigo duro e mole cultivados em ambientes semelhantes (TURNBULL et al, 2003).

3.2.2 Tamanho de grânulos do amido de trigo

O amido de trigo possui duas populações distintas de grânulos, os quais exibem tamanhos, formas, composições e propriedades diferentes. Os grânulos classificados como tipo A são maiores ($> 10 \mu\text{m}$) e de formato lenticular, enquanto aqueles classificados como tipo B são menores ($\leq 10 \mu\text{m}$) e mais esféricos (BERTOLINI et al., 2003).

Os grânulos tipo A contribuem com mais de 70% do peso total e \approx 3-5% do total de grânulos do endosperma do trigo, enquanto os grânulos tipo B contam com mais de 90% do total do número de grânulos, mas menos de 30% do peso total do amido do endosperma do trigo (CHIOTELLI; LE MESTE, 2002).

A síntese dos grânulos tipo A começa quatro dias após a antese com o crescimento e desenvolvimento do grânulo continuando até o vigésimo dia. Ao contrário, a síntese dos grânulos tipo B é iniciada 10 dias após a antese com significativo crescimento do grânulo começando 20 dias mais tarde. Uma terceira classe de grânulos de amido de trigo denominada tipo C foi relatada inicialmente por Bechtel et al. (1990). De acordo com esses autores sua síntese seria iniciada 21 dias após a florescência. No entanto, a maioria dos pesquisadores considera que o amido de trigo seja composto apenas pelos dois tipos de grânulos A e B e que esses grânulos tipo C seriam apenas uma iniciação tardia dos grânulos tipo B (SHINDE; NELSON; HUBER, 2003).

A exatidão da distribuição de tamanho dos grânulos é dependente do isolamento do amido e das técnicas de determinação de tamanho. Um bom método de isolamento previne perdas de grânulos pequenos, enquanto uma boa técnica de determinação de tamanho de partícula permite usar um tamanho de amostra mais representativo e medir todas as partículas da amostra (RAEKER et al, 1998).

Vários métodos têm sido desenvolvidos para determinar a distribuição de tamanho de partícula do amido, entre eles: micropeneiração, sedimentação, análise de imagem, espalhamento de luz laser e fracionamento de campo de fluxo, sendo que a escolha de cada um deles depende, entre outros fatores, do material e tamanho de partícula analisado (CAPOUCHOVÁ; PETR; MARESOVÁ, 2003).

Os grânulos de amido de trigo dos tipos A e B possuem diferenças significativas na composição química, concentrações de amilose, amilopectina, lipídeos, proteína, bem como nas propriedades de gelatinização e pasta, susceptibilidade enzimática, cristalinidade, propriedades de inchamento e propriedades de panificação. Essas diferenças resultam em dois tipos de amido sendo utilizados para diferentes fins, ambos em usos alimentícios e não-alimentícios (RAEKER et al, 1998; PENG et al, 1999). Por isso a distribuição do tamanho dos grânulos de amido é um índice potencialmente importante de qualidade do trigo (PETERSON; FULCHER, 2001).

Segundo estudos feitos por Raeker et al. (1998); Ando et al. (2002), Shinde; Nelson; Huber, (2003) e Bertolini et al. (2003), os grânulos de amido tipo B possuem menor teor de amilose e maior conteúdo de fosfolipídeos quando comparados com os grânulos tipo A.

A proporção amilose-amilopectina e o teor de lipídeos em amido contribuem para sua funcionalidade. Durante o aquecimento, a amilose lixivia dos grânulos de amido e contribui para a viscosidade da fase contínua em dispersões amido-água e na taxa de retrogradação durante o resfriamento. Vários relatos têm correlacionado alto pico de viscosidade de pasta, maior viscosidade de quebra, e menor viscosidade final do amido de trigo com menor teor de amilose (MOSS, 1980; ODA et al., 1980; MOSS; MISKELLY, 1984; ZENG et al., 1997).

Poder de inchamento, gelatinização, e propriedades de pasta são influenciados ambos pelo conteúdo de amilose e lisofosfolipídeos (LFL) (SHINDE; NELSON; HUBER, 2003).

O efeito dos lipídeos nas propriedades reológicas de pastas de amido tem sido muito estudado, porém com muitos resultados conflitantes (RAEKER et al,1998). Geralmente é aceito que lipídeos da superfície do amido inibem o movimento da água dentro dos grânulos, e lipídeos internos (complexos amilose-lipídeo) reduzem o poder de inchamento, e deste modo reduzem a viscosidade de pasta a quente. Foi também relatado que a variação nas proporções de amilose complexada com lipídeos e amilose livre de lipídeos poderia ter algum efeito na temperatura de gelatinização (MORRISON, 1995).

A entalpia de dissociação dos complexos de amilose-lipídeo de grânulos de amido de trigo menores foi mais alta que a de grânulos maiores (ELIASSON; KARLSSON, 1983; CHIOTELLI; LE MESTE, 2002). Soulaka e Morrison (1985); Raeker et al. (1998) explicaram isto baseado no maior conteúdo de lipídeos em grânulos pequenos.

A taxa amilose/amilopectina, peso molecular e estrutura fina do grânulo também são influenciados pelos tamanhos dos grânulos (LINDEBOOM; CHANG; TYLER, 2004)

Segundo estudos feitos por Tang; Watanabe e Mitsunaga (2002) com amido de cevada, o grau de polimerização da amilopectina foi decrescendo de acordo com o decréscimo do tamanho dos grânulos e para a amilose, a polimerização foi a mesma para grânulos pequenos e grandes.

O poder de inchamento está associado mais com a estrutura do grânulo e composição química, particularmente com o conteúdo de amilose e lipídeo, do que com o tamanho do grânulo (LINDEBOOM; CHANG; TYLER, 2004). Em estudos feitos por Hung e Morita (2005) foi encontrado que a altas temperaturas (maiores que 50°C) os grânulos tipo A tiveram poder de inchamento mais alto do que os grânulos tipo B.

As propriedades de gelatinização de amidos estão relacionadas com vários fatores incluindo tamanho, proporção e tipo de organização cristalina, e ultra-estrutura do grânulo de amido (LINDEBOOM; CHANG; TYLER, 2004).

Estudos feitos por Chiotelli e Le Meste (2002); Hung e Morita (2005); Peng et al. (1999) mostraram que as temperaturas iniciais de gelatinização dos grânulos tipo A e tipo B foram similares, enquanto as temperaturas de pico e de conclusão foram significativamente menores em grânulos tipo A. Por outro lado, Seib (1994) relatou que grânulos tipo A iniciaram a gelatinização a uma temperatura maior, e apresentaram temperaturas de pico e conclusão menores comparadas com os grânulos tipo B.

A entalpia de transição dos grânulos tipo A foi consideravelmente maior do que a apresentada pelos grânulos tipo B (ELIASSON; KARLSSON, 1983, SOULAKA; MORRISON, 1985, PENG et al., 1999, CHIOTELI; LE MESTE, 2002, HUNG; MORITA, 2005) sugerindo uma porcentagem menor de arranjos organizados em grânulos tipo B do que em grânulos tipo A, ou uma menor estabilidade dos cristais para os grânulos menores (GHIASI; HOSENEY; VARRIANO-MARSTON, 1982).

Ando et al. (2002) estudaram a cristalinidade dos grânulos de amido fracionados em grânulos grandes (15-30 μm), médios (5-15 μm) e pequenos (1-5 μm) e encontraram que a intensidade do pico no “d-espaco” 4,4 Å, o qual é característico do complexo amilose-lipídeo, decresceu na ordem de grânulos grandes, médios e pequenos.

A susceptibilidade e o modo de ação da enzima são dependentes da fonte de amido e do sistema de enzima utilizado. A susceptibilidade dos grânulos de amido foi afetada pelo tamanho do grânulo e pela concentração dos produtos de hidrólise (FRANCO; CIACCO, 1992).

Lindeboom; Chang e Tyler (2004) relataram que grânulos pequenos de amido de trigo e cevada são hidrolisados mais rapidamente por ácidos ou enzimas do que grânulos grandes. Isto pode ocorrer devido a maior área de superfície por unidade de peso de grânulos pequenos de amido. Vários pesquisadores (FRANCO; CIACCO, 1992; FRANCO; CIACCO, 1998; TANG; WATANABE; MITSUNAGA, 2002) relataram, para amido de milho, cevada e mandioca, que o grau de hidrólise aumentou com o decréscimo do tamanho dos grânulos.

O efeito do tamanho dos grânulos no potencial de panificação do amido de trigo é controverso (SAHLSTROM et al, 1998). Enquanto Lelievre et al (1987) empregando preparações contendo diferentes proporções de tamanho de grânulos não verificaram efeitos claros sobre a absorção de água e volume do pão, Kulp (1973) observou que grânulos pequenos apresentavam menor potencial de panificação do que o amido normal correspondente. Salhstrom et al (1998) avaliando o efeito da distribuição do tamanho dos grânulos de amido isolados de oito farinhas de trigo sobre as características do pão verificaram que esta afeta o peso e a relação altura X largura, mas não afeta o volume nem a firmeza da crosta. Esses resultados, em última análise, estão diretamente relacionados às características estruturais dos grânulos de diferentes tamanhos.

Revisões feitas por Chiotelli e Le Meste (2002) relataram que a proporção de grânulos pequenos é importante para o desempenho de panificação da farinha de trigo. Esses autores observaram um menor potencial de panificação para grânulos pequenos quando comparados com amido regular. Ao contrário, Soulaka e Morrison (1985b) observaram cerca de 25-35% de grânulos tipo B no amido teria um apreciável efeito no volume do pão.

As gorduras contribuem na aparência, textura, sabor e palatabilidade dos alimentos, e a tendência de se substituir a gordura cresceu muito nos últimos tempos. O amido pode ser manipulado para produzir géis que dão propriedades texturais e palatáveis que se aproximam das gorduras. O tamanho das partículas dos grânulos de amido, dispersibilidade dos componentes dos grânulos de amido, peso molecular dos polímeros de amido e habilidade de ligação com água são controlados para render o substituto de gordura com a qualidade requerida (THOMAS; ATWELL, 1999).

Malinski et al. (2003) estudaram o emprego de amidos de trigo tipo B ou amido de amaranto como substitutos de gordura em uma mistura para sobremesas

congeladas. As sobremesas foram caracterizadas por análise sensorial, maciez, cremosidade e preferência. A partir dos resultados de análises sensoriais, esses autores observaram ser possível substituir 50% da gordura na sobremesa congelada com a utilização desses amidos em nível de 2% (p/p).

3.2.3 Tratamento hidrotérmico (“*Annealing*”)

“*Annealing*” é uma modificação física que altera as propriedades físico-químicas do amido sem modificar sua estrutura granular (ADEBOWALE et al., 2005).

Este tratamento hidrotérmico envolve o aquecimento dos grânulos de amido abaixo de sua temperatura inicial de gelatinização e acima de sua temperatura vítrea, por um determinado tempo em excesso de água (TESTER; DEBON; KARKALAS, 1998; JACOBS et al., 1998).

O processo de “annealing” tem importantes implicações industriais, e os amidos podem ser deliberadamente submetidos ao “annealing” para promover novas características de processamento.

O “annealing” pode fornecer aos amidos algumas características importantes. Como, por exemplo, quando esses amidos submetidos a gelatinização não retrogradam durante o resfriamento e por isso são mais estáveis durante a estocagem. (GOMES et al., 2005). Porém, há poucos processos comerciais onde o “annealing” pode ser justificado em termos de energia e tempo para gerar amidos com altas temperaturas de gelatinização. Mas muitas vezes o “annealing” de amido é causado sem intenção, como é o caso da moagem úmida do milho para extrair o amido (TESTER; DEBON, 2000).

Vários pesquisadores (GOUGH; PYBUS, 1971; KISELEVA et al. 2004; KOHYAMA; SASAKI, 2006; VERMEYLEN; GODERIS; DELCOUR, 2006) estudaram as propriedades térmicas de amidos submetidos ao “annealing” através do DSC, e observaram aumento na temperatura de gelatinização e estreitamento da faixa de temperatura desses amidos. De acordo com Stute (1992), durante o “annealing” a interação entre os cristais e as partes amorfas das moléculas de amido é alterada influenciando a temperatura de gelatinização dos amidos.

De acordo com Jacobs et al. (1998) diferentes processos ocorrem durante a gelatinização (hidratação, inchamento, fusão de cristais), e todos eles contribuem em diferentes proporções na entalpia de gelatinização, por isso é difícil interpretar o aumento da entalpia após “annealing”. De acordo com Gomes et al. (2005), o aumento na entalpia de amidos submetidos ao “annealing” ocorre devido ao aumento na perfeição dos cristais o que indica uma reorganização e provavelmente um aumento nas suas dimensões, assumindo uma condição mais perfeita.

Para muitos pesquisadores o “annealing” causa um aumento na estabilidade granular (HOOVER; VASANTHAN, 1994), reorganiza a estrutura granular do amido pelo aumento do número de ligações, mas o número de regiões cristalinas não muda (BLANSHARD, 1987; TESTER; DEBON; KARKALAS, 1998) ou causa a formação de uma estrutura mais organizada de menor energia livre (BLANSHARD, 1987).

No entanto, os padrões de cristalinidade dos amidos parecem não se alterar com o “annealing”. Vermeulen; Goderis e Delcour, 2006 e Gomes et al., 2005 observaram padrões de difração de raios-X muito semelhantes para amidos de batata e polvilho azedo, respectivamente, antes e após “annealing”.

Amidos granulares são mais resistentes à α -amilólise do que amidos gelatinizados. Muitos fatores, como origem botânica do amido ou fonte de amido, afetam a taxa e extensão da hidrólise de amidos granulares. Parâmetros estruturais também são importantes: cristalinidade, tamanho de grânulos e superfície específica disponível, taxa amilose/amilopectina, acessibilidade, porosidade e grau de integridade (JACOBS et al., 1998).

A taxa de hidrólise de α -amilase para diferentes amidos segue duas fases distintas: uma fase inicial rápida e uma segunda fase mais lenta. O “annealing” altera a extensão da hidrólise dessas diferentes fases em função da origem botânica (TESTER; DEBON, 2000).

Muitos estudos têm indicado que amidos de trigo e cevada submetidos ao “annealing” são mais facilmente hidrolisados pela α -amilase que os amidos naturais (GOUGH; PIBUS, 1971, LORENZ; KULP, 1984).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Neste trabalho amidos isolados de quatro genótipos de trigo: IAC17, ANAHUAC, BH1146 e IAC24 foram utilizados. Esses genótipos são oriundos do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e foram cedidos pela Prof^a Maria Antônia Calori Domingues. Os materiais foram semeados e os grãos colhidos no ano de 1999 na Estação Experimental de Tietê – SP, do IAC. Os grãos ficaram armazenados à – 18°C até a utilização dos mesmos para estudo.

A colheita foi realizada através de corte manual das plantas que, em seguida, foram trilhadas mecanicamente para separação dos grãos. Em todas as amostras, a secagem dos grãos foi natural. A colheita foi realizada nos meses de Agosto e Setembro, dependendo do ponto de maturação dos grãos em cada parcela, bem como da ocorrência de chuvas.

Esses genótipos apresentam características tecnológicas e agronômicas distintas, já avaliados anteriormente em outros trabalhos de pesquisa e estão apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1. Características agronômicas e tecnológicas dos genótipos de trigo avaliados.

Genótipo	Porte	Tolerância ao alumínio	Ciclo	Qualidade de panificação	Classificação índice de glúten	Dureza do grão
ANAHUAC	Baixo	Muito sensível	Médio	Alta	Alto	Duro
IAC17	Alto	Média	Precoce	Baixa	Baixo	Mole
BH1146	Alto	Muito tolerante	Precoce	Baixa	Baixo	Semimole
IAC24	Baixo	Tolerante	Médio	Alta	Alto	Semiduro

Fonte: Camargo, Felício; Rocha Júnior (1987); Camargo; Ferreira Filho (1999); Brusantin (2000); Domingues (2002).

Enzima α -amilase bacteriana (A6380) obtida da Sigma Chemical Co, EUA foi usada neste experimento.

Todos os outros reagentes eram puros para análise (p.a.) e foram utilizados sem qualquer purificação.

4.2 Métodos

4.2.1 Isolamento do amido

O amido foi isolado dos grãos de trigo de acordo com o método de Raeker et al. (1998) com algumas modificações. Os grãos de trigo (~ 200 g) foram grosseiramente triturados em moinho de rolo, e colocados para macerar em HCl 0,02 M (10 mL/g de grão de trigo) a 4° C durante 18 horas. Após este período a água de maceração foi neutralizada com NaOH 0,2 M. Os grãos foram então triturados em liqüidificador, em velocidade baixa durante 30 segundos, utilizando quantidades suficientes da água de maceração neutralizada. A mistura foi então filtrada em peneira de nylon de 110 µm, com auxílio de vácuo e agitação. A fração retida na peneira foi repetidamente triturada em liqüidificador com porções de H₂O destilada, até que não se observou mais amido presente na mesma. O filtrado foi passado em peneira de nylon de 65 µm com auxílio de vácuo e agitação para separação das fibras. O amido presente no filtrado foi recuperado, através de centrifugação a 1500 x g durante 20 minutos. O amido bruto foi ressuscendido em H₂O destilada e novamente centrifugado, para separar a camada de amido (inferior) da camada superior de coloração verde/marrom (proteína), a qual foi removida, com auxílio de espátula. Esse procedimento foi repetido três vezes para a retirada da camada superior. Em seguida, o amido obtido foi purificado com a adição de tolueno:solução de NaCl 0,2 M (1:5, v/v) e agitação forte durante 1 hora. Após agitação a mistura permaneceu em repouso durante, no mínimo, 1 hora para que ocorresse a decantação do amido. A camada de tolueno+proteína (superior) foi retirada por sucção e descartada. A maior parte da solução de NaCl também foi retirada por sucção, e centrifugada para recuperação do amido ainda presente nessa solução. A purificação com tolueno:solução de NaCl foi repetida mais duas vezes.

O amido purificado foi ressuspenso em H₂O destilada e centrifugado a 1500 x g durante 15 minutos, procedimento que foi repetido mais duas vezes. O amido foi recuperado através de filtração em papel de filtro, e seco em estufa com circulação de ar a 40°C durante 12 horas.

4.2.2 Teor de umidade

O teor de umidade dos amidos foi determinado em duplicata de acordo com o método nº 44-15 A do Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (AACC) (1995).

4.2.3 Teor de nitrogênio

O teor de nitrogênio foi determinado em duplicata de acordo com o método nº 46-13 do Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (AACC) (1995). O fator 5,7 foi utilizado para o cálculo da proteína bruta.

4.2.4 Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido

A forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtidos antes e após separação por tamanho foram determinadas através de um Microscópio óptico de luz (Marca Olympus), acoplado a um sistema de análise de imagem "IMAGE-PRO-PLUS" (MÉDIA CYBERNETICS) (Laboratório de Microscopia - UNESP - Campus de São José do Rio Preto). Três lâminas para cada amostra foram preparadas com duas gotas de suspensão de 100 mg de amido em 5 mL de solução 1:1 de glicerina/água. De cada lâmina foram tomadas medidas de 300 grânulos. O tamanho foi determinado a partir da medição do diâmetro maior dos grânulos. Todas as análises foram feitas em duplicata.

4.2.5 Separação dos grânulos de amido por tamanho

Os amidos dos quatro genótipos de trigo foram fracionados de acordo com o tamanho dos grânulos segundo método descrito por Franco e Ciacco (1992), com modificações. Amostras de 50 g dos amidos foram dispersas em 2 L de água destilada gelada. Timerosol na proporção de 1:10000 foi adicionado para evitar crescimento microbiano. Os amidos foram fracionados através de decantações sucessivas em diversos tempos de sedimentação. As frações foram coletadas após 30, 60, 90, 120, 1200 e + 1200 minutos de sedimentação. O amido restante no sobrenadante após sedimentação de 1200 minutos foi recuperado por centrifugação. Cada uma das frações coletadas foi submetida à centrifugação e secagem em estufa com circulação de ar a 40 °C por 8 a 12 horas.

4.2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura dos diferentes amidos “integrais” e separados por tamanho foi realizada através de um Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo DSM 960 ZEISS – Digital Scanning Microscope (Laboratório de Microscopia - IFSC – USP – Campus São Carlos). Uma pequena quantidade de amostra de amido foi colocada sobre uma fita adesiva de carbono, aderida a um disco metálico e conduzida a um Metalizador Balzers, modelo SCD 050, para aplicação de uma camada de ouro de 20 nm. As amostras assim preparadas foram observadas no microscópio eletrônico de varredura e imagens com aumento de 1000 X foram obtidas.

4.2.7 Teor de fósforo e lisofosfolipídeos

O teor de fósforo total dos amidos “integrais” e separados por tamanho foi determinado em duplicata de acordo com o método colorimétrico de Smith e Caruso (1964). A quantificação foi realizada empregando curva padrão de fósforo.

De acordo com Morrison (1995), a determinação do teor de lipídeos no amido de cereais pode ser simplificada, assumindo-se que para cada cereal, os lipídeos dentro dos grânulos têm uma composição bem definida. Para amido de trigo, o teor de fósforo multiplicado por 16,39 fornece o teor total de lisofosfolipídeos (MORRISON, 1988). Dessa maneira, foi utilizado o teor total de fósforo para calcular o teor de lisofosfolipídeos nos amidos de trigo “integrais” e separados por tamanho.

4.2.8 Teor de amilose total, amilose aparente e amilose complexada com lipídeos

O teor de amilose total dos amidos “integrais” e separados por tamanho foi determinado de acordo com a metodologia ISO 6647 (International Organization for Standardization, 1987). As amostras de amido foram previamente desengorduradas, de acordo com a metodologia de Kasemsuwan et al. (1995), como segue: 500 mg de amido (b.s) foram dispersos em 25 mL de solução de dimetilsulfóxido (DMSO) 90% e aquecidas sob agitação em banho de água fervente (~100°C), durante 1 hora, e resfriadas à temperatura ambiente, por outras 24 horas. O amido foi precipitado da solução de DMSO com 75 mL de etanol absoluto e separado através de centrifugação a 2800 x g por 20 minutos. O amido precipitado foi lavado com etanol, recuperado por filtração e seco em estufa a 38°C por 24 horas.

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

destilada. Após 20 minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 620 nm. Foram realizadas curvas padrões de amilose e amilopectina.

O teor de amilose aparente (AM_a) foi calculado como sendo a diferença entre o teor de amilose total e o teor de amilose complexada com lipídeos ($AM_t - \Delta AM_L$). Segundo Morrison et al. (1993), para trigo e cevada, o teor de amilose complexada com lipídeos (ΔAM_L) pode ser calculado multiplicando-se o teor de lisofosfolípídeo (LFL) por 7, ou seja, $\Delta AM_L = 7 \times LFL$. Segundo Morrison (1988), o teor de LFL é igual a $16,39 \times$ teor de fósforo (%P). Deste modo, $\Delta AM_L = 7 \times \%P \times 16,39$.

4.2.9 Difração de Raios-X

Os padrões de difração de raios-X dos diferentes amidos “integrais” e separados por tamanho foram determinados no Laboratório de Cristalografia – Instituto de Física de São Carlos – IFSC – USP – Campus de São Carlos, utilizando-se uma unidade RINT2000 Wide Angle Goniometer, com radiação de Cu, linha K, $L = 1,542 \text{ \AA}$. A velocidade de varredura foi de 2° por minuto e as condições de uso foram 50 kV e 100 mA.

O índice de cristalinidade relativa (IC) foi quantitativamente estimado de acordo com o método proposto por Hermans e Weidinger (1984 apud SEBIO, 2003) e modificado por Rabek (1980 apud SEBIO, 2003). O Índice de Cristalinidade é definido como a razão entre a área da região cristalina (Ac) e a área total coberta pela curva (Ac+Aa), composta pela área da região cristalina (Ac) e a área da região amorfa (Aa), a partir da Equação 1. As áreas amorfas e cristalinas foram calculadas usando-se o software Origin 7.0.

$$Ic = \frac{Ac}{Ac + Aa} \quad (1)$$

Onde,

Ic: Índice de Cristalinidade Relativa

Ac: Área da região cristalina da curva

Aa: Área da região amorfa da curva

4.2.10 Susceptibilidade enzimática

Os amidos de trigo “integrais” e separados por tamanho foram submetidos à hidrólise enzimática com α -amilase bacteriana (A6380), seguindo metodologia descrita por Franco e Ciacco (1987), com modificações.

Amostras de amido (200 mg, b.s.) foram suspensas em 17 mL de solução tampão fosfato 0,2 M, pH 6,0. 2,0 mL de solução (0,27% p/v) de enzima α -amilase bacteriana Sigma (A6380), com atividade de 2150 unidades/mg de sólidos declarada no rótulo da mesma, foi adicionada. 1,0 mL de solução de azida de sódio (10% p/v) foi adicionado para evitar crescimento bacteriano.

As dispersões de amido foram incubadas em shaker com agitação orbital (120 rpm) durante 28 horas a 37°C. A extensão da hidrólise foi determinada pela quantidade de açúcares redutores presentes no sobrenadante, os quais foram determinados de acordo com Somogyi (1945).

4.2.11 Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos amidos “integrais” e separados por tamanho foram determinadas em triplicata usando um calorímetro diferencial de varredura (DSC -7, Perkin Elmer, Norwalk, CT) seguindo o método descrito por Franco et al. (2002). Amidos de trigo ($2,0 \pm 0,1$ mg, bs) foram pesados em cápsulas de alumínio, misturadas com água deionizada (6 μ L) e as cápsulas foram seladas. As cápsulas foram mantidas a temperatura ambiente por 2 horas para o equilíbrio da mistura. As cápsulas foram aquecidas a 5°C/min a uma faixa de temperatura de 25 a 125°C. Uma cápsula vazia foi usada como referência. As temperaturas de transição (inicial, pico, conclusão) e a entalpia de gelatinização dos amidos de trigo foram calculadas utilizando o software Pyris 1 da Perkin Elmer, EUA.

4.2.12 Poder de inchamento (PI)

O poder de inchamento das amostras dos amidos “integrais” e separadas por tamanho foi determinado de acordo com o método de Sasaki e Matsuki (1998), em duplicata, com algumas modificações.

O procedimento consistiu na pesagem de 160 mg (b.s.) de amido e adição de 5 mL de água destilada em tubos de centrífuga pré-pesados. Os tubos tampados foram colocados em um agitador “vortex” por 10s para homogeneização da mistura amido-água. Após essa agitação, os tubos foram colocados em banho com agitação a 70°C por 30 minutos. Os tubos foram então resfriados em banho a 20°C por 5 minutos e centrifugados a 3000 x g por 15 minutos. Os tubos com gel sedimentado foram pesados e o poder de inchamento foi determinado segundo Equação 2 .

$$\text{Poder de Inchamento (PI) (g/g)} = \frac{\text{P2} - \text{P1}}{\text{P}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

P2 = peso do tubo depois do sobrenadante ser removido (g)

P1 = peso do tubo seco (g)

P = peso do amido (b.s.) (g)

4.2.13 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta dos amidos de trigo foram obtidas usando um Rápido Visco Analisador (Modelo RVA-4, Newport Scientific, Austrália). Suspensões de amido (3 g de amostra, corrigido para 14% de umidade e 25g de H₂O destilada) foram misturadas em container de alumínio, equilibradas a 30°C por 1min, aquecidas a 95°C numa razão de 6°C/min, mantidas a 95°C por 5,5 min e resfriadas a 50°C numa razão de 6°C/min. As suspensões foram agitadas a 160 rpm durante todo o experimento.

Os resultados foram processados e analisados com auxílio do programa software Thermocline for Windows, versão 2.2, de acordo com as informações contidas no manual de instruções (NEWPORT SCIENTIFIC, 1998), e usando-se o perfil de temperatura STD 2 (Standard Analysis 2). A partir dos amilogramas obtidos do RVA, foram determinados os parâmetros: temperatura de pasta (°C), viscosidade máxima, tendência a retrogradação, viscosidade de quebra, viscosidade final, e tempo (minutos) para se atingir o pico de viscosidade máxima. As análises foram realizadas em duplicata.

4.2.14 “Annealing” dos amidos “integrals” e separados por tamanho

Os amidos de trigo “integrals” e separados por tamanho foram submetidos ao “annealing” de acordo com Jacobs et al. (1998), com modificações.

Suspensões de amido (1:2 p/p) foram incubadas por 24 horas à temperatura de 45°C seguido de incubação por mais 24 horas à temperatura de 50°C, em erlenmeyers tampados. As temperaturas de “annealing” foram escolhidas em função da temperatura inicial de gelatinização do amido natural determinada pelo DSC. Após as 48 horas de incubação os amidos foram lavados com etanol, filtrados em funil de Buchner e secos em estufa a 38°C por 24 horas.

4.2.15 Propriedades térmicas dos amidos submetidos ao “annealing”

As propriedades térmicas dos amidos submetidos ao “annealing” foram determinadas seguindo metodologia descrita no item 4.2.11 deste trabalho.

4.2.16 Microscopia eletrônica de varredura dos amidos submetidos ao “annealing”

Os amidos submetidos à modificação hidrotérmica (“annealing”) foram analisados sob microscopia eletrônica de varredura seguindo a metodologia descrita no item 4.2.6 deste trabalho utilizando aumentos de 2000 e 4000X.

4.2.17 Susceptibilidade enzimática dos amidos submetidos ao “annealing”

A susceptibilidade enzimática dos amidos submetidos ao “annealing” foi determinada seguindo metodologia descrita no item 4.2.10 deste trabalho.

4.2.18 Análise estatística

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

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Teor de nitrogênio

O teor de nitrogênio foi determinado para avaliar a eficiência do procedimento de extração de amido.

O teor de nitrogênio das amostras de amido de trigo variou de 0,03 a 0,06%. Estes resultados concordam com aqueles observados por Raeker et al. (1998) e Zeng et al. (1997) que apresentaram teores de nitrogênio na faixa de 0,028 – 0,033 e 0,010 – 0,076% respectivamente, atestando a eficiência do método de isolamento do amido.

TABELA 2 - Teor de nitrogênio e proteína dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo*

Amostra	% Nitrogênio	% Proteína
ANAHUAC	0,04 ± 0,00 ab	0,22 ± 0,02 ab
IAC17	0,06 ± 0,01 a	0,33 ± 0,05 a
BH1146	0,06 ± 0,00 a	0,33 ± 0,02 a
IAC24	0,03 ± 0,01 b	0,17 ± 0,05 b

* Cada valor representa a média de duas replicatas

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

5.2 Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido

Os grânulos de amido de trigo apresentam uma distribuição de tamanho bimodal. Muitos autores dividem os grânulos em tipo A e tipo B. Aqueles que apresentam diâmetro > 10µm e formato lenticular são considerados tipo A, enquanto os que possuem diâmetro ≤ 10µm e formato esférico são denominados tipo B (SOULAKA; MORRISON, 1985, PENG et al, 1999).

As Figuras 3, 4, 5 e 6 mostram a distribuição de tamanho dos grânulos dos amidos isolados dos diferentes cultivares (ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24).

Observa-se claramente para todos os cultivares analisados uma maior porcentagem de grânulos com diâmetro $\leq 10\mu\text{m}$. Com exceção do cultivar IAC17, representante de trigo mole, todos os outros cultivares mostraram pelo menos 83% de grânulos tipo B ($\leq 10\mu\text{m}$) em sua distribuição. O cultivar IAC17 mostrou uma distribuição em que apenas 77,4% dos grânulos pertenciam ao tipo B. Muitos autores têm reportado que os grânulos tipo A contribuem com mais de 70% do peso total dos grânulos, mas apenas cerca de 3% do número total de grânulos no amido. Por outro lado, os grânulos tipo B correspondem a mais que 90% do número total de grânulos, porém contribuem com menos de 30% do peso total do amido no endosperma do grão (DENGATE; MEREDITH, 1984; SOULAKA; MORRISON, 1985; BECHTEL et al., 1990; RAEKER et al, 1998; PENG et al., 1999).

A menor quantidade de grânulos tipo B, apresentada neste estudo, principalmente para o cultivar IAC17, pode ter sido decorrente de falhas no método de extração de amido no qual, durante os processos de recuperação uma pequena parte de grânulos bem menores pode ter sido perdida.

Segundo Lindeboom; Chang e Tyler, (2004) a exatidão da distribuição de tamanho de grânulos obtida depende tanto da técnica de determinação do tamanho quanto do método de isolamento do amido. Vários métodos para fracionamento e determinação do tamanho dos grânulos de amido são disponíveis, como por exemplo: microscópio óptico com analisador de imagem, microscopia eletrônica de varredura, micropeneiração, resistência elétrica, espalhamento e luz laser e fracionamento de campo de fluxo. Cada um desses métodos apresenta limitações, quanto à quantidade de amido danificado, homogeneidade da amostra, tipo e quantidade de amostra, entre outras.

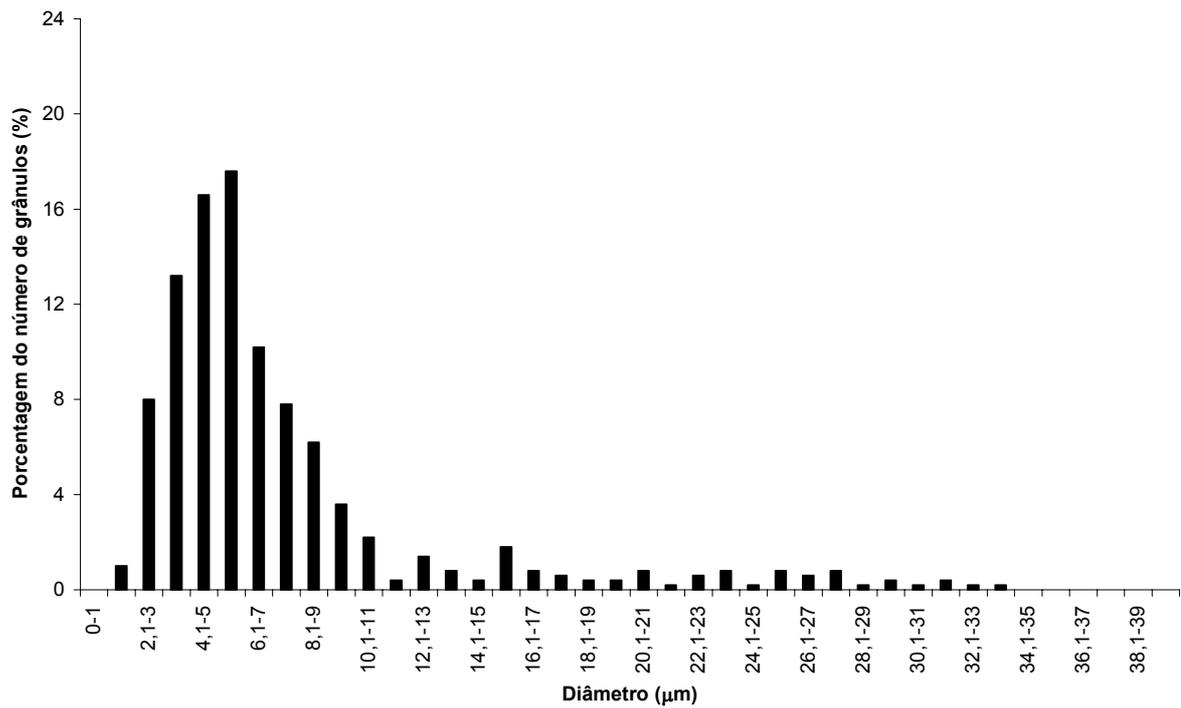


FIGURA 3 – Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar ANAHUAC.

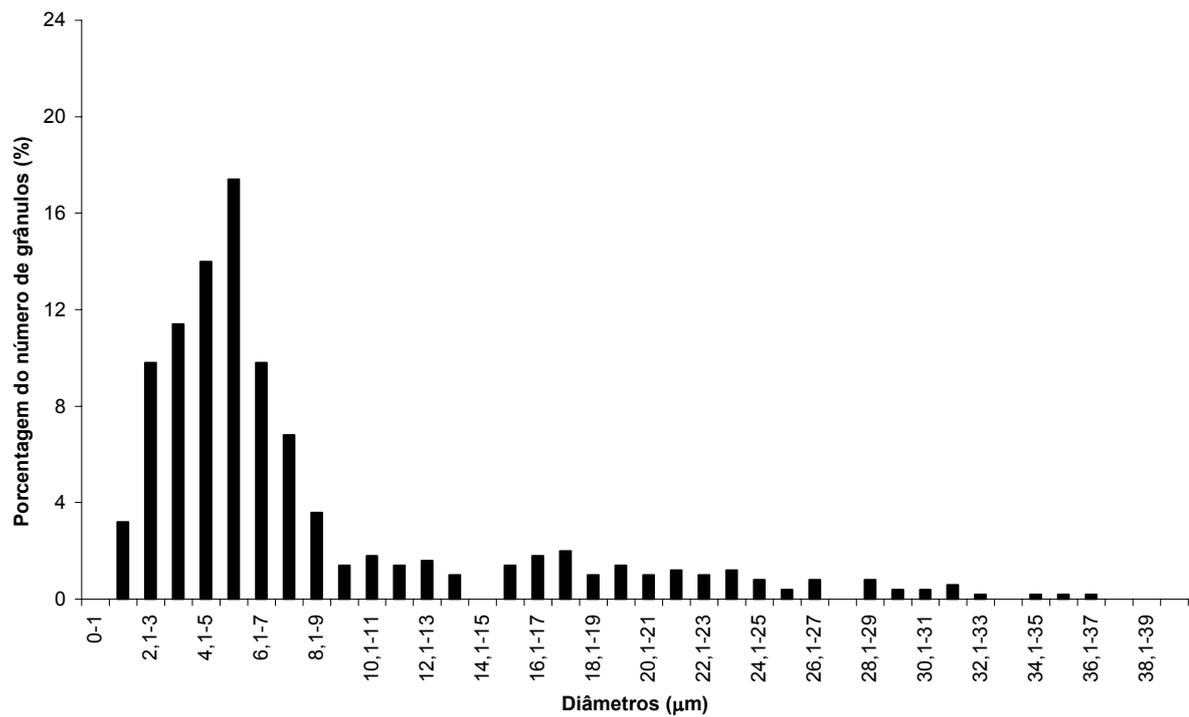


FIGURA 4 – Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar IAC17.

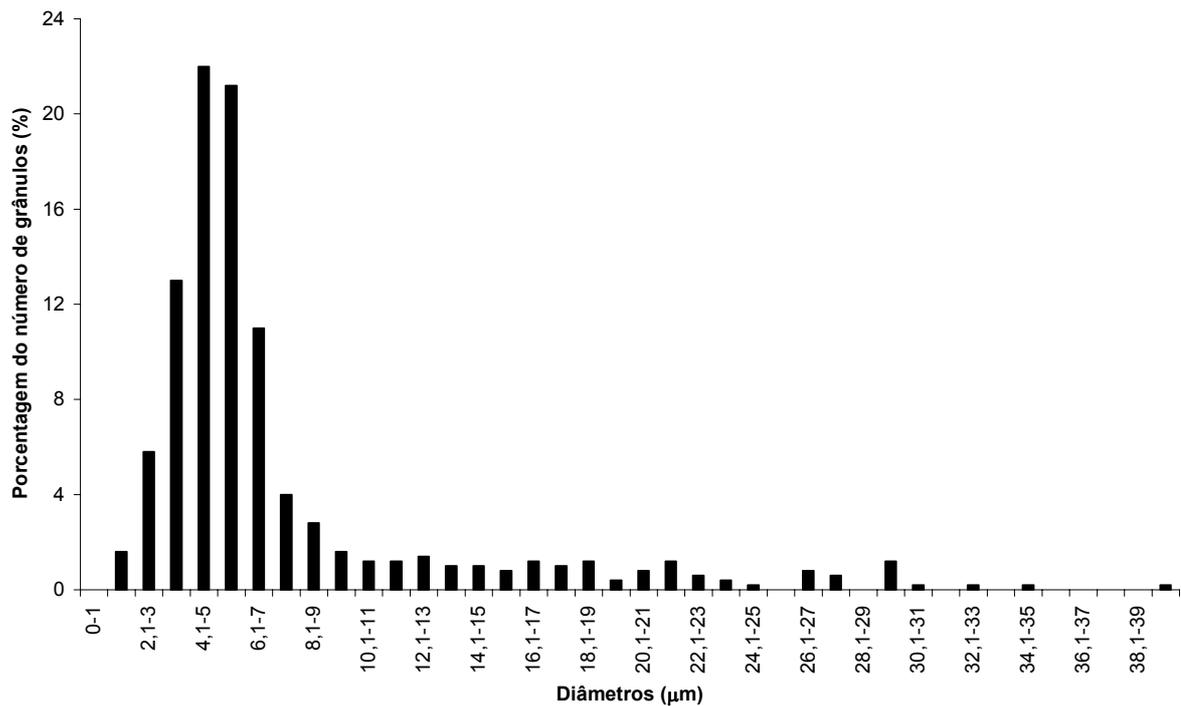


FIGURA 5 – Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar BH1146.

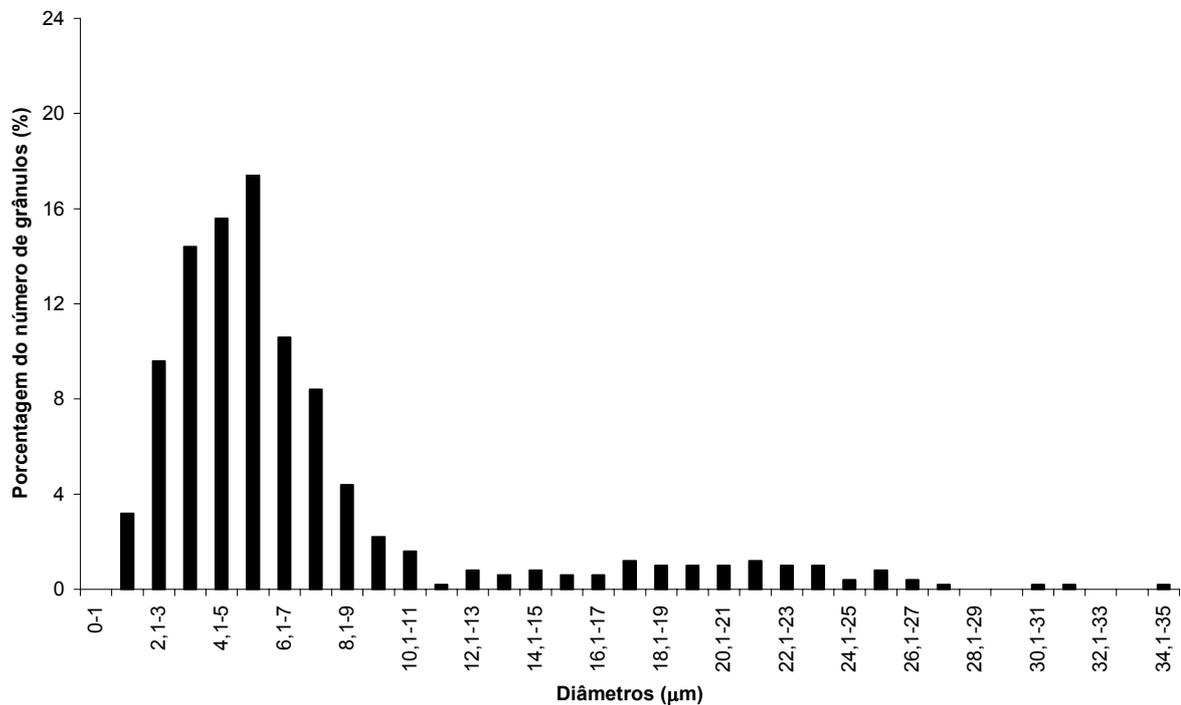


FIGURA 6 – Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtidos do cultivar IAC24.

A Figura 7 mostra as micrografias dos grânulos de amido de trigo obtidos dos diferentes cultivares analisados a partir da microscopia óptica sob luz normal. É possível observar claramente os grânulos tipos A e B. Grânulos tipo A (maiores)

mostraram formatos arredondados e lenticulares, enquanto os tipos B (menores) se mostraram arredondados ou poligonais. Não foi possível observar qualquer diferença entre grânulos obtidos dos diferentes cultivares. O tamanho médio dos grânulos tipo A e B para cada cultivar foi de 22,3 e 5,4; 22,1 e 5,1; 22,4 e 5,2; 21,5 e 5,2 para ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24, respectivamente.

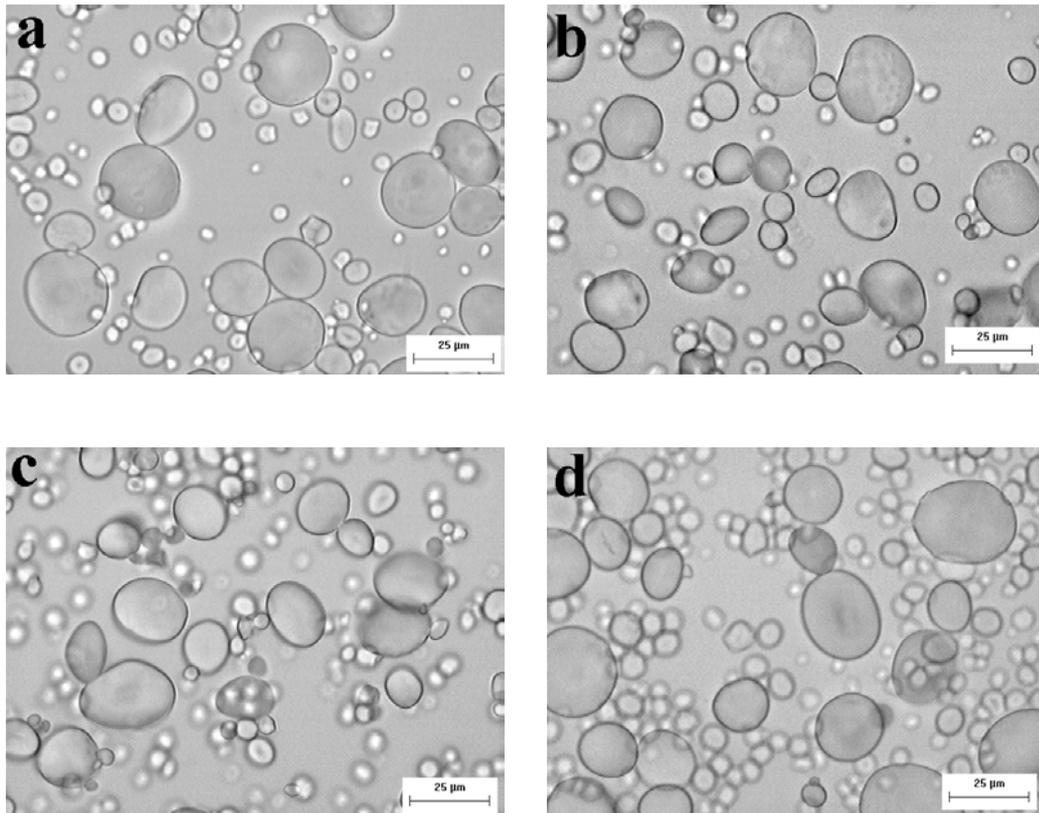


FIGURA 7 – Micrografias dos grânulos de amido de trigo, observados em microscópio óptico comum a: ANAHUAC; b: IAC17; c: BH1146; d: IAC24.

5.3 Forma e distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo dos diferentes cultivares após separação por tamanho

Após fracionamento dos grânulos de amido dos diferentes cultivares de trigo, a partir de sucessivas decantações em diferentes tempos, as distribuições de tamanho de cada fração foram determinadas, e estão apresentadas nas Tabelas 3,

4, 5 e 6, respectivamente para os amidos dos cultivares ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24.

A distribuição de tamanho dos grânulos de todos os amidos fracionados de acordo com os diversos tempos de sedimentação, mostrou que aqueles grânulos fracionados após 120, 1200 e + 1200 minutos de sedimentação apresentaram mais de 76, 97 e 100% de seus grânulos com tamanhos entre 0 e 10 μm , respectivamente. Por outro lado, as frações obtidas nos tempos de 30 e 60 minutos, apresentaram pelo menos 67 e 75% de grânulos com diâmetro $> 15 \mu\text{m}$, respectivamente.

Eliasson e Karlsson (1983) relataram que a população de grânulos de amido tipo A ($> 10\mu\text{m}$) obtida por sedimentação em uma coluna de água continha $\approx 20\%$ (em números) de grânulos tipo B ($\leq 10 \mu\text{m}$), enquanto a população de grânulos tipo B continham $\approx 30\%$ (em números) de grânulos tipo A.

Lindeboom et al. (2004) sugeriram que a acuracidade da distribuição de tamanho de grânulos obtidos depende tanto da técnica de determinação do tamanho, quanto do método de isolamento de amido empregado além da técnica de fracionamento desses grânulos.

Nas distribuições de tamanhos de grânulos dos amidos obtidos dos diferentes cultivares antes do fracionamento apresentadas nas Figuras 3, 4, 5 e 6 pode-se observar que o amido obtido do cultivar BH1146 foi o que apresentou menor quantidade de grânulos com diâmetro $> 20 \mu\text{m}$. Esse fato pode ter contribuído para a dificuldade de separação dos grânulos de maior diâmetro durante o fracionamento para este amido que mostrou 67 e 75% de grânulos $> 15 \mu\text{m}$ após fracionamento durante 30 e 60 minutos, respectivamente.

TABELA 3 – Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar ANAHUAC de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação

Tamanho (μm)	ANAHUAC (%)				
	Tempo (min)				
	30	60	120	1200	>1200
0,0-5,0	0,0	0,0	9,0	33,0	86,0
5,1-10,0	2,0	2,0	67,0	65,0	14,0
10,1-15,0	3,0	3,0	21,0	2,0	0,0
15,1-20,0	8,0	30,0	3,0	0,0	0,0
20,1-25,0	18,0	44,0	0,0	0,0	0,0
25,1-30,0	40,0	21,0	0,0	0,0	0,0
>30,1	29,0	1,0	0,0	0,0	0,0

TABELA 4 - Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar IAC17 de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação

Tamanho (μm)	IAC17 (%)				
	Tempo (min)				
	30	60	120	1200	>1200
0,0-5,0	13,0	0,0	18,0	51,0	88,0
5,1-10,0	3,0	3,0	61,0	49,0	12,0
10,1-15,0	4,0	9,0	20,0	0,0	0,0
15,1-20,0	7,0	27,0	1,0	0,0	0,0
20,1-25,0	24,0	38,0	0,0	0,0	0,0
25,1-30,0	24,0	18,0	0,0	0,0	0,0
>30,1	25,0	5,0	0,0	0,0	0,0

TABELA 5 - Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar BH1146 de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação

Tamanho (μm)	BH1146 (%)				
	Tempo (min)				
	30	60	120	1200	>1200
0,0-5,0	19,0	9,0	29,0	42,0	89,0
5,1-10,0	7,0	8,0	56,0	56,0	11,0
10,1-15,0	7,0	8,0	12,0	2,0	0,0
15,1-20,0	10,0	32,0	3,0	0,0	0,0
20,1-25,0	21,0	28,0	0,0	0,0	0,0
25,1-30,0	25,0	13,0	0,0	0,0	0,0
>30,1	11,0	2,0	0,0	0,0	0,0

TABELA 6 - Distribuição de tamanho dos grânulos de amido de trigo obtido do cultivar IAC24 de acordo com diâmetro e tempo de sedimentação

Tamanho (μm)	IAC24 (%)				
	Tempo (min)				
	30	60	120	1200	>1200
0,0-5,0	2,0	0,0	1,0	44,0	96,0
5,1-10,0	5,0	4,0	81,0	53,0	4,0
10,1-15,0	2,0	13,0	17,0	3,0	0,0
15,1-20,0	7,0	25,0	1,0	0,0	0,0
20,1-25,0	18,0	40,0	0,0	0,0	0,0
25,1-30,0	33,0	16,0	0,0	0,0	0,0
>30,1	33,0	2,0	0,0	0,0	0,0

Em função dos resultados obtidos com a distribuição de tamanho de grânulos dos amidos fracionados e da quantidade em peso de cada fração obtida, os amidos obtidos após 30 e 60 minutos foram misturados e constituíram a fração a, e os

amidos obtidos após 120, 1200 e + 1200 minutos foram também misturados e constituíram a fração b, ambas consideradas para estudo.

Uma nova distribuição de tamanho para cada uma das frações foi realizada e está apresentada nas Figuras 8, 9, 10 e 11, para cada um dos cultivares de trigo. Cada figura mostra a distribuição de tamanho para as duas frações a e b.

Fração a: grânulos de amido fracionados nos tempos de sedimentação de 30 e 60 minutos com pelo menos 81,7% dos grânulos com diâmetros maiores que 15 μm para todos os cultivares analisados.

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

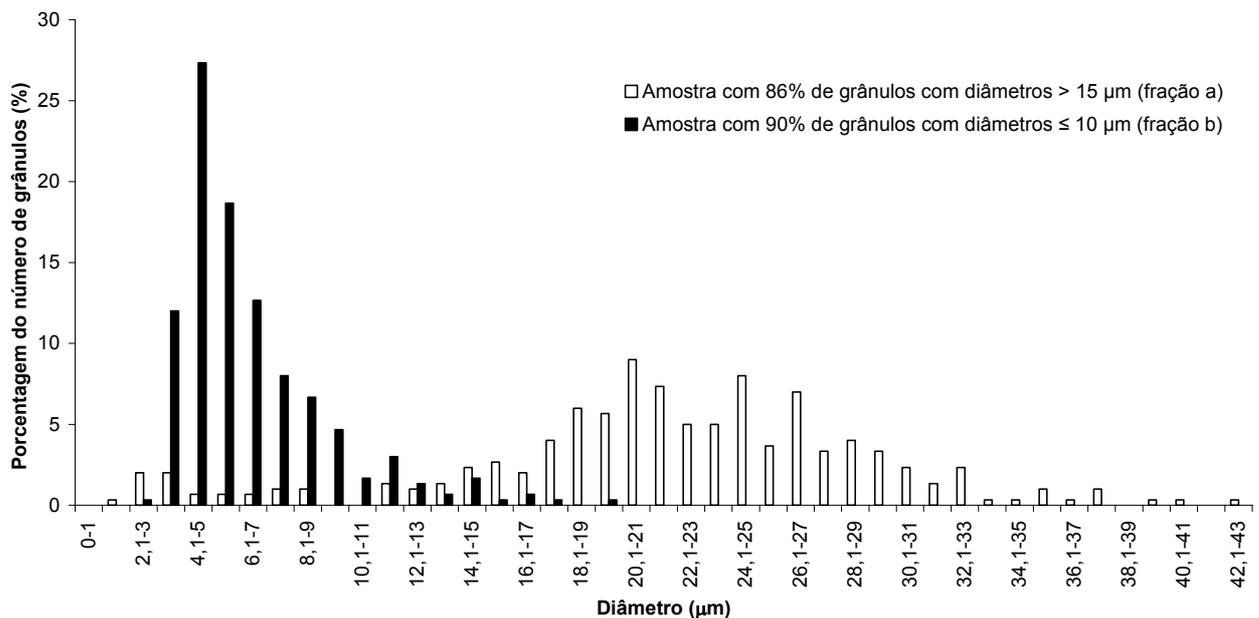


FIGURA 8 - Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar ANAHUAC, após fracionamento

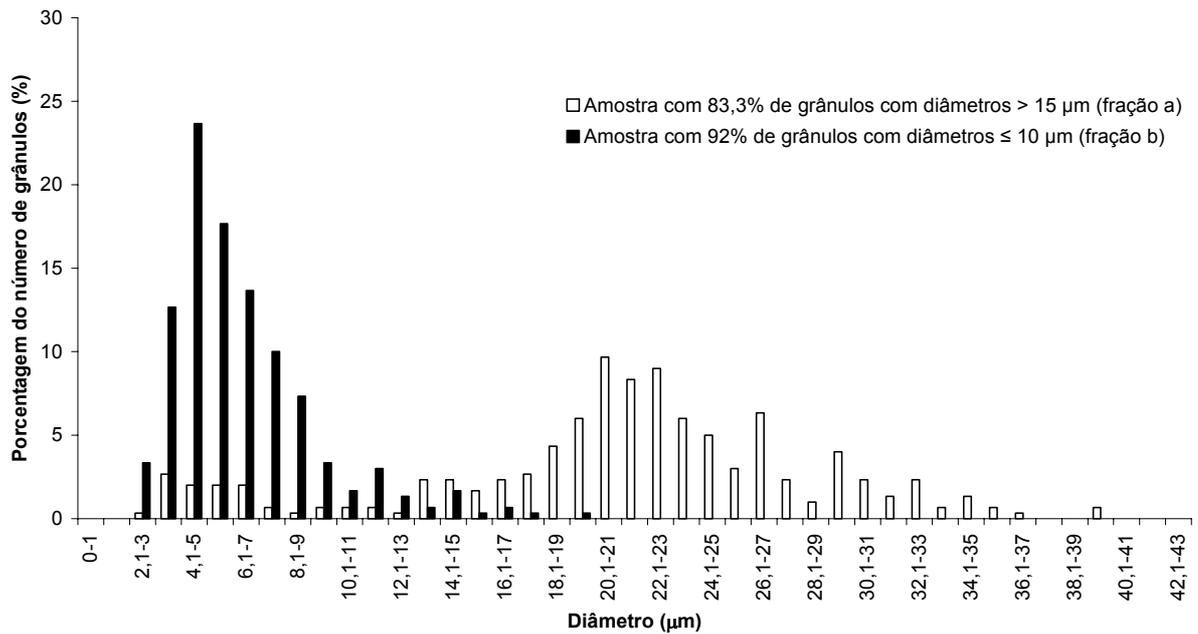


FIGURA 9 - Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar IAC17, após fracionamento

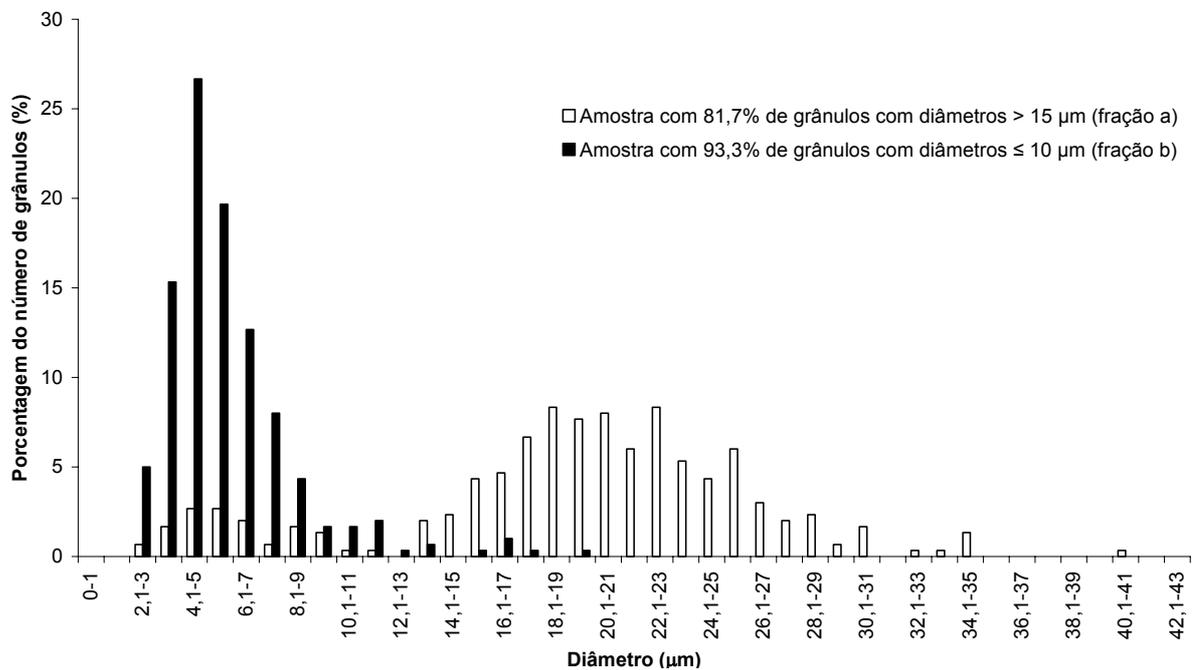


FIGURA 10 - Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar BH1146, após fracionamento

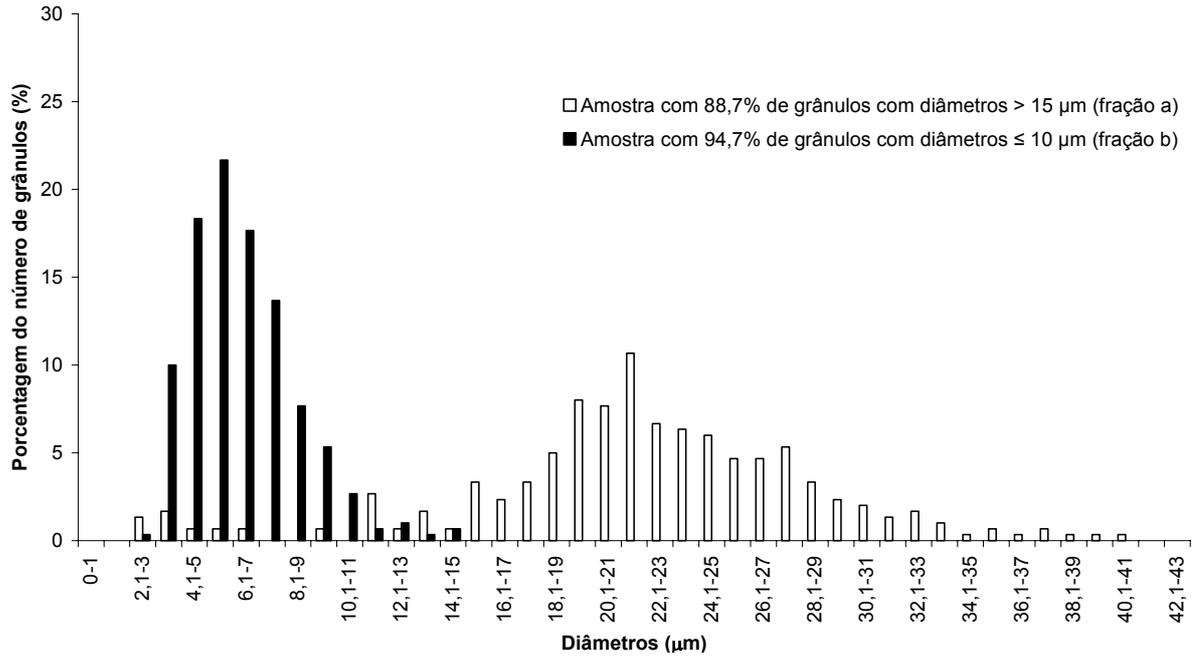


FIGURA 11 – Distribuição de tamanho dos grânulos de amido obtido do cultivar IAC24, após fracionamento

As Figuras 12 e 13 apresentam as micrografias obtidas por microscopia óptica das duas frações de grânulos grandes e pequenos, respectivamente para cada um dos cultivares estudados.

Pode-se observar claramente o formato lenticular desses grânulos que apresentam diâmetro $> 15\mu\text{m}$ (Figura 12), confirmando resultados apresentados por Ando et al. (2002) que mostraram grânulos de forma lenticular para os grânulos considerados tipo A.

O diâmetro médio para cada uma dessas populações de grânulos grandes, obtidas dos diferentes cultivares foi de 21,8, 21,1, 19,4 e 21,9, para ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24, respectivamente. Não foi possível, a partir dessas micrografias, observar qualquer diferença entre os grânulos grandes dos diferentes cultivares analisados. No entanto foi possível observar o menor tamanho dos grânulos do cultivar BH1146 em relação aos demais.

Os grânulos pequenos ($\leq 10\mu\text{m}$) apresentados na Figura 13 para todos os cultivares analisados mostraram formato arredondado ou poligonal.

O diâmetro médio para cada uma dessas populações de grânulos obtidas dos diferentes cultivares foi de 6,4, 6,2, 5,8 e 6,3 para ANAHUAC, IAC17, BH1146 e IAC24, respectivamente. Também aqui não foi possível observar qualquer diferença

entre os grânulos pequenos dos diferentes cultivares, porém mais uma vez foi observado o menor diâmetro para os grânulos do cultivar BH1146.

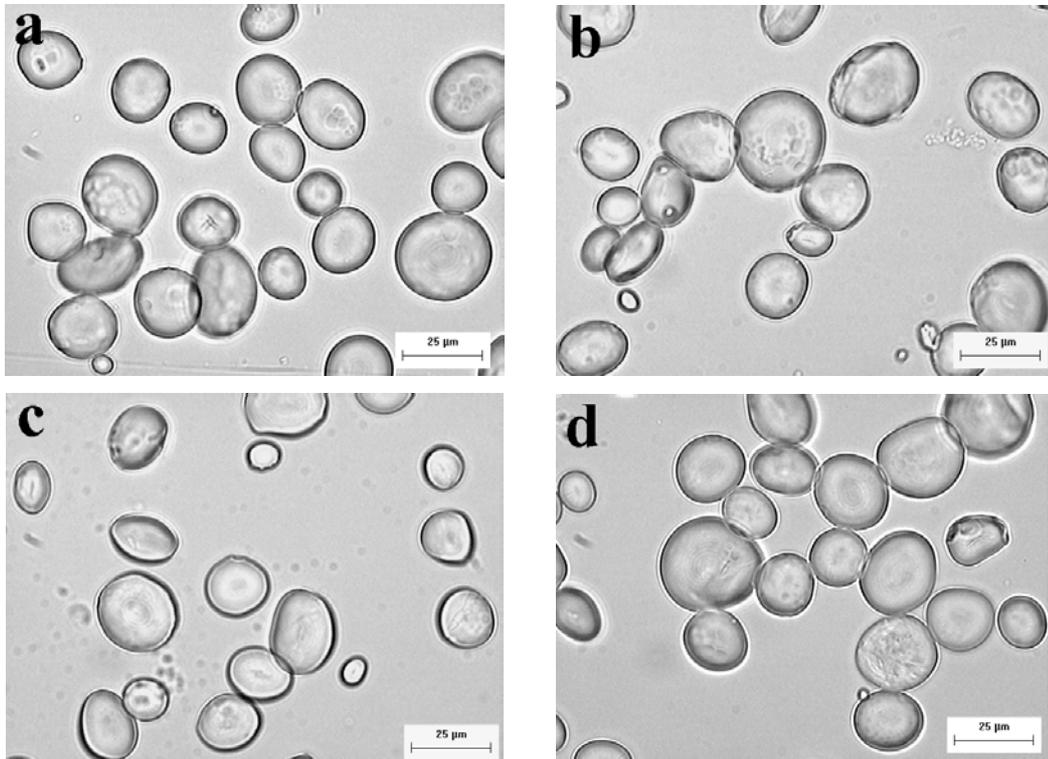


FIGURA 12 – Micrografias dos grânulos de amido de trigo obtidos após fracionamento apresentando mais que 81,7% de grânulos com diâmetros $> 15\mu\text{m}$, a: ANAHUAC, b: IAC17, c: BH1146, d: IAC17.

A partir deste momento, neste trabalho, todas as determinações foram feitas usando os amidos de trigo dos quatro diferentes cultivares antes e após fracionamento por tamanho. Deste modo, para facilitar a redação e entendimento as amostras foram denominadas como segue:

- amido “integral”: amido de qualquer uma das variedades antes do fracionamento;
- $> 15\ \mu\text{m}$: fração de amido após separação por tamanho contendo pelo menos 81,7% de grânulos com diâmetro $> 15\ \mu\text{m}$;
- $\leq 10\ \mu\text{m}$: fração de amido após separação por tamanho contendo pelo menos 90% de grânulos com diâmetro $\leq 10\ \mu\text{m}$.

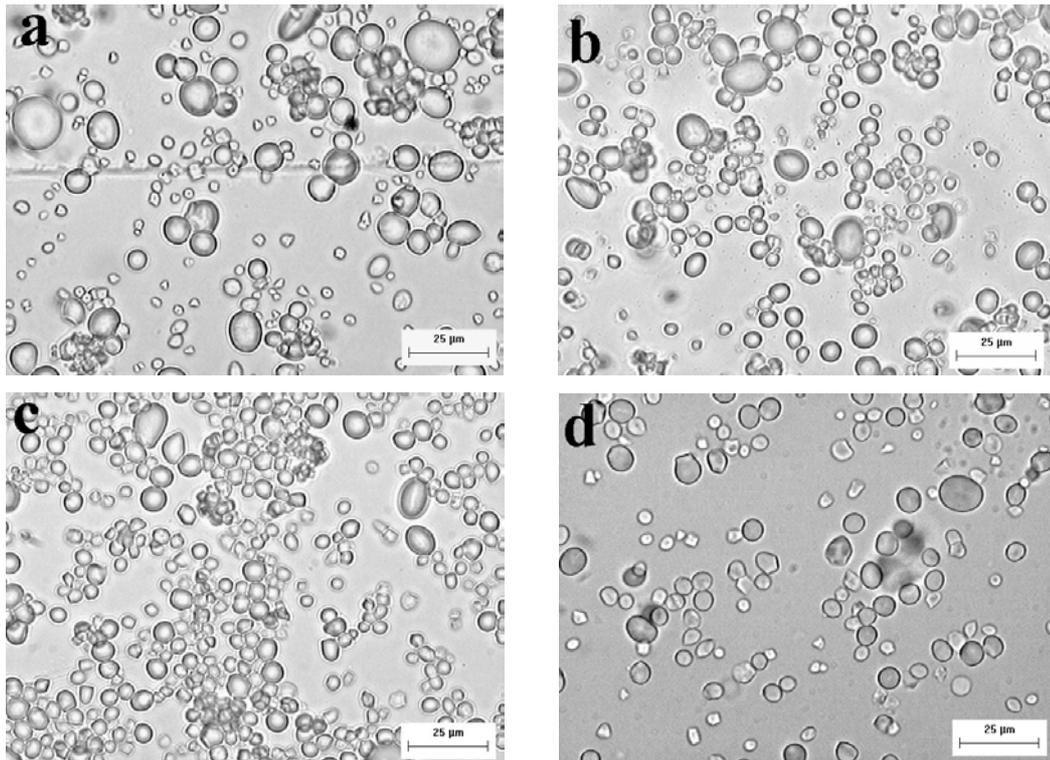


FIGURA 13 – Micrografias dos grânulos de amido de trigo obtidos após fracionamento apresentando mais que 90% de grânulos com diâmetros $\leq 10\mu\text{m}$, a: ANAHUAC, b: IAC17, c: BH1146, d: IAC17.

5.4 Microscopia eletrônica de varredura

As micrografias dos grânulos de amido obtidos dos diferentes cultivares antes e após fracionamento a partir de MEV estão mostradas nas Figuras 14, 15, 16 e 17. Foi possível observar com maior clareza os dois tipos distintos de grânulos grandes e pequenos para todos os cultivares e a forma apresentada pelos mesmos também pôde ser confirmada: grânulos maiores com formato lenticular enquanto os menores mostraram – se arredondados e poligonais.

Os grânulos de amido de trigo dos quatro cultivares analisados apresentaram superfície lisa e alguns poucos grânulos maiores mostraram algumas saliências na sua superfície, próprias desses grânulos (JANE et al., 1994). Não foi possível observar qualquer diferença entre os grânulos obtidos dos diferentes cultivares de trigo. Não foi observado também qualquer dano no amido em função do procedimento de isolamento dos mesmos para todos os cultivares analisados.

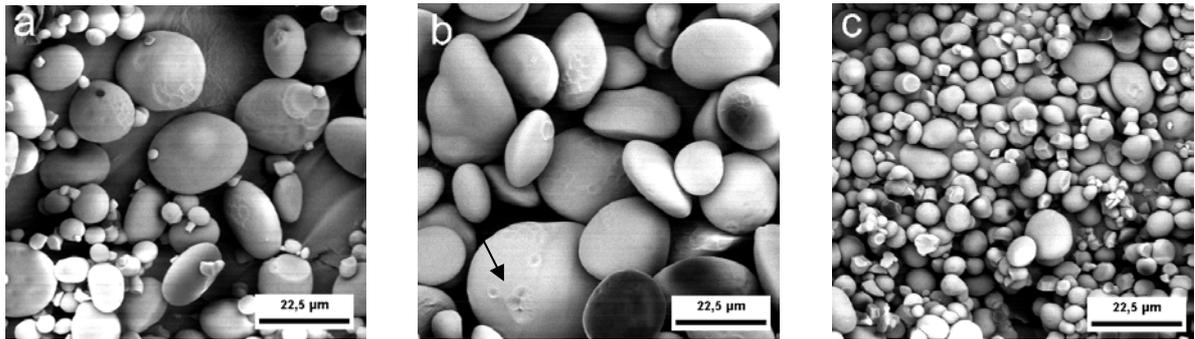


FIGURA 14 – Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo ANAHUAC antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15 μ m, c: \leq 10 μ m.: Saliências \longrightarrow

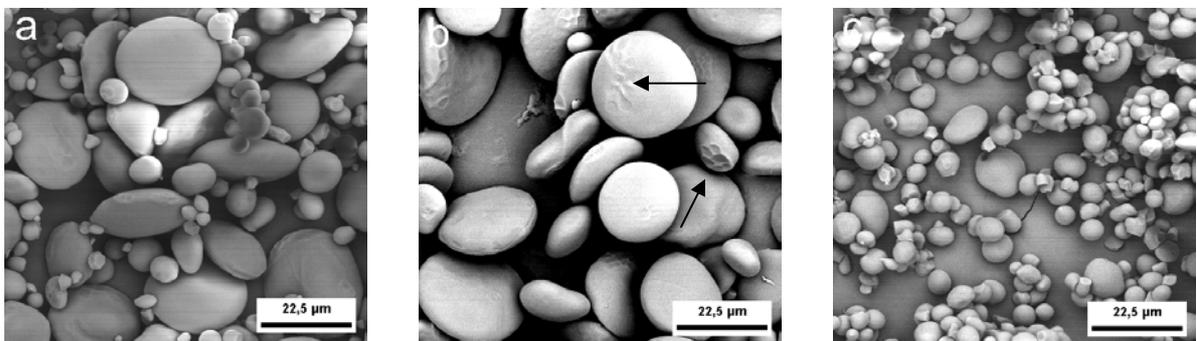


FIGURA 15 – Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo IAC17 antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15 μ m, c: \leq 10 μ m. Saliências: \longrightarrow

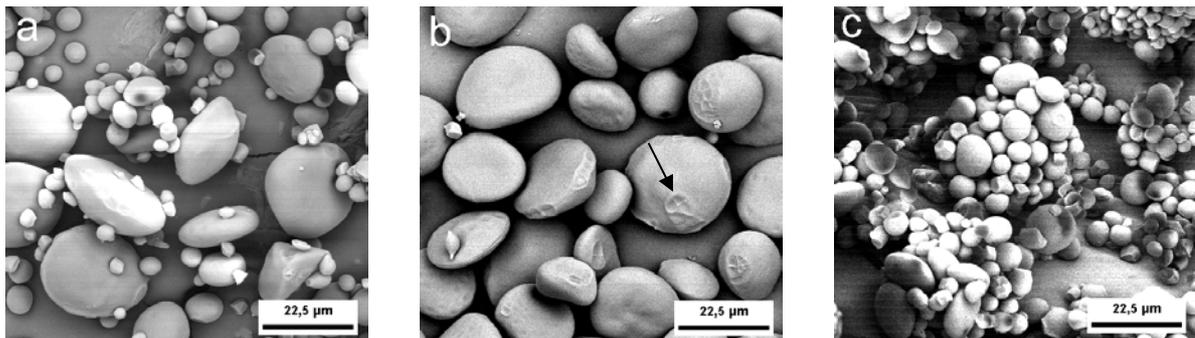


FIGURA 16 – Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo BH1146 antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15 μ m, c: \leq 10 μ m. Saliências: \longrightarrow

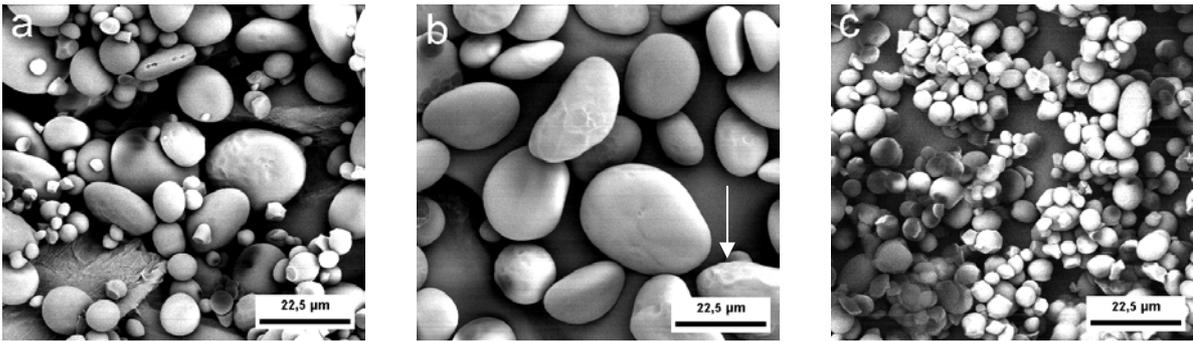


FIGURA 17 – Micrografias observadas ao MEV (aumento de 1000 X) do amido isolado do genótipo de trigo IAC24 antes e após separação por tamanho. a: Integral, b: > 15 μ m, c: \leq 10 μ m. Saliências: \longrightarrow

5.5 Teor de fósforo e de lisofosfolídeos

Os teores de fósforo e lisofosfolídeos obtidos de cada amido antes e após separação por tamanho estão apresentados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. O teor de fósforo das diferentes amostras variou de 0,046 a 0,076% e o teor de LFL calculado de 0,754 a 1,246%. Raeker et al. (1998) observaram, para amidos de 12 variedades de trigo, valores entre 0,049 a 0,060% de fósforo, enquanto Franco et al. (2002) encontraram valores de 0,047 a 0,053% para diferentes genótipos de trigo mole.

O amido “integral” obtido do cultivar ANAHUAC (trigo duro) mostrou maior teor de fósforo e conseqüentemente maior teor de LFL que os outros amidos antes da separação por tamanho, enquanto o cultivar IAC24 apresentou o menor teor desses componentes. Seib (1994) observou que o teor de LFL em amidos de trigo durum era 0,20% maior que aquele em amidos de trigo mole e 0,05 a 0,16% maior que em amidos de trigo duro.

TABELA 7 – Teor de fósforo dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo*

Amostra	Fósforo (%)		
	“Integral”	> 15 µm	≤ 10 µm
ANAHUAC	0,062 ± 0,001 A b	0,059 ± 0,002 A b	0,076 ± 0,004 A a
IAC17	0,053 ± 0,002 B b	0,053 ± 0,001 B b	0,069 ± 0,001 AB a
BH1146	0,057 ± 0,002 AB ab	0,054 ± 0,000 AB b	0,065 ± 0,003 B a
IAC24	0,050 ± 0,001 B b	0,046 ± 0,000 C b	0,063 ± 0,001 B a

*Cada valor representa a média de duas replicatas

Valores seguidos com a mesma letra maiúscula dentro da mesma coluna e com a mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes (P < 0.05).

TABELA 8 – Teor de lisofosfolipídeos dos amidos “integrais” e separados por tamanho isolados dos diferentes cultivares de trigo*

Amostra	LFL (%)		
	Integral	> 15 µm	≤ 10 µm
ANAHUAC	1,016 ± 0,023 A b	0,860 ± 0,012 A b	1,246 ± 0,070 A a
IAC17	0,860 ± 0,035 B b	0,860 ± 0,012 B b	1,123 ± 0,012 AB a
BH1146	0,926 ± 0,035 AB ab	0,885 ± 0,000 AB b	1,065 ± 0,046 B a
IAC24	0,820 ± 0,023 B b	0,754 ± 0,000 C b	1,033 ± 0,023 B a

*Cada valor representa a média de duas replicatas

Valores seguidos com a mesma letra maiúscula dentro da mesma coluna e com a mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes (P < 0.05).

Pode-se observar na Tabela 7 que, para todas as amostras, os grânulos com diâmetro ≤ 10µm apresentaram maior teor de fósforo, resultados estes que concordaram com aqueles apresentados por pesquisadores como Bertolini et al, (2003) e Shinde; Nelson e Huber (2003) que também encontraram um maior teor de fósforo para os grânulos com diâmetro ≤ 10µm.

As amostras de amido “integral” apresentaram teores de fósforo semelhante s aos obtidos pelas amostras com grânulos de diâmetro > 15µm.

De acordo com Raeker et al. (1998) é possível que os lipídeos estejam preferencialmente associados com a biossíntese de grânulos de amidos pequenos e, portanto estes apresentam maiores teores de LFL.

O teor de fósforo na maioria dos cereais ocorre principalmente na forma de lisofosfolipídeos (LFL) (JANE; KASEMSUWAM; CHEN, 1996) e o teor de lipídeos no

interior dos grânulos tem uma composição bem definida (MORRISON, 1995). Desse modo o teor de fósforo obtido nas diferentes amostras foi usado para calcular o teor de lisofosfolípídeos nas diferentes amostras de amido. Morrison (1988) observou que o amido de trigo talvez seja a fonte mais pura de LFL apresentando cerca de 0,729 a 1,047% de LFL cujas moléculas duplamente carregadas possuem excelentes características emulsificantes.

5.6 Teores de amilose total, amilose complexada com lipídeos e amilose aparente

De acordo com Morrison e Laignelet (1983) a amilose determinada em amidos previamente desengordurados é denominada amilose total (AM_T), enquanto aquela determinada na presença de lipídeos é denominada amilose aparente (AM_A). Esses lipídeos complexam com amilose reduzindo a capacidade da mesma em se ligar com iodo. A diferença entre a AM_T e AM_A é igual ao teor de amilose complexada com lipídeos (ΔAM_L)

Neste trabalho, o teor de amilose total, ou seja, da amilose livre de lipídeos foi determinada e está apresentado na Tabela 9. Este segundo, Morrison e Laignelet (1983), seria o único procedimento satisfatório para a determinação da amilose total a partir de método iodométrico. O teor de amilose complexada com lipídeos (ΔAM_L) e o teor de amilose aparente (AM_A) foram calculados como descrito em 4.2.8 e apresentados na Tabelas 10 e 11, respectivamente.

TABELA 9 – Teor de amilose total dos amidos “integrals” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo*

Amostra	Teor de amilose total (AM_t) (%)			
	Tamanho	Integral	> 15 μm	$\leq 10 \mu m$
ANAHUAC		27,75 \pm 0,30 A a	26,95 \pm 0,30 C a	27,16 \pm 0,30 A a
IAC17		27,46 \pm 0,45 A b	29,75 \pm 0,19 A a	26,91 \pm 0,40 A b
BH1146		28,31 \pm 0,19 A a	28,71 \pm 0,34 AB a	26,66 \pm 0,26 A b
IAC24		27,64 \pm 0,00 A a	27,80 \pm 0,30 CB a	26,77 \pm 0,04 A b

*Cada valor representa a média de duas replicatas.

Valores seguidos com a mesma letra maiúscula dentro da mesma coluna e com a mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes ($P < 0.05$).

O teor de amilose total para os amidos “integrais” obtidos dos diferentes genótipos variou de 27,46 a 28,31%, porém não foi observada qualquer diferença significativa entre os diferentes cultivares. Esses resultados se encontram dentro da faixa observada por Raeker et al. (1998); Akashi et al. (1999); Franco et al. (2002) que encontraram 26,7 a 28,8 %, 25,7 a 28,7% e 27,2 a 28,7%, respectivamente para o teor de amilose de amidos de trigo obtidos de diferentes genótipos.

Seib (1994) observou que o teor de amilose total em amido de trigo mole é aproximadamente 2,0 a 2,5 % menor que aquele encontrado em amidos de trigo durum e 1,0 a 1,5% menor que aquele observado em trigo duro. No entanto, neste trabalho não foi observada qualquer diferença significativa para o teor de amilose total entre os diferentes genótipos de trigo, nem tampouco foi observada qualquer correlação entre o teor de fósforo e o teor de amilose total como também observado por Seib (1994).

O teor de ΔAM_L dos amidos isolados dos diferentes genótipos de trigo variou de 5,74 a 7,11%. Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Raeker et al. (1998); Zeng et al. (1997) que analisaram doze variedades de amido de trigo mole e quatorze diferentes cultivares de trigo normal, respectivamente.

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

TABELA 10 – Teor de amilose complexada com lipídeos dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo*

Amostra	Teor de amilose complexada (ΔAM_L) (%)		
	Integral	> 15 μm	$\leq 10 \mu m$
ANAHUAC	7,11 \pm 0,16 A b	6,71 \pm 0,24 A b	8,72 \pm 0,49 A a
IAC17	6,02 \pm 0,24 B b	6,02 \pm 0,08 A b	7,86 \pm 0,08 AB a
BH1146	6,71 \pm 0,41 AB ab	6,20 \pm 0,00 A b	7,46 \pm 0,32 B a
IAC24	5,74 \pm 0,16 B b	5,28 \pm 0,00 A b	7,23 \pm 0,16 B a

*Cada valor representa a média de duas replicatas

Valores seguidos com a mesma letra maiúscula dentro da mesma coluna e com a mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes ($P < 0.05$).

Os teores de amilose aparente (AM_A) dos diferentes amidos foram calculados pela diferença $AM_T - \Delta AM_L$, e estão apresentados na Tabela 11.

Como esperado o amido obtido do trigo duro (ANAHUAC) apresentou menor teor de AM_a que os amidos obtidos de trigo mole e híbridos.

TABELA 11 – Teor de amilose aparente dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo*

Amostra	Teor de amilose aparente (AM_a) (%)		
	Integral	> 15 μm	$\leq 10 \mu\text{m}$
ANAHUAC	20,64 \pm 0,14 B a	20,24 \pm 0,06 C a	18,43 \pm 0,16 A b
IAC17	21,43 \pm 0,21 AB b	23,72 \pm 0,11 A a	19,17 \pm 0,60 A c
BH1146	21,60 \pm 0,22 A a	22,51 \pm 0,34 B a	19,20 \pm 0,59 A b
IAC24	21,91 \pm 0,16 A a	22,53 \pm 0,30 B a	19,54 \pm 0,20 A b

*Cada valor representa a média de duas replicatas.

Valores seguidos com a mesma letra maiúscula dentro da mesma coluna e com a mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes ($P < 0.05$).

Para os grânulos fracionados, o teor de amilose total das amostras variou de 26,95 a 29,75% para os grânulos > 15 μm e de 26,66 a 27,16 % para os grânulos $\leq 10 \mu\text{m}$ (Tabela 9). Morrison (1989) encontrou valores de 27,2 a 30,4% e 25,9 a 29,1%, para grânulos tipo A e tipo B, respectivamente, ao estudar três variedades de trigo.

Dos resultados obtidos pode-se observar que os grânulos maiores concentram, de maneira geral, maior teor de amilose em relação aos grânulos pequenos. Esses resultados concordam com muitos dos encontrados na literatura (ANDO et al., 2002; BERTOLINI et al., 2003; HUNG; MORITA, 2005).

A escala de diferença de 1-3% nas concentrações de amilose entre os grânulos > 15 μm e $\leq 10 \mu\text{m}$ foi menor que aquelas encontradas por outros pesquisadores. Peng et al. (1999) observaram uma diferença entre 3-10% no teor de amilose de grânulos grandes e pequenos. Essa maior diferença pode ter ocorrido devido a maior pureza das populações de grânulos tipo A e B obtido por Peng et al. (1999). Peng et al. (1999) observaram que em estudos realizados por Eliasson e Karlsson (1983) e por Soulaka e Morrison (1985) em que a separação dos grânulos tipo A e B foi realizada por sedimentação em água, como neste estudo, a pureza dos

grânulos foi inferior àquela observada quando a separação era realizada por micropeneiração.

Segundo Karlsson; Olered e Eliasson (1983), o teor de amilose complexada com lipídeos no amido de trigo aumenta durante o desenvolvimento do grão, em parte devido ao aumento da proporção de grânulos pequenos uma vez que os grânulos pequenos são caracterizados por apresentarem maior teor do complexo amilose-lipídeo do que os grânulos grandes. Neste trabalho os grânulos pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$) apresentaram maior teor de amilose complexada com lipídeo em relação aos grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$) para todas os cultivares estudados.

Como esperado os valores de amilose aparente mostraram comportamento semelhante ao observado para o teor de amilose total, sendo que os grânulos $> 15 \mu\text{m}$ apresentaram os maiores valores quando comparados aos grânulos $\leq 10 \mu\text{m}$ (Tabela 11).

5.7 Difração de Raios-X

Os padrões de cristalinidade dos amidos obtidos dos diferentes cultivares de trigo estão apresentados na Figura 18.

Todas as amostras avaliadas mostraram os maiores picos próximos a 15, 17, 18, 20 e 23° em 2θ , os quais estão representados pelos números 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Conforme classificado por Zobel (1988), esses amidos apresentaram características de cristais de amido com padrão de difração tipo A.

Segundo Seib (1994), a área cristalina dos amidos nativos é polimórfica e o tipo de cristal depende em grande parte do comprimento médio das cadeias de sua amilopectina. As duplas hélices nas amilopectinas do trigo são compreendidas de cadeias relativamente curtas com comprimento médio de cadeia (\overline{CL}) de 24-25 grau de polimerização (DP). Então este amido cristaliza em um arranjo hexagonal muito bem empacotado com cerca de 3% de umidade no seu interior, fornecendo o padrão tipo A.

Na Figura 18 pode-se observar que o amido obtido do cultivar ANAHUAC apresentou os picos mais resolvidos enquanto a amostra obtida do cultivar IAC24 os menos resolvidos. As amostras obtidas dos cultivares BH1146 e IAC17 mostraram

intensidades de picos semelhantes. Isso poderia supor que os amidos apresentassem maior ou menor cristalinidade em função da maior ou menor intensidade de seus picos. No entanto, os índices de cristalinidade relativa determinados abaixo não confirmam essa suposição.

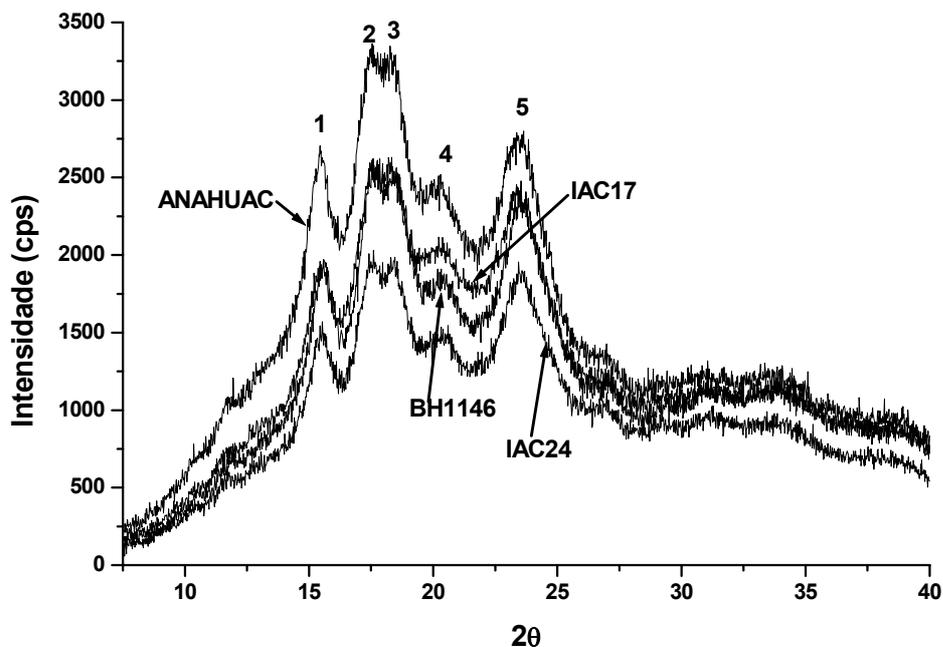


FIGURA 18 – Difractogramas de raios-X dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo.

O índice de cristalinidade relativa pode ser calculado fazendo-se a razão em média das intensidades das áreas cristalinas difratadas (A_c) pela intensidade da área total difratada, composta pelas intensidades da área da região cristalina e da área amorfa (A_a). Um exemplo é mostrado na Figura 19, para o amido de trigo ANAHUAC empregando-se a equação abaixo, como descrito por Sebio (2003).

$$I_c = \frac{A_c}{A_c + A_a}$$

Onde,

I_c : Índice de Cristalinidade Relativa

A_c : Área da região cristalina da curva

A_a : Área da região amorfa da curva

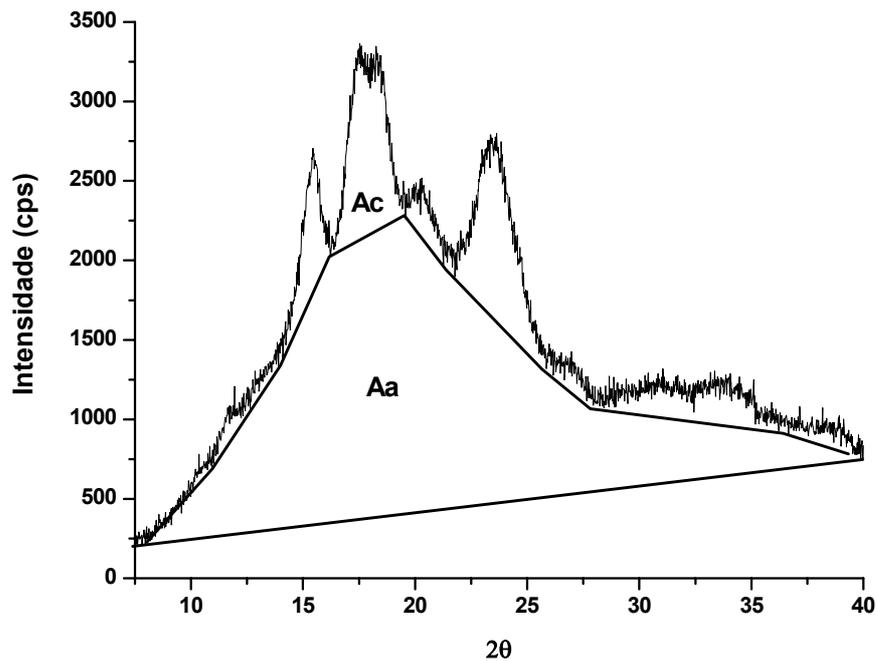


FIGURA 19 – Diffractograma de raios-X descritivo do método de índice de cristalinidade adaptado à razão das intensidades difratadas (Amostra ANAHUAC).

Os índices de cristalinidade das amostras de amidos “integrais” e separados por tamanho estão listados na Tabela 12.

O índice de cristalinidade das diferentes amostras variou de 22,35 a 28,24%. Os amidos “integrais” dos cultivares ANAHUAC e IAC17 apresentaram os menores índices de cristalinidade, enquanto BH1146 e IAC24 mostraram os maiores. Segundo Seib (1994) os níveis de cristalinidade e ordem molecular em amidos de trigo são os menores encontrados em amidos comerciais. Em sua revisão, este autor apresentou um índice de cristalinidade de 20% para o amido de trigo enquanto o amido de milho mostrou 27%.

De acordo com Cheetam e Tao (1998); Yoo e Jane (2002); Vandeputte et al. (2003) o teor de amilose correlaciona-se negativamente com o grau de cristalinidade dos amidos, ou seja, quanto maior o teor de amilose do amido, menor sua cristalinidade. Não foi observada neste trabalho diferença significativa entre o teor de amilose total das diferentes amostras, como apresentado na Tabela 9, sugerindo que outros fatores também podem ter influenciado no maior IC apresentado pelas amostras BH1146 e IAC24.

TABELA 12 - Índice de cristalinidade dos amidos “integrals” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo*

Tamanho	IC (%)		
	Integral	Grânulos > 15 µm	Grânulos ≤ 10 µm
ANAHUAC	22,35 ± 0,42 D b	25,43 ± 0,53 A a	25,40 ± 0,42 C a
IAC17	23,21 ± 0,17 C c	24,49 ± 0,55 A b	26,27 ± 0,32 BC a
BH1146	26,85 ± 0,12 A b	24,96 ± 0,30 A c	28,24 ± 0,34 A a
IAC24	25,81 ± 0,37 B ab	25,05 ± 0,28 A b	26,52 ± 0,53 B a

*Cada valor representa a média de três replicatas.

Valores seguidos com a mesma letra maiúscula dentro da mesma coluna e com a mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes (P < 0.05).

Com relação ao tamanho dos grânulos, pode ser observado da Tabela 12 que não houve diferença significativa entre o IC para os grânulos grandes e pequenos da amostra ANAHUAC. No entanto, para os cultivares IAC17, BH1146 e IAC 24 os grânulos pequenos (≤ 10 µm) apresentaram maior IC que os grânulos grandes (>15 µm). Esses resultados concordam com aqueles encontrados por Tang; Watanabe e Mitsunaga (2002) ao estudarem amido de cevada, cujos grânulos também foram separados por tamanho.

Foi observado neste trabalho (Tabela 9) que os grânulos grandes (>15 µm) apresentaram maior teor de amilose que os pequenos (≤ 10 µm), com exceção da amostra obtida do cultivar ANAHUAC. Maiores teores de amilose nos grânulos de amido estão relacionados a menores IC (CHEETAN; TAO, 1998; YOO; JANE, 2002; VANDEPUTTE et al., 2003), o que pode ser observado para os grânulos grandes das variedades IAC17, BH1146 e IAC24. Os grânulos grandes e pequenos da variedade ANAHUAC não apresentaram diferença significativa em seu teor de amilose (Tabela 9), o que provavelmente contribuiu para que os mesmos não apresentassem diferença no IC.

O pico 4, em amidos de cereais (20° em 2θ) é característico do complexo amilose-lipídeo (ANDO et al., 2002). Isso significa que parte da amilose está complexada com LFL presentes no amido. Neste trabalho todas as amostras

analisadas mostraram a formação destes complexos, como já foi observado quando o teor de amilose complexada com lipídeos foi determinado (Tabela 10).

5.8 Susceptibilidade enzimática

A quantidade de açúcares redutores, produzida por 100 g de amido obtido dos diferentes cultivares de trigo frente à ação da α -amilase bacteriana está apresentada na Figura 20.

O perfil de hidrólise foi semelhante para todos os amidos mostrando duas fases distintas. Na primeira, correspondendo as primeiras 12 horas de tratamento, a taxa de hidrólise foi mais rápida. Na segunda etapa houve diminuição da taxa de hidrólise.

De acordo com Jacobs et al. (1998), a cinética da α -amilase é caracterizada por uma etapa inicial em que ocorre uma alta taxa de hidrólise, fase em que as regiões mais amorfas do grânulo são degradadas, seguida de uma segunda etapa em que a hidrólise é mais lenta.

O amido obtido do genótipo ANAHUAC (trigo duro) mostrou-se mais susceptível à enzima seguido do IAC17, BH1146 e IAC24. A susceptibilidade enzimática dos amidos depende de uma série de fatores dentre eles o grau de cristalinidade, a relação amilose/amilopectina, o tamanho dos grânulos (JACOBS et al., 1998).

Os resultados obtidos neste trabalho mostram uma correlação negativa entre o índice de cristalinidade e a susceptibilidade enzimática. Amidos obtidos dos genótipos ANAHUAC e IAC17 que apresentaram menores índices de cristalinidade (Tabela 12) também mostraram ser os mais susceptíveis à hidrólise enzimática.

Segundo Gallant; Bouchet e Baldwin (1997) as lamelas amorfas e cristalinas da amilopectina são organizadas numa estrutura grande, mais ou menos esférica, chamada bloquetes. Este modelo de estrutura do amido assume que as lamelas cristalinas são formadas por clusters das cadeias laterais da amilopectina arranjadas em dupla hélice. Os clusters são intercalados com a lamela amorfa das regiões de ramificação da amilopectina. A região onde se concentra a amilopectina é mais densa ou cristalina. Sendo mais compacta, dificulta a entrada de moléculas como as

de água e enzimas, apresentando-se, portanto mais resistente ao processo de hidrólise. Os autores mostram que a suscetibilidade à α -amilase diminui com o aumento no tamanho dos bloquetes.

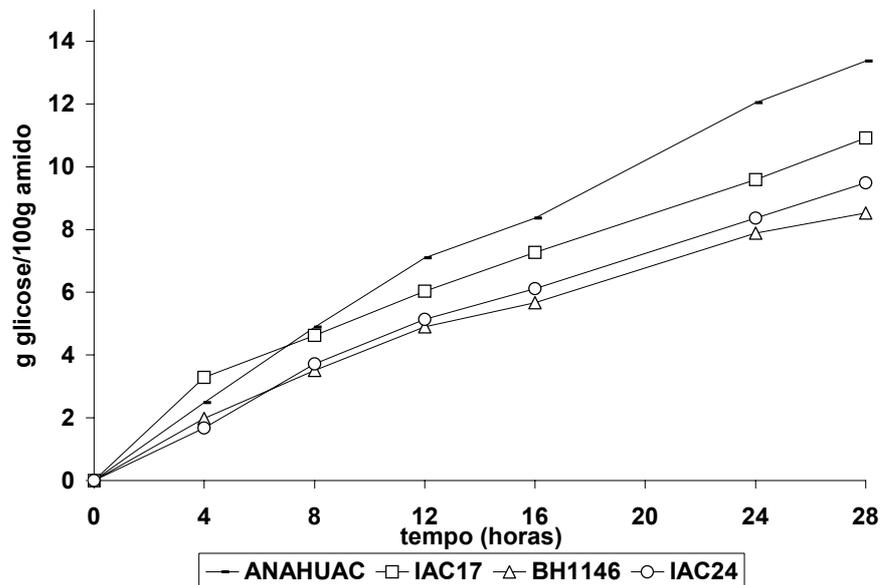


FIGURA 20 – Porcentagem de açúcares redutores produzidos por 100 g de amido, em função do tempo de incubação, durante a hidrólise dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo com α -amilase bacteriana

As quantidades de açúcares redutores produzidos por 100 g de amido, durante a hidrólise dos amidos isolados dos diferentes cultivares e separados por tamanho, estão apresentados nas Figuras 21, 22, 23 e 24.

Para todos os cultivares estudados, os amidos que apresentaram menor tamanho de grânulos mostraram-se mais susceptíveis à hidrólise. Esses resultados concordam com aqueles apresentados por outros pesquisadores (FRANCO; CIACCO, 1992; TANG; WATANABE; MITSUNAGA, 2002; NODA et al., 2005), que ao estudarem amidos de milho, cevada e batata, respectivamente, também encontraram uma suscetibilidade maior para os grânulos com diâmetros menores.

Das análises anteriores foi observado que os grânulos pequenos apresentaram menor teor de amilose e maior IC que os grânulos grandes. Estes resultados poderiam sugerir que em função da maior cristalinidade, esses grânulos também fossem os menos susceptíveis à hidrólise. No entanto, as maiores taxas de hidrólise para os grânulos pequenos parecem estar relacionadas à maior área superficial dos grânulos.

Segundo Tester; Qi e Karkalas (2006), a hidrólise enzimática de grânulos de amido envolve enzimas em solução agindo sobre um substrato sólido e desta forma, a área superficial acessível às enzimas se torna um parâmetro cinético crítico.

Foi observado também que o comportamento dos amidos “integrais” e dos grânulos grandes ($> 15 \mu\text{m}$) frente à α -amilase foi semelhante. Como observado da distribuição de tamanho de grânulos dos amidos “integrais” (Figuras 3, 4, 5 e 6) esses amidos apresentaram aproximadamente 3% de grânulos com diâmetro $> 15 \mu\text{m}$, porém isso representa mais de 70% (DENGATE; MEREDITH, 1984; SOULAKA; MORRISON, 1985; BETCHEL et al., 1990; RAEKER et al., 1998; PENG et al., 1999) em peso, o que faz com que ao pesar determinada quantidade de amido “integral” maior número de grânulos grandes contribuam para diminuir a área superficial e assim apresentar um perfil semelhante àquele dos grânulos grandes.

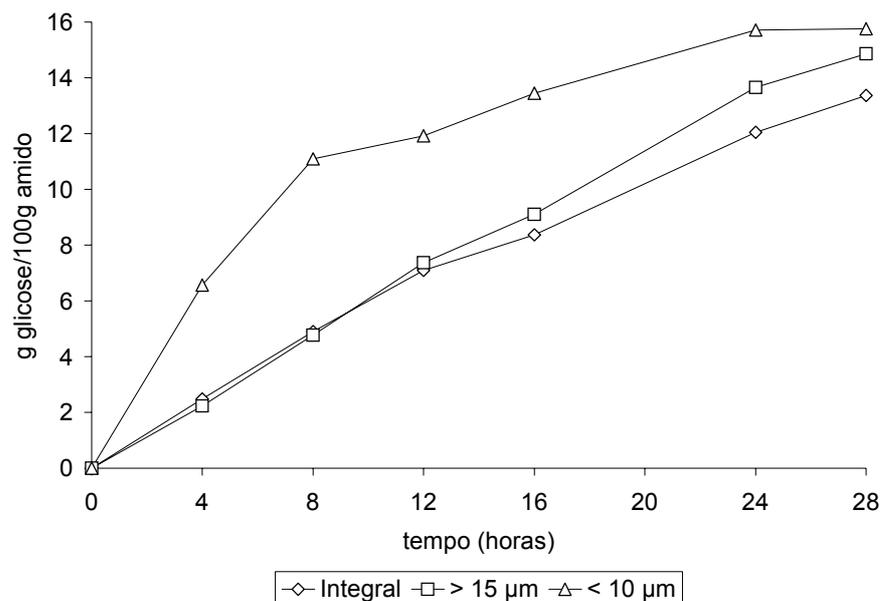


FIGURA 21 – Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar ANAHUAC, com α -amilase bacteriana, antes a após separação por tamanho.

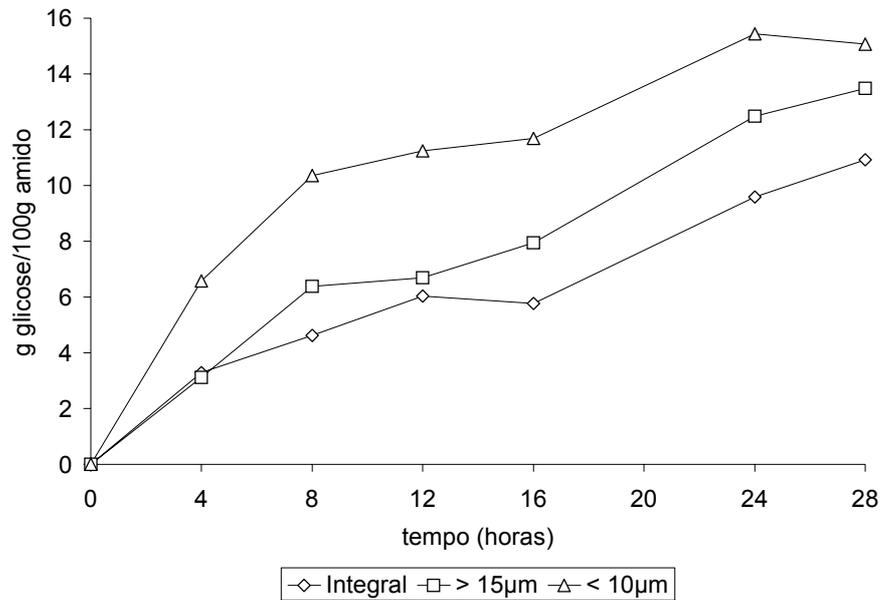


FIGURA 22 – Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido, em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar IAC17, com α -amilase bacteriana, antes a após separação por tamanho.

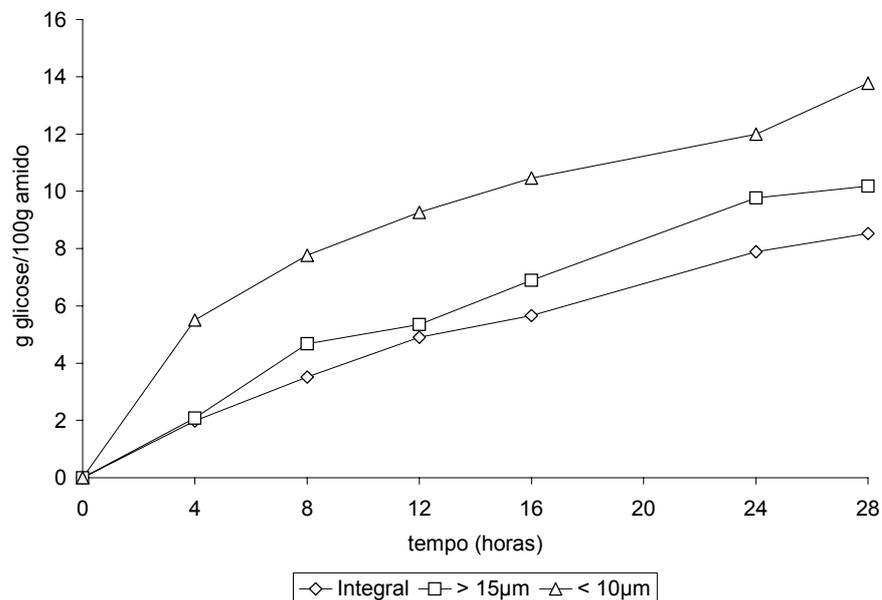


FIGURA 23 – Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido, em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar BH1146, com α -amilase bacteriana, antes a após separação por tamanho.

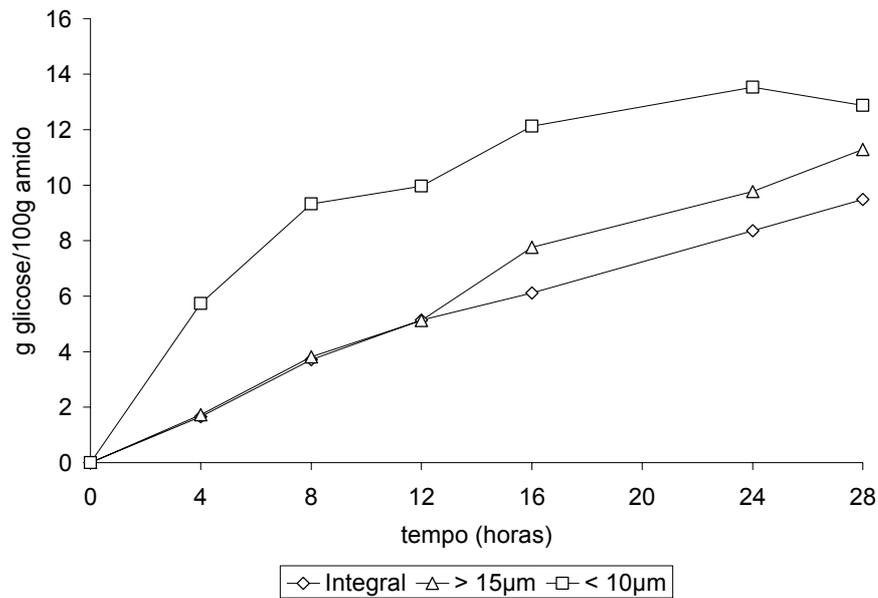


FIGURA 24 – Quantidade de açúcares redutores produzida por 100 g de amido, em função do tempo de incubação, durante a hidrólise do amido de trigo isolado do cultivar IAC24, com α -amilase bacteriana, antes e após separação por tamanho.

5.9 Propriedades térmicas

Quando o amido é aquecido em excesso de água seus grânulos incham, e a organização cristalina se decompõe para formar regiões amorfas. Esta desordem molecular é denominada gelatinização e um fenômeno endotérmico é freqüentemente observado, usando-se um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC) (KOHYAMA et al., 2004).

As propriedades térmicas de gelatinização dos amidos “integrais” e separados por tamanho obtidos dos diferentes cultivares estão apresentadas na Tabela 13. As temperaturas iniciais de gelatinização (T_0) variaram de 53,50 a 55,27°C e as entalpias de 8,12 a 12,32 J/g.

TABELA 13 – Propriedades térmicas dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo*

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

* Cada valor representa a media de duas replicatas.

Valores seguidos com a mesma letra dentro da mesma coluna não são estatisticamente diferentes ($P < 0.05$).

T_o : temperatura inicial de gelatinização.

T_p : temperatura de pico.

T_f : temperatura final de gelatinização.

ΔH : variação de entalpia.

As amostras de amido “integral” obtidas dos cultivares BH1146 e IAC24 apresentaram temperaturas de gelatinização e entalpia maiores que as apresentadas pelas amostras obtidas dos cultivares ANAHUAC e IAC17.

Estes resultados podem estar relacionados com o maior índice de cristalinidade apresentado por estes amidos (Tabela 12) em relação aos demais. Em amidos que apresentam altas cristalinidades, suas áreas amorfas são menos

facilmente hidratadas e conseqüentemente o início do inchamento e gelatinização são atrasados (TESTER et al., 2001). O maior valor de entalpia apresentado por estes amidos também sugere maior porcentagem de arranjos organizados ou uma maior estabilidade dos cristais. Esses dados também explicam a maior resistência desses amidos (BH1146 e IAC24) frente à ação enzimática (Figura 20).

Para as amostras de amido de diferentes tamanhos de grânulos pode ser observado que com exceção da temperatura inicial de gelatinização das amostras obtidas dos cultivares ANAHUAC e IAC24 todas as demais temperaturas de gelatinização (T_p e T_f) para essas amostras e (T_o , T_p e T_f) para as amostras obtidas dos cultivares IAC17 e BH1146 mostraram-se maiores para os grânulos pequenos em relação aos “integrais” e $> 15 \mu\text{m}$. Estes resultados confirmam aqueles observados para IC e teor de amilose dessas amostras. As propriedades de gelatinização e inchamento são controladas em parte pela estrutura da amilopectina. Como as regiões cristalinas do grânulo de amido são geralmente compostas de amilopectina e não de amilose, amidos com alto teor de amilose apresentam baixas temperaturas de gelatinização (inicial e de pico) (NODA et al., 1998).

Não foi observada diferença significativa entre as entalpias de gelatinização dos grânulos grandes e pequenos. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Hung e Morita (2005) e Ando et al. (2002).

De acordo com Eliasson e Karlsson (1983) a entalpia de gelatinização do amido de trigo é independente da distribuição de tamanho de grânulos.

A faixa de temperatura de gelatinização das amostras foi maior para os grânulos menores ($\leq 10 \mu\text{m}$). Ando et al. (2002) e Vermeylen et al. (2006) sugerem que a maior faixa de temperatura de gelatinização dos grânulos pequenos de amido pode ser devida o maior número de grânulos por peso de amido.

5.10 Poder de inchamento (PI)

Quando o amido é aquecido em excesso de água, o grânulo de amido incha e seu volume aumenta (SASAKI; MATSUKI, 1998). A magnitude desse inchamento é função da fonte de amido e da temperatura utilizada. Neste estudo, o inchamento

dos grânulos de amido isolados dos diferentes genótipos antes e após separação por tamanho, foi determinado a 70°C.

Valores observados na Tabela 14 para o poder de inchamento a 70°C, variaram de 7,09 a 9,82 g/g (b.s.). Esses resultados concordam com aqueles observados por Wickramasinghe et al. (2005) que determinaram o PI de nove amostras de amidos de trigo mole e duro também a 70°C e encontraram valores de 7,4 a 8,8 g/g.

TABELA 14 - Poder de inchamento (PI) dos amidos “integrais” e separados por tamanho, isolados de diferentes cultivares de trigo determinados a 70°C*

Amostra	PI (g/g b.s.)		
	Integral	> 15 µm	≤ 10 µm
ANAHUAC	7,71 ± 0,15 B b	8,87 ± 0,19 AB a	7,09 ± 0,14 B b
IAC17	8,60 ± 0,26 B a	8,57 ± 0,12 AB a	7,25 ± 0,10 B b
BH1146	8,49 ± 0,25 B a	8,28 ± 0,17 B a	7,21 ± 0,25 B b
IAC24	9,82 ± 0,13 A a	8,93 ± 0,09 A b	7,98 ± 0,14 A c

* Cada valor representa a média de duas replicatas

Valores seguidos com a mesma letra maiúscula dentro da mesma coluna e com a mesma letra minúscula na mesma linha não são estatisticamente diferentes (P < 0.05).

Dos genótipos estudados, o amido obtido de ANAHUAC (trigo duro) apresentou o menor valor de PI. Esses resultados concordam com aqueles obtidos por Wickramasinghe et al. (2005) e Seib (1994) que também observaram menor poder de inchamento para amidos obtidos de grãos duros. O amido obtido do trigo duro também apresentou o maior teor de LFL e conseqüentemente maiores concentrações de amilose complexada com lipídeo (Tabela 10), responsável pelo menor poder de inchamento apresentado.

O complexo amilose-lipídeo pode restringir o inchamento e solubilização dos amidos (SWINKELS, 1985; SASAKI; MATSUKI, 1998). De acordo com Tester e Morrison (1990), os lipídeos naturais do amido de trigo causam uma supressão do inchamento a 70°C e provavelmente em todos os pontos da curva até 80°C.

Para todas as amostras estudadas os grânulos pequenos apresentaram menor PI do que os grânulos grandes. Os grânulos pequenos também apresentaram maior teor de LFL (Tabela 8) e conseqüentemente maior teor de amilose complexada com lipídeos (Tabela 10). Esses complexos restringem o inchamento e solubilidade dos grânulos.

Como discutido anteriormente, de acordo com Zheng e Sosulski (1997) o poder de inchamento está muito mais relacionado com a estrutura do grânulo e sua composição química do que com o tamanho dos grânulos propriamente. As propriedades de gelatinização e poder de inchamento são determinados primeiramente pela amilopectina. A amilose atua parcialmente como um diluente da amilopectina e parcialmente como um inibidor do inchamento, especialmente quando complexado com lipídeos (TESTER; MORRISON, sd, apud MORRISON, 1989). Por isso a alta quantidade de amilose complexada com lipídeo inibiria o inchamento e a gelatinização (ZHENG; SOSULSKI, 1997).

5.11 Propriedades de pasta

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

Pastas e géis de amido contribuem para textura de muitos alimentos à base de trigo. As propriedades de pasta e os perfis viscoamilográficos dos amidos determinados através da utilização do Rápido Visco Analisador (RVA) estão apresentados na Tabela 15 e Figura 25.

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

Essas características apresentadas de modo geral para todos os amidos estudados estão relacionadas ao teor de amilose apresentado para amidos de trigo, que gira em torno de 28% (FRANCO et al., 2002; ZENG et al., 1997). Altos teores de

amilose, como apresentados pelo amido de trigo, estão associados a menores viscosidades de pico (SASAKI; YASUI; MATSUKI, 2000). Segundo Jane et al. (1999), altos teores de amilose aumentam a estabilidade dos grânulos à ruptura sob agitação, pois as moléculas lineares fortemente associadas mantêm a integridade do grânulo de amido aumentando sua resistência a agitação mecânica além de apresentar temperaturas de pasta mais elevadas e contribuir para a alta tendência a retrogradação.

TABELA 15 - Propriedades de pasta dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo*

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

*Cada valor representa a média de duas replicatas

Viscosidade: Unidade RVU; Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são estatisticamente diferentes ($P < 0.05$).

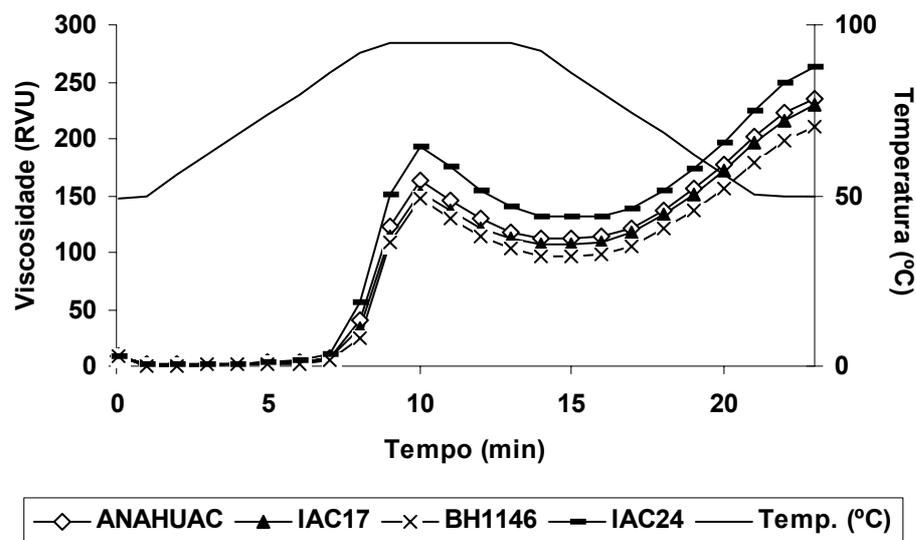


FIGURA 25 – Perfil viscoamilográfico dos amidos isolados dos diferentes cultivares de trigo.

5.12 Características estruturais dos amidos submetidos ao “annealing”

5.12.1 Propriedades térmicas dos amidos submetidos ao “annealing”

As propriedades térmicas dos amidos “integrais” e separados por tamanho obtidos dos diferentes cultivares após “annealing” estão apresentados na Tabela 16.

Todas as amostras tiveram sua temperatura inicial de gelatinização aumentada e um estreitamento na faixa de temperatura após o tratamento hidrotérmico, quando comparadas com os amidos antes do tratamento (Tabela 13).

Os resultados encontrados nesse estudo concordam com pesquisadores como Kohyama e Sasaki (2006) e Kiseleva et al. (2005), que também estudaram o efeito do “annealing” nas propriedades térmicas do amido de trigo.

Vários autores têm postulado que o “annealing” provoca um rearranjo das moléculas de amilose e amilopectina aumentando a estabilidade e perfeição dos cristais com a formação de uma estrutura mais ordenada (KISELEVA et al., 2004, 2005; TESTER; DEBON; SOMMERVILLE, 2000) levando ao aumento nas temperaturas de gelatinização e estreitamento da faixa de temperatura de gelatinização. Por outro lado, pode ser observado na Tabela 16 que as entalpias de gelatinização diminuíram com o tratamento hidrotérmico para todas as amostras analisadas. De acordo com Tester et al. (1998) isso pode ter ocorrido em função do “annealing” não provocar formação de novas duplas hélices nem aumentar a cristalinidade do amido, apesar de aumentar a estabilidade e perfeição dos mesmos. O tratamento hidrotérmico afetou de modo semelhante às propriedades térmicas dos amidos independentemente dos cultivares e do tamanho dos grânulos do amido.

TABELA 16 – Propriedades térmicas dos amidos “integrals” e separados por tamanho, isolados dos diferentes cultivares de trigo após “annealing”*

	T_o (°C)	T_p (°C)	T_f (°C)	ΔH (J/g)
ANAHUAC				
Integral	67,41 ± 0,21 abc	68,82 ± 0,18 ab	70,25 ± 0,17 a	8,44 ± 0,36 ab
> 15 µm	67,96 ± 0,54 abc	69,08 ± 0,23 ab	70,75 ± 0,63 a	7,61 ± 0,66 abc
≤ 10 µm	66,87 ± 0,42 c	68,72 ± 0,34 b	70,50 ± 0,33 a	6,67 ± 0,74 abc
IAC17				
Integral	67,70 ± 0,15 abc	69,30 ± 0,12 ab	70,75 ± 0,17 a	7,98 ± 0,64 abc
> 15 µm	68,56 ± 0,54 a	70,05 ± 0,65 a	71,59 ± 0,79 a	6,47 ± 1,24 bc
≤ 10 µm	67,82 ± 0,42 abc	69,57 ± 0,39 ab	71,33 ± 0,40 a	6,38 ± 0,76 bc
BH1146				
Integral	67,07 ± 0,00 bc	68,73 ± 0,02 b	70,19 ± 0,05 a	9,52 ± 0,08 a
> 15 µm	68,00 ± 0,06 abc	69,40 ± 0,05 ab	70,83 ± 0,09 a	9,14 ± 0,46 ab
≤ 10 µm	67,67 ± 0,31 abc	69,46 ± 0,36 ab	71,21 ± 0,35 a	7,97 ± 0,93 abc
IAC24				
Integral	67,52 ± 0,18 abc	69,12 ± 0,12 ab	70,65 ± 0,08 a	7,71 ± 0,27 abc
> 15 µm	68,26 ± 0,39 ab	69,79 ± 0,49 ab	71,52 ± 0,72 a	5,51 ± 1,23 c
≤ 10 µm	66,86 ± 0,19 c	69,02 ± 0,354 ab	70,89 ± 0,38 a	7,50 ± 0,08 abc

* Cada valor representa a media de duas replicatas.

Valores seguidos com a mesma letra dentro da mesma coluna não são estatisticamente diferentes ($P < 0.05$).

5.12.2 Microscopia eletrônica de varredura dos amidos submetidos ao “annealing”

As Figuras 26 e 27 mostram as micrografias dos amidos de trigo obtidos dos cultivares ANAHUAC e IAC17 “integrals” e separados por tamanho antes e após “annealing” observados ao microscópio eletrônico de varredura.

Não foram observadas diferenças evidentes na forma e tamanho dos grânulos antes e após “annealing”. No entanto, os grânulos tratados mostraram certas alterações que parecem ter sido diferentes para os grânulos grandes e pequenos.

No caso dos grânulos grandes, o tratamento hidrotérmico parece ter provocado um desgaste da superfície mostrando-se mais rugosa (Figura 26b, 27b e 27d) e com aumento das depressões superficiais (Figura 26b).

Alguns grânulos pequenos apresentaram algumas perfurações que não eram observadas antes do tratamento (Figuras 26f e 27f).

A ação do “annealing” sobre os grânulos de amido de trigo foi diferente daquela mostrada para o amido de mandioca. Serrano e Franco (2005) observaram para o amido de mandioca submetido ao “annealing” a 55°C, a formação de poros e fissuras sobre a superfície granular deixando-as com aspecto totalmente esponjoso. Já Kiseleva et al. (2005) apenas observaram pequenas deformações sobre os grânulos de trigo quando os mesmos foram submetidos a este tratamento semelhante ao observado neste trabalho.

5.12.3 Susceptibilidade enzimática dos amidos submetidos ao “annealing”

A Figura 28 apresenta a quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral” e separados por tamanho obtidos dos diferentes cultivares de trigo antes e após tratamento hidrotérmico, quando submetidos à ação da α -amilase bacteriana a 37°C por 28 horas.

O tratamento hidrotérmico aumentou consideravelmente a susceptibilidade enzimática de todos os amidos estudados sugerindo que este tratamento provavelmente, provocou alterações nas áreas mais amorfas dos grânulos e, portanto mais acessíveis à hidrólise.

O tratamento hidrotérmico provocou um substancial aumento na taxa de hidrólise durante as primeiras quatro horas de reação para todos os amidos estudados. Estes resultados concordam com aqueles observados por Jacobs et al. (1998), que observaram que o “annealing” altera a extensão das diferentes etapas da hidrólise. Segundo esses autores, amidos de trigo submetidos ao “annealing” também se mostraram bem mais resistentes à ação da enzima durante a segunda fase da hidrólise.

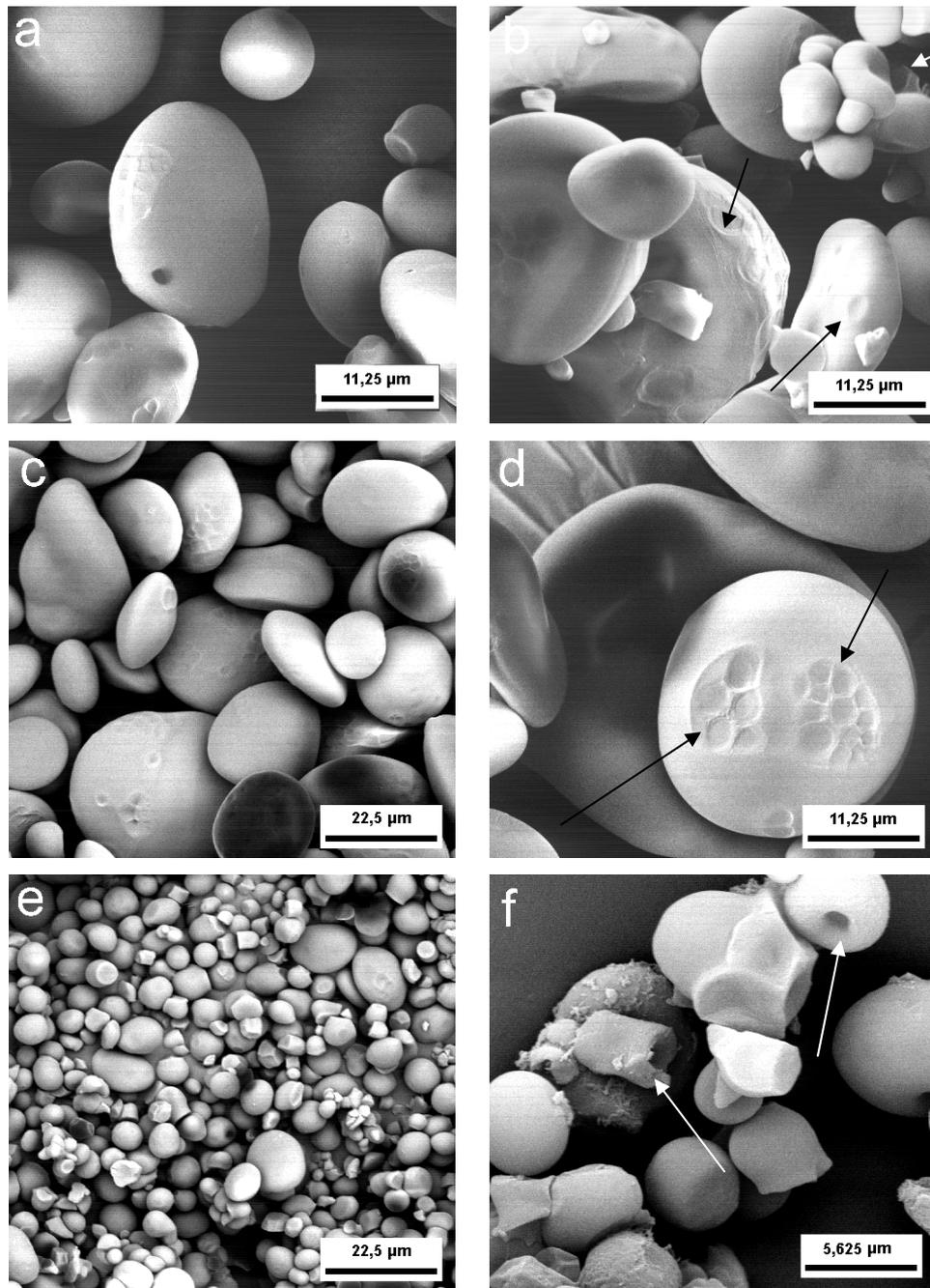


FIGURA 26 – Amidos de trigo obtidos do cultivar ANAHUAC “integral” e separados por tamanho, submetidos ao “annealing” observados ao microscópio eletrônico de varredura com aumentos de 1000, 2000 e 4000X: a: amido integral; b: amido integral + tratamento; c: > 15 µm; d: > 15 µm + tratamento; e: ≤ 10 µm; f: ≤ 10 µm + tratamento.

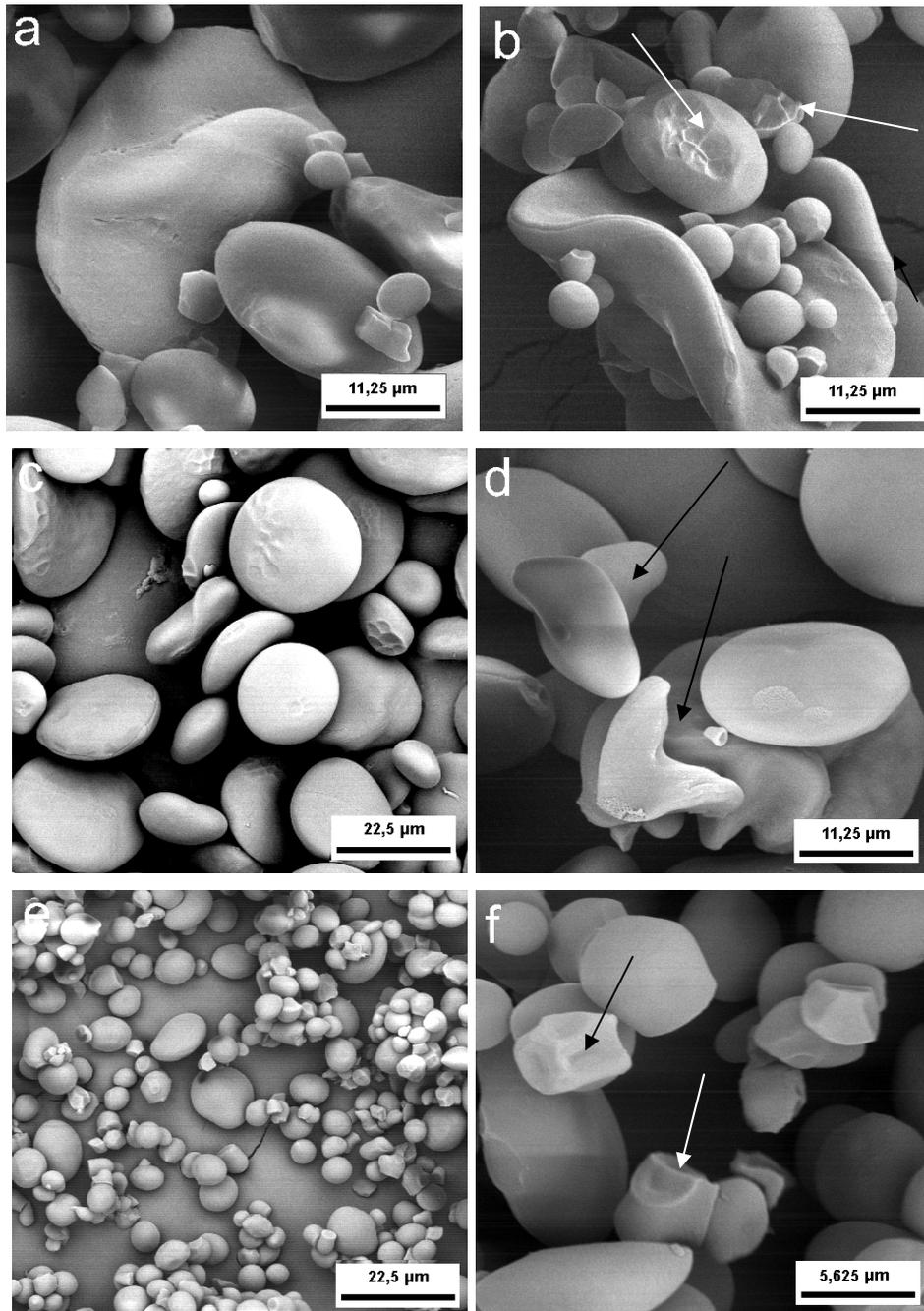


FIGURA 27 – Amido de trigo obtido do cultivar IAC17 “integral” e separados por tamanho submetidos ao “annealing”, observados ao microscópio eletrônico de varredura com aumentos de 1000, 2000 e 4000X: a: amido “integral”; b: amido integral + tratamento; c: > 15 μm ; d: > 15 μm + tratamento; e: \leq 10 μm ; f: \leq 10 μm + tratamento.

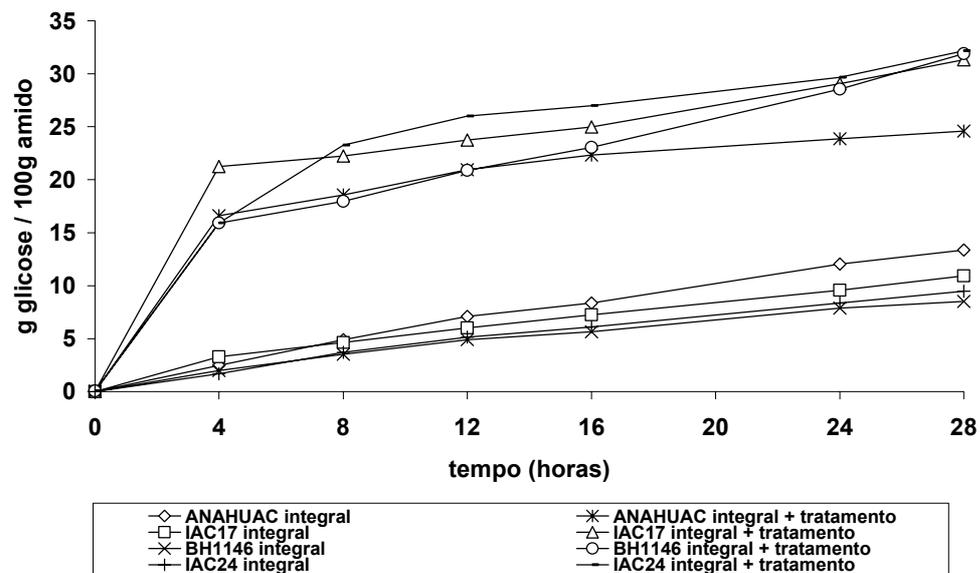


FIGURA 28 – Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral e separados por tamanho obtidos dos diferentes cultivares, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas.

A quantidade de açúcares redutores produzida pela ação da α -amilase bacteriana sobre os grânulos de amido “integral” e separados por tamanho obtidos dos diferentes cultivares, antes e após “annealing” está apresentada nas Figuras 29, 30, 31 e 32.

Também para os grânulos separados por tamanho foi possível observar o efeito positivo do “annealing” sobre a susceptibilidade enzimática dos amidos e também neste caso a extensão das diferentes etapas da hidrólise foram alteradas. Não foram observadas diferenças no comportamento dos amidos obtidos de diferentes cultivares frente à ação da enzima. No entanto, os grânulos grandes que antes do “annealing” eram os mais resistentes à hidrólise, após tratamento passaram a apresentar uma susceptibilidade enzimática levemente superior àquela mostrada pelos grânulos “integral” e $\leq 10 \mu\text{m}$. Esses resultados sugerem que mesmo apresentando uma menor área superficial o tratamento aumenta, a partir das leves alterações provocadas na superfície granular, a acessibilidade da enzima às regiões mais amorfas independente do melhor ordenamento ou perfeição dos cristais observados a partir dos dados de propriedades térmicas.

É possível que o processo de “annealing” crie poros e fissuras que alterem o padrão de hidrólise com α -amilase, da superfície até a área interna dos grânulos

(WANG; POWELL; OATES, 1997). O “annealing”, embora torne as lamelas amorfas e cristalinas mais ordenadas, facilita a acessibilidade da enzima nas regiões mais amorfas.

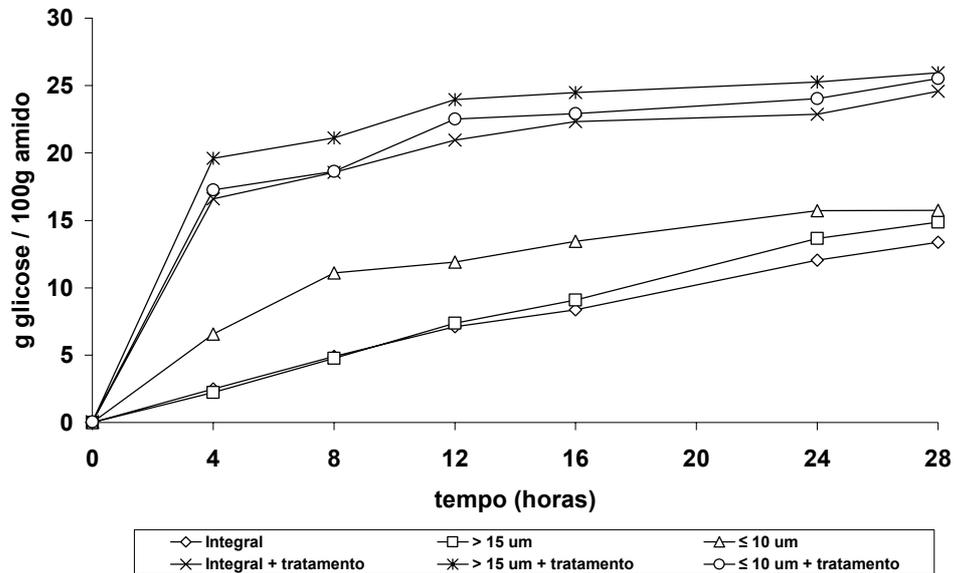


FIGURA 29 – Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral e separados por tamanho obtidos do cultivar ANAHUAC, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas.

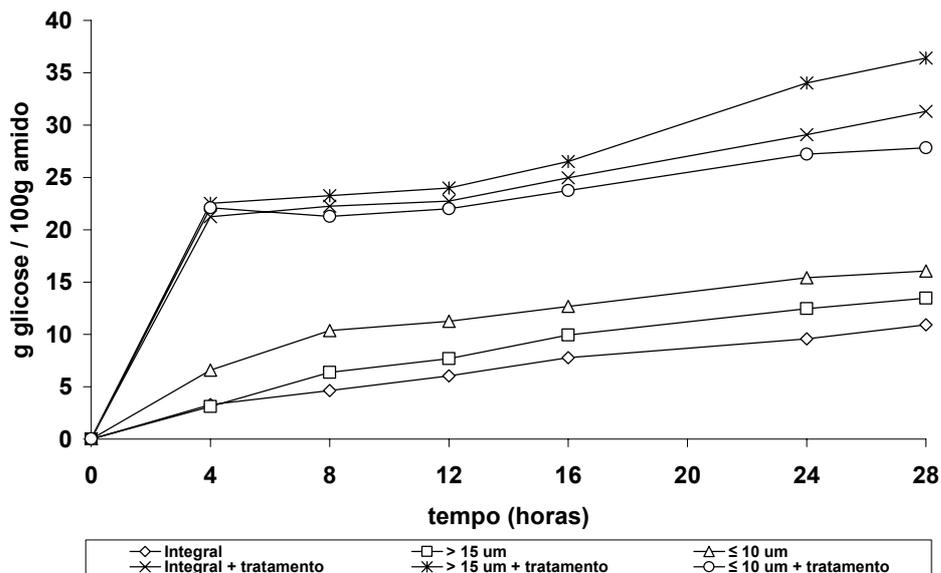


FIGURA 30 - Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral e separados por tamanho obtidos do cultivar IAC17, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas.

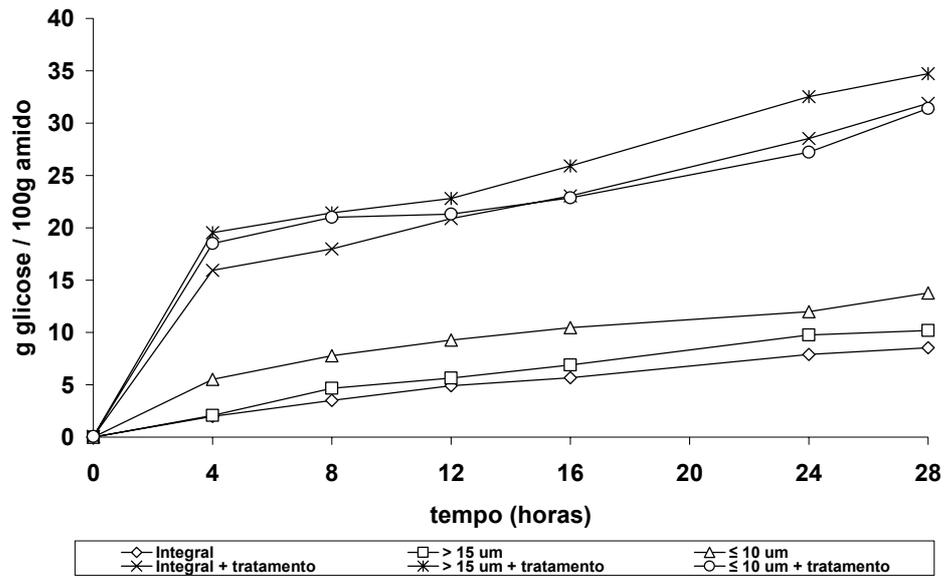


FIGURA 31 - Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral e separados por tamanho obtidos do cultivar BH1146, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas.

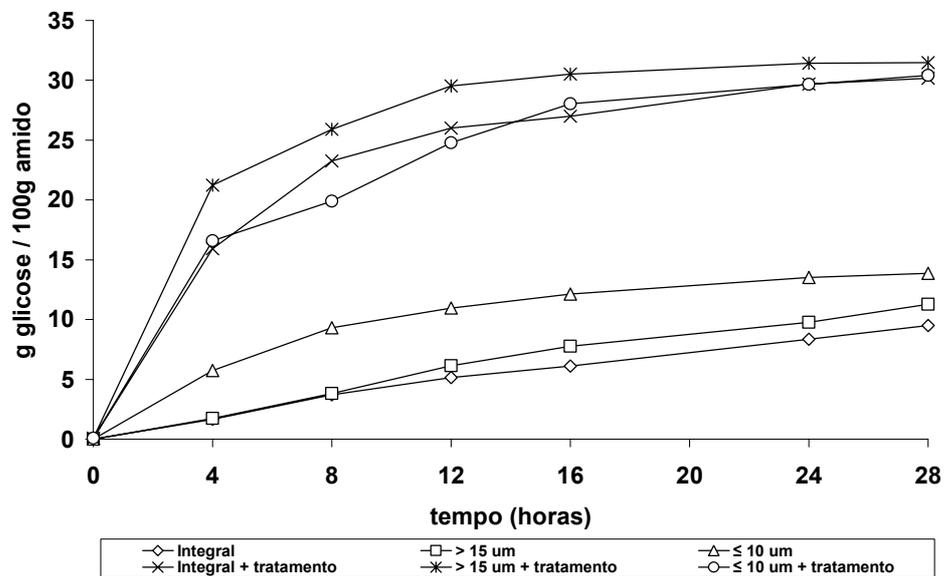


FIGURA 32 - Quantidade de açúcares redutores produzida pelos amidos “integral e separados por tamanho obtidos do cultivar IAC24, antes e após “annealing” quando submetidos à ação α -amilase a 37°C durante 28 horas.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que:

- Todos os amidos analisados mostraram distribuição bimodal de tamanho com grânulos grandes apresentando diâmetro médio próximo a 22 μm e formato lenticular, enquanto os grânulos pequenos apresentaram diâmetro médio próximo a 6 μm e formato arredondado.
- Após fracionamento, os grânulos de amido foram divididos em grânulos grandes que apresentaram pelo menos 81,7% de grânulos com diâmetros $> 15 \mu\text{m}$ e grânulos pequenos que apresentaram mais que 90% de grânulos com diâmetros $\leq 10 \mu\text{m}$.
- O amido obtido do cultivar ANAHUAC apresentou maior teor de fósforo e de lisofosfolípídeos quando comparado com os amidos obtidos dos outros cultivares. Os grânulos pequenos ($\leq 10 \mu\text{m}$) apresentaram maior teor de fósforo e lisofosfolípídeos do que os grânulos grandes.
- Não houve diferença significativa entre os diferentes cultivares para o teor de amilose total, porém grânulos grandes ($>15 \mu\text{m}$) concentraram de maneira geral maior teor de amilose total que os grânulos pequenos. Já os grânulos pequenos apresentaram maior teor de amilose complexada com lipídeos.
- Os amidos obtidos dos cultivares BH1146 e IAC24 apresentaram maior índice de cristalinidade que os amidos obtidos dos outros cultivares. Grânulos pequenos apresentaram maior IC em relação aos grandes.
- A susceptibilidade enzimática foi maior para a amostra obtida do cultivar ANAHUAC. Para todos os cultivares, os grânulos pequenos apresentaram maior taxa de hidrólise que os grandes.

- As temperaturas de gelatinização iniciais e entalpia dos amidos obtidos dos cultivares BH1146 e IAC24 foram maiores do que as obtidas para os amidos dos cultivares ANAHUAC e IAC17. Grânulos menores apresentaram maiores temperaturas de gelatinização (inicial, de pico e final) que os grânulos grandes.
- Grânulos menores apresentaram menor PI do que grânulos grandes.
- Os amidos obtidos dos diferentes cultivares apresentaram propriedades de pasta típicas com altas temperaturas de pasta, baixo pico de viscosidade e alta tendência à retrogradação.
- O “annealing” provocou aumento nas temperaturas de gelatinização e estreitamento na faixa de temperatura de todas as amostras analisadas independentemente dos cultivares estudados e do tamanho dos grânulos do amido, sugerindo aumento na estabilidade e perfeição dos cristais com a formação de uma estrutura mais ordenada.
- O “annealing” provocou aumento na susceptibilidade enzimática de todas as amostras analisadas sugerindo maior acessibilidade das enzimas às áreas mais amorfas dos grânulos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEBOWALE, K. O.; LAWAL, O. S. Effect of annealing and heat moisture conditioning on the physicochemical characteristics of Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*) starch. **Nahrung/Food**, v.46, n.5, p.311-316, 2002.

ADEBOWALE, K. O.; AFOLABI, T. A.; OLU-OWOLABI, B. I. Hydrothermal treatments of Finger millet (*Eleusine coracana*) starch. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.974-983, 2005.

ADEBOWALE, K. O. et al. Effect of heat moisture treatment and annealing on physicochemical properties of red sorghum starch. **African Journal of Biotechnology**, v.4, n.9, p.928-933, 2005.

AKASHI, H.; TAKAHASHI, M.; ENDO, S. Evaluation of starch properties of wheat used for Chinese yellow-alkaline noodles in Japan. **Cereal Chemistry**, v.76, p.50—55, 1999.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**, 9 ed. AACC, v.1 e 2, 1995.

ANDO, H. et al. Some Physicochemical Properties of Large, Medium and Small Granule Starches in Fractions of Wheat Grain. **Food Science Technology Research**, v.8, n.1, p.24-27, 2002.

ATWELL, W. A. et al. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. **Cereal Foods World**, v.33, p.306-311, 1988.

ATWELL, W. A. **Wheat Flour**. St. Paul: American Association Of Cereal Chemists, 2001. cap.1, p.5.

BECHTEL, D. B. et al. Size-Distribution of Wheat Starch Granules During Endosperm Development. **Cereal Chemistry**, v.67, n.1, p.59-63, 1990.

BEQUETE, R., K., Influence of variety and enviroment on wheat quality. **Bulletin of Association of Operative Millers**, p.5443-5450, 1989.

BERTOLINI, A. C. et al. Composition and Reactivity of A- and B-type Starch Granules of Normal, Partial Waxy, and Waxy Wheat. **Cereal Chemistry**, v.80, n.5, p.544-549, 2003.

BLANSHARD, J. M. V. Starch granule structure and function: a physicochemical approach. In T. Galliard, **Starch: properties and potential**, Chichester: John Wiley and Sons, p.16-54, 1987.

BRUSANTIN, R. C. V. **Composição protéica e qualidade tecnológica de trigos desenvolvidos no Estado de São Paulo**, Piracicaba, 2000. 115p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

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

CAMARGO, C. E. O.; FELÍCIO, J. C.; ROCHA JUNIOR, L. S. Trigo: tolerância ao alumínio em solução nutritiva. **Bragantia**, v.46, n.2, p.183-190, 1987.

CAMARGO, C. E. O. Trigo. In: FURLANI, A. M. C.; VIÉGAS, G. P. (Eds). **O melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1993, p.433-488.

CAMARGO, C. E. O.; FERREIRA FILHO, A. W. P. Tolerância ao alumínio e características agrônômicas em populações híbridas de trigo: estimativas de variância, herdabilidade e correlações. **Scientia Agrícola**, v.56, n.2, p.449-457, 1999.

CAPOUCHOVÁ, I.; PETR, J.; MARESOVÁ, D. Evaluation of Size Distribution of Starch Granules in Selected Wheat Varieties by the Low Angle Laser Light Scattering Method. **Plant Soil Environmental**, v.49, n.1, p.12-17, 2003.

CHEETAM, N. W. H.; TAO, L. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules; an X-ray powder diffraction study. **Carbohydrate Polymers**, v.36, p.277-284, 1998.

CHIOTELLI, E.; LE MESTE, M. Effect of Small and Large Wheat Starch Granules on Thermomechanical Behavior of Starch. **Cereal Chemistry**, v.79, p.286-293, 2002.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. **Fabricação de amido e sua utilização**. Série Tecnologia Agroindustrial. n.7, p.87, s.d.

COULTATE, T. P. **Alimentos: química de sus componentes**. Editorial Acribia, 1986, 199 p.

DARLINGTON, H.F., et al. Starch granule associated proteins in barley and wheat. **Journal of Cereal Science**, v.32, p.21-29, 2000.

DAVIS, E. A. Wheat Starch. **American Association of Cereal Chemistry, Inc.** v.39, n.1, p.34-35, 1994.

DECKER, P.; HOLLER, H. **Journal of Chromat.** v.7, p.392, 1962.

DENGATE, H. N.; MEREDITH, P. The pasting characteristics of various sizes of starch granule from wheat. **Starch/Starke**, v.36, p.305-309, 1984.

DENGATE, H. N. Swelling, pasting as gelling. In: POMERANZ, Y. **Advances in Cereal Science and Technology**, American Association of Cereal Chemists, 1984, cap.2, p.49-82.

DOMINGUES, M. A. C. **Efeito da interação genótipo x ambiente no Estado de São Paulo sobre parâmetros de qualidade do trigo e nas características físico-químicas e funcionais do amido**. 2002. 140f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.

EL-KHAYAT, G. H.; SAMAN, J.; BRENNAN, C. S. Evaluation of vitreous and starchy syrian durum (*Triticum Durum*) wheat grains: The effect of amylose content on starch characteristics and flour pasting properties. **Starch/Starke**, v.55, p.358-365, 2003.

ELIASSON, A.-C.; KARLSSON, R. Gelatinization Properties of Different Size Classes of Wheat Starch Granules Measured with Differential Scanning Calorimetry. **Starch/Starke**, v.35, p.130-133, 1983.

FANNON, J. E.; HAUBER, R. J.; BEMILLER, J. N. Surface pores of starches granules. **Cereal Chemistry**, v.69, p.284-288, 1992.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack. Part I: Study of the conditions of hydrolysis. **Starch/Starke**, v.39, p.432-435, 1987.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. Factors that affect the enzymatic degradation of natural starch granules – effect of the size of the granules. **Starch/Starke**, v.44, n.11, p.422-426, 1992.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F. The Structure of Waxy Corn Starch: Effect of Granule Size. **Starch/Starke**, v.50, n.5, p.193-198, 1998.

FRANCO, C. M. L. et al. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas: propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, 2001. v.1, 224p.

FRANCO, C. M. L. et al. Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. **Cereal Chemistry**, v.79, n.2, p.243-248, 2002.

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

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of Starch: Evidence of a New Level of Granule Organization. **Carbohydrate Polymers**, v.32, p.177-191, 1997.

GHIASI, K.; HOSENEY, R. C.; VARRIANO-MARSTON, E. Gelatinization of wheat starch. III. Comparison by differential scanning calorimetry and light microscopy. **Cereal Chemistry**. v.59, p.258-262, 1982

GOMES, A. M. M. et al. Effect of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (*polvilho azedo*). **Carbohydrate Polymers**, v.60, p.1-6, 2005.

GOUGH, B. M.; PYBUS, J. N. Effect on the gelatinization temperature of wheat starch granules of prolonged treatment with water at 50°C. **Die Starke**, v.23, p.210-212, 1971.

HALVERSON, J.; ZELENY, L. Criteria of Wheat Quality. In: POMERANZ, Y. **Wheat: Chemistry and Technology**. 3 Ed. American Association of Cereal Chemists, 1988, cap.2, p.15.

HOSENEY, R. C. et al. Soft wheat products. In: POMERANZ, Y. **Wheat: Chemistry and Technology**, 3 Ed. American Association of Cereal Chemists, 1988. cap.7, p.407-450.

HOOVER, R.; VASANTHAN, T. J. The effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. **Food Biochemistry**, v.17, p.303-325, 1994.

HUNG, P. V.; MORITA, N. Physicochemical properties of hydroxypropylated and cross-linked starches from A-type and B-type wheat starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v.59, p.239-246, 2005.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Norme internationale: Riz-détermination de la teneur en amylose**. S.I., 1987. 5p. (ISO 6647).

JACOBS, H. et al. Impact of annealing on the susceptibility of wheat, potato and pea starches to hydrolysis with pancreatin. **Carbohydrate Research**, v.305, p.193-207, 1998.

JACOBS, H. et al. Evaluation of the impact of annealing on gelatinisation at intermediate water content of wheat and potato starches: A differential scanning calorimetry and small angle X-ray scattering study. **Carbohydrate Research**, v.306, p.1-10, 1998.

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

JANE, J.; KASEMSUWAN, T.; CHEN, J. F. Phosphorus in rice and others starches. **Cereal Foods World**, v. 41, n. 11, p. 827-832, 1996.

JANE, J. et al. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.46., n.5, p.629-37, 1999.

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

KARLSSON, R.; OLERED, R.; ELIASSON, A. C. Changes in starch granule size distribution and starch gelatinization properties during development and maturation of wheat, barley and rye. **Starch/Starke**, v.35, n.10, p.335-340, 1983.

KASEMSUWAN, T. et al. Characterization of the dominant mutant amylose-extender (Ae1 – 5180) maize starch. **Cereal Chemistry**, v.72, p.457-464, 1995.

KIM, W. et al. Effect of Heating Temperature on Particle Size Distribution in Hard and Soft Wheat Flour. **Journal of Cereal Science**, v.40, p.9-16, 2004.

KISELEVA, V. I. et al. Annealing of normal, low and high amylose starches extracted from barley cultivars grown under different environmental conditions. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.157-168, 2004.

KISELEVA, V. I. et al. Annealing of normal and mutant wheat starches. LM, SEM, DSC, and SAXS studies. **Carbohydrate Research**, v.340, p.75-83, 2005.

KOHYAMA, K. et al. A differential thermal analysis of the gelatinization and retrogradation of wheat starches with different amylopectin chain lengths. **Carbohydrate Polymers**, v.58, p.71-77, 2004.

KOHYAMA, K.; SASAKI, T. Differential scanning calorimetry and a model calculation of starches annealed at 20 and 50 °C. **Carbohydrate Polymers**, v.63, p.82-88, 2006.

KONIK, C. M. et al. Relationships between physical starch properties and yellow alkaline noodle quality. **Starch/Starke**, v.46, n.8, p.292-299, 1994.

KRUEGER, K. M. et al. Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: micro blender and homogenizer. **Cereal Chemistry**, v.74, n.5, p.553-555, 1997.

KUGE, T.; KITAMURA, S. Annealing of starch granules warm water treatment and heat-moisture treatment. **Journal of Japanese Society of Starch Science**, v.32, p.65-83, 1985.

KULP, K. Characteristics of small-granule starch of flour and wheat. **Cereal Chemistry**, v.50, n.6, p.666-679, 1973.

LELIEVRE, J. et al. Effects of starch particle size and protein concentration on breadmaking performance. **Starch/Starke**, n.10, p.347-352, 1987.

LII, C, -Y; LINEBACK, D. R. Characterisation and comparison of cereal starches. **Cereal Chemistry**, v.54, p.138-149, 1977.

LIM, S. et al. Effect of starch granule size on physical properties of starch-filled polyethylene film. **Biotechnology Progress**, v.8, p.51-57, 1992.

LINDEBOOM, N.; CHANG, P. R.; TYLER, R. T. Analytical, Biochemical and Physicochemical Aspects of Starches Granule Size, with Emphasis on Small Granule Starches: A Review. **Starch/Starke**, v.56, p.89-99, 2004.

LINEBACK, D. R.; RASPER, V. P. Wheat carbohydrates In: POMERANZ, Y. **Wheat: chemistry and technology**. American Association of Cereal Chemists, 1988. cap.6, p.277-372, v.1.

LORENZ, K.; KULP, K. **Starch/Starke**, v.36, p.122-126, 1984.

MALINSKI, E. et al. Isolation of small starch granules and determination of their fat mimic characteristics. **Cereal Chemistry**, v.80, n.1. p.1-4, 2003.

MACGREGOR, A. W.; BALLANCE, D. L. Hydrolysis of large and small starch granules from normal and waxy barley cultivars by alpha-amylases from barley malt. **Cereal Chemistry**, v.57, n.6, p.397-402.

MCPHERSON, A. E.; JANE, J. Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. **Carbohydrate Polymers**, v.40, p.57-70, 1999.

MIURA, H.; TANI, S. Endosperm starch properties in several wheat cultivars preferred for Japanese noodles. **Euphytica**, v.72, n.3, p.171-175, 1993.

MOON, M. H.; GIDDINGS, C. J. Rapid separation and measurement of particle size distribution of starch granules by sedimentation/steric field flow fractionation. **Journal of Food Science**, v.58, n.5, p.1166-1171, 1993.

MORRISON, W. R.; LAIGNELET, B. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and others starches. **Journal of Cereal Science**, v.1, n.1, p.9-20, 1983.

MORRISON, W. R.; MILLIGAN, T. P.; AZUDIN, M. N. A relationship between the amylose and lipid contents of starches from diploid cereals. **Journal of Cereal Science**, v.2, p.257, 1984.

MORRISON, W. R.; SCOTT, D. C. Measurement of the dimensions of wheat starch granule populations using a Coulter Counter with 100-channel analyser. **Journal of Cereal Science**, v.4, p.13-21, 1986.

MORRISON, W. R. Lipids in cereal starches: a review. **Journal of Cereal Science**. v.1, n.8, p.1-15, 1988.

MORRISON, W. R. Uniqueness of wheat starch In: POMERANZ, Y. **Wheat is Unique: structure, composition, processing, end-use properties, and products**, American Association of Cereal Chemists, 1989. cap.12, p.193-214.

MORRISON, W. R. et al. Swelling and gelatinization of cereal starches. IV: some effects of lipid-complexed amylose and free amylose in waxy and normal barley starches. **Cereal Chemistry**, v.70, n.4, p.385-391, 1993.

MORRISON, W. R. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. **Cereal Foods World**, v.40, n.6, p.437-446, 1995.

MOSS, H. J. The pasting properties of some wheat starches free of sprout damage. **Cereal Res. Commun.** v.8, p.297-302, 1980.

MOSS, H. J.; MISKELLY, D. M. Variation in starch quality in Australian flour. **Food Technology in Australia**, v.36, n.2, p.90-91, 1984.

MURALIKRISHNA, G.; NIRMALA, M. Cereal amylases – a overview. **Carbohydrate Polymers**, v.60, p.163-173, 2005.

NACHTERGAELE, W.; VAN NUFFEL, J. Starch as stilt material in carbonless copy paper – New developments. **Starch/Starke**, v.41, p.386-392, 1989.

NODA et al. Relationships between chain length distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat. **Carbohydrate Polymers**, v.37, n.2, p.153-158, 1998.

NODA, T. et al. The physicochemical properties of partially digested starch from sprouted wheat grain. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.271-277, 2004.

NODA, T. et al. Physicochemical properties and amylopectin structures of large, small, and extremely small potato starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v.60, p.245-251, 2005.

ODA, M. et al. A method of flour quality assessment for Japanese noodles. **Cereal Chemistry**. v.57, p.253-254, 1980.

ORTH, R. A.; SHELLENBERGER, J. A. Origin, Production, and Utilization of Wheat. In: POMERANZ, Y. **Wheat: Chemistry and Technology**. 3 Ed. American Association of Cereal Chemists, 1988.cap.1, p.1-11.

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

PENG, M. et al. Separation and Characterization of A- and B- Type Starch Granules in Wheat Endosperm. **Cereal Chemistry**, v.76, p.375-379, 1999.

PETERSON, D.G.; FULCHER, R. G. Variation in Minnesota HRS Wheats: Starch Granule Size Distribution. **Food Research International**, v.34, p.357-363, 2001.

POMERANZ, Y.; WILLIAN, P. C. Advances in cereal science and technology. Wheat hardness: its genetics, structural and biochemical background, measurement and significance. In: POMERANZ, Y. **Advances in cereal science and technology**, American Association of Cereal Chemists, 1990. v.10, p.471-554.

RAEKER, M.O. et al. Granule size distribution and chemical composition of starches from 12 soft wheat cultivars. **Cereal Chemistry**, v.75, n.5, p.721-728, 1998.

ROBIN, J. P. et al. Lintnerized starches gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chemistry**, v.51, p.389-405, 1974.

ROLÉE, A.; LE MESTE, M. Thermomechanical behavior of concentrated starch-water preparations. **Cereal Chemistry**, v.74, p.581-588. 1997.

SAHLSTROM, S. et al. Influence of starch granule size distribution on bread characteristics. **Journal of Cereal Science**, v.28, p.157-164, 1998.

SANGUANPONG, V. et al. Hydration and physicochemical properties of small-particle cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, p.123-132, 2002.

SASAKI, T.; MATSUKI, J. Effect on Wheat Starch Structure on Swelling Power. **Cereal Chemistry**, v.75, n.4, p.525-529, 1998.

SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v.77, n.1, p.58-63, 2000.

SCHEEREN, P. L; MIRANDA, M. Z. **Trigo brasileiro tem nova classificação: Novos critérios adotados a partir da safra de 1999**. Disponível em: <www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co18.htm>. Acesso em: 07 ago 2006.

SCHOCH, T. J. Iodimetric determination of amylose. In: WHISTLER, R. L.; SMITH, R. J.; BEMILLER, J.N. **Methods in Carbohydrate Chemistry**. Orlando: Academic Press, 1964, p.157-160.

SEBIO, L. **Desenvolvimento de plástico biodegradável a base de amido de milho e gelatina pelo processo de extrusão**: Avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de barreira. 2003. 182f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

SEIB, P. A. **Wheat starch**: isolation, structure and properties. v.41, n.1, p.49-69, 1994.

SERRANO, P. O.; FRANCO, C. M. L. Modificação Hidrotérmica ("Annealing") e Hidrólise Enzimática do Amido de Mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.3, p.220-232, 2005.

SHI Y-C et al. Effects of temperature during grain-filling on starches from six wheat cultivars. **Cereal Chemistry**, v.71, p.369-383, 1994.

SHINDE, S. V.; NELSON, J.E.; HUBER, K. C. Soft wheat starch pasting behavior in relation to A- and B-type granule content and composition. **Cereal Chemistry**, v.80, n.1, p.91-98, 2003.

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

SMITH, P. S. Starch derivatives and their use in foods. In: LINEBACK. D. R.; INGLETT, G. E. **Food carbohydrates**. Westport: Avi Publishing Company, 1982. p.237-269.

SOMOGYI, M. New Reagent for the Determination of Sugars. **The Journal of Biological Chemistry**. v.160, n.1, p.61-68, 1945.

SOULAKA, A. B.; MORRISON, W. R. The amylose and lipid contents, dimensions, and gelatinization characteristics of some wheat starches and their A- and B- granule fractions. **Journal of Science Food and Agriculture**. v.36, p.709-718, 1985a.

SOULAKA, A. B.; MORRISON, W. R. The bread baking quality of six wheat starches differing in composition and physical properties. **Journal of Science Food and Agriculture**. v.36, p.719-727, 1985b.

STODDARD, F. L. Genetics of starch size distribution in tetraploid and hexaploid wheats. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.54, p.637-648, 2003.

STUTE, R. Hydrothermal modification of starches: The difference between annealing and heat-moisture treatment. **Starch/Starke**, v.44, p.205-214, 1992.

SWINKELS, J. J. M. Composition and properties of commercial native starches. **Starch/Starke**, v.37, n.1, p.1-56, 1985.

TAKEDA, Y.; HIZUKURI, S. Structures of branched molecules of amylose of various origins, and molar fraction of branched and unbranched molecules. **Carbohydrate Research**, v.165, n.1, p.139-145, 1987.

TANG, H.; WATANABE, K.; MITSUNAGA, T. Some Physicochemical properties of Small-, Medium-, and Large-Granule Starches in Fractions of Waxy Barley Grain. **Cereal Chemistry**, v.77, p.27-31, 2000.

TANG, H.; WATANABE, K.; MITSUNAGA, T. Structure and Functionality of Large, Medium and Small Granule Starches in Normal and Waxy Barley Endosperms. **Carbohydrate Polymers**, v.49, p.217-224, 2002.

TANG, H.; MITSUNAGA, T.; KAWAMURA, Y. Functionality of starch granules in milling fractions of normal wheat grain. **Carbohydrate Polymers**, v.59, p.11-17, 2005.

TESTER, F.; MORRISON, W. R. **Cereal Chemistry**, v.67, p.551, 1990.
 TESTER, R. F. et al. Effects of elevated growth temperature and carbon dioxide levels on some physicochemical properties of wheat starch. **Journal of Cereal Science**, v.22, p.63-71, 1995.

TESTER, R. F. Starch: The polysaccharide fractions. In: FRAZIER, P. J; RICHMOND, P.; DONALD, A. M. **Starch: Structure and Functionality**. Royal Society of Chemistry, 1997. p.163-171.

TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J.; KARKALAS, J. Annealing of wheat starch. **Journal of Cereal Science**, v.28, p.259-272, 1998.

TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J. Annealing of starch – a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.27, p.1-12, 2000.

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

TESTER, R.F.; DEBON,S. J. J.; QI, X.; SOMMERVILLE,M. D.; YOUSUF, R.; YUSUPH, M. Amylopectin crystallisation in starch. In: BARSBY, T. L.; DONALD, A. M.; FRAZIER, P. J. Editors, **Starch. Advances in Structure and Function**, Royal Society of Chemistry, Cambridge (2001), pp.97–102.

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

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches: Practical Guides for the Food Industry**. Minnesota: Eagan Press, 1997. 94p.

TURNBULL, K. –M; RAHMAN, S. Endosperm texture in wheat. **Journal of Cereal Science**, v.36, p.327-337, 2002.

TURNBULL, K. M.; et al. Early expression of grain hardness in the developing wheat endosperm. **Planta**, v.216, p.699-706, 2003.

VANDEPUTTE, G. E. et al. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. **Journal of Cereal Science**, v.38, p.43-52, 2003.

VANSTEELANDT, J.; DELCOUR, J. A. Characterisation of starch from durum wheat. **Starch/Starke**, v.51, n.2-3, p.73-80, 1999.

VERMEYLEN R. et al. Gelatinisation related structural aspects of small and large wheat starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.170-181, 2005.

VERMEYLEN R.; GODERIS, B.; DELCOUR, J. A. An X-ray study of hydrothermally treated potato starch. **Carbohydrate Polymers**, p.1-12, 2006.

WANG et al. Characterization of starch structures of 17 maize endosperm mutant genotypes with Oh43 inbred line background. **Cereal Chemistry**, v.70, n.2, p.171-179, 1993.

WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and properties of amylose, amylopectin and intermediate material of oat starches. **Cereal Chemistry**, v.71, p.263-268, 1994.

WANG, W. J.; POWELL, A. D.; OATES, C. G. Effect of annealing on the hydrolysis of sago starch granule. **Carbohydrate Polymers**, v.33, p.195-202, 1997.

WICKRAMASINGHE, H. A. M. et al. Comparison of the Starch Properties of Japanese Wheat Varieties with those of Popular Commercial Wheat Classes from the USA, Canada and Australia. **Food Chemistry**, v.93, p.9-15, 2005.

YOO, S-H.; JANE, J-I. Structural and Physical Characteristics of Waxy and other Wheat Starches. **Carbohydrate Polymers**, v.49, p.297-305, 2002.

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

ZENG, E. P. et al. Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties in wheat. **Cereal Chemistry**, v.74, n.1, p.63-71, 1997.

ZHENG, G. H.; SOSULSKI, F. W. Physicochemical properties of small granule starches. **AACC Annual Meeting**, San Diego, 1997.

ZOBEL, H. F. Molecules to granules: A comprehensive review. **Starch/Starke**, v.40, p.1-7, 1988.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)