

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Pró - Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu*

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

JULIANE ALVES DE SOUZA

**ESTUDO TERMOANALÍTICO, REOLÓGICO E ESTRUTURAL DE AMIDO DE
TRIGO MODIFICADO POR UMIDADE E TEMPERATURA CONTROLADAS (HMT)**

**PONTA GROSSA
2014**

JULIANE ALVES DE SOUZA

**ESTUDO TERMOANALÍTICO, REOLÓGICO E ESTRUTURAL DE AMIDO DE
TRIGO MODIFICADO POR UMIDADE E TEMPERATURA CONTROLADAS (HMT)**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Egon Schnitzler

PONTA GROSSA

2014

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

S729 Souza, Juliane Alves de
Estudo termoanalítico, reológico e estrutural de amido de trigo modificado por umidade e temperatura controladas (HMT)/ Juliane Alves de Souza. Ponta Grossa, 2014.
110f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Egon Schnitzler.

1.Amido de trigo. 2.Ácido fólico. 3.Ferro. 4.HMT. 5.Análise térmica. I.Schnitzler, Egon. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. T.

CDD: 664.2

TERMO DE APROVAÇÃO

JULIANE ALVES DE SOUZA

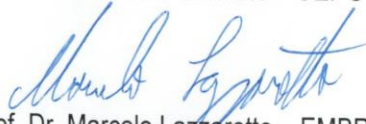
ESTUDO TERMOANALÍTICO, REOLÓGICO E ESTRUTURAL DE
AMIDO DE TRIGO MODIFICADO POR UMIDADE E TEMPERATURA
CONTROLADAS (HMT).

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no
Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade
Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:


Prof. Dr. Egon Schnitzler – UEPG


Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate – UEPG


Prof. Dr. Marcelo Lazzarotto – EMBRAPA


Prof. Dr. Flávio Junior Caires – UNESP

Ponta Grossa, 12 de dezembro de 2014.

Dedico essa dissertação a minha
família e aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre estar em minha vida, por me guiar e pelas oportunidades que sempre me concedeu.

Ao Prof. Dr. Egon Schnitzler por ser mais que um orientador, pela oportunidade, paciência, apoio e confiança, por sempre me mostrar o rumo a seguir e por ser um exemplo de profissional e pessoa.

Ao amigo Tiago, por ser um grande amigo, por ter tido papel essencial na elaboração deste trabalho e por ser um exemplo.

A Cristina, por ser mais que uma amiga, pelo apoio incondicional, incentivo e pelas inúmeras vezes em que nunca se recusou a ajudar.

As minhas amigas Suelen e Vivian por estarem sempre presentes em todos os momentos, pelo apoio, paciência, conselhos, ajuda, amizade e por dividirem comigo grande parte de seus tempos.

Às minhas grandes e eternas amigas Brenda, Lis cristiane, Rafaela e Maria, pelo apoio e incentivo na elaboração deste trabalho e por serem tão importantes na minha vida.

As minhas amigas, Josiane e Rachel por me apoiarem, estarem ao meu lado e por sempre alegrarem os meus dias.

Aos professores MESCTA que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação.

A laboratorista Denise por ser sempre atenciosa e auxiliar na pesquisa.

À Prof^a Dr^a Neiva Rosso que contribuiu diretamente para a elaboração deste documento.

Ao Prof. Dr. Ivo Demiate por todo o auxílio durante a elaboração deste trabalho e pelos ensinamentos e paciência em sempre ajudar.

A Prof^a. Dr^a. Maria Helene Giovanetti Canteri por sempre gentilmente auxiliar e pelo incentivo, ensinamentos e paciência.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson pelo apoio, incentivo e amizade.

As minhas amigas Emanulle, Mary Helen e Karina, pelo carinho, amizade e incentivo.

A minha querida amiga Flávia, pelo apoio, conversas e por ser uma pessoa muito querida.

A Carmen, pela ajuda, amizade e incentivo.

À banca examinadora deste trabalho pela disponibilidade e contribuição.

RESUMO

Cereais possuem importante papel na alimentação humana. O trigo é um dos cereais mais cultivados e consumidos no mundo sendo utilizado na elaboração de enorme diversidade de produtos. A fortificação da farinha de trigo com ferro e ácido fólico é obrigatória no Brasil de acordo com a legislação vigente. O amido é um polissacarídeo de reserva vegetal constituído basicamente por amilose e amilopectina. É uma matéria prima abundante e renovável sendo a principal fonte de carboidrato na alimentação humana. Amidos na forma nativa possuem características limitadas para uso industrial por isso torna-se importante sua modificação visando adquirir melhor estabilidade, propriedades reológicas, de pasta, textura de géis, retenção de água entre outros. A modificação química, ainda muito utilizada, não é considerada uma forma tão segura de modificação, por isso a modificação física é bem vista pela indústria alimentícia. A modificação por umidade e temperatura controladas (HMT) em amido é considerada um método natural e é conduzida com teor de umidade de até 30% e temperatura máxima de 121 °C. Foram estudados amidos trigo nativos e modificados, com presença e ausência de ácido fólico e ferro, por HMT a 121°C por um período de 1 hora. Os efeitos do HMT foram estudados utilizando as seguintes técnicas: termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (DRX), microscopia de força atômica (NC-AFM), análise viscoamilográfica rápida (RVA), espectrometria de absorção atômica com chama (FEAA) e refletância fotolorimetria. A partir das curvas TG e DTG, observou-se que para os amidos tratados fisicamente, os valores de perda de massa para o amido em presença de ácido fólico e ferro, nas primeiras e terceiras etapas diminuíram e da segunda aumentaram, conforme aumento da umidade. Após a análise de DSC, os amidos modificados, as temperaturas em que ocorreu o evento e o valor da entalpia de gelatinização diminuíram e quanto maior a umidade de tratamento menor foi a entalpia. Os amidos deste estudo apresentaram distribuição bimodal e irregularidades nas microimagens de AFM, com alterações nos diâmetros médios e rugosidade, após a modificação física. Para todos os amidos os picos de DRX não sofreram deslocamento acentuado, porém houve redução da cristalinidade após a modificação. Todos os amidos apresentaram alta temperatura de pasta e baixo pico de viscosidade. Foi determinada ausência de ferro para o amido sem ácido fólico e ferro e pouca alteração para o amido com presença desses nutrientes. Com relação a análise de cor, para todas as amostras estudadas, houve pouca variação de cor entre elas, com tendência ao amarelamento após a modificação.

Palavras chaves: Amido de trigo, Ácido fólico, Ferro, HMT, Análise térmica.

ABSTRACT

Cereals have an important role in human nutrition. Wheat is one of the most cultivated and consumed cereals in the world being used in the preparation of the enormous diversity of products. The wheat flour fortification with iron and folic acid is obligatory in Brazil in accordance with current legislation. Starch is a reserve polysaccharide of vegetable consisting essentially of amylose and amylopectin. It is a matter abundant and replaceable material being the main source of carbohydrate in diet human. Starches in their native form have limited features for industrial use so it is important modification aiming to acquire improved stability, rheological properties, paste, gel texture, water retention, among others. The chemical modification, still very used, is not considered as safe a one way of modification, so the physical modification is well regarded by food industry. Heat Moisture Treatment (HMT) in starch is considered a natural method and is conducted with a moisture content of 30% and a maximum temperature of 120 ° C. Were studied native wheat and modified starches with presence and absence of folic acid and iron, by HMT at 121 °C for a period of 1 hour. The effects of HMT were studied using the following techniques: thermogravimetry and derivative thermogravimetry (TG/DTG), differential scanning calorimetry (DSC), x-ray diffraction (DRX), atomic force microscopy (NC-AFM), rapid visco analysis (RVA), the flame atomic absorption spectrometry (FEAA) and reflectance photocolourimetry. From the TG and DTG curves was observed that for the physically treated starches, the values of weight loss for starch in the presence of folic acid iron in the first and third stages decreased and the second increased as increased moisture. The DSC, modified starches, the temperatures at which the event occurred and the enthalpy of gelatinization decreased and the higher the moisture treatment was lower enthalpy. All starches showed bimodal distribution and irregularities in the micro-images of AFM with changes in average diameter and roughness, after physical modification. For all starches DRX peaks did not undergo pronounced displacement, however there was a decrease in crystallinity after modification. All starches showed high paste temperature and low peak viscosity. Was determined absence iron concentration to starch without folic acid and iron and little change for the presence of starch with these nutrients. With respect to color analysis for all samples studied, there was little variation in color between them, with causing a trend mainly to yellow after modification.

Keywords: Wheat starch, Folic acid, Iron, Heat–moisture, Thermal analysis.

LISTA DE SIGLAS

TG:	Termogravimetria
DTG:	Termogravimetria derivada
DSC:	Calorimetria exploratória diferencial
NC-AFM:	Microscopia de força atômica método não contato
RVA:	Rapid visco analyser
EAA	Espectrometria de absorção atômica
To:	Temperatura “onset” inicial
Tp:	Temperatura de pico
Tc:	Temperatura de conclusão
ΔH :	Variação de entalpia
ΔH_{gel} :	Entalpia de gelatinização
cP:	Centipoise
Da:	Diâmetro médio
Ra:	Rugosidade média
HMT:	Heat–Moisture Treatment
a:	Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro
b:	Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro
c:	Farinha de trigo com ácido fólico e ferro
d:	Farinha de trigo sem ácido fólico e ferro
a10:	Amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado HMT (10% umidade)
a15:	Amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT (15% umidade)
a20:	Amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT (20% umidade)
b10:	Amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT (10% umidade)
b15:	Amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT (15% umidade)
b20:	Amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT (20% umidade)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do grão de trigo.	21
Figura 2 - Estrutura química da amilose.	28
Figura 3 - Estrutura química da amilopectina.	29
Figura 4 - Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo.	37
Figura 5 - Difratograma de Raios X obtidos como padrão de cristalinidade para amidos do tipo “A”, “B”, “C” e “Vh”.	38
Figura 6 - Curva TG/DTG do ácido acetilsalicílico, m = 8,131 mg, razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ , atmosfera dinâmica de ar 150 mL min ⁻¹ , suporte de amostra de α -Al ₂ O ₃ .	41
Figura 7 - Representação esquemática das temperaturas de transição (To, Temperatura inicial - onset; Tp, temperatura de pico; Tf, temperatura final) obtidas pela análise DSC.	42
Figura 8 - Parâmetros para cálculo do grau de cristalinidade.	44
Figura 9 - Parâmetros para o cálculo do diâmetro médio no amido de trigo.	45
Figura 10 - Representação esquemática dos modos de operação do microscópio de força atômica (AFM): (a) modo contato, (b) modo não-contato e (c) modo intermitente.	46
Figura 11 - Parâmetros de viscosidade comumente avaliados através das curvas RVA.	48
Figura 12 - Esfera de representação do sistema CIELAB.	50
Figura 13 - Curvas TG e DTG: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.	60
Figura 14 - Curvas TG e DTG: A - (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.	63
Figura 15 - Curvas DSC gelatinização para: (a) Amido nativo de trigo com	67

ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Figura 16 - Curvas DSC de gelatinização: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

70

Figura 17 - Difratoograma de Raios X: (a) amido nativo de trigo com ácido fólico ferro, (b) amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

73

Figura 18 - Difractometria de Raios X: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

75

Figura 19 - Micrografias NC-AFM: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

78

Figura 20 - Micrografias NC-AFM: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

80

Figura 21 - Curvas RVA: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

84

Figura 22 - Curvas RVA: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

86

Figura 23 - Curvas RVA: (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados das curvas TG/DTG para: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.	61
Tabela 2 - Resultados das curvas TG/DTG: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.	65
Tabela 3 - Resultados de DSC gelatinização para: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.	68
Tabela 4 - Resultados de DSC de gelatinização: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.	71
Tabela 5 - Resultados dos difratogramas e do grau de cristalinidade: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.	74
Tabela 6 - Resultados dos difratogramas e do grau de cristalinidade: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.	76
Tabela 7 - Resultados da NC-AFM: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.	78
Tabela 8 - Resultados NC-AFM: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT,	82

20% de umidade.

Tabela 9 - Resultados Viscosidade: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro. 84

Tabela 10 - Resultados viscosidade: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade. 87

Tabela 11 - Resultado para concentração de ferro: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro (c) farinha de trigo com ácido fólico e ferro (d) farinha de trigo sem ácido fólico e ferro. 89

Tabela 12 - Resultado para concentração de ferro: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade. 90

Tabela 13 - Resultado parâmetro de cor: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro. 91

Tabela 14 - Resultado parâmetro de cor: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade. 92

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Cálculo do grau de cristalinidade relativa

44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3 REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 Grão e farinha de trigo	21
3.2 Fortificação de alimentos	23
3.3 Amido	24
3.4 Estrutura química do amido	27
3.4.1 Amilose	27
3.4.2 Amilopectina	28
3.5 Amido de Trigo	29
3.6 Amido Modificado	30
3.7 Modificação física – Tratamento com umidade e temperatura controladas - HMT	32
3.8 Propriedades morfológicas e térmicas do grânulo de amido	33
3.8.1 Gelatinização	33
3.8.2 Retrogradação	35
3.8.3 Cristalinidade	36
3.9 Análise Térmica	39
3.9.1 Termogravimetria (TG)	39
3.9.2 Termogravimetria Derivada (DTG)	40
3.9.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	41
3.10 Difractometria de Raios X (DRX)	43
3.11 Microscopia de Força Atômica – modo não contato (NC-AFM)	44
3.12 Viscosidade e propriedade de pasta (RVA)	46
3.13 Espectrometria de absorção atômica (EAA) – Chama	48
3.14 Análise de cor	49
4 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1 Material	51
4.1.1 Matéria Prima	52
4.2 Métodos	52

4.2.1 Extração do amido de trigo.....	52
4.2.2 Modificação do amido de trigo por umidade e temperatura controladas - HMT	53
4.3 Técnicas Termoanalíticas.....	53
4.3.1 Termogravimetria (TG), Termogravimetria Derivada (DTG).....	54
4.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	54
4.4 Difractometria de raios X (DRX).....	55
4.5 Microscopia de Força Atômica – modo não contato (NC-AFM)	55
4.6 Propriedades de pasta (RVA).....	56
4.7 Espectrometria de absorção atômica (EAA) – Chama.....	56
4.8 Análise de cor.....	57
4.9 Análises Estatísticas	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 Determinação de proteína.....	59
5.2 Técnicas termoanalíticas.....	59
5.2.1 Termogravimetria e Termogravimetria derivada.....	59
5.2.1.1 Amido nativo.....	59
5.2.1.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas	62
5.3 Calorimetria exploratória diferencial	67
5.3.1 Amido nativo.....	67
5.3.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas	69
5.4 Difractometria de raios X (DRX).....	72
5.4.1 Amido nativo.....	73
5.4.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas	74
5.5 Microscopia de força atômica – modo não contato	77
5.5.1 Amido nativo.....	77
5.5.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas	79
5.6 Propriedades de pasta - (RVA)	83
5.6.1 Amido nativo.....	83
5.6.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas	85
5.7 Espectrometria de absorção atômica (EAA) - Chama.....	88
5.7.1 Amido nativo.....	88
5.7.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas	90

5.8 Parametro de cor.....	91
5.8.1 Amido nativo.....	91
5.8.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas	92
6 CONCLUSÕES	94
REFERÊNCIAS.....	96

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o enriquecimento com ácido fólico e ferro para a farinha de trigo que é um alimento bastante consumido pela maioria da população, é obrigatório conforme legislação vigente e a adição desses nutrientes tem a função de aumentar sua ingestão, suprir deficiências e reduzir o risco de doenças.

Amido é um polissacarídeo de reserva de energia das plantas. Os grânulos de amido são constituídos basicamente por amilose e amilopectina. Suas aplicações em uso industrial dependem de suas propriedades físicas e químicas, que variam de uma cultura para outra, a partir da influência ecológica e agrônômica (ADEBOWALE; AFOLABI; OWOLABIA, 2005). Algumas das principais fontes de amido são os cereais e raízes como milho, trigo e mandioca, porém fontes alternativas e diferentes modificações são exploradas para encontrar amidos com a qualidade desejada. O amido de trigo possui distribuição bimodal (grânulos do tipo A e do tipo B) e maiores resíduos de proteínas, lipídios e minerais associados ao grânulo, o que faz com que possam ocorrer alterações em suas propriedades.

Os amidos possuem grande valor para a indústria, porém na forma nativa possuem uso limitado. Os grânulos de amido podem ser modificados por diversos métodos como métodos físicos, químicos, enzimáticos e genéticos e entre essas modificações os métodos químicos e enzimáticos são os mais utilizados.

As modificações que utilizam os métodos químicos não são muito aceitas pelo consumidor, para produtos alimentícios, em alguns países, que voltaram a utilizar amido nativo, mesmo este apresentando propriedades consideradas não sendo apropriadas ao uso industrial, principalmente farmacêutico e alimentício. Isso ocorre devido à modificação química utilizar produtos químicos podendo ser prejudicial à saúde e ao meio ambiente.

Os amidos modificados estão disponíveis para usos industriais, mas a maioria das indústrias (especialmente indústrias alimentícia e farmacêutica) preferem amidos que não foram quimicamente alterados. Neste caso a modificação física por umidade, calor, temperatura, ou radiação UV/ionizante, ganharam uma maior aceitação, devido à sua relativa segurança (ADEBOWALE; AFOLABI; OWOLABI, 2005).

A modificação por umidade e temperatura controladas (HMT), é conduzida sob teor de umidade reduzido, de 10 a 30%, com temperaturas na faixa de 82 °C a

121 °C e por períodos variados de tempo, de 15 minutos a 16 horas. Porém essa modificação possui ainda alguns parâmetros pouco elucidados (JYOTHI; SAJEEV; SREEKUMAR, 2010).

Diante da importância do uso do amido modificado fisicamente e avaliação das suas propriedades com compostos intermediários associados ao grânulo, torna-se importante investigar as propriedades morfológicas, térmicas e estruturais dos amidos de trigo, com e sem ácido fólico e ferro, nativos e modificados por HMT, para ter um melhor conhecimento sobre sua aplicabilidade e avaliação da modificação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Empregar técnicas termoanalíticas, microscopia de força atômica, difratometria de raios X, análise reológica (RVA), espectrometria de absorção atômica (EAA) e determinação de cor na avaliação das propriedades de amido de trigo em presença e ausência de ácido fólico e ferro, nativos e com modificação por umidade e temperatura controladas (HMT).

2.2 Objetivos específicos

- Extrair os amidos de trigo a partir das farinhas com presença e ausência de ácido fólico e ferro;
- Analisar os grânulos de amido de trigo nativo, com e sem ácido fólico e ferro, avaliando as propriedades térmicas, morfológicas, cristalinas e estruturais;
- Modificar os grânulos de amido de trigo extraídos de farinhas com e sem suplementação de ferro e ácido fólico utilizando diferentes modificações por umidade e temperatura controladas (HMT);
- Utilizar as técnicas de microscopia de força atômica e difratometria de raios X para estudar a morfologia e a propriedade cristalina característica dos amidos obtidos das diferentes farinhas;
- Avaliar os efeitos entre os diferentes tratamentos de modificação física e grau de modificação para as propriedades térmicas (estabilidade, gelatinização e entalpia).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Grão e farinha de trigo

Os cereais possuem papel fundamental na alimentação humana no âmbito da saúde, como fonte de nutrientes e fibras, e tecnologicamente, devido às variadas formas que podem ser utilizados para o consumo humano diariamente na forma de pães, biscoitos, bolos e massas (SCHEUER, *et al*, 2011).

O trigo é muito cultivado em todo o mundo por todas as culturas juntamente com o arroz, cevada, milho, centeio, sorgo, aveia e milho. O trigo é o cereal mais importante utilizado em panificação com valor nutritivo parecido com o do milho e melhor que o da cevada. Industrialmente é utilizado no preparo de bebidas, etanol e obtenção de amido, porém possui maior importância como matéria prima para a indústria moageira (GOESAERT, *et al*, 2005, HUNG, *et al* , 2008, LIMA, 2010).

O grão de trigo consiste em três partes principais: pericarpo, endosperma e gérmen, conforme a figura 1, mas sua composição depende de fatores como espécie, variedade, tipo e fatores ligados a sua produção agrícola sendo a proteína o componente que apresenta maior variação o que é diretamente relacionado ao teor de amido (LIMA, 2010).

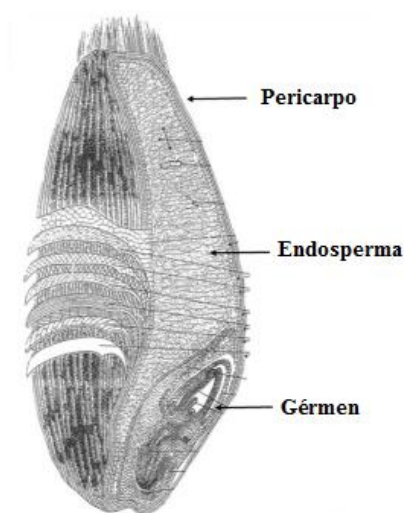


Figura 1: Estrutura do grão de trigo, Fonte: Adaptado, Slavin, 2004.

O pericarpo representa em torno de 7,8 a 8,6%, o endosperma, maior porção no grão, representa de 87 a 89% sendo o amido o principal componente e o gérmen,

presente em menor quantidade, corresponde de 2,8 a 3,5%, do peso do grão respectivamente. A farinha de trigo representa em média 78% do grão de trigo após a sua extração (DEWETTINCK, *et al*, 2008).

Durante o desenvolvimento do grão, as proteínas de armazenamento de trigo são depositadas como corpos de proteínas e quando o grão amadurece, perdem sua estrutura distinta e formam uma matriz contínua dentro das células do endosperma, em que os grânulos de amido são encaixados e conseqüentemente podendo através da extração do amido conter proteínas associadas ao grânulo (BORGHT, *et al*, 2005).

A Portaria número 354 de 18 de julho de 1996 (BRASIL, 1996), define e legisla sobre as qualidades mínimas para a farinha de trigo. Conforme definição por essa Portaria, a farinha de trigo é um produto obtido a partir da espécie *Triticum aestivum* ou de outras espécies do gênero *Triticum* reconhecidas (exceto *Triticum durum*) através do processo de moagem do grão de trigo beneficiado (BRASIL, 1996).

A farinha de trigo é composta basicamente por amido, água, gordura, proteínas e minerais. O amido é um dos principais constituintes e representa aproximadamente de 70-75%, a água representa em torno de 14%, as proteínas com aproximadamente 10-12% e os minerais que estão presentes em torno de 2% no máximo, sendo que esses possuem valor reduzido após a sua extração. Além disso, os polissacarídeos não amiláceos que representam em torno de 2-3% e os lipídios, em torno de 2%, são importantes constituintes da farinha em menores quantidades, porém relevantes para a produção e qualidade de produtos de panificação (GOESAERT, *et al*, 2005).

A farinha de trigo é um dos ingredientes mais utilizados em ramos industriais como na indústria metalúrgica, porém é principalmente utilizada na indústria de alimentos, culinária e confeitaria desempenhando um importante papel como ingrediente na preparação de alimentos como pães, massas, biscoitos, bolos e outros produtos de panificação. A sua qualidade está diretamente relacionada à qualidade do grão, da moagem e da forma de extração (MARTÍNEZ *et al*, 2014).

As proteínas presentes na farinha, solúveis e insolúveis, desempenham um papel fundamental da qual possui a habilidade de juntar-se e formar uma estrutura coesa. O amido, que ajuda na produção de gás por meio do fornecimento de açúcar para o fermento, age principalmente como agente espessante e essa propriedade,

da qual é indispensável para os produtos, baseia-se na capacidade dos grânulos de amido de trigo de absorver água tendo efeitos significativos sobre a qualidade dos produtos finais (MARTÍNEZ, *et al*, 2014, HUNG, *et al*, 2008).

Pesquisas são cada vez mais incentivadas, com o propósito de implementar melhorias focadas em determinadas áreas de atuação, para a utilização de cereais, como nutrição e saúde, pesquisa e desenvolvimento de novos produtos e ciência e tecnologia (SCHEUER, *et al*, 2011).

3.2 Fortificações de alimentos

Normalmente os alimentos mais consumidos pela maioria da população, dos quais possuem processo de fabricação regular e com armazenamento e processo de estocagem que não induz a perda de nutrientes são os alimentos escolhidos para serem enriquecidos. Produtos lácteos, leite, biscoitos, e cereais são produtos normalmente enriquecidos, mas o principal alimento é a farinha de trigo, que em muitos países é à base da alimentação. A farinha de trigo é enriquecida com múltiplos micronutrientes, a fim de aumentar sua ingestão e suprir deficiências de certos nutrientes (AKHTAR; ANJUM; ANJUM, 2011, LIMA; CATHARINO; GODOY, 2004).

No Brasil, a Resolução RDC número 344 de 13 de dezembro de 2002, criada com o objetivo de reduzir os riscos de doenças como a anemia ferropriva e de patologias do tubo neural e da mielomeningocele tornou obrigatória à adição de ferro e ácido fólico nas farinhas de trigo e milho destinadas ao uso industrial, incluindo as farinhas destinadas ao uso da panificação e as farinhas adicionadas nas pré-misturas. Esta resolução determina que a cada 100 g de farinha deve conter no mínimo 4,2 mg de ferro e 150 mcg de ácido fólico (BRASIL, 2002).

Com relação ao ferro utilizado na fortificação das farinhas, de acordo com a legislação, é permitida a utilização de composto de grau alimentício na forma de sulfato ferroso desidratado (seco), ferro reduzido (325 mesh Tyler), ferro eletrolítico (325 mesh Tyler), EDTA de ferro e sódio (NaFeEDTA) e ferro bisglicina quelato. Os principais aspectos a serem considerados para a escolha dessa fonte é a biodisponibilidade, estabilidade, cor, granulometria, disponibilidade comercial, custo e aprovação do uso (BRASIL, 2002).

O ácido fólico é a forma mais estável entre os folatos, é uma vitamina hidrossolúvel. Apresenta - se na forma de pó amarelo ou amarelo–alaranjado, é inodoro e insípido. É estável ao ar, possui pouca degradação a luz, e pode ser esterilizado em autoclave, pois possui estabilidade em altas temperaturas (temperaturas acima de 140–148 °C podem provocar alterações na estrutura, porém a perda total ocorre em temperaturas de 250-262 °C), além de possuir boa retenção durante o processo de produção e estocagem nos produtos fortificados. Sua estabilidade é também facilitada com a presença de íons de ferro II (VORA, *et al*, 2004).

O processo de adição de ferro e ácido fólico à farinha de trigo é simples, os benefícios que advém da fortificação são comprovados e pode contribuir para reduzir algumas doenças. Nesse processo, o amido é utilizado como material inerte, para que a fortificação seja facilitada (GUTKOSKI, *et al*, 2007).

Os micronutrientes utilizados para fortificação devem possuir boa disponibilidade de absorção pelo organismo, não ter alterações organolépticas de cor, aroma e sabor no alimento fortificado, ser de fácil acesso, resistente a contaminação microbiana, higroscópico, possuir boa aceitação e boa estabilidade durante o armazenamento e processamento das farinhas. Os alimentos fortificados também devem ser uma medida de baixo custo e efetiva a curto, médio e longo prazo para suprir as necessidades de deficiência nutricional da população (HEIJBLUM; SANTOS, 2007; GUTKOSKI, *et al*, 2007, MARQUES, *et al*, 2012, WALKER, *et al*, 2005).

3.3 Amido

O amido é um polissacarídeo de armazenamento de energia em vegetais e estão presente na forma de pequenos grânulos nos tecidos fotossintéticos, em todas as formas de plantas de folhas verdes, localizadas em suas raízes, caules, sementes ou frutas, podendo ser encontrado também em certas algas e bactérias. Pode ser extraído com elevada pureza por meio de processos industriais relativamente simples e facilmente convertidos em várias substâncias por processos químicos e bioquímicos (WALTER; SILVA; EMANUELLI, 2005, LIMA, *et al*, 2012, SWEEDMAN, *et al*, 2013).

É uma matéria-prima abundante, próxima da celulose como um composto orgânico que ocorre naturalmente, é renovável, biodegradável, não tóxica e barata. Apresenta grande importância nutricional e industrial e é a fonte mais importante de carboidratos na alimentação humana, representando de 80 a 90% de todos os polissacarídeos da dieta e sendo utilizado como principal responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados (WALTER; SILVA; EMANUELLI, 2005, LIMA, *et al*, 2012, SWEEDMAN, *et al*, 2013, ADEBOWALE; AFOLABI; OWOLABI, 2005, LEONEL; CEREDA, 2002; LEONEL, *et al*, 2011, TANG; COPELAND, 2007).

O amido possui características químicas e físicas que o diferenciam de outros carboidratos e devido à grande variedade de textura e qualidade sensorial, ele contribui consideravelmente para essas propriedades quando aplicado em muitos alimentos. Possui várias aplicações para uso industrial e culinário como espessante, estabilizante coloidal, geleificante, agente de volume, retentor de umidade e agente de viscosidade. (MENDES; BORA; RIBEIRO, 2012, AROCAS; SANZ; FISZMAN, 2009, PRIMO-MARTIN, *et al*, 2007).

Na indústria de panificação, o amido é usado como um agente geleificante para os recheios usados em bolos, tortas e biscoitos. Na indústria em geral é um ingrediente típico de produtos alimentares, produtos à base de nata como molhos, pudins, doces, carnes e alimentos com pouca gordura. Pode também ser utilizado em sopas e muitos outros alimentos processados (TENG; CHIN; YUSOF, 2013, AROCAS; SANZ; FISZMAN, 2009).

As principais fontes de amido são os cereais, como o arroz, trigo e milho e as raízes e tubérculos como a mandioca, batata doce, batata e mandioquinha salsa. Amidos extraídos de frutas (banana e maçã), sementes de árvores (pinhão e castanhas) e leguminosa (ervilha, lentilha e feijão) são fontes alternativas que são exploradas para encontrar amidos com a qualidade desejada (BURRELL, 2003, BICUDO, 2008).

A produção de amido de milho é de 80% no mercado mundial e a maior parte deste é produzida nos Estados Unidos. O maior produtor de amido de trigo e batata é a Europa enquanto que amido de mandioca é produzido principalmente na Ásia. Outros amidos e féculas, como de arroz e batata-doce, representam apenas uma pequena parte do total (JOBLING, 2004).

A avaliação da relação existente entre a estrutura molecular do amido e seu comportamento em algumas propriedades físico-químicas sugere que diversas características estruturais, devido a diferentes origens biológicas, o amido forneça diferentes proporções no teor de amilose, distribuição das cadeias de amilopectina, grau de cristalinidade, atributos estruturais, presença de componentes proteicos, outros endógena para a fonte e possuir diferentes forma e tamanho nos grânulos, podendo estas formas ser regular (esférico, oval ou angular) ou completamente irregular, possuir distribuição unimodal, bimodal ou trimodal e tamanho da partícula que pode variar de 1 a 100 μm . Todas essas características podem levar a uma variação considerável nos amidos entre e dentro das espécies vegetais (SWEEDMAN, *et al*, 2013, TANG; COPELAND, 2007).

Devido o amido sofrer transformações quando aquecido e interagir com outras moléculas, essas características são de grande interesse dada a importância do amido em muitos alimentos, os quais podem estar intimamente relacionados aos eventos associados com a gelatinização, retrogradação, inchamento do grânulo, lixiviação de amilose e/ ou amilopectina, perda da estrutura radial (birrefringência), cristalinidade e recristalização. Outro fator que pode contribuir para essas diferenças é a presença ou não de modificações químicas e a presença de outros ingredientes ou aditivos como o ácido fólico e o ferro que adicionados à farinha também pode mudar essas propriedades (TANG; COPELAND, 2007; DENARDIN; SILVA, 2009, PAULA, *et al*, 2012, AROCAS; SANZ; FISZMAN, 2009).

Os componentes secundários associados com amidos que podem alterar suas características correspondem ao material particulado, composto principalmente por fragmentos da parede celular, componentes de superfície, que podem ser eliminados por procedimentos de extração e os componentes internos. Os lipídeos representam a fração mais importante sendo que altos teores são normalmente encontrados em amidos de cereais e estes estão fortemente ligados nos grânulos e são essencialmente indisponíveis até que o amido é gelatinizado (BULÉON, *et al*, 1998).

O amido tem sido objeto de intensa investigação, resultando em uma grande quantidade de literatura publicada sobre os métodos de preparação e métodos analíticos, para avaliação da estrutura molecular, propriedades físicas, químicas e bioquímicas, funcionalidade e usos. No entanto, ser capaz de prever a funcionalidade a partir do conhecimento da estrutura e explicar como amido interage

com outros componentes principais em alimentos ainda é um desafio em ciência de alimentos, nutrição e a indústria que utiliza o amido em geral (COPELAND, *et al*, 2009).

3.4 Estrutura química do amido

O amido nativo ou natural apresenta estrutura granular semicristalina constituída por macromoléculas de amilose e amilopectina (CORRADINI, *et al*, 2005). É um homopolímero de glicose ramificada, com ligações lineares de α -(1 $\rightarrow$ 4) e ligações α -(1 $\rightarrow$ 6), que são ramificadas e que representa de 98-99% do peso seco e com razão entre os dois variando de acordo com a origem botânica (TESTER; KARKALAS; QI, 2004, KONG; ZIEGLER, 2014).

Cada uma dessas estruturas possui uma ampla distribuição de pesos moleculares e de tamanhos. A amilose, que é considerada de peso molecular moderado e com poucas ramificações possui cadeias longas e a amilopectina, cujo peso molecular é de cerca de duas ordens de grandeza mais elevado possui ramos muito mais curtos. Variações nas proporções entre estes componentes e em suas estruturas e propriedades podem resultar em grânulos de amido com propriedades físico-químicas, funcionais e morfológicas muito diferentes, que podem afetar as suas aplicações industriais (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010; SWEEDMAN, *et al*, 2013).

3.4.1 Amilose

A amilose constitui de 20 a 30% do amido nativo e é definida como uma molécula com aproximadamente 99% de ligações lineares de α -D-glicopiranoses (1 $\rightarrow$ 4), com algumas moléculas ligeiramente ramificadas por ligações α -(1 $\rightarrow$ 6), podendo conter de 350 a 1000 unidades de glicose em sua estrutura. Possui estrutura helicoidal, α -hélice, formada por ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas das moléculas de glicose (BULÉON, *et al*, 1998; RIBEIRO; SARAVALLI, 2004; JOBLING, 2004). A estrutura química da amilose está representada na figura 2.

A massa molar é da ordem de 250.000 Daltons (1500 unidades de glicose), mas pode variar muito entre as espécies de plantas e dentro da mesma espécie, dependendo do grau de maturação. As Moléculas de amilose de cereais são

geralmente menores do que aquelas de outras origens como de tubérculos e leguminosas (DENARDIN; SILVA, 2009).

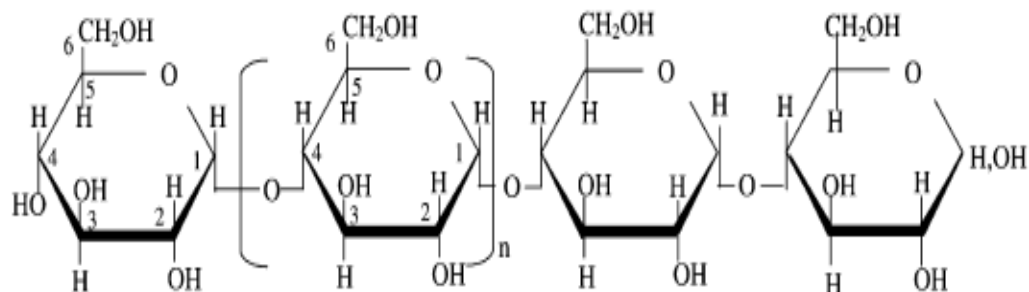


Figura 2: Estrutura química da amilose. Fonte: Tester; Karkalas; Qi, 2004.

3.4.2 Amilopectina

A amilopectina, que está representada na figura 3, é o componente altamente ramificado do amido. Ele é formado por meio de cadeias de α -D-resíduos-glicopirranose ligadas entre si, principalmente por ligações α -(1 $\rightarrow$ 4), e em aproximadamente cada 20-30 resíduos de glicopirranose, ocorre um ponto de ramificação, onde uma corrente de α -D-(1 $\rightarrow$ 4) unidades-glicopirranose está ligada à posição C-6, hidroximetil de um resíduo de glicose por meio de um α -D-(1 $\rightarrow$ 6) glicosídica. Portanto a amilopectina possui de 5-6% de ligações α -D-(1 $\rightarrow$ 6) com pontos de ramificação, possuindo uma estrutura de árvore e uma arquitetura molecular complexa, que pode variar substancialmente entre os diferentes amidos no que diz respeito à colocação e comprimento dos ramos (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000, BULÉON, *et al*, 1998).

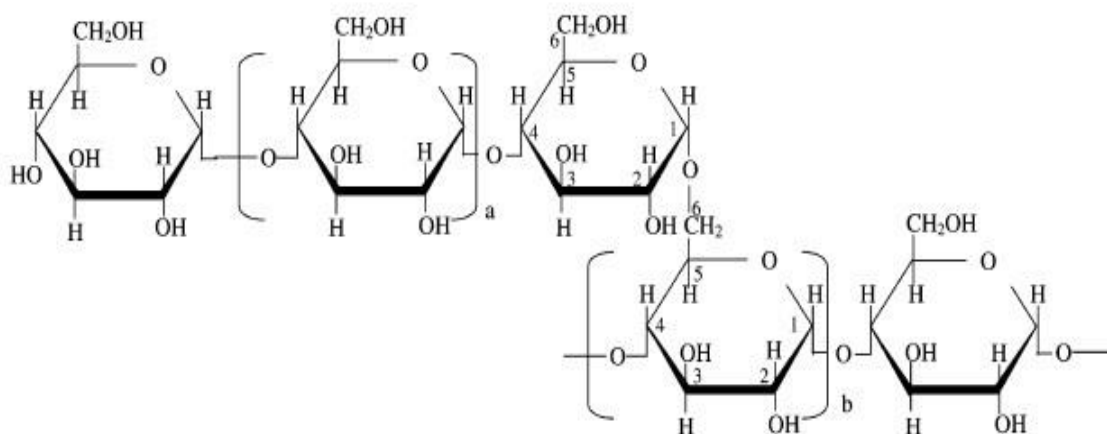


Figura 3. Estrutura química da amilopectina. Fonte: Tester; Karkalas; Qi, 2004.

A molécula de amilopectina consiste em uma cadeia principal C que carrega o grupo redutor. A molécula e as numerosas cadeias ramificadas são denominadas de cadeias A e B. As cadeias A, são aquelas conectadas a outras cadeias, não carregando nenhuma ramificação e as cadeias B, que estão ligadas a outras cadeias possuem uma ou mais cadeia A ou B ligadas através de ligações α -D(1 $\rightarrow$ 6) (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

A amilopectina possui um dos mais elevados pesos moleculares conhecidos entre os polímeros que ocorrem naturalmente com peso molecular de cerca de 10^8 e um grau de polimerização que pode exceder um milhão. A maior parte dos amidos contêm 60-90% de amilopectina, embora amidos de alto teor em amilose, com 30% de amilopectina e amidos cerosos com essencialmente 100% de amilopectina são bem conhecidos (COPELAND, *et al*, 2009).

3.5 Amido de trigo

Os grânulos de amido de cereais são menores, em algumas espécies, como no trigo, que possui uma distribuição bimodal com grânulos do tipo A, os quais possuem forma de disco ou forma lenticular com diâmetro superior a 10 μ m e grânulos do tipo B que possuem mais ou menos uma forma esférica ou poligonal com um diâmetro menor do que 10 μ m. Os grânulos do tipo A e B são responsáveis por cerca de 70% e 30% do peso total de amido isolado a partir do endosperma do trigo, respectivamente (ZHANG, *et al*, 2013).

Os diferentes tamanhos e formas como nos grânulos de amido de trigo são características importantes, pois essas estruturas desempenham um papel fundamental na determinação das propriedades e aplicações do amido. Por ter diferenças significativas na estrutura, pode haver diferenças na composição química e propriedades funcionais, como teor de amilose, conteúdo de lipídios e fibras e propriedade de pasta o que pode afetar as propriedades e utilização final resultando em diferentes aplicações (ZHANG, *et al*, 2013).

Amido de trigo com grânulos apenas do tipo A pode ser usado em papel de cópia sem carbono e plástico biodegradável e amido de trigo com grânulos do tipo B é utilizado para enchimento de película de plástico e como substituto de gordura devido ao tamanho da partícula ser semelhante à partícula de gordura (AO; JANE, 2008).

Outra característica importante para esse amido é a presença de amido danificado após o processo de moagem e com isso pode absorver três vezes mais água do que o amido nativo e pode, portanto, interferir com a aglomeração da proteína do glúten. A presença de amido danificado no amido primário pode também restringir a utilização do amido de trigo (BORGHT, *et al*, 2005).

Os grânulos de amido de trigo possuem mais resíduos de proteínas e lipídios, do que outros amidos, como o amido de batata. As presenças desses componentes intermediários, associados aos grânulos de amido, podem interferir em suas propriedades, alterando principalmente a propriedade de pasta que fica reduzida, limitando por esse motivo sua aplicação. Os lipídios representam uma fração importante nos amidos de cereais os quais estão em torno de 2% do peso seco do amido sendo que no amido de trigo pode conter em torno de 0,8-1,2% de lipídeos (TESTER; KARKALAS; QI, 2004, AO; JANE, 2008).

Os lipídios nos amidos de cereais podem ser encontrados na forma de ácidos graxos livres e lisofosfolipídios que se encontram dentro da hélice da amilose do amido e não são retirados com facilidade. A proteína também é um componente importante presente no amido de trigo, com quantidade de no máximo 0,6% o qual pode também alterar sua funcionalidade. Os minerais como ferro, cálcio e magnésio apresentam menos de 0,4%, considerados como fonte moderada e o fósforo encontrado na forma de fosfolipídio é irrelevante na funcionalidade do amido (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

Além dos componentes como lipídios, proteínas e minerais presentes nos amidos de cereais, outro fator importante que pode alterar sua funcionalidade é um elevado teor de amilose, mais presentes em amidos de milho e trigo com 22,4-32,5% e 18-30% respectivamente (BULÉON, *et al*, 1998).

3.6 Amido modificado

O desenvolvimento de novos produtos e a necessidade de controle rigoroso da qualidade dos alimentos requerem amidos com propriedades funcionais específicas e que sejam capazes de resistir às condições adversas do processamento. No entanto, a estrutura nativa do amido tem uso limitado na indústria, em várias condições de processamento de alimentos, apresentando uma fraca resistência à alta taxa de cisalhamento, decomposição térmica, elevada

retrogradação e sinérese (GONÇALVES, *et al*, 2009; YADAV; GULERIA; YADAV, 2013). Por isso os amidos nativos, de modo geral, não são amplamente utilizados na indústria de alimentos devido às suas propriedades funcionais pobres (JAYAKODY; HOOVER, 2008).

Essas deficiências podem ser melhoradas através da modificação da estrutura nativa do grânulo para se adequar ao produto final visando adquirir maior estabilidade, melhoria das características reológicas das pastas, da textura dos géis e de retenção de água, entre outras importantes (GONÇALVES, *et al*, 2009; YADAV; GULERIA; YADAV, 2013).

A modificação do amido, tendo em vista as limitações do seu uso na forma nativa, pode ser feita de diversas formas antes da sua utilização e aplicações industriais. As modificações podem ocorrer de forma física, química, enzimática, genética ou combinada, através de derivatização, tais como a esterificação, reticulação e enxertia de amido, decomposição (hidrólise ácida ou enzimática e a oxidação de amido). A modificação de forma física pode ocorrer utilizando o calor, a umidade e a pressão e a modificação química envolve a introdução de grupos funcionais na molécula de amido, o que resulta em propriedades físico-químicas significativamente alteradas (SINGH; KAUR; MCCARTHY, 2007, ADEBOWALE; AFOLABI; OWOLABI, 2005; SWEEDMAN, *et al*, 2013, JIRANUNTAKUL, *et al*, 2011, ELFSTRAND, *et al*, 2004).

Os amidos modificados estão disponíveis para usos industriais, mas a maioria das indústrias, especialmente indústrias alimentícia e farmacêutica, preferem amidos que não foram quimicamente alterados, portanto, a modificação física por umidade, calor, temperatura, ou radiação UV/ionizante, ganharam uma maior aceitação, devido à sua relativa segurança (ADEBOWALE; AFOLABI; OWOLABI, 2005).

No Brasil, e em alguns países da Europa, apesar do amido nativo não possuir propriedades tecnológicas adequadas ao uso, ainda é comum encontrar produtos que utilizam amidos nativos, o que pode ser atribuído ao menor custo e potencial perigo que a modificação química pode trazer para a saúde do consumidor. Porém, algumas vezes, pode haver problemas tecnológicos associados ao uso desses amidos nativos relacionados com suas propriedades espessante e/ou estabilizantes (SILVA, *et al*, 2006, YADAV; GULERIA; YADAV, 2013).

3.7 Modificação física – Tratamento com umidade e temperatura controladas - HMT

Amidos modificados quimicamente têm efeitos adversos no corpo humano e o conteúdo de tais produtos é, portanto, restrito em alimentos. No entanto, amidos modificados por tratamentos físicos, como HMT, podem ser utilizados em alimentos sem adição de produtos químicos, pois têm estabilidade de pasta semelhante e, portanto têm atraído à atenção da indústria de alimentos (JYOTHI; SAJEEV; SREEKUMAR, 2010).

O processo utilizando umidade e temperatura, quando relacionada com amidos, foi por diversas vezes descrito por modificar a estrutura do grânulo. Esse tipo de modificação é um processo relacionado, em que a proporção de amido para a umidade, temperatura e tempo de aquecimento são parâmetros críticos para serem controlados. Esse tratamento representa o controle da mobilidade molecular a altas temperaturas, por meio da limitação da quantidade de água e, conseqüentemente, a gelatinização. Portanto nesse tipo de modificação as temperaturas elevadas são necessárias para causar a reorganização física dentro dos grânulos (TESTER; DEDON, 2000).

O amido tratado com calor-umidade, HMT, tem sido utilizado como um modificador de textura na indústria alimentícia, porém a sua retrogradação e gelatinização não são tão bem compreendidos (TAKAYA; SANO; NISHINARI, 2000).

A HMT modifica várias propriedades do amido como inchaço do grânulo, viscosidade, solubilidade, aumento na temperatura de gelatinização, alterações na estabilidade térmica e retrogradação, interações na cadeia de amido, promove mudanças no padrão de raios X e cristalinidade independente da fonte, sendo que amidos com estrutura cristalina padrão B têm se mostrado os mais suscetíveis a esse tratamento (TAKAYA; SANO; NISHINARI, 2000, GUNARATNE; HOOVER, 2002).

A modificação por HMT é uma modificação física que altera o grânulo de amido a um teor de umidade reduzida (10 a 30%), com temperaturas na faixa de 82 °C a 120 °C, acima da temperatura de transição vítrea, porém abaixo da temperatura de gelatinização e aplicados a períodos variados de tempo (15 minutos a 16 horas). O efeito do tratamento é atribuído à ação de água sobre as ligações de hidrogênio formadas entre cadeias moleculares dentro dos grânulos de amido (TAKAYA;

SANO; NISHINARI, 2000, JYOTHI; SAJEEV; SREEKUMAR, 2010, SINGH, *et al*, 2009, MAACHE-REZZOUG, *et al*, 2008, BULÉON, *et al*, 1998).

Para a esse tipo de modificação, a pressão é muitas vezes necessária para assegurar um aquecimento suficiente, mas a distribuição de calor uniforme e a penetração no amido não são fáceis de realizar. Estes tratamentos físicos podem alterar certas propriedades de amido usando processos simples e ambientalmente seguros, porém em amidos tratados com calor e umidade controlados, a transformação estrutural dentro do grânulo de amido não é ainda totalmente compreendida (LIM; CHANG; CHUNG, 2001).

A modificação física por tratamentos hidrotérmicos, como HMT e annealing (ANN) é consistente com as tendências da sociedade em relação aos produtos naturais, pois a modificação do amido por esse método o torna um alimento natural, altamente seguro, oferece o potencial para mudar sua funcionalidade a um baixo custo, de uma forma segura para o ambiente e sem destruir a sua estrutura granular (ZAVAREZE; DIAS, 2011; ZHANG, *et al*, 2014).

3.8 Propriedades morfológicas e térmicas do grânulo de amido

Gelatinização, propriedades de pasta e formação de gel de amido são propriedades funcionais que determinam muitas aplicações na indústria de alimentos. Normalmente, essas propriedades não são ideais em amido nativo e por isso precisam ser modificados, por várias técnicas, para se adequar ao uso final (GUNARATNE; RANAWEERA; CORKE, 2007).

As mudanças de viscosidade em suspensões amiláceas, devido ao intumescimento do grânulo de amido durante o aquecimento são comumente avaliadas em viscoamilógrafos como o Brabender e o Rápido Viscoanalisador (RVA) (SILVA, *et al*, 2008).

3.8.1 Gelatinização

Gelatinização é uma das propriedades mais importantes e é um termo usado para descrever os acontecimentos moleculares associados com amido durante o aquecimento em água (TESTER; DEBON, 2000). De maneira geral, a gelatinização do amido e derivados de amido em água, como farinhas, corresponde à desorganização dos grânulos de modo a formar um gel e ocorre a partir da absorção

de água pelo amido que, com o aquecimento do sistema, perde sua birrefringência (SCHEUER, *et al*, 2011). O processo de gelatinização, em excesso de água é considerado uma hidratação primária de regiões amorfas com uma transição vítrea - elástica associada. (TESTER; DEBON, 2000).

O processo de gelatinização é composto por três fases. A primeira ocorre inicialmente nas regiões amorfas, (hilo) com inchaço reversível, onde uma pequena quantidade de umidade, com o aumento da temperatura é absorvida gradualmente nos grânulos de amido, para a estrutura cristalina, sem afetar essa estrutura e as características básicas quando o amido é desidratado, podendo o grânulo voltar ao seu estado original. Após ocorre a quebra das ligações químicas das moléculas, principalmente ocorrendo à quebra das ligações de hidrogênio, tornando-as instáveis. Assim, a organização cristalina muda para regiões amorfas e provoca uma transição molecular irreversível, da qual o grânulo de amido torna-se rapidamente, de 50-100 vezes maior em volume, chamada de fase absorvente irreversível. Na fase final, com a temperatura ainda mais elevada, todos os grânulos de amido são destruídos para formar um gel. Assim, a gelatinização tem uma relação estreita com a estrutura cristalina, a entalpia e ΔH relacionado com a cristalinidade e a estrutura helicoidal dupla (SINGH, *et al*, 2003; SCHEUER, *et al*, 2011, TESTER; DEBON, 2000, ZHANG, *et al*, 2013, ASCHERI, *et al*, 2010).

Após a gelatinização do amido e resfriamento do sistema, observa-se um aumento considerável na viscosidade da pasta formada de amido que não é estável e como descrito é proporcionada pelo inchamento do grânulo, por meio da absorção de água. Esse estágio que termina com a formação de um gel, durante o armazenamento, fazendo com que ocorram transformações estruturais que em conjunto recebem o nome de retrogradação e é geralmente caracterizada por calorimetria exploratória diferencial (DSC) (SINGH, *et al*, 2003, ASCHERI, *et al*, 2010, SCHEUER, *et al*, 2011).

Temperaturas de gelatinização e entalpias, associados a eventos endotérmicos de gelatinização variam entre os amidos de diferentes fontes (SINGH, *et al*, 2003, SCHEUER, *et al*, 2011). A temperatura de gelatinização da maioria dos amidos situa-se entre 60 e 80 °C, e para do amido do trigo a temperatura de gelatinização pode ocorrer em temperaturas entre 58 e 66 °C. Em geral, existe uma relação inversa entre o teor de amilose do amido, a temperatura de gelatinização e a viscosidade de pico (COPELAND, *et al*, 2009).

3.8.2 Retrogradação

Retrogradação consiste na cristalização das cadeias de amido gelatinizado. A pasta obtida no processo de gelatinização apresenta, quando resfriada, baixa energia nas cadeias de amido e fortalecimento nas ligações de hidrogênio, o que subsidia a formação de um corpo gelatinoso e firme. O envelhecimento do sistema resulta em uma interação mais energética das cadeias de amido que tendem a expulsar o excesso de água e essa eliminação da água leva à formação de cristais (SCHEUER, *et al*, 2011).

Diferenças nas taxas de retrogradação podem ser atribuídas à razão de amilose/amilopectina (que pode ser atribuída à amilose o processo de retrogradação em curto prazo, e à amilopectina ao processo em longo prazo), tamanho dos grânulos, e outros componentes de amido, tais como lipídeos e proteínas que presentes nos amidos de cereais fazem estes terem uma tendência a retrogradar mais rápido (XIE, *et al*, 2008).

A retrogradação é tecnologicamente importante, uma vez que produz alterações significativas nas propriedades mecânicas e pode afetar a apreciação sensorial, qualidade, aceitabilidade e vida de prateleira de alimentos que contêm amido (PRIMO-MARTIN, *et al*, 2007).

Os métodos para estudar a retrogradação do amido podem ser convenientemente classificados como as técnicas macroscópicas, ou seja, os métodos que controlam as alterações em certas propriedades físicas como manifestações de retrogradação, alterações mecânicas ou textura, e técnicas moleculares. Os Métodos que estudam mudanças na conformação do polímero de amido ou de mobilidade de água em géis de amido em níveis moleculares, estão as técnicas de difratometria de raios X, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia vibracional (por exemplo, espectroscopia de Raman) e por espectroscopia na região do infravermelho, IR. As técnicas reológicas, a análise sensorial da textura, calorimetria exploratória diferencial (DSC), dispersão de luz e medição de sinérese podem também ser utilizadas para estudar as manifestações macroscópicas de retrogradação (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

3.8.3 Cristalinidade

A organização dos grânulos de amido é muito complexa e depende fortemente da origem botânica. Apesar de décadas de investigação sobre a estrutura cristalina do amido, continuam por resolver várias questões, tais como a respectiva contribuição de amilose e amilopectina na cristalinidade, a distribuição das zonas ordenadas e não ordenadas no grânulo, a distribuição do tamanho das áreas cristalinas ou a organização das áreas mista do tipo “A” e do tipo “B” nos grânulos (BULÉON, *et al*, 1998).

As propriedades funcionais do amido são fortemente influenciadas pela ordem cristalina dos grânulos podendo provocar mudanças irreversíveis caso haja um colapso nesta cristalinidade, tais como, perda de birrefringência óptica, desenrolamento e dissociação da dupla hélice e inchamento do grânulo (SINGH, *et al*, 2003).

Os grânulos de amido possuem características semicristalinas, indicando um elevado grau de orientação entre as moléculas. Aproximadamente 70% dos grânulos de amido possuem uma região amorfa, associados ao ponto de ramificação, que contem principalmente amilose com uma parte considerável de amilopectina. Cerca de 30% possui região cristalina formada por aglomerados de cadeias curtas paralelas (50-60) (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006, RODRÍGUEZ; MARTÍN; CRUZ, 2001).

Internamente, o material do grânulo está presente na forma de anéis concêntricos, conhecidos como anéis de crescimento que estão organizados em regiões cristalinas e amorfas alternadas fazendo com que seja descrito como um polímero semicristalino ou parcialmente cristalino. A região cristalina é constituída pelas duplas hélices das cadeias paralelas A e B da amilopectina, sendo mais compacta, enquanto que a região amorfa, menos ordenada, contém os pontos de ramificação das cadeias laterais da amilopectina e possivelmente alguma amilose (OATES, 1997).

Na figura 4, pode ser observada a estrutura esquemática do grânulo de amido com região amorfa e cristalina.

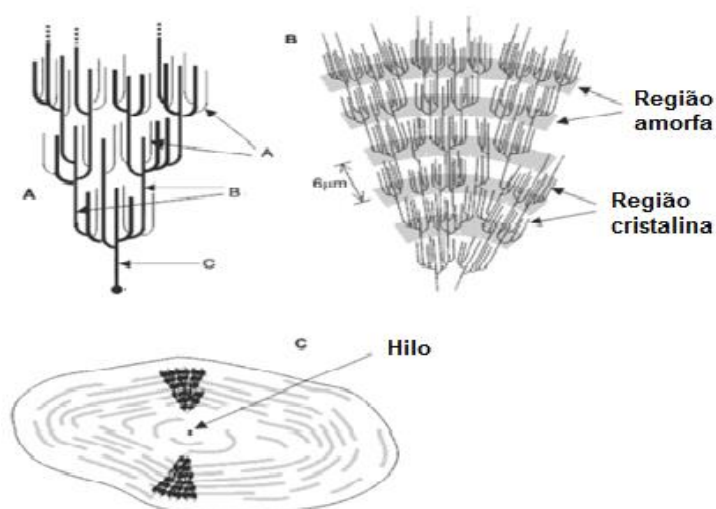


Figura 4: A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo. Fonte: Adaptado Sajilata; Singhal; kulkarni, 2006.

Quando visto em luz polarizada, os grânulos de amido nativo são birrefringentes e apresentam um padrão de cruz de Malta, indicando um arranjo ordenado das moléculas de amido. A caracterização de padrão de raios X e RMN dos grânulos é devido à embalagem ordenada desses ramos adjacentes dos componentes de amilopectina (BORGHT, *et al*, 2005).

Com base nos padrões de difração de raios X, conforme a figura 5, os grânulos de amido nativo podem ser divididos em tipos principais de difratogramas de raios X, do tipo “A”, tipo “B”, tipo “C” e tipo “V”, dependendo em partes do comprimento da cadeia da amilopectina (BULÉON, *et al*, 1998).

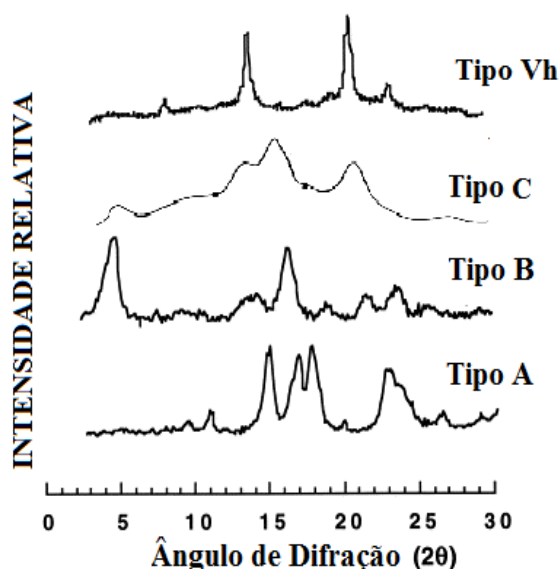


Figura 5: Difratoograma de Raios X obtidos como padrão de cristalinidade para amidos do tipo “A”, “B”, “C” e “Vh”. Fonte Adaptado, Buléon, *et al*, 1998, Rodríguez; Martín; Cruz, 2001.

O tipo “A” é típico para amidos de cereais como arroz, trigo, milho e alguns tubérculos como mandioca e possui picos de difração com maior intensidade ao ângulo de Bragg (2θ) em 15°; 17°; 18° e 23° (NAGULESWARAN, *et al*, 2012).

O tipo “B” é típico de amidos de raízes, tubérculos, algumas frutas e amidos de cereais ricos em amilose (> 40%), como milho e amido retrogradado, possui picos de difração com maior intensidade ao ângulo de Bragg (2θ) em aproximadamente 5,6°; 15°; 17°; 22,2° e 23° (ZHANG, *et al*, 2013, KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

O tipo de difração do tipo “C”, que é uma mistura dos tipos “A” e “B” é característica da maior parte dos amidos de leguminosas, frutas e caules, com picos de difração com maior intensidade em 5,6°; 15,3°; 17,3° e 23,5° em 2θ (BULÉON, *et al*, 1998). De acordo com Kim; Ren; Shin, (2013), os padrões do tipo “C” podem ser ainda dividido em “Ca”, “Cb”, e “Cc”, dependendo se o padrão está mais perto dos padrões de intensidade de “A” ou de “B”, ou entre os dois picos.

O tipo cristalino “V”, que apresenta picos com maior intensidade em 2θ , em aproximadamente 12,6°; 13,2°; 19,4° e 20,6°, é a forma característica de amido com amilose complexado com compostos orgânicos, ácidos graxos e monoglicerídeos, água ou iodo e pode ocorrer após a gelatinização do amido sendo raramente esse tipo de padrão detectada em amidos nativos. Diferentemente dos tipos “A”, “B” ou

“C”, o tipo “V” pode existir na forma anidra (Va) e na forma hidratada (Vh) (BULÉON, *et al*, 1998, CHEETHAM; TAO, 1998).

O pico de difração, para o tipo “A”, em difração de 2θ , são os que possuem mais proteínas, gorduras, fibras entre outros componentes associados ao grânulo de amido e podem contribuir para a formação da estrutura cristalina do tipo “V” (ZHANG, *et al*, 2013).

3.9 Análise térmica

A análise Térmica (TA) é o estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura, enquanto a amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada (IONASHIRO, *et al*, 2014).

Essa técnica tem sido utilizada, em muitos campos, como a aplicação em minerais, substâncias inorgânicas, metais, cerâmica, materiais eletrônicos, polímeros, substâncias orgânicas, produtos farmacêuticos, alimentos e organismos biológicos (OZAWA, 2000).

As técnicas mais difundidas e utilizadas são a Termogravimetria (TG), Termogravimetria Derivada (DTG), Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (IONASHIRO, 2005).

Estas técnicas permitem obter informações a respeito da variação de massa, estabilidade térmica, água livre e água ligada, pureza, ponto de desorganização, ponto de ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética da reação, transições vítreas, entre outras propriedades (IONASHIRO, *et al*, 2014). Hoje, a análise térmica é uma ferramenta essencial para materiais de pesquisa e desenvolvimento (OZAWA, 2000).

3.9.1 Termogravimetria (TG)

Dentre as técnicas de análise térmica mais usada está a análise termogravimétrica (TG), na qual a massa da amostra é medida (perda ou ganho) quando é aquecida a uma razão de aquecimento bem definida. Esta medida de massa pode ser diretamente relacionada à estabilidade térmica e à volatilidade dos compostos (SOUSA; LUCIANO; PASSA; 2013, PEREIRA, *et al*, 2009). Embora a ideia de TG seja bastante simples, tais medidas continuam a ser o método mais

difundido na avaliação de estabilidade térmica do grande número de materiais naturais e sintéticos (MAMLEEVA; BOURBIGOT, 2005).

A curva resultante da massa da amostra em função da temperatura é denominada de curva de análise termogravimétrica (curva TGA) ou curva termogravimétrica (curva TG). Essa curva pode fornecer informações com respeito a estabilidade térmica, a composição da amostra inicial ou de algum composto intermediário que pode ser formado durante a decomposição térmica e a composição do resíduo, se existir (IONASHIRO, 2005).

Alguns fatores instrumentais (razão de aquecimento do forno, atmosfera do forno, geometria do suporte de amostras e do forno), e características da amostra (tamanho das partículas, quantidade de amostra, solubilidade dos gases liberados na própria amostra, calor de reação, compactação, condutividade térmica e natureza da amostra) podem influenciar o aspecto da curva TG (GIOLITO; IONASHIRO, 1988).

A perda de massa pode ser relacionada com muitos fenômenos, como desidratação, sublimação, decomposição, entre outros, que podem servir para diferentes aplicações (PEREIRA, *et al*, 2009).

3.9.2 Termogravimetria Derivada (DTG)

A Termogravimetria derivada (DTG) é um recurso matemático obtido através da derivada primeira da curva TG em função do tempo ou da temperatura. O registro é a curva termogravimétrica derivada ou curva DTG. Na curva DTG, os degraus da curva TG são correspondidos por picos que delimitam áreas proporcionais a perda de massa naquele evento térmico (WENDLANDT, 1986).

Segundo Ionashiro, (2005), as curvas DTG indicam com exatidão as temperaturas correspondentes ao início e ao instante em que a velocidade de reação é máxima. Na Figura 6, é possível observar uma representação da curva TG e DTG do ácido acetilsalicílico.

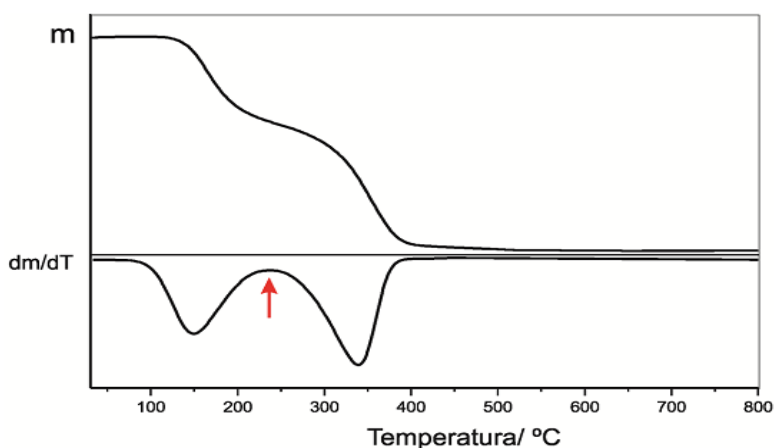


Figura 6: Curva TG/DTG do ácido acetilsalicílico, $m = 8,131$ mg, razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de ar 150 mL min^{-1} , suporte de amostra de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$. Fonte: Ionashiro, 2005.

3.9.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica de caracterização de materiais na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância, a um material referência, em função da temperatura enquanto a substância e o material referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura (IONASHIRO, 2005). A figura 7 mostra a esquematização das temperaturas de transição obtidas pela análise DSC.

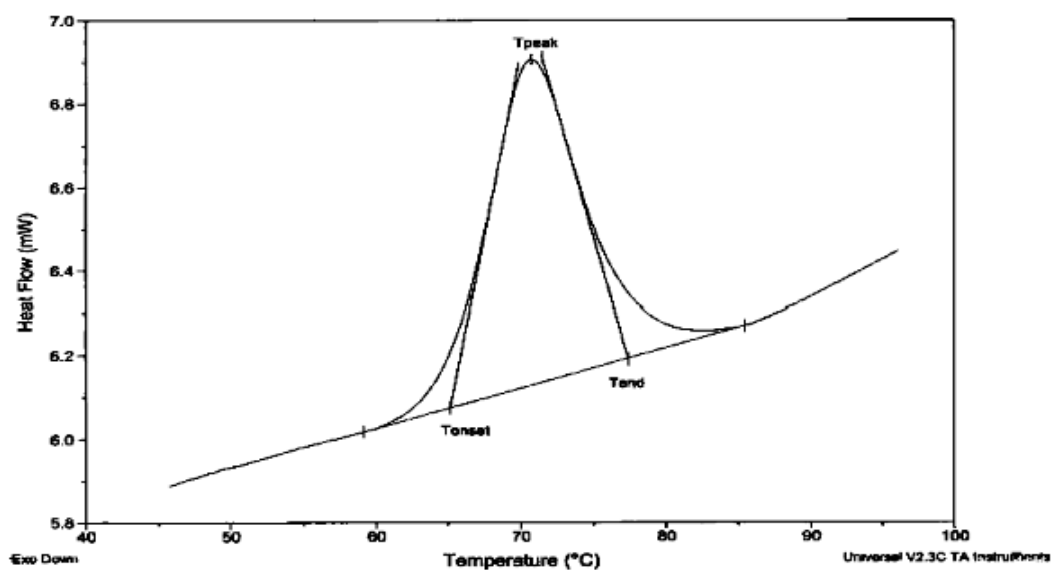


Figura 7: Representação esquemática das temperaturas de transição (T_o , Temperatura inicial - onset; T_p , temperatura de pico; T_f , temperatura final) obtidas pela análise DSC. Fonte: Altay; Gunasekaran, 2006.

Entre as principais aplicações da técnica de DSC estão em medir temperaturas de transição vítrea, desorganização cristalina, cristalização em homopolímeros, copolímeros, blendas, e compósitos, entre outros, medir as características térmicas do material como a entalpia de desorganização, grau de cristalinidade, calor específico, cinética de cristalização, e transições de fase, análise de modificações do material durante o processamento, degradação termomecânica e reações químicas, por exemplo, ou durante o uso na forma de produto acabado como degradação térmica e envelhecimento (CANEVAROLO, 2002). A transição ocorre a partir de uma fase ordenada para uma fase desordenada ocorre ao longo de um intervalo de temperatura característico da fonte de amido. Por isso, DSC é uma medida importante para compreender a composição química do amido e, por conseguinte, as suas possíveis aplicações (PASCOAL, *et al*, 2013).

No DSC, com compensação de potência, quando ocorre uma transição térmica, a energia absorvida pela amostra é alimentada por uma fonte de energia para o aumento da amostra, para manter o equilíbrio da temperatura. Este fornecimento de energia é precisamente equivalente em magnitude com a energia absorvida que durante a transição, uma gravação deste equilíbrio de energia produz uma medição calorimétrica direta da transição de energia, que é então registada como um pico. A área sob o pico é diretamente proporcional à alteração de entalpia (ΔH) e a sua direção indica se o evento térmico é endotérmico ou exotérmico (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

No caso de amido retrogradado, o valor de ΔH fornece uma medida quantitativa da transformação de energia que ocorre durante a desorganização da amilopectina recristalizada bem como medições precisas das temperaturas de transição (temperatura inicial (T_0), temperatura de pico (T_p) e temperatura de conclusão ou final, (T_c) deste evento endotérmico) (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

O DSC permite determinações quantitativas, estando à área dos picos relacionada com a energia envolvida no processo, sendo utilizados padrões para calibração do equipamento. Estes padrões apresentam variação de entalpia conhecida, normalmente de desorganização, e a área do pico deste processo é comparada com a área do processo apresentado pela amostra (BERNAL, *et al*, 2002).

3.10 Difractometria de Raios X (DRX)

Dentre as várias técnicas de caracterização de materiais, a técnica de difração de raios X é a mais indicada na determinação das fases cristalinas e isto é possível porque na maior parte dos sólidos (cristais), os átomos se ordenam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X (ALBERS, *et al*, 2002).

Os raios X e os nêutrons não destroem a natureza no que diz respeito à estrutura da amostra e oferecem uma série de vantagens como a sua elevada capacidade de penetração, determinação da propriedade e sensibilidade a pequenas alterações estruturais. Além disso, podem ser aplicadas a amostras complexas permitindo o estudo dos sistemas sob condições realistas, incluindo estados, suspensões e hidratação. A dispersão de raios X oferece a oportunidade única de investigar materiais em escalas de comprimento entre as capacidades de cristalografia moderna e microscopia, reduzindo a diferença de resolução espacial entre esses dois mundos e permitindo que uma compreensão mais completa do amido possa ser alcançada (JAROSLAV; GILBERT, 2011).

No amido, a difração de raios X mostra a natureza que se repete regularmente das duplas hélices das estruturas moleculares, mas não detecta a forma irregular das estruturas (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

Na figura 8, mostra como pode ser calculado o grau de cristalinidade do amido utilizando o difratograma de raios X.

Pelos dados obtidos, a área acima da curva é tomada como a parte cristalina (A_p), e a área mais baixa entre a curva e a linha de base foi tomada como a parcela amorfa (A_b). A área do pico de difração superior e a área total de difração são integradas.

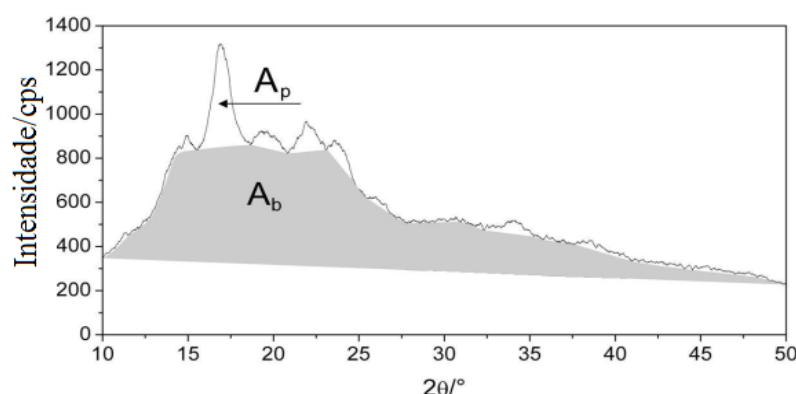


Figura 8: Parâmetros para cálculo do grau de cristalinidade, Alberton, *et al*, 2014.

Á partir dos dados obtidos pode ser utilizada a equação 1, conforme descrito por Colman; Demiate; Schnitzler, (2012), para calcular o grau de cristalinidade relativa:

$$X_c = \frac{A_p}{(A_p + A_b)} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde:

- **X_c** refere-se ao grau de cristalinidade relativa;
- **A_p** é a área dos picos (parcela cristalina);
- **A_b** refere-se à área de base (parcela amorfa).

3.11 Microscopia de força atômica – modo não contato (NC- AFM)

A Microscopia de Força Atômica (AFM) tem sido usada em vários métodos e aplicada extensivamente em ciências biológicas, ciência dos materiais, química, e recentemente em ciência dos alimentos e tem tido um papel importante no estudo da ciência de superfície, como caracterização e também como um meio de interações e propriedades de biomoléculas individuais através da aplicação de força a estes sistemas (JOHNSON; MILES; HILAL, 2006a, YANG, *et al*, 2007, KOPYCINSKA-MULLER; GEISS; HURLEY, 2006).

A utilização desse equipamento tem um número de vantagens sobre as técnicas de microscopia eletrônica como principalmente, a capacidade para fazer medições em um meio fluido, bem como a capacidade de medir diretamente as forças de interação entre as superfícies (JOHNSON; MILES; HILAL, 2006b).

O princípio de funcionamento do AFM baseia-se na varredura da superfície da amostra por uma ponta piramidal (ponteira) integrada em um cantilever flexível. Essa ponteira é mantida a uma distância de alguns angstroms da superfície da amostra e as imagens são obtidas por medição das alterações na magnitude entre a ponta e a superfície da amostra sendo a força de van der Waals mais comumente associada com AFM na deflexão do cantilever (YANG, *et al*, 2007; FERREIRA; YAMANAKA, 2006).

Após a preparação da amostra, o software do microscópio pode ser utilizado para a formação de imagens em um processo que pode ocorrer com operação em tempo real, que é utilizada para a obtenção de imagens e operação de análise em modo off-line, que é utilizada para analisar e ou modificar as propriedades das imagens de funcionamento em tempo real. Nesse modo podem ser obtidas informações como análise da profundidade, altura e largura das amostras e análise da rugosidade que pode ser feita através da imagem inteira ou parte selecionada para descrever o estado de superfície (YANG, *et al*, 2007).

A figura 9 representa como pode ser feita a análise do diâmetro médio das partículas de amido utilizando o modo de operação off-line.

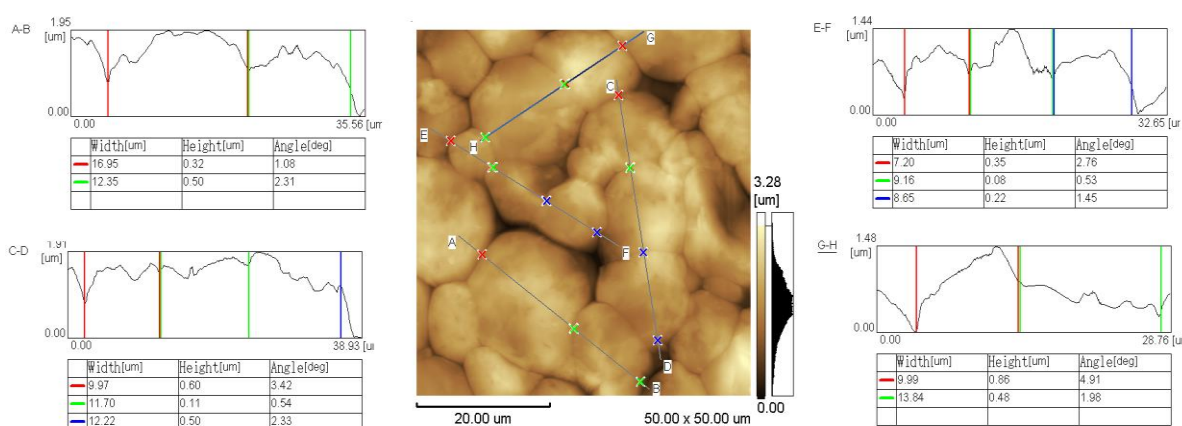


Figura 9: Parâmetros para o cálculo do diâmetro médio do amido de trigo. Fonte: O autor.

A AFM tem quatro principais modos de operação que são: modo contato, o modo não contato, o modo intermitente e o recentemente desenvolvido modo de perfil de geração de imagens (JOHNSON; MILES; HILAL, 2006b). Os três principais primeiros modos utilizados podem ser observados na figura 10.

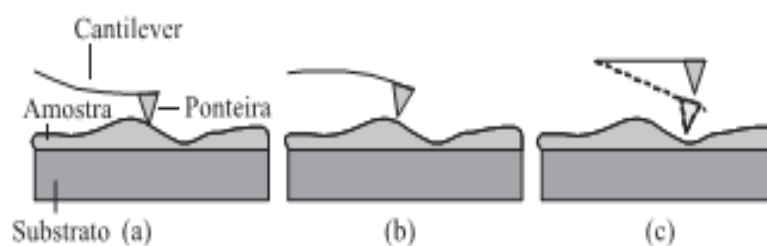


Figura 10: Representação esquemática dos modos de operação do microscópio de força atômica (AFM): (a) modo contato, (b) modo não-contato e (c) modo intermitente. Ferreira;Yamanaka, 2006.

No modo não contato, o cantilever é mantido a dezenas de centenas de angstroms da superfície da amostra e a força interatômica entre a ponta e a amostra é atrativa. Neste caso a ponta oscila em alta frequência a poucos nanômetros acima da superfície e a força total entre a ponta e a amostra é muito baixa. Esta oscilação aumenta consideravelmente a sensibilidade do microscópio, o que faz com que as forças de Van Der Waals e as forças eletrostáticas possam ser detectadas. Esse modo não sofre os efeitos do atrito sobre a amostra, causada pela ponta e é um método não invasivo, não interferindo na estrutura da amostra analisada (FERREIRA; YAMANAKA, 2006, JUSZCZAK; FORTUNA; KROK, 2003).

A microscopia tem sido usada durante muitos anos para estudar a estrutura do grânulo de amido e é uma ferramenta importante para estudar sua caracterização. A escolha da técnica e do microscópio para uma visualização de alta resolução da estrutura dos grânulos de amido é dependente do tipo de informação requerida, sendo que informações sobre a superfície dos grânulos podem ser conseguidas pela microscopia de força atômica (AFM) (LEONEL, 2007).

A AFM não requer tratamento para a amostra, não é uma técnica invasiva ou demorada e pode ser utilizada para monitorizar e controlar a qualidade e a estabilidade de grânulos de amido antes e possivelmente, durante a sua utilização (SALERNO, *et al*, 2014).

3.12 Viscosidade e propriedade de pasta (RVA)

O comportamento de gelatinização e os perfis de pasta de misturas de farinha e amido em água são geralmente monitorados utilizando o Rapid Viscoanalyzer (RVA), que é um viscosímetro rotacional que possui sistema de aquecimento e de

arrefecimento e mede a resistência de uma amostra a uma tensão controlada. Este instrumento tem sido usado para descrever o desempenho dos componentes, simular o processamento dos alimentos, relacionar a funcionalidade de propriedades estruturais e para caracterizar a complexidade das mudanças trazidas pela transformação. A utilização desse equipamento, não requer amplo conhecimento de físico-química e reologia e o seu objetivo é fornecer informações qualitativas relacionadas ao processo de adequação e controle de qualidade (COPELAND, *et al*, 2009, HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008, BLAZEK; GILBERT, 2011, SILVA, *et al*, 2008, BLAZEK; COPELAND, 2008, JAROSLAV; GILBERT, 2011).

No RVA as medições são feitas em condições de fluxo não laminar e a pasta de amido é submetida a um tratamento tanto térmico como mecânico tornando-se assim difícil relacionar o comportamento viscoso para apenas um destes parâmetros. Existe uma necessidade de alargar a utilização (em que os tratamentos térmicos são separados dos efeitos de cisalhamento), para determinar as características reológicas de amidos (HOOVER, *et al*, 2010).

As mudanças de viscosidade em suspensões amiláceas que ocorrem nos grânulos durante a gelatinização e retrogradação devido ao intumescimento do amido são os principais determinantes do comportamento das pastas, e essas propriedades têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões dos grânulos de amido. (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008, BLAZEK; GILBERT, 2011, SILVA, *et al*, 2008).

Na figura 11, podem ser observadas as mudanças de viscosidade que o amido sofre durante o aquecimento e arrefecimento utilizando o RVA.

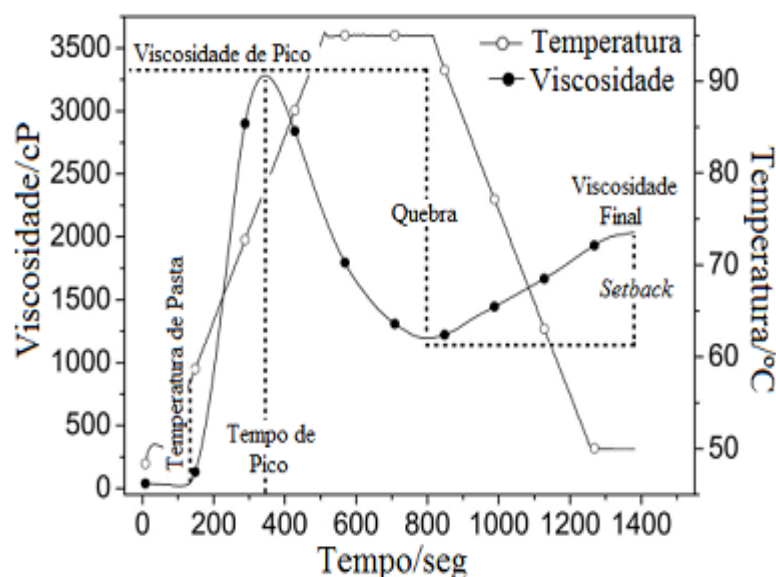


Figura 11: Parâmetros de viscosidade comumente avaliados através das curvas RVA. Fonte: Colman; Demiate; Schnitzler 2012.

De acordo com Sandhu; Singn, (2007), a temperatura de pasta corresponde a temperatura inicial de gelatinização, quando se dá o início para a curva de gelatinização. O pico de viscosidade corresponde o valor máximo alcançado pela curva viscoamilografica. A resistência corresponde a viscosidade mínima, após ter sido atingida a temperatura constante de 95 °C. A quebra, é a medição da etapa de pasta até a desintegração do amido, sendo a diferença entre a viscosidade de pico e a viscosidade mínima a 95 °C. A viscosidade final indica a capacidade do amido para formar uma pasta viscosa e é o valor da viscosidade máxima a temperatura final de resfriamento (50 °C). O parâmetro de retrogradação ou setback, corresponde a sinerese depois do resfriamento da pasta de amido cozido a diferença entre a viscosidade mínima a 95 °C e a viscosidade final.

3.13 Espectrometria de absorção atômica (EAA) – Chama

A espectrometria de absorção atômica (EAA) é hoje uma técnica largamente difundida e empregada para a determinação de elementos traço nas mais diversas amostras (BORGES, *et al*, 2005).

A técnica consiste na introdução de uma solução da amostra em um atomizador, através de um sistema de nebulização e utiliza basicamente o princípio de que átomos livres (estado gasoso) gerados em um atomizador são capazes de

absorver radiação UV/ionizante de frequência específica que é emitida por uma fonte espectral. É uma das técnicas mais utilizadas na determinação de baixas concentrações de elementos e utiliza diferentes formas de atomização (chama, atomização eletrotérmica, etc), (BORGES, *et al*, 2002).

3.14 Análise de cor

A cor é um atributo tridimensional, constituída pelos parâmetros luminosidade, croma e tom. A luminosidade é a qualidade pela qual se distingue uma cor clara de outra escura, o croma define a "força" ou "pureza" da cor e através deste parâmetro pode-se distinguir uma cor fraca de uma forte. O tom é associado ao nome da cor e a diferença de cor pode dar informações sobre o aumento da coloração do material, mas não informa a cor exata do mesmo (CAPRILES; ARÊAS, 2005).

Os métodos modernos de instrumentação de cor podem ser rápidos e práticos, para serem usados durante as diferentes fases de produção, processamento e controle de produtos farmacêuticos e para a qualidade de produtos alimentícios. A colorimetria é um dos métodos básicos no qual as cores podem ser expressas de forma precisa e compreendidas, pois descreve cada elemento da composição de uma cor numericamente por meio de um aparelho apropriado (SANT'ANNA, *et al*, 2013, MORI, *et al*, 2005).

Entre os diferentes espaços de cor existentes, o CIELAB, é atualmente usado e recomendado para a maioria das aplicações industriais, especialmente para alimentos, porque uniformemente cobre o espectro visível total do olho humano (CAPRILES; ARÊAS, 2005).

Os parâmetros de cor em função do espaço CIELAB, podem ser observados na figura 12, na esfera CIELAB.

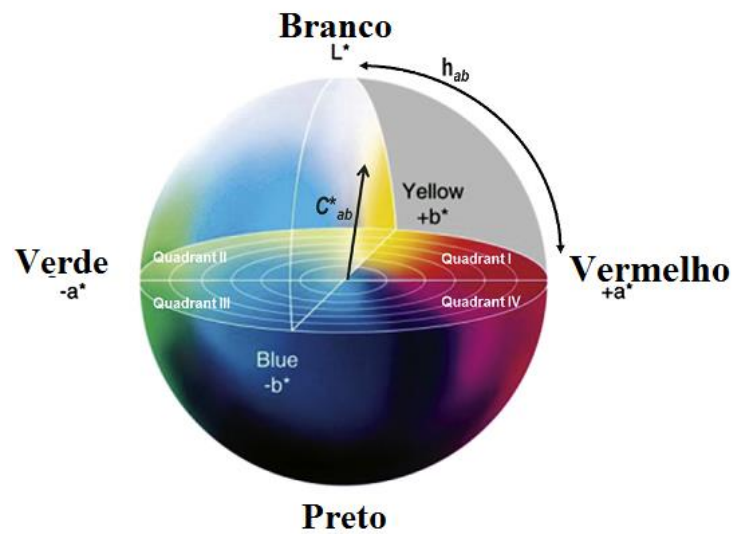


Figura 12: Esfera de representação do sistema CIELAB. Fonte: Adaptado, Sant'Anna, *et al*, 2013.

Neste espaço, CIELAB, conforme descrito por Korifi, *et al*, (2013), os eixos são definidos por:

L^* , que indica a luminosidade e seu valor varia de 0 para preto a 100 para o branco.

As coordenadas de cromaticidade são dadas pelo a^* e b^* que indicam direções de cor.

O eixo a^* pode variar de positivo ($+a^*$) indicando cor vermelha a negativo ($-a^*$) que indica a direção para a cor verde.

O eixo b^* que pode variar também de positivo ($+b^*$) indicando a direção para a cor amarela e o negativo ($-b^*$) indicando a direção para a cor azul.

O centro é acromático, como a^* e b^* e os valores aumentam ao ponto que se move para fora do centro, aumentando a saturação da cor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Para a realização deste estudo utilizou-se dos seguintes materiais e equipamentos: peneira mesh 270 e 80, estufa com circulação de ar TE-394/1 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), água destilada, água ultrapura, balança analítica AUW220D (Shimadzu, Kyoto, Japan), dessecador, agitador de tubos 162 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), TGA 50 (Shimadzu, Kyoto, Japan), DSC Q-200 (TA Instruments, New Castle, DE, USA); Viscosímetro RVA-4 (Newport Scientific, Jessup, MA, USA), Microscópio de Força Atômica SPM-9600 (Shimadzu, Kyoto, Japan), Difratômetro de Raios X Ultima 4 (Rigaku, Tokyo, Japan); Autoclave Vertical AV-50 (Phoenix Luterco), Moinho Analítico M20 (Ika, Wilmington, NC, USA), MiniScan XE reflectance spectrophotometer 45/0-L Plus (Hunter Inc., USA), Bloco digestor BTC -9090 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil), Capela de exaustão, tubo de borossilicato, ácido clorídrico concentrado de grau analítico (HNO_3 PA), filtro quantitativo Whatman nº 540, Espectrômetro de Absorção Atômica de Chama (Flame Atomic Absorption Spectrometer - FEAA) marca Varian modelo 240FS, lâmpada de deutério, lâmpadas de cátodo oco multielementares, soluções estoque de 1000 mg.L^{-1} Marca Qhemis High Purity, (PAFE 1000-0125), gás acetileno, Ultrapurificador de Água e Osmose Reversa Gehaka.

Para análise dos dados, foram utilizados os seguintes Softwares: Universal Analysis-2000, TA-60-Shimadzu, Origin (6.0), SPM Manager for Windows (3.03), Thermocline for Windows e SASM-Agri (8.2).

4.1.1 Matéria prima

As amostras de amido de trigo utilizadas para este estudo foram isoladas no laboratório de tecnologia de cereais, na Universidade Estadual de Ponta Grossa, a partir das farinhas de trigo do mesmo lote, processadas no mesmo dia, no início e após o processo de aditivação com ácido fólico e ferro.

As farinhas foram cedidas pelo Moinho Cidade Bella, localizado em Ponta Grossa.

Após a extração e a modificação, todas as amostras de amidos nativos e modificados tiveram os teores de proteínas determinadas. A análise foi realizada de acordo com a metodologia oficial da AOAC para proteínas (AOAC 2000, 992.23).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Extração do amido de trigo

O amido de trigo foi isolado a partir das farinhas de trigo, com presença e ausência de ácido fólico e ferro de acordo com os procedimentos descrito por Yamazaki; Donelson; Kwolek, (1977), com algumas modificações.

As farinhas foram pesadas separadamente e colocadas em recipientes de 50 g próprios para utilização em centrifuga. Em cada amostra foi adicionado aproximadamente 35 ml de água destilada à temperatura ambiente.

Os frascos com as amostras foram centrifugados por 2 minutos a 3000 g. O sobrenadante foi removido e a parte superior mais escura (camadas de rejeito e de proteína associada) foi cuidadosamente retirada e descartada. Este procedimento foi repetido até que as camadas de proteínas não fossem mais observadas.

Após a centrifugação, o sedimento de amido foi passado através de uma peneira de 270 mesh para remoção do restante de material da parede celular e fibra insolúvel.

Após o término desse processo, o amido foi novamente centrifugado a 3000 g por 5 minutos. Após a centrifugação as amostras de amido foram deixadas em estufa de circulação de ar por 48 horas a 35 °C para que não houvesse a gelatinização do amido.

Após secagem em estufa, as amostras foram desintegradas em moinho analítico, acondicionadas em embalagens codificadas de vidro e mantidas em dessecador até o momento para a realização das análises térmicas, reológicas e microscópicas.

4.2.2 Modificação do amido de trigo por umidade e temperatura controladas - HMT

As amostras de amidos de trigo, com presença e ausência de ácido fólico e ferro foram modificadas em autoclave conforme metodologia descrita por Puncha-arnon; Uttapap, (2013), com algumas modificações.

Antes da determinação da umidade inicial, todas as amostras de amido de trigo foram deixadas em estufa com circulação de ar por 48 horas a 35 °C.

As amostras tiveram as umidades previamente determinadas utilizando o equipamento TGA-50 (Shimadzu) com as seguintes condições: massa da amostra de aproximadamente 8,0 mg, em atmosfera de ar sintético a uma vazão de 150 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, de 30 °C a 150 °C. Todas as amostras apresentaram umidade em torno de 9,5%.

A partir dos valores das umidades obtidas, calculou-se estequiometricamente a quantidade de amido a ser pesado, para que fossem obtidas as umidades desejadas de 10, 15 e 20% para a modificação.

As amostras foram pesadas e em seguida foi adicionado aproximadamente 50 ml de água destilada a temperatura ambiente e deixadas em repouso por 2 horas para decantação.

O excesso de água foi retirado e em seguida as amostras foram homogeneizadas até a obtenção de uma pasta com teor de umidade em torno de 45%, sendo que esta umidade foi determinada utilizando o TG.

A pasta foi colocada em estufa com circulação de ar a 35 °C, e pesada constantemente, até que o teor de umidade ficasse na porcentagem desejada.

As amostras com teor de umidade de 10, 15 e 20% foram acondicionadas em frascos com capacidade de 250 ml, hermeticamente fechados para evitar a entrada de umidade e colocadas na autoclave a 121 °C por 1 hora.

Após a modificação, as amostras foram mantidas em dessecador contendo sílica até obtenção de massa constante para posteriores análises.

4.3 Técnicas Termoanalíticas

O equipamento DSC Q-200 (TA Instruments) foi previamente calibrado com padrão de índio puro (99,9%), seguindo as normas do fabricante. Para esta análise térmica, foi utilizado no equipamento cadinho de alumínio como referência, sendo os

mesmos utilizados para as amostras, ambos selados. Foi utilizado o programa Universal Analysis-2000 para obtenção dos dados.

O equipamento TGA-50 (Shimadzu) também foi calibrado, seguindo as normas do fabricante com peso padrão e oxalato de cálcio nono hidratado (99,99%), Sigma Aldrich. O equipamento estava dotado de uma balança calibrada e foi utilizado cadinho de α -alumina (α -Al₂O₃), aberto para análise da amostra.

O programa utilizado para a obtenção dos valores e observação das curvas, TG, foi o TGA-50-Shimadzu e para obtenção das curvas DTG, foi utilizado o software Origin (6.1).

As análises de TG, DTG e DSC foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Beninca, *et al*, (2013), Andrade, *et al*, (2014) e Alberton, *et al*, (2014).

4.3.1 Termogravimetria (TG) e Termogravimetria Derivada (DTG)

Os cadinhos de alfa-alumina, (α -Al₂O₃), utilizados no equipamento, previamente foram mergulhados em um béquer com ácido nítrico a 10%, lavados em água destilada e levados chama oxidante do buco de Bunsen até os cadinhos ficarem da cor rubra, para remoção de impurezas.

A pesagem das amostras foi feita na balança do equipamento, previamente tarada e posteriormente zerada a qual informou o peso da amostra. Foi pesado aproximadamente 8,0 mg de amostra acondicionada nos cadinhos de α -Al₂O₃.

Para a obtenção das curvas termogravimétricas (TG), as amostras foram realizadas em atmosfera de ar sintético a uma vazão de 150 mL min⁻¹, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, em temperatura inicial de 30 °C e temperatura final de 650 °C.

4.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise de calorimetria exploratória diferencial foi realizada com adição de um volume quatro vezes maior de água em cada amostra, com proporção de 1:4 de amido para água. A amostra foi deixada em repouso por 1 hora para intumescimento dos grânulos de amido.

Para homogeneização da amostra, cada uma foi agitada em um agitador de tubos para evitar a precipitação natural que pode ocorrer na suspensão.

Antes da realização da análise utilizou – se um cadinho vazio, idêntico ao da amostra, que foi utilizado como referência.

Com auxílio de uma micropipeta, foram inseridos 10 μL da suspensão, no cadinho de alumínio e posteriormente foi selado e levado ao equipamento.

Para obter a entalpia de gelatinização das amostras, foram utilizadas as seguintes condições:

A massa da amostra utilizada foi de aproximadamente 4,0 mg (em suspensão).

A atmosfera utilizada foi de ar sintético a uma vazão de 100 mL min^{-1} , a razão de aquecimento foi de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, a temperatura inicial foi de 30 $^{\circ}\text{C}$ e final de 100 $^{\circ}\text{C}$.

Cada amostra permaneceu no equipamento por aproximadamente 7 minutos e a curva obtida foi analisada através do software Universal Análise 2000.

4.4 Difractometria de raios X (DRX)

Os padrões de difração de raios X (DRX) foram utilizados para identificação da estrutura cristalina das amostras e foi realizada conforme metodologia descrita por Lima, *et al*, (2012) e Alberton, *et al*, (2014).

Cada uma das amostras analisadas foram colocadas em um suporte de vidro próprio do equipamento e expostas a radiação UV/ionizante $\text{CuK}\alpha$, (comprimento de onda de 1.542 Å) submetida a voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA no Difrátômetro de raios X do modelo Ultima 4 (Tokyo, Japão), com intervalo angular de 5° a 50° ($\Theta - 2\Theta$), com velocidade de escaneamento de 2° min^{-1} e passo de 0,02°.

Nos espectros de difração de raios X, em todas as amostras foi feita aplicação de '*smoothing*' para diminuir os ruídos instrumentais.

4.5 Microscopia de Força Atômica – modo não contato (NC-AFM)

As microimagens da superfície e estimativa do diâmetro médio ($\text{da}/\mu\text{m}$) e rugosidade (ra/nm) dos amidos nativos e modificados, foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Colman; Demiate; Schnitzler, (2012) e Barrera, *et al*, (2013).

A análise foi realizada no equipamento de Microscópio de Força Atômica, modelo SPM – 9600 - (Tokyo, Japão), utilizando o método não contato (NC-AFM).

Para cada amido foi feita uma pastilha, utilizando cerca de 1 g de amostra em um pastilhador. A amostra foi colocada em um porta amostra de metal próprio do equipamento e em seguida analisada pelo Microscópio de Força Atômica. A leitura foi realizada com área de 50 x 50 μm .

As imagens foram geradas e analisadas com o auxílio do software SPM Manager versão 3.03 for Windows.

4.6 Propriedades de pasta (RVA)

Para determinação das propriedades de pasta dos amidos de trigo, nativo e modificados, as amostras foram analisadas no equipamento Rapid Visco Analyser Series 4 (RVA-4) – Newport Scientific, segundo metodologia descrita por Colman; Demiate; Schnitzler, (2012).

Para a coleta dos dados e análise dos resultados foi utilizado o software Thermocline for Windows.

Foi colocada em um recipiente de alumínio, próprio do equipamento, uma suspensão de 8% de amido (base seca) em 28 g de massa total. Essa mistura foi então submetida a um aquecimento controlado e ciclo de arrefecimentos.

A misturada foi aquecida à temperatura de 50 °C por 2 minutos para equilíbrio da suspensão e após, foi feito o aquecimento a 95 °C, a uma razão de 6 °C min^{-1} , mantendo-se a esta temperatura por 5 minutos.

A amostra foi então resfriada a 50 °C com uma razão de aquecimento de 6 °C min^{-1} e mantida a esta temperatura por 2 minutos.

Durante todo o experimento a suspensão permaneceu sob constante agitação de 160 rpm.

A partir dos dados obtidos puderam ser avaliados parâmetros de viscosidade máxima (pico), temperatura de pasta, quebra e viscosidade final ou tendência à retrogradação.

4.7 Espectrometria de absorção atômica (EAA) – Chama

As extrações foram realizadas em bloco digestor BTC-9090 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil).

Para cada extração, pesou-se, em tubos de borossilicato, na balança analítica AUW220D (Shimadzu, Kyoto, Japan), 0,5 g de amido, nativo e modificado, obtidos da extração das farinhas de trigo.

Adicionou-se 25 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3 PA) e em seguida as amostras foram deixadas em repouso por 2 horas. A digestão foi realizada com aquecimento, à temperatura de 121 °C por 6 horas.

Após o resfriamento, os extratos obtidos foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL por filtração e tiveram o volume completado com água ultrapura. As amostras foram armazenados em frascos e refrigerados a 4 °C até a realização das medidas.

Para o preparo das soluções padrão utilizou-se as soluções estoque de 1000 mg.L^{-1} da Marca Qhemis High Purity, ferro (Fe) (PAFE 1000-0125). Esta solução foi preparada com água ultrapura (Ultrapurificador de Água e Osmose Reversa Gehaka).

Ante do início da análise realizou-se leitura do branco.

As leituras para determinação da quantidade de ferro foram realizadas no Espectrômetro de Absorção Atômica de Chama (Flame Atomic Absorbtion Spectrometer - FEAA) marca Varian modelo 240FS, pelo método de chama, utilizando como acessório o sistema diluidor automático SIPS, equipado com lâmpada de deutério como corretor de fundo (Intensidade de corrente (mA) (5,0), comprimento de onda (nm) (248,3), largura da fenda (nm) (0,5) e faixa de trabalho ideal ($\mu\text{g/mL}$) (0,06 - 15,00)) e lâmpadas de catodo-oco multielementares.

Utilizou-se chama oxidante de ar/acetileno, com fluxo de 13,50 L.min^{-1} e 2,00 L.min^{-1} , respectivamente.

A análise foi realizada em triplicata e após converteu-se os resultados para massa utilizada na amostra, conforme metodologia descrita por Silva; Voigt; Campos, (2014).

4.8 Análise de cor

Os parâmetros de cor para as amostras de amido de trigo, nativo e modificados por HMT, em presença e ausência de ácido fólico e ferro, foram determinadas utilizando o espectrofotômetro de refletância MiniScan EZ (Hunter Inc., EUA).

Os resultados foram expressos na escala CIELAB, que consiste na determinação de três parâmetros de cor, L^* , a^* e b^* . O parâmetro L^* que representa a luminosidade, e varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* que varia de positivo (vermelho) a negativo (verde) e b^* que varia de positivo (amarelo) a negativo (azul).

Antes da realização da leitura de cor, o equipamento foi calibrado utilizando uma placa padrão nas cores preto e branco (KORIFI, *et al*, 2013).

As amostras foram dispostas sobre uma placa de Petri e os resultados para cada uma das medições são a média de três repetições do instrumento.

4.9 Análises Estatísticas

Todas as análises descritas, exceto TG/DTG, foram realizadas em triplicata. A Análise de variância (ANOVA) e teste de *Tukey* foram utilizados para comparar as médias das amostras ao nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) utilizando o *software* Sasm-Agri (Sistema para Análise e Separação de Médias em Experimentos Agrícolas, Versão 8.2) (CANTERI, *et al*, 2001).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de proteína

Para todas as amostras analisadas, o teor de proteínas foi menor do que 0,01%. De acordo com Lan, *et al* (2008), o teor de proteínas determinado para três tipos de amido de trigo variou de 0,02 a 0,07%, sendo que os valores permaneceram iguais após a modificação por ANN.

5.2 Técnicas termoanalíticas

5.2.1 Termogravimetria e Termogravimetria derivada

Nas figuras 13 e 14 é possível observar as curvas TG/DTG obtidas, que mostram que ocorreram três perdas de massa.

A primeira perda de massa corresponde à desidratação. Após essa perda, o composto anidro é estável até 270 °C para o amido nativo com ácido fólico e ferro e 264 °C para o amido nativo sem ácido fólico e ferro.

A segunda e a terceira etapa de perda de massa ocorreram em etapas sobrepostas e correspondem à decomposição e oxidação da matéria orgânica respectivamente.

As curvas DTG mostraram que a segunda e terceira perda de massa estão sobrepostas.

Os dados de Termogravimetria, obtidos para todas as amostras estudadas estão nas tabelas 1 e 2.

5.2.1.1 Amido Nativo

A figura 13 mostra as curvas TG/DTG para os amidos nativos de trigo em presença e ausência de ácido fólico e ferro. Nela podem-se observar as três perdas de massas que ocorreram durante a análise.

De acordo com Mohamed; Rayas-Duarte, (2003), a análise termogravimétrica é utilizada para mostrar a perda de água e massa das amostras através de

aquecimento controlado. Para todos os amidos analisados, foi possível observar essas perdas, referentes à desidratação, decomposição e oxidação dos compostos.

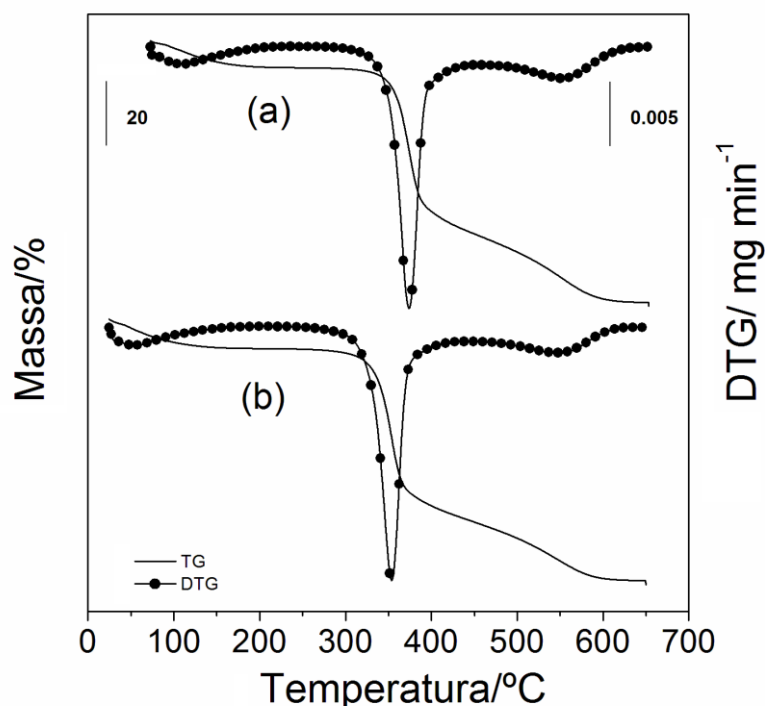


Figura 13 - Curvas TG e DTG: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Conforme a tabela 1 podem ser observados os resultados obtidos para as perdas de massa e as temperaturas em que ocorreram as perdas, para os amidos nativos.

É possível observar que os dois amidos apresentaram comportamento com pouca variação nos valores relacionados às perdas de massa correspondente a decomposição e oxidação dos compostos orgânicos.

Com relação às temperaturas em que ocorreram as três perdas de massa e também a estabilidade dos compostos anidros, pode se observar o mesmo comportamento.

Os resíduos finais de cada amostra de amido nativo foram de 0,81% para o amido com ácido fólico e ferro e 0,83% para o amido sem ácido fólico e ferro, a partir da massa inicial de cada amostra.

O resíduo maior para cada amostra sem ácido fólico e ferro, se deve ao fato de que a primeira perda de massa, referente à desidratação, foi maior para este amido analisado do que para o amido com presença de ácido fólico e ferro.

Tabela 1: Resultados das curvas TG/DTG para: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Amostras	TG Resultados		DTG Resultados	
	Etapas	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
(a)	1 ^a	9,98	30-183	69,11
	Estabilidade	-	183-270	-
	2 ^a	63,41	270-435	350,61
	3 ^a	25,80	435-629	541,59
	1 ^a	11,56	30-180	53,54
(b)	Estabilidade	-	180-264	-
	2 ^a	63,92	264-434	353,86
	3 ^a	23,69	434-616	547,70

^(*) Δm variação de massa, (%), ΔT variação de temperatura, T_p temperatura de pico.

Bicudo, (2008), estudou amido de trigo nativo, também extraído em laboratório e encontrou valores para a primeira perda de massa, correspondente a desidratação do amido de 10,1% na qual a temperatura de perda foi de 30-145 °C. A segunda perda de massa que correspondente à decomposição foi de 78,6% e a terceira que corresponde à oxidação foi de 10,9%.

Os valores determinados para a primeira perda de massa estão próximos aos encontrados neste trabalho, porém os valores são diferentes para as outras duas etapas consecutivas de perda.

Segundo Tester; Karkalas; Qi, (2004), os amidos de cereais, principalmente trigo e milho, podem conter lipídeos, o que pode corresponder por até 1,2% do peso seco do amido de trigo, e minerais que podem estar presente no teor máximo de 0,4%, do peso de amido. De acordo com Eliasson, (1983), após a extração também pode ocorrer associação dos grânulos de amido a proteínas o que pode representar até 0,6% do peso do amido.

Existe também a variabilidade genética entre e dentro das espécies de cereais o que pode alterar na composição estrutural de amido e em outros componentes químicos no endosperma e que podem interagir com o amido podendo afetar as características de degradação (RUDI, *et al*, 2006).

Portanto, fatores como a variabilidade genética, o método de extração e os resíduos de proteínas, minerais e lipídios, que podem ser encontrados associados nos grânulos de amido de trigo podem explicar os diferentes resultados encontrados para as perdas de massa e para as temperaturas em que ocorreram esses eventos como também os valores encontrados para os resíduos finais relativamente mais altos do que para outros amidos.

5.2.1.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas

A Figura 14 mostra as curvas TG/DTG, e nelas podem-se observar as três perdas de massa que as amostras de amidos de trigo em presença e ausência de ácido fólico e ferro, modificados fisicamente, com 10, 15 e 20% de umidade, sofreram.

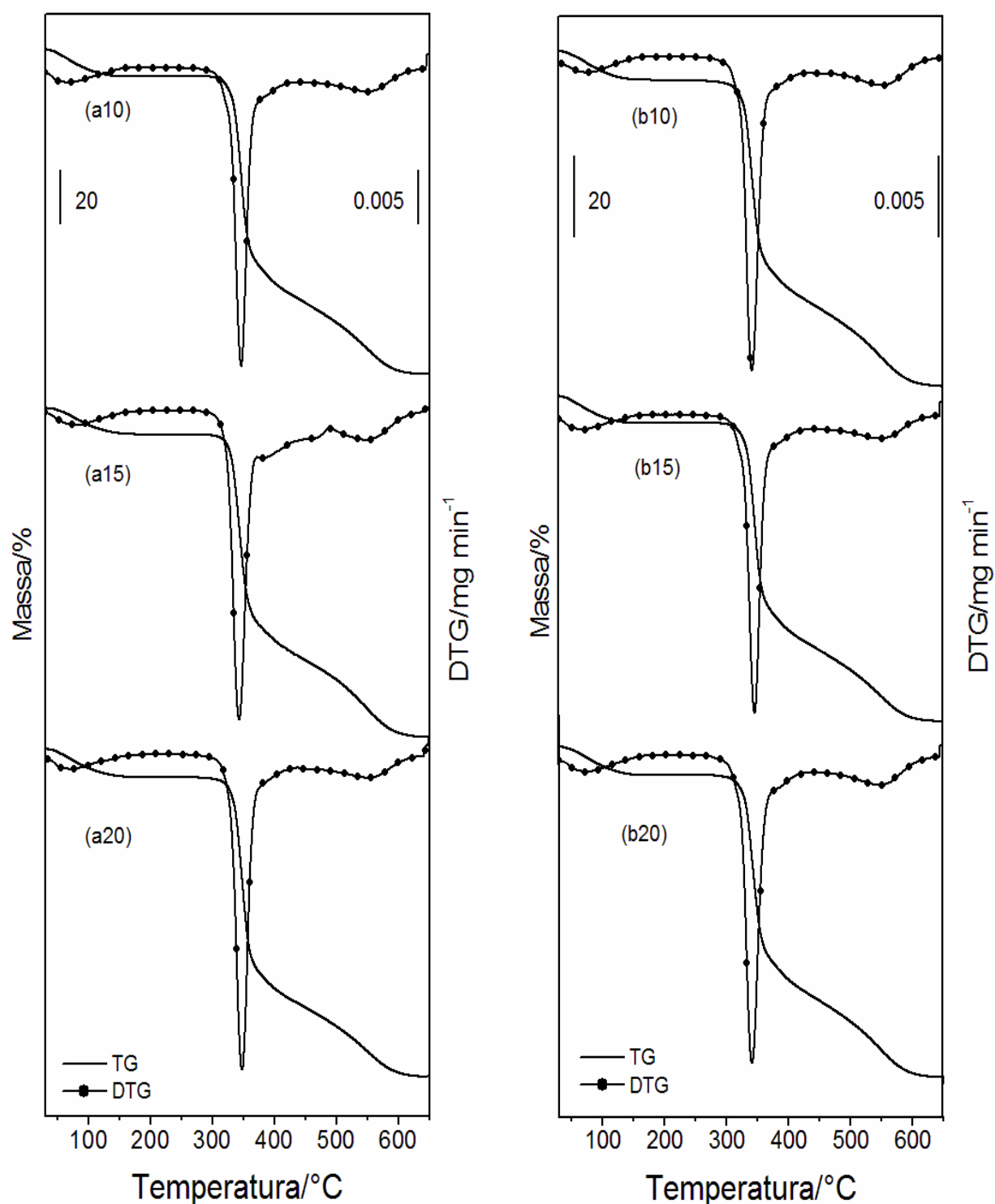


Figura 14 - Curvas TG e DTG: A - (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Os valores das perdas de massa das amostras de amido de trigo, modificados fisicamente, bem como as temperaturas em que aconteceram essas perdas, estão expostos na Tabela 2.

Os resíduos finais para cada uma das amostras foram de 0,77, 0,27, 0,19, 0,12, 0,82 e 0,62, para as amostras (a10), (a15), (a20), (b10), (b15) e (b20), respectivamente.

Tabela 2: Resultados das curvas TG/DTG: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Amostras	TG Resultados		DTG Resultados	
	Etapas	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
(a10)	1 ^a	8,88	30-189	69,13
	Estabilidade	-	189-288	-
	2 ^a	68,76	288-449	346,68
	3 ^a	21,59	449-635	551,13
(a15)	1 ^a	8,49	30-192	79,93
	Estabilidade	-	192-285	-
	2 ^a	68,92	285-456	343,34
	3 ^a	22,32	456-641	548,31
(a20)	1 ^a	9,00	30-178	73,72
	Estabilidade	-	178-275	-
	2 ^a	70,15	275-452	348,13
	3 ^a	20,66	452-639	550,67
(b10)	1 ^a	8,72	30-185	73,39
	Estabilidade	-	185-263	-
	2 ^a	66,22	263-434	342,27
	3 ^a	24,94	434-636	551,83
(b15)	1 ^a	9,50	27-141	54,65
	Estabilidade	-	141-235	-
	2 ^a	65,76	235-391	302,13
	3 ^a	23,92	391-582	502,92
(b20)	1 ^a	8,78	30-203	76,18
	Estabilidade	-	203-289	-
	2 ^a	67,55	289-448	342,51
	3 ^a	23,05	448-639	549,54

(*) Δm perda de massa, (%), ΔT variação de temperatura, T_p temperatura de pico.

Observando as etapas de perda de massa, para todas as amostras analisadas após a modificação física, houve diferença nos valores para a primeira perda, que correspondente à desidratação. Também ocorreu diminuição para os valores relacionados a essa primeira perda em comparação aos amidos nativos para todas as amostras.

Com relação à segunda perda de massa, que corresponde à decomposição da matéria, para todos os amidos, após a modificação, ocorreu aumento dos valores em comparação com o amido nativo. Ocorreu um aumento gradual para os amidos com ácido fólico e ferro conforme aumento da umidade utilizada durante a modificação física.

A terceira perda equivalente à oxidação teve os valores diminuídos, para os amidos com presença de ácido fólico e ferro, quando comparadas às perdas de massa do amido nativo com presença de ácido fólico e ferro.

Para o amido modificado, sem ácido fólico e ferro com 10 e 15% de umidade, houve aumento, sendo que para o amido modificado com 20% de umidade ocorreu diminuição de valor correspondente à perda de massa comparada ao amido nativo sem ácido fólico e ferro.

As temperaturas em que ocorreram as perdas, tanto para as amostras com presença e ausência de ácido fólico e ferro, ocorreram pouca variação após a modificação. Com relação à estabilidade, para todas as amostras modificadas fisicamente apresentaram maior estabilidade em comparação com os amidos nativos.

Pode se observar que os amidos com presença de ácido fólico e ferro, após a sua modificação, tiveram diminuição, aumento e diminuição dos valores, relacionadas para a primeira, segunda e a terceira perda de massa respectivamente.

Também o amido modificado fisicamente comparado ao amido nativo, apresentou uma tendência a perder mais massa na fase de decomposição da matéria orgânica.

Conforme descrito por Ionashiro, (2005), as condições nas quais a análise térmica é realizada pode também, influenciar diretamente nos resultados obtidos. Outro fator que pode influenciar nos resultados, conforme mencionado anteriormente, são os compostos secundários associados ao grânulo de amido, variabilidade genética e forma de extração.

5.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada para obtenção da entalpia de gelatinização. As temperaturas iniciais (T_o), temperaturas de pico (T_p), temperaturas de conclusão (T_c) e as entalpias (ΔH) obtidas, foram calculadas em triplicata.

Os resultados estão expressos nas tabelas 3 e 4 e nas curvas de DSC de gelatinização, podem-se observar quando o evento acontece e estão expressas para as amostras de amido de trigo com e sem ácido fólico e ferro, nativos e modificados fisicamente por HMT nas figuras 15 e 16.

5.3.1 Amido nativo

Na Figura 15, estão representadas as curvas de DSC de gelatinização dos amidos nativos de trigo, com e sem ácido fólico e ferro.

Pode ser observado o evento da gelatinização e a diferença existente para o amido sem presença de ácido fólico e ferro.

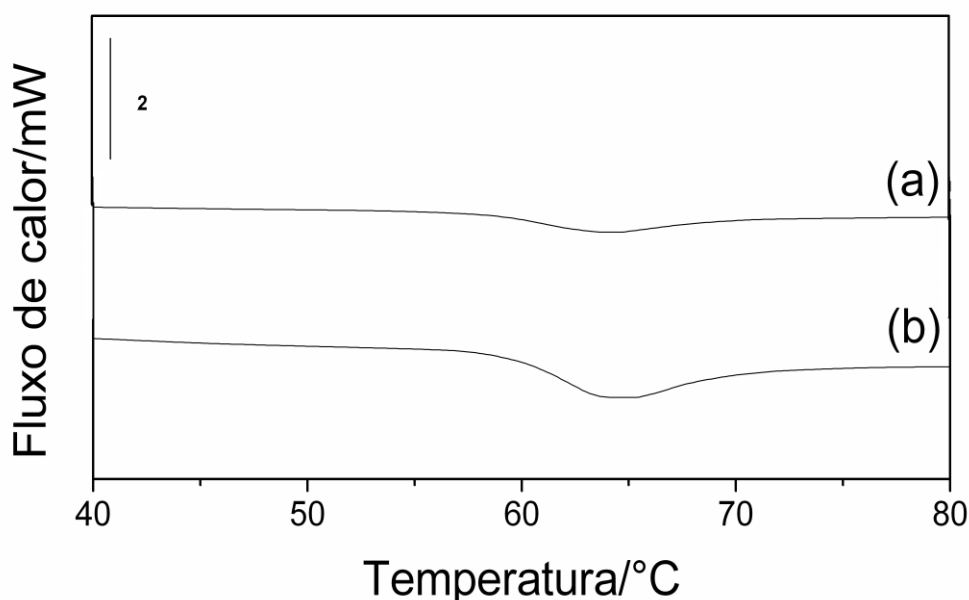


Figura 15 - Curvas DSC gelatinização para: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

As temperaturas em que os eventos ocorreram (início (T_o), pico (T_p) e conclusão (T_c)) e entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}), para os amidos de trigo nativos, medido por DSC, estão apresentados na tabela 3.

Para as duas amostras de amidos de trigo, pode-se observar que houve diferença nas entalpias de gelatinização. O amido de trigo sem ácido fólico e ferro foi o amido que apresentou um maior ΔH_{gel} (7,61J/g) em comparação com amido nativo, com ácido fólico e ferro do qual o ΔH_{gel} foi de (5,98 J/g). Com relação às temperaturas (T_o , T_p e T_c), todas foram semelhantes para os dois amidos nativos.

Tabela 3: Resultados de DSC gelatinização para: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Amostras	DSC gelatinização			
	$T_o/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$	$T_c/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_{gel}/\text{J.g}^{-1}$
(a)	59,52±0,02 ^a	64,16±0,01 ^a	70,06±0,04 ^a	5,98±0,14 ^b
(b)	58,37±0,03 ^b	64,06±0,01 ^b	69,53±0,20 ^b	7,61±0,33 ^a

(*) T_o “onset” temperatura inicial, T_p temperatura de pico, T_c “conclusion” temperatura de conclusão, ΔH_{gel} entalpia de gelatinização, (**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Em estudo feito para determinação da gelatinização do amido de trigo nativo, utilizando a análise térmica DSC, porém com outras condições de realização da análise, Ao; Jane, (2008), encontraram valor para a entalpia de gelatinização de 12,4 (J/g). Segundo Jacobs, *et al*, (1998), o valor determinado foi de 10,3 (J/g). Gunaratne; Corke, (2007), observaram valor para a entalpia de gelatinização de 10,4 (J/g) utilizando o amido comercial, do qual o valor para o mesmo tipo de amido foi de 10,6 (J/g) descrito por Yoo; Jane, (2002). Yonemoto; Colori-Domingues; Franco, (2007), avaliaram amidos isolados de quatro diferentes genótipos de trigo nacional com média obtida para entalpia de gelatinização de 10,83 (J/g). Zeng; Gao; li, (2013), observaram valores mais altos dos também encontrados para os dois tipos de amido analisado neste trabalho.

Conforme pode ser observado, todos os valores determinados neste trabalho para a entalpia de gelatinização estão abaixo dos valores encontrados na literatura.

Com relação às temperaturas, para T_o , T_p , e T_c , foram determinadas com os seguintes valores por: Jacobs, *et al*, (1998), 52,0, 56,8 e 63,5, °C, Gunaratne; Corke,

(2007), 58,9, 64,3 e 76,8 °C, Yoo; Jane, (2002), 54,9, 58,9 e 63,8 °C, Yonemoto; Colori-Domingues; Franco, (2007) com media de 54,39, 59,71 e 65,22 °C para as quatro variedades analisadas e Zeng; Gao; Li, (2013), de 59,43, 64,23 e 78,02 °C, respectivamente.

Pode ser observado, que com relação às temperaturas determinadas durante a análise pelos autores, estas variam de acordo com o tipo de amido de trigo analisado (comercial, extraído em laboratório e variabilidade genética) e as condições experimentais em que as amostras foram analisadas.

Valores mais baixos encontrados nesse trabalho para a entalpia de gelatinização de acordo com Denardin; Silva (2009), podem ocorrer devido à presença da amilose, que reduz a desorganização das regiões cristalinas e a energia necessária para o início da gelatinização, uma vez que mais energia é necessária para iniciar a desorganização na ausência de regiões amorfas ricas em amilose. Essa correlação indica que amidos com maior conteúdo de amilose, por apresentarem mais regiões amorfas e menos regiões cristalinas, apresentam menores temperaturas de gelatinização.

Também conforme descrito por Buléon, *et al*, (1998), os lipídeos monocíclicos induzem a formação de complexos amilose-lipídicos durante a gelatinização restringindo o inchamento, a dispersão e solubilização de amilose, dos grânulos de amido gerando pastas opacas com viscosidade reduzida.

Umidade, tamanho do grânulo, proporção de amidos do tipo A e do tipo B, estágio de maturação, condições ambientais e experimentais, danos mecânicos, e variação metodológica, diferença no equipamento utilizado conforme descrito por Bicudo, (2008), o tipo de amido, em que na maioria dos estudos comparados, foi utilizado o comercial e não amido extraído em laboratório e a presença do ácido fólico e ferro, presentes no amido nativo, podem também ter influenciado a entalpia de formação de gel.

5.3.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas

Na Figura 16, podem-se observar as curvas de DSC, de gelatinização das amostras de amidos de trigo com presença e ausência de ácido fólico e ferro modificados fisicamente com três teores de umidades diferentes (10, 15 e 20%).

A partir delas, podem ser observadas para cada amostra, onde aconteceu o evento da gelatinização e as temperaturas onde o evento começou e finalizou.

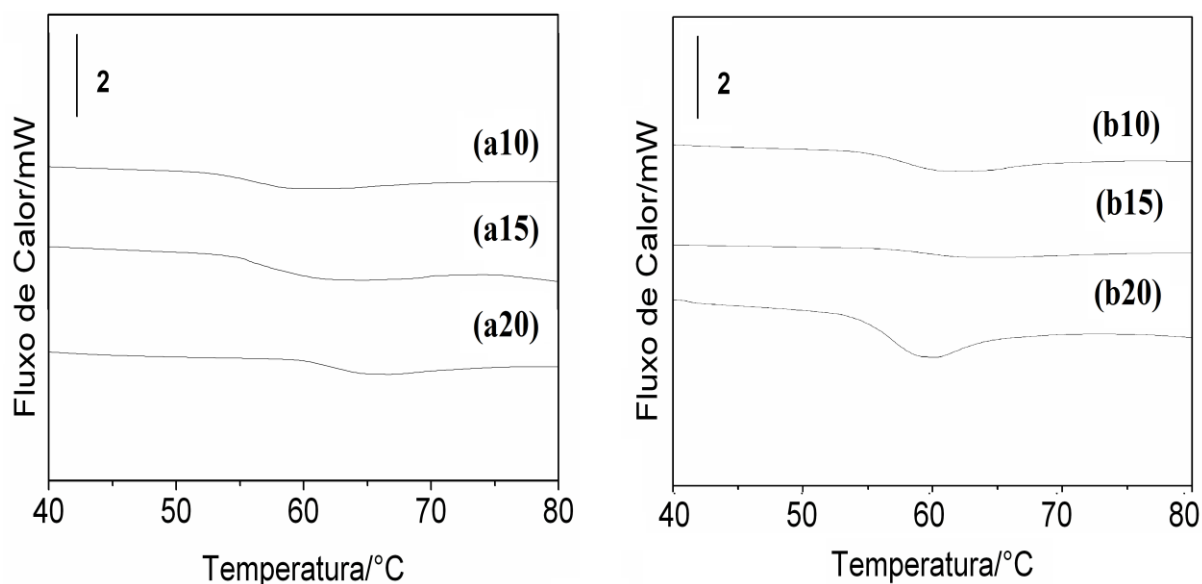


Figura 16 - Curvas DSC de gelatinização: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Os resultados para DSC de gelatinização podem ser observados na tabela 4, para as amostras de amidos de trigo, com e sem ácido fólico e ferro, modificados fisicamente por HMT.

Pode-se observar que as entalpias de gelatinização foram diferentes para cada amostra. Para todos os amidos de trigo, analisados, após a modificação, apresentaram menor ΔH_{gel} em comparação com o amido nativo.

Para os amidos com presença de ácido fólico e ferro ocorreu diminuição gradual do ΔH_{gel} , conforme a umidade utilizada durante a modificação aumentou. O amido modificado com 10%, de umidade apresentou maior ΔH_{gel} (5,30J/g), em relação aos outros amidos modificados fisicamente.

Pode também ser observado que todos os amidos tiveram os valores para as temperaturas de início, término dos eventos e temperaturas de pico (T_o , T_c e T_p), menores após a modificação com relação aos valores encontrados para os amidos nativos.

Tabela 4: Resultados de DSC de gelatinização: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Amostras	DSC gelatinização			
	$T_o/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$	$T_c/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_{\text{gel}}/\text{J.g}^{-1}$
(a10)	53,08±0,03 ^e	59,27±0,01 ^e	63,13±0,01 ^c	5,30±0,18 ^a
(a15)	52,92±0,15 ^e	63,08±0,16 ^b	65,51±0,19 ^b	4,32±0,59 ^{bc}
(a20)	60,15±0,01 ^a	65,75±0,09 ^a	67,34±0,14 ^a	3,73±0,05 ^c
(b10)	55,21±0,01 ^c	60,99±0,08 ^c	63,99±0,07 ^c	4,76±0,05 ^{ab}
(b15)	56,57±0,02 ^b	63,08±0,01 ^b	65,61±0,02 ^b	4,03±0,11 ^c
(b20)	53,34±0,01 ^d	59,73±0,01 ^d	66,40±0,03 ^b	4,81±0,04 ^{ab}

(*) T_o “onset” temperatura inicial, T_p temperatura de pico, T_c “conclusion” temperatura de conclusão, ΔH_{gel} entalpia de gelatinização, (**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Após o tratamento por HMT, Gunaratne; Corke, (2007), observaram valores para T_o , T_p e T_c maiores comparados ao amido nativo e ΔH_{gel} menor, após a modificação, estando este trabalho de acordo com os resultados encontrados apenas para a entalpia de gelatinização.

Hoover; Vasanthan, (1994), avaliaram os efeitos da HMT, por 16 horas a uma temperatura de 100 °C, com teores de umidades de 10, 20 e 30%, nas propriedades físico-químicas de amidos de cereais, leguminosas e tubérculos. Com relação à entalpia de gelatinização, para cada amido não houve diferença significativa, também valores determinados por eles em desacordo com este trabalho.

Hoover, *et al*, (1994), estudaram a gelatinização e retrogradação por DSC após a modificação física por HMT, com 10% de umidade, para amidos de trigo, aveia, batata e lentilha. Para o amido de trigo, após a modificação, os valores para T_o , T_p , T_c e ΔH_{gel} , aumentaram, em comparação com o amido nativo o que não ocorreu para os amidos estudados.

Conforme descrito por Noda; Kobayashi; Suda, (2001), do qual estudaram amido de batata avaliando as condições de temperatura de plantio e em estudo feito por Matsuki, *et al*, (2003), com amido de trigo, que avaliaram a influência da

temperatura ambiente, variando a temperatura de 15, 20, 25 e 30 °C, sobre as propriedades de gelatinização, esta diminuiu conforme aumento da temperatura.

Singh, Mccarthy; Singh, (2006), observaram que a entalpia de gelatinização fornece uma medida global para a cristalinidade e é um indicador da perda da ordem molecular dentro do grânulo, a qual acontece na gelatinização.

De acordo com Singh, Mccarthy; Singh, (2006), a baixa entalpia sugere um menor grau de organização ou uma menor estabilidade dos cristais.

Gunaratne; Hoover, (2002), que também observaram um menor ΔH , após modificação por HMT, o que pode indicar que a redução do valor desse parâmetro pode ocorrer devido à ruptura das duplas hélices presentes nas regiões cristalinas e não cristalinas dos grânulos.

Segundo, Pascoal, *et al*, (2013), os baixos valores para T_o , T_p , t_c e ΔH podem estar relacionados à presença de abundantes cadeias curtas de amilopectina.

Segundo Horndoka; Noomhorm, (2007), a redução na ΔH após tratamento por HMT, pode também ocorrer devido à gelatinização parcial de moléculas de amilose e amilopectina, que são menos estáveis durante o aquecimento.

Portanto, perda de ordem cristalina e temperatura ambiente na qual a amostra está antes da sua modificação, são fatores que podem ter influenciado nos valores reduzidos da entalpia de gelatinização após a modificação.

5.4 Difractometria de raios X (DRX)

Os dados das Tabelas 5 e 6 demonstram os resultados obtidos da análise de difração de raios X das amostras de amido de trigo com ausência e presença de ácido fólico e ferro para todos os amidos estudados. Os valores médios da cristalinidade relativa das amostras foram obtidos conforme a equação 1 descrita por Colman; Demiate; Schnitzler, (2012):

$$X_c = \frac{A_p}{(A_p + A_b)} \cdot 100$$

(1)

5.4.1 Amido nativo

Na figura 17, pode ser observado que não houve deslocamento acentuado de pico para os amidos nativos em presença e ausência de ácido fólico e ferro.

Todas as amostras analisadas de amido de trigo apresentaram padrão de difratogramas de raios X, do tipo “A”, característico para amido de cereais.

De acordo com Singh, *et al*, (2003), os amidos de cereais apresentam padrão típico de difração de raios X do tipo “A”, com maior intensidade ao ângulo de Bragg (2θ) em 15° ; 17° ; 18° e 23° , enquanto que os amidos de tubérculos mostram a forma B e leguminosas, no estado padrão misto 'C'.

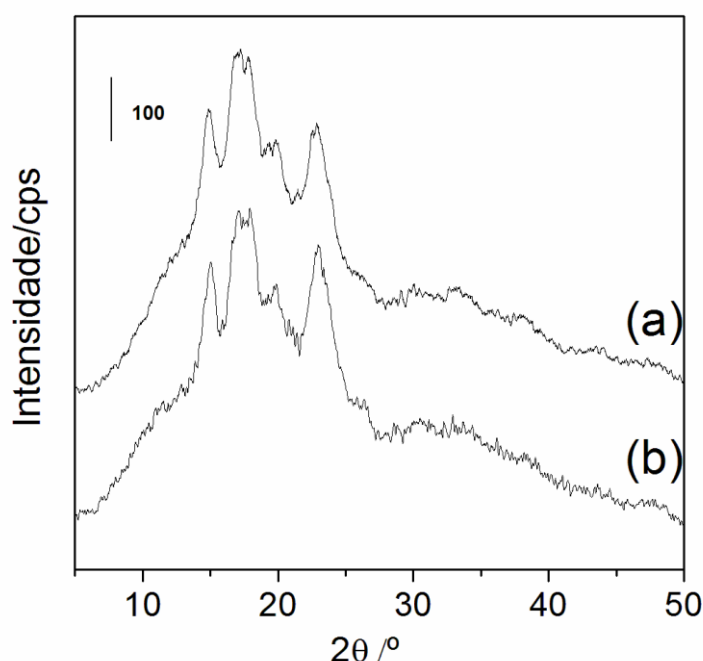


Figura 17: Difratograma de DRX: (a) amido de trigo nativo com ácido fólico e ferro, (b) amido de trigo nativo sem ácido fólico e ferro.

A partir dos dados apresentados na tabela 5, é possível ser observado que houve semelhança nos valores referentes ao grau de cristalinidade relativa entre os grânulos de amido nativo, com presença e ausência de ácido fólico e ferro.

A cristalinidade desempenha um papel crítico na arquitetura do grânulo e nas características físico-químicas do amido, tais como a susceptibilidade de enzimas e a insolubilidade na água fria. Nos grânulo de amido, a cristalinidade está associada com a amilopectina (TANG; MITSUNAGA; KAWAMURA, 2006).

Tabela 5: Resultados dos difratogramas e do grau de cristalinidade: (a) amido de trigo com ácido fólico e ferro nativo, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Amostras	DRX
	Grau de cristalinidade relativa
(a)	18,38±0,35 ^a
(b)	18,88±0,33 ^a

(*) Grau de cristalinidade calculado e porcentagem, Picos determinados 2 θ .(**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p>0,05$).

Yonemoto; Colari-Domingues; Franco, (2007), estudando quatro variedades de amido de trigo isolado, de trigo nacional encontrou valores de cristalinidade entre 26,85 a 22,35. Em estudo também feito Yoo; Jane, (2002), também para algumas variedades de amido de trigo, todas as amostras apresentaram cristalinidade mais elevadas, porém para o amido de trigo ceroso a cristalinidade determinada foi de 18,0 e de 13,0 para o amido comerciais sendo valores diferentes aos encontrados, já que o amido analisado não é amido ceroso.

Ao; Jane, (2008), encontraram valor para a cristalinidade de 35,5% para amido de trigo nativo extraído em laboratório.

De acordo com Yonemoto; Colari-Domingues; Franco, (2007), quanto maior o teor de amilose do amido, menor sua cristalinidade, sendo que os níveis de cristalinidade e ordem molecular em amidos de trigo são os menores encontrados em amidos comerciais, em torno de 20%.

Também de acordo com Ao; Jane, (2008), as propriedades de cristalinidade podem mudar conforme o amido é submetido a um dano mecânico, fazendo com que a cristalinidade seja reduzida.

5.4.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas

Com relação aos picos, para os amidos com presença e ausência de ácido fólico e ferro modificados fisicamente, pode se observar na figura 18, que houve deslocamento de uma unidade para outra em cada uma das amostras analisadas.

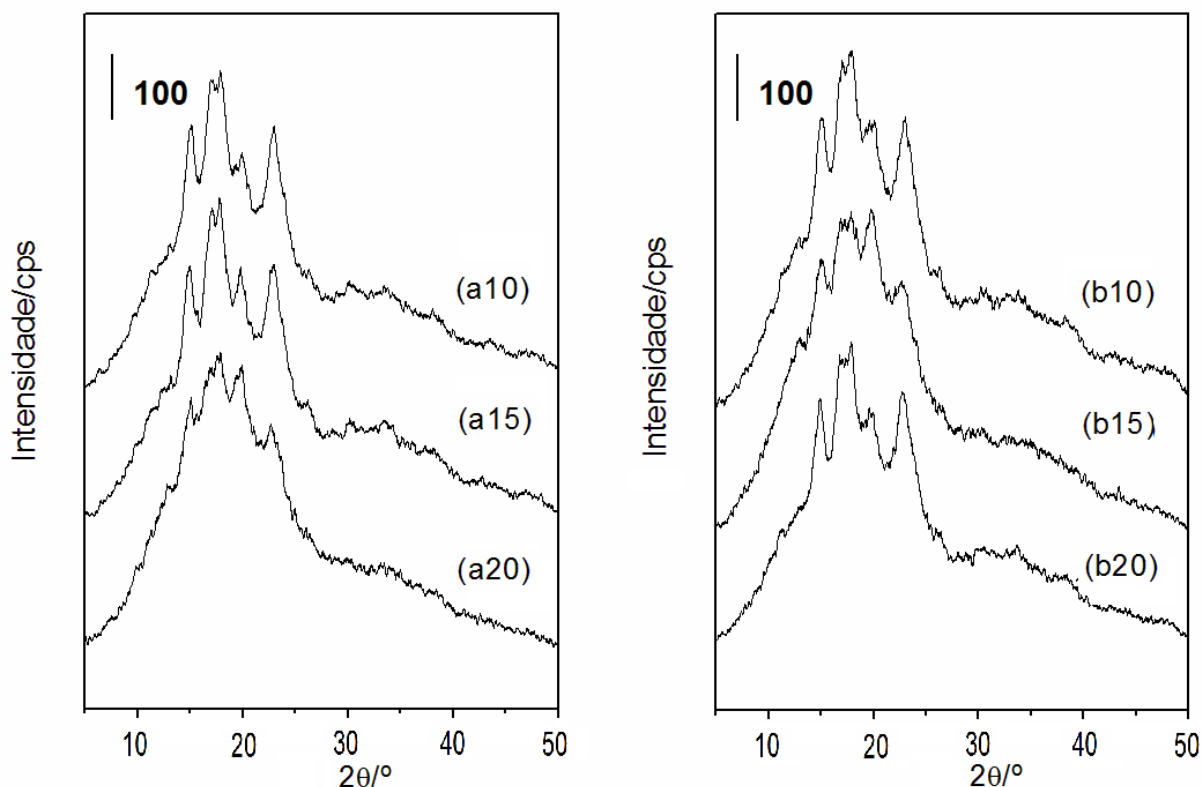


Figura 18 - Difractometria de Raios X: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Hoover; Vasanthan, (1994), após a modificação física do amido de trigo, por HMT a 100 °C, por 16 horas com teores de umidade variando de 10, 20 e 30%, observaram que houve deslocamento de unidade para outra após a modificação. Com relação à cristalinidade, houve aumento conforme ocorreu aumento gradual da umidade.

As cristalinidades relativas dos amidos modificados fisicamente encontram-se na tabela 6.

Tabela 6: Resultados dos difratogramas e do grau de cristalinidade: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificação por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Amostras	DRX
	Grau de cristalinidade relativa
(a10)	20,01±0,12 ^a
(a15)	19,32±0,05 ^b
(a20)	18,72±0,34 ^c
(b10)	16,03±0,47 ^e
(b15)	18,23±0,05 ^d
(b20)	19,22±0,01 ^b

(*) Grau de cristalinidade calculado e porcentagem, Picos determinados 2 θ .(**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p>0,05$).

Pode ser observado que para as amostras de amido de trigo com presença de ácido fólico e ferro, modificados por HMT, tiveram seus valores de cristalinidade relativa aumentadas, em comparação com o amido nativo, sendo esse valor diminuiu gradualmente conforme umidade utilizada durante a modificação aumentou.

Para os amidos de trigo com ausência de ácido fólico e ferro, o grau de cristalinidade relativa teve uma diminuição no valor em comparação com o amido nativo para as amostras modificadas com 10 e 15% de umidade e aumento para o amido modificado com 20%, sendo que houve aumento nos valores gradualmente conforme a umidade utilizada na modificação aumentou.

Segundo Shin, *et al*, (2005), o tratamento com calor e umidade no amido faz com que seu padrão cristalográfico seja alterado, levando a uma conversão da fração de amilose amorfa para forma cristalina dependendo das condições de umidade e aquecimento.

A diminuição da cristalinidade, de acordo com Klein, *et al*, (2013), pode ocorrer devido a uma desestabilização da matriz lamelar, levando a uma diminuição da cristalinidade relativa, promovida pelo HMT.

Já o aumento da cristalinidade, segundo Zavareze; Dias, (2011), são devido ao deslocamento das cadeias helicoidais duplas dentro dos cristais de amido, o que resulta numa matriz cristalina que é mais ordenada do que no amido nativo.

Portanto, pode ser observado que para todos os amidos, estes sofrem alteração no padrão de cristalinidade, o que está de acordo com a literatura, após a modificação por HMT.

5.5 Microscopia de força atômica – modo não contato

A partir da Microscopia de Força Atômica, modo não contato (AFM-NC), foi possível obter microimagens para os amidos de trigo nativos e modificados fisicamente em presença e ausência de ácido fólico e ferro. Com esse método foi possível analisar a morfologia do grânulo de amido e calcular o diâmetro e a rugosidade média.

Pode ser observada a partir das figuras 19 e 20, a distribuição de tamanho bimodal característico para o grânulo de amido de trigo do qual o tipo A é caracterizado para amido de trigo que possui diâmetro maior do que $10\ \mu m$ e tipo B para amido de trigo com diâmetro menor do que $10\ \mu m$.

As tabelas 7 e 8 apresentam os valores obtidos pelo diâmetro médio e a rugosidade dos amidos.

5.5.1 Amido nativo

Pode ser observado na figura 19, que os grânulos de amido de trigo apresentaram distribuição de tamanho bimodal, com grânulos característicos do tipo A, com diâmetro maior do que $10\ \mu m$ e com formato arredondado e lenticular e grânulos do tipo B menores do que $10\ \mu m$, com formato também arredondados ou poligonais, não sendo observada qualquer diferença com relação ao tamanho ou forma, porém sendo perceptíveis algumas depressões e saliências nos grânulos.

Também foi possível observar que os dois amidos apresentaram maior quantidade de grânulos do tipo A.

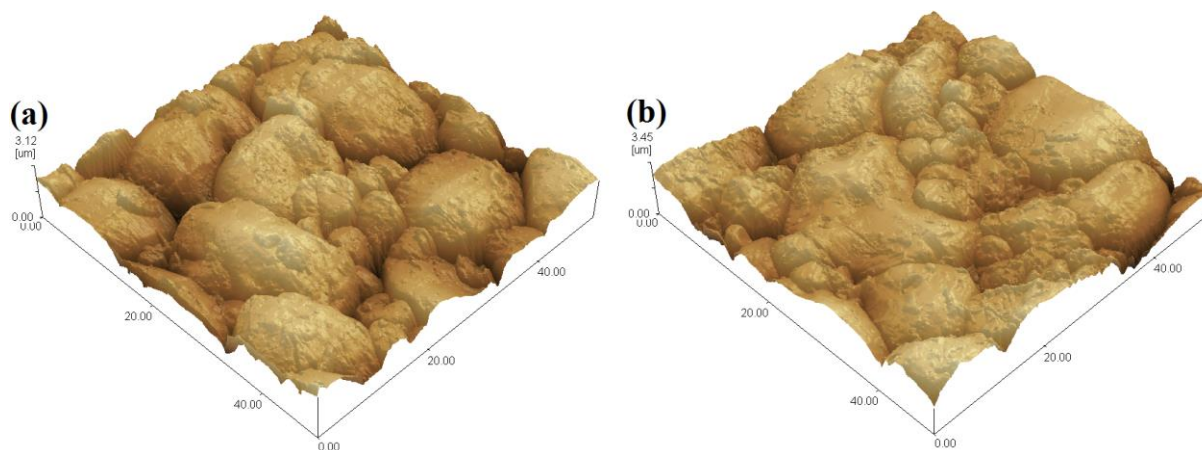


Figura 19: Micrografias NC-AFM: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Na tabela 7, é possível observar o diâmetro médio, para o grânulo amido de trigo do tipo A, para o tipo B, e rugosidade média para os dois tipos de amido de trigo nativos em presença e ausência de ácido fólico e ferro.

Com relação ao diâmetro médio dos grânulos, tanto para o tipo A como para o Tipo B, houve uma pequena diferença para ambas as amostras o que também ocorreu para a rugosidade média.

Grânulos com diâmetro maior que 10 μm e formato lenticular são considerados tipo A e grânulos que possuem diâmetro igual ou menor que 10 μm e possuem formato esférico são denominados tipo B (KIM; HUBER, 2013).

Tabela 7: Resultados da NC-AFM: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Amostras	NC-AFM		
	Tipo A	Tipo B	Rugosidade média (Tipo A e Tipo B)
	$d_a/\mu\text{m}$	$d_a/\mu\text{m}$	r_a/nm
(a)	$19,60 \pm 4,99^b$	$4,36 \pm 1,05^a$	388,44
(b)	$21,52 \pm 3,43^a$	$4,13 \pm 0,99^b$	367,52

(*) d_a Diâmetro médio, r_a Rugosidade média, (**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Conforme descrito por Yoo; Jane, (2002), e Yonemoto; Colori-Domingues; Franco, (2007), que estudaram diferentes variedades de amido de trigo entre eles o

amido de trigo comercial, também foi observado distribuição bimodal de tamanhos distintos para todas as amostras de amido com grânulos do tipo A e B não havendo também diferença detectável do tamanho médio do grânulo para as variedades de trigo estudadas do qual os diâmetros médios foram de 18-33 μm para o tipo A e para o tipo B de 2-5 μm de diâmetros.

Baldwin; Davies; Melia, (1997), estudaram a superfície externa do amido de trigo e batata utilizando a microscopia de força atômica e encontrou distribuição bimodal para os grânulos de amido de trigo com algumas elevações perceptíveis, porém com uma rugosidade menor se comparado a outros amidos como o amido de batata.

Os tamanhos e as formas de grânulos de amidos estão entre os fatores de importância na determinação de usos potenciais de amidos, como grânulos pequenos (2,0 μm) que são encontrados no grânulo de amido de trigo (tipo B), e podem ser usados como substitutos de gordura devido ao tamanho ser semelhante ao dos lipídeos. Outras aplicações, nas quais o tamanho dos grânulos é importante, é a produção de filmes plásticos biodegradáveis e de papéis especiais (LEONEL, 2007).

5.5.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas

Na figura 20, é possível verificar o diâmetro médio que cada uma das amostras de amido de trigo com presença e ausência de ácido fólico e ferro modificado fisicamente apresentou e também as diferenças na rugosidade.

As amostras de amido não sofreram o mesmo dano conforme pode ser observado nas microimagens. Foram observados alguns furos nos amidos modificados fisicamente, com 15% de umidade (a15) este com presença de ácido fólico e ferro, e nos amidos sem ácido fólico e ferro, modificados com 10 (b10) 15 (b15) e 20% (b20) de umidade, sendo esses danos mais observados nos grânulos do tipo A.

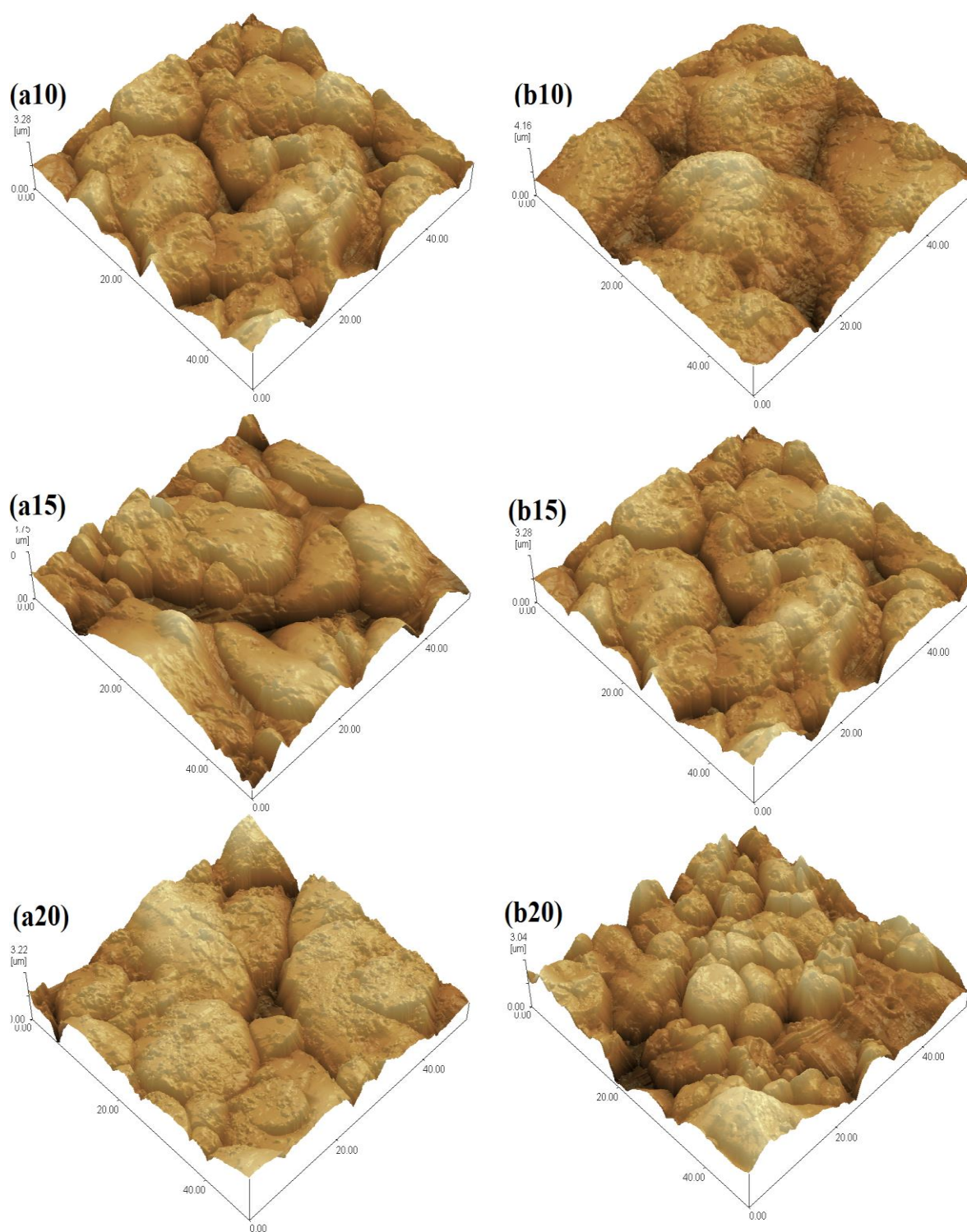


Figura 20: Micrografias NC-AFM: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Kim; Huber, (2013), avaliaram a superfície dos grânulos de amido de trigo, do tipo A e do tipo B, com o auxílio do Microscópio Eletrônico de Varredura e a superfície mostrou ser relativamente lisa, contendo apenas algumas depressões superficiais e furos. Esses furos podem ser observados em forma oval ao longo do grânulo. Alguns agregados em forma de pequenos poros com o aparecimento de fissuras em fenda também foram observados sendo mais presentes em grânulos com diâmetro maior do que 10 μm .

Nas superfícies dos grânulos de amido, as alterações que podem ocorrer são em função do ambiente em que o amido se encontra e essas mudanças podem alterar a sua composição significativamente, o que pode afetar sua propriedade (FINNIE, *et al*, 2010).

De acordo com Ohtani, *et al*, (2000) e Barrera, *et al*, (2013), a superfície externa do amido pode ser quimicamente ou fisicamente modificada de acordo com a estrutura do grânulo, porém a estrutura da superfície nem sempre representa com precisão a estrutura interior e portanto, a natureza da superfície e as suas modificações podem ter efeitos significativos nas propriedades do amido.

Segundo Li, Dhital; Hasjim, (2014) e Borght, *et al*, (2005), o processo de moagem pode interferir nas propriedades morfológicas e estruturais do amido dependendo da fonte botânica pois a taxa de absorção de água durante a preparação da massa e degradação enzimática do amido aumenta com o aumento do dano. Esses danos podem ser melhores observados quando os grânulos dos amidos estão isolados e o nível de danos nos amidos varia com a gravidade da moagem e a dureza do trigo.

Poros superficiais são observados mais frequentemente em amido nativo cerosos do que em amidos considerados normais. A maioria das investigações tem sido confirmada principalmente para um tipo de grânulo, (tipo A), e grânulos com proteína nativa associada. Esta observação sugere que os grânulos do tipo B, estão presentes de forma irregular nos amidos e quando isolados não são muito afetados pelo tratamento mecânico associado com moagem de farinha ou relacionados a aspectos específicos do isolamento amido (KIM; HUBER, 2010a, KIM; HUBER, 2013).

Apesar da presença de poros, canais e cavidades no interior dos grânulos de amido de trigo serem provavelmente relacionados a impactos como a moagem, seu papel específico nas reações granulares ainda não foi completamente esclarecida e

até o momento, nenhum estudo investigou padrões de reações granulares dentro dos grânulos de amido de trigo derivados com reagentes modificadores comerciais. Portanto, ainda não foram totalmente avaliadas a natureza dos canais encontrados nos grânulos de amido de trigo tanto em sua parte interna como externa (KIM; HUBER, 2013).

A natureza da superfície dos grânulos e as suas modificações podem ter efeitos significativos nas propriedades do amido (Barrera, *et al*, 2013), além do processo de preparação da amostra que é importante, pois este pode também influenciar na superfície da amostra (Baldwin, *et al*, 1998).

Os diferentes valores de diâmetro médio e rugosidade após a modificação para os amidos de trigo estão representados na tabela 8.

Tabela 8: Resultados NC-AFM: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Amostras	NC-AFM		
	Tipo A	Tipo B	Rugosidade média (Tipo A e Tipo B)
	$d_a/\mu\text{m}$	$d_a/\mu\text{m}$	r_a/nm
(a10)	16,27±3,90 ^d	7,48±2,19 ^b	545,601
(a15)	25,80±7,87 ^a	5,21±2,44 ^d	518,214
(a20)	16,47±3,50 ^c	5,38±2,12 ^c	724,738
(b10)	21,61±2,22 ^b	4,12±1,48 ^e	369,522
(b15)	13,41±1,90 ^e	8,99±1,03 ^d	380,861
(b20)	12,58±1,58 ^f	5,21±1,30 ^a	448,723

(*) d_a Diâmetro médio, r_a Rugosidade média, (**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Com relação ao diâmetro médio para o amido modificado fisicamente com ácido fólico e ferro, para os grânulos do tipo A, estes apresentaram diminuição no tamanho após a modificação com 10 e 20% e aumento no diâmetro para o amido modificado com 15% de umidade. Para os grânulos do tipo B, todas as amostras apresentaram aumento no diâmetro médio.

Para os amidos modificados fisicamente, sem a presença de ácido fólico e ferro, com relação ao diâmetro médio para o tipo A, as amostras modificadas com 15 e 20% de umidade apresentaram tamanho reduzido e a amostra com 10% não apresentou diferença com relação ao amido nativo, o que também pode ser observado para o grânulo do tipo B modificado com o mesmo teor de umidade. Para os dois amidos, modificados com 15 e 20% de umidade, houve aumento no diâmetro médio.

Com relação à rugosidade média, todas as amostras apresentaram aumento da rugosidade após a modificação em comparação com o amido nativo, sendo que para as amostras de amido de trigo sem ácido fólico e ferro, o aumento da rugosidade foi gradual, conforme aumentou a umidade.

Com relação à forma e o tamanho do grânulo, em estudo realizado por Hoover; Vasanthan, (1994) após a modificação por HMT, por um período de 16 horas a 100 °C, utilizando umidade de 10, 20 e 30% para a modificação, não houve diferença em comparação com o amido nativo após a modificação para o amido de trigo.

Conforme descrito por SINGH, *et al*, (2003), o amido de trigo possui tamanho e forma variada, com diâmetros variando de 10 a 35 μm para o tipo A, que possui forma de disco ou lenticular e de 1 a 10 μm para o grânulo do tipo B, que possuem forma normalmente esférica ou poligonal.

5.6 Propriedade de pasta - (RVA)

Nas figuras 21, 22 e 23 podem ser observadas as curvas obtidas para a viscosidade dos amidos nativos e modificados avaliados por RVA. Também é possível verificar os valores obtidos para os picos de viscosidade na Tabela 9 e 10.

5.6.1 Amido nativo

Na Figura 21, verificam-se as curvas de viscosidade dos amidos nativos de trigo estudados.

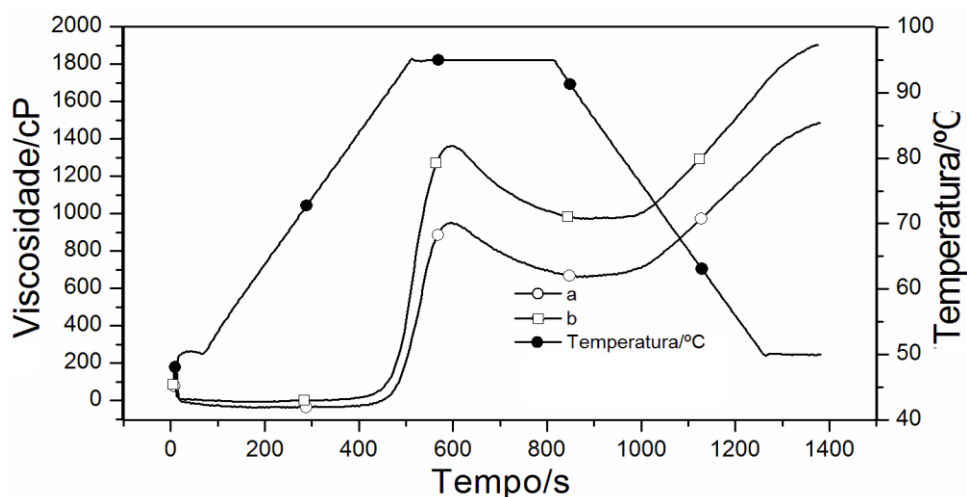


Figura 21 - Curvas RVA: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Na Tabela 9, estão representados os principais valores dos viscoamilogramas para os amidos de trigo e sem ácido fólico e ferro nativos.

Tabela 9: Resultados Viscosidade: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Amostras	Temperatura de pasta/°C	Pico de viscosidade/cP	Tempo de pico/sec	Setback/cP	Quebra/cP	Viscosidade final/cP
(a)	90,90±0,02 ^b	1369±0,33 ^a	10,00±0,15 ^a	930±0,71 ^a	390±0,35 ^a	1903±0,85 ^a
(b)	91,60±0,01 ^a	954±0,42 ^b	9,93±0,25 ^b	825±0,63 ^b	289±0,07 ^b	1490±0,22 ^b

(^a) cP “centipoises”. (**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p>0,05).

O amido de trigo com presença de ácido fólico e ferro, apresentou menor temperatura de pasta, porém maior pico de viscosidade, tempo de pico, *Setback*, quebra e viscosidade final em comparação com o amido nativo sem presença de ácido fólico e ferro.

Todos os amidos apresentaram alta temperatura de pasta o que está de acordo com relatado por Zeng; Gao; Li, (2013), que encontraram o valor de 92,45 °C para o amido de trigo não fracionado.

Yoo; Jane, (2002), observaram temperatura de pasta para o amido comercial de trigo de 85,0 °C e pico de viscosidade de 122 cP, valor este diferente ao

encontrado nesse trabalho, podendo essa diferença estar relacionada ao amido estudado não ser comercial e a diferença metodológica.

Ao; Jane, (2008) encontraram valores para amido de trigo, utilizando RVA, para temperatura de pasta de 91,0 °C e pico de viscosidade de 935 cP, estando estes valores próximos ao encontrados para o amido sem ácido fólico e ferro.

Zeng; Li; Gao, (2011), avaliaram a propriedade de pasta por RVA para três variedades de amido de trigo e encontraram valores para pico de viscosidade, tempo de pico, setback, quebra e viscosidade final, superiores e para temperatura de pasta inferior aos determinados nesse estudo.

Segundo Yonemoto; Colari-Domingues; Franco, (2007), altos teores de amilose, podem estar associados a menores viscosidades de pico. Moléculas lineares fortemente associadas mantêm a integridade do grânulo de amido, aumentando sua resistência à agitação mecânica. Amidos de trigo e arroz têm teor de fosfolipídios mais altos e produzem pastas com transmitância inferior amidos de milho e de batata (SINGH, *et al*, 2003).

5.6.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas

Nas figuras 22 e 23 estão as curvas obtidas para a viscosidade dos amidos de trigo, com ou sem ácido fólico e ferro, modificados fisicamente. Verificam-se os picos de viscosidade e as viscosidades finais de cada mistura.

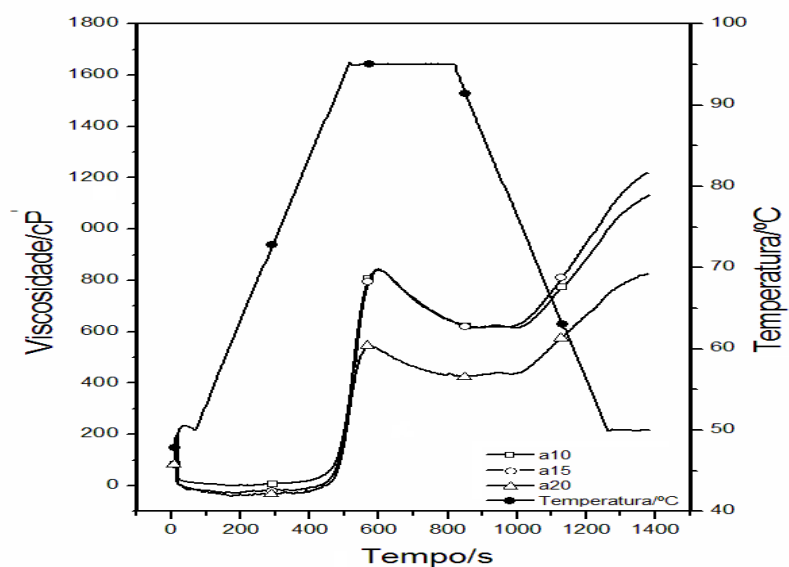


Figura 22: Curvas RVA: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade

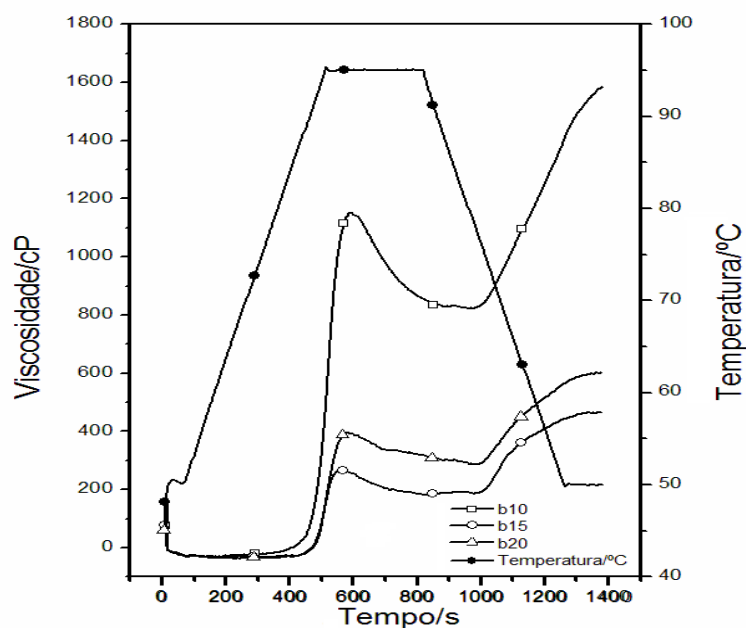


Figura 23: Curvas RVA: (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Na tabela 10, estão expostos os valores dos principais pontos dos viscoamilogramas para os amidos de trigo modificados fisicamente.

Tabela 10: Resultados viscosidade: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Amostras	Temperatura de pasta/°C	Pico de viscosidade/cP	Tempo de pico/seg	Setback/cP	Quebra/cP	Viscosidade final/cP
(a10)	91,7±0,15 ^c	845±0,22 ^b	9,93±0,58 ^a	516±0,69 ^c	231±1,02 ^b	1130±0,15 ^c
(a15)	91,6±0,23 ^d	839±0,58 ^c	9,87±0,37 ^b	603±0,66 ^b	226±0,99 ^c	1216±1,32 ^b
(a20)	92,00±0,55 ^b	546±0,13 ^d	9,47±0,56 ^d	401±0,15 ^d	122±0,42 ^d	825±0,87 ^d
(b10)	90,50±0,71 ^e	1155±0,03 ^a	9,87±0,48 ^b	761±0,42 ^a	332±0,13 ^a	1584±0,41 ^a
(b15)	93,80±0,29 ^a	269±0,96 ^f	9,27±0,05 ^e	284±0,88 ^f	85±0,22 ^f	468±0,33 ^f
(b20)	93,80±0,33 ^a	396±1,22 ^e	9,80±0,22 ^c	316±0,14 ^e	111±0,09 ^e	601±0,15 ^e

(^{*}) cP “centipoises”, (^{**}) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* (p>0,05).

Para os amidos analisados após a modificação, em comparação com o amido nativo, houve aumentos na temperatura de pasta, diminuição no pico de viscosidade, tempo de pico, *Setback*, quebra e viscosidade final.

Com relação ao amido com ácido fólico e ferro, ocorreu diminuição gradual para o pico de viscosidade, tempo de pico e quebra, conforme aumento da umidade durante a modificação.

Com relação ao amido, sem a presença de ácido fólico e ferro, modificado com 10% de umidade ocorreu aumento no valor referente à temperatura de pasta, pico de viscosidade, quebra, e viscosidade final, e diminuição do tempo de pico, *Setback*.

Gunaratne; Ranaweera; Corke, (2007), observaram que após a modificação utilizando HMT, houve aumento no valor para pico de viscosidade e com relação à

propriedade de pasta, para todas as amostras, houve diminuição nos valores após a modificação por HMT.

De acordo, Watcharatewinkul, *et al*, (2009), as mudanças nas propriedades de pasta, após o tratamento por HMT, no amido, ocorrem devido à associação entre as cadeias na região amorfa do grânulo e as mudanças na cristalinidade durante o tratamento, sendo que este comportamento se intensificou, em seu estudo, quando o conteúdo de umidade aumentou no tratamento por HMT.

De acordo com Zeng; Gao; Li, (2013) e Zavareze; Dias, (2011), altas temperaturas de pasta indica que os grânulos de amido possuem maior resistência ao inchaço e, portanto, mais forças e ligações cruzadas estão presentes no interior dos grânulos de amido.

Amido varia muito em forma e funcionalidade entre e dentro das espécies botânicas, e até mesmo a partir do mesmo cultivar, das quais estas plantas são cultivadas sob diferentes condições. Esta variabilidade proporciona amidos com diferentes propriedades de pasta, mas que também pode causar problemas no processamento devido à inconsistência das matérias-primas (COPELAND, *et al*, 2009).

Diferenças de viscosidades finais entre os amidos modificados de dois tipos de grânulos (dentro de um genótipo) ou entre os tipos (genótipos) provavelmente é resultado de diferenças no teor de amilose, dentro dos grânulos nativos (KIM; HUBER, 2010b).

Segundo Singh, *et al*, 2003, as diferenças de comportamento de inchamento e a solubilidade dos amidos entre fontes botânicas e entre as cultivares de qualquer fonte botânica, além do teor de amilose que pode influenciar, o teor de lípidos, minerais e proteínas associados aos grânulos bem como a organização dos grânulos, podem também afetar as propriedades de pasta.

5.7 Espectrometria de absorção atômica (EAA) – Chama

5.7.1 Amido nativo

Na tabela 11 podem ser observados os valores determinados para os amidos nativos e as farinhas de trigo, da quais foram extraídos os amidos, com e sem ácido fólico e ferro.

Conforme já descrito, o teor de minerais presente no amido de trigo é de no máximo 0,4% do peso seco do grânulo e na farinha de trigo, a legislação torna obrigatória a adição de no mínimo 4,2 mg de ferro a cada 100 g de farinha de trigo.

Tabela 11: Resultado para concentração de ferro: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro (c) farinha de trigo com ácido fólico e ferro (d) farinha de trigo sem ácido fólico e ferro.

Amostras	Quantidade de ferro (mg/g)
(a)	6,12±0,15 ^b
(b)	0,00±0,00 ^d
(c)	6,40±0,08 ^a
(d)	0,12±0,02 ^c

(*)Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey(p>0,05).

No amido de trigo sem ácido fólico e ferro a quantidade de ferro presente nessa amostra, está em uma concentração muito baixa, ou pode não haver a presença de ferro, sendo esse resultado estando de acordo com a concentração máxima de minerais de no máximo 0,4% para ao amido de trigo nativo.

Após a extração do amido, a concentração de ferro presente no amido de trigo com ácido fólico e ferro não teve significante perda em comparação com a farinha de trigo enriquecida. Isso indica que o amido do qual é utilizado como material inerte para que a fortificação da farinha forma um complexo amido-ferro, não ocorrendo perdas desse mineral após a extração do amido a partir da farinha.

Com relação à farinha com ácido fólico e ferro, o valor encontrado está de acordo com a legislação, para a quantidade mínima de ferro que deve ser adicionada. Já a farinha com ausência de ferro, de acordo com Soeiro, *et al*, (2010), o teor de ferro naturalmente presente em farinhas de trigo é de 1,0 mg.100 g¹.

Em estudo feito para determinação da quantidade de ferro em farinhas comerciais de trigo, utilizando absorção atômica, a concentração de ferro adicionado determinada por Soeiro, *et al*, (2010), variou de 5,1 a 9,4 mg.100 g⁻¹ (em média 7,4 mg.100 g⁻¹) e determinadas por BUZZO, *et al*, (2012) os valores médios de ferro encontrados, foram de 5,4 mg.100 g⁻¹, o que de acordo com esses autores, a

variação de valores podem estar relacionados a problemas de homogeneização do mineral, não havendo controle adequado no procedimento de fortificação.

5.7.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas

Na tabela 12, estão os valores determinados para a quantidade de ferro presente no amido após a modificação.

Tabela 12: Resultado para concentração de ferro: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Amostras	Quantidade de ferro (mg/g)
(a10)	5,82± 0,13 ^a
(a15)	5,58±0,15 ^c
(a20)	5,72±0,19 ^b
(b10)	0,00±0,00 ^d
(b15)	0,00±0,00 ^d
(b20)	0,00±0,00 ^d

(*)Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey(p>0,05).

Após a modificação, houve diminuição dos valores referentes à quantidade de ferro em comparação com o amido nativo. Isso pode ter ocorrido devido à perda do mineral pela temperatura utilizada durante a modificação. Apesar disso, pode ser observado que o ferro possui boa estabilidade a altas temperaturas, o que é um requisito para ser utilizado como ingrediente de enriquecimento em farinhas.

Com relação ao amido sem ácido fólico e ferro, os valores determinados para a concentração de ferro no amido, foram os mesmos valores determinados no amido nativo.

É importante destacar que as farinhas enriquecidas, com ácido fólico e ferro, a serem utilizadas como ingredientes para o preparo de alimentos como pães, massas, bolos e biscoitos, durante o preparo desses alimentos, podem ocorrer perdas da vitamina por degradação e solubilização (SOEIRO, *et al*, 2010)

5.8 Parâmetro de cor

As médias obtidas para a luminosidade (L^*) e parâmetros que indicam direção de cor para a^* e b^* podem ser observados nas tabelas 13 e 14, para os amidos nativos e para as amostras modificadas fisicamente.

5.8.1 Amido nativo

Os parâmetros de luminosidade e cor para os amidos nativos de trigo em presença e ausência de ácido fólico e ferro estão representados na tabela 13.

O parâmetro L^* indica a luminosidade, variando para a coloração branca (+) à preta (-), a^* , indica a direção e pode indicar para o vermelho (+) e verde (-), e o parâmetro b^* , que pode indicar a cor amarela (+) ao azul (-).

Tabela 13: Parâmetro luminosidade e cor: (a) Amido nativo de trigo com ácido fólico e ferro, (b) Amido nativo de trigo sem ácido fólico e ferro.

Amostras	L^*	a^*	b^*
(a)	94,55±0,43 ^b	-0,71±0,02 ^a	3,04±0,05 ^a
(b)	96,03±0,06 ^a	-0,79±0,01 ^a	1,83±0,02 ^b

(*)Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Para a luminosidade, que indica a cor branca, esse parâmetro foi maior para o amido em ausência de ácido fólico e ferro.

Com relação ao parâmetro a^* , este indicou uma tendência à coloração verde, não havendo diferença significativa entre as duas amostras. Para o b^* , a amostra com ácido fólico e ferro, apresentou maior tendência à cor amarela.

Portanto o amido nativo sem ácido fólico e ferro reflete maior luminosidade e apresenta uma coloração mais branca, o que está de acordo por ter sido extraído de uma farinha com ausência de ácido fólico e ferro, que possuem colorações amareladas.

Segundo, Martínez-Navarrete, *et al*, (2002), as farinhas de cereais, são atualmente os veículos mais utilizados para fortificação. A escolha da fonte de ferro para o enriquecimento dessas farinhas, principalmente a farinha de trigo, depende

da solubilidade, sabor, cor, estabilidade, índice higroscópico e oxidação. O problema com relação à coloração dessas farinhas é a escolha de um composto de ferro biodisponível que não provoque alterações perceptíveis, das quais não são desejadas aos produtos.

De acordo com Gama, *et al*, (2010), os conceitos de cor, temperatura de cor e fontes-padrão de luz, podem indicar a percepção dos alimentos em relação aos parâmetros empregados no seu controle de qualidade, portanto, colorações mais claras são melhores aceitas pelo consumidor.

5.8.2 Amido modificado por umidade e temperatura controladas

Os parâmetros de luminosidade e cor para os amidos de trigo em presença e ausência de ácido fólico e ferro, modificados fisicamente por HMT, com 10, 15 e 20% de umidade, estão representados na tabela 14.

Tabela 14: Resultado parâmetro de cor: (a10) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (a15) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (a20) amido de trigo com ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade, (b10) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 10% de umidade, (b15) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 15% de umidade, (b20) amido de trigo sem ácido fólico e ferro modificado por HMT, 20% de umidade.

Amostras	L*	a*	b*
(a10)	93,09±0,12 ^c	-0,32±0,01 ^c	6,18±0,07 ^a
(a15)	94,95±0,05 ^a	-0,71±0,05 ^b	3,46±0,08 ^d
(a20)	92,94±0,10 ^c	-0,07±0,03 ^d	5,98±0,03 ^b
(b10)	93,98±0,02 ^b	-0,68±0,00 ^b	4,03±0,04 ^c
(b15)	92,67±0,44 ^c	-0,72±0,04 ^b	3,53±0,12 ^d
(b20)	93,77±0,22 ^b	-0,83±0,03 ^a	2,73±0,02 ^e

(*)Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey(p>0,05).

Com relação à luminosidade, em comparação ao amido nativo, apenas o amido com ácido fólico e ferro, modificado com 15% de umidade teve valor para esse parâmetro aumentado. As outras amostras tiveram diminuição na sua luminosidade, que indica tendência à diminuição em refletir a cor branca.

Para o parâmetro b^* , o valor positivo indicou um aumento nesse parâmetro, que é relacionado ao amarelo, portanto, todas as amostras apresentaram tendência ao amarelamento após a modificação.

Para os amidos de trigo sem ácido fólico e ferro, pode ser observado que houve a diminuição ao amarelamento conforme o teor de umidade utilizada na amostra para modificação aumentou, indicando que quanto maior a umidade utilizada na modificação por HMT, menor será a tendência ao amarelamento.

Andrade, *et al*, (2014), observaram que após o tratamento por HMT, utilizando amido de mandioca, modificados com teores de umidades nas proporções de 10, 20 e 30% a 121 °C, por 1 hora, houve uma tendência ao amarelamento em comparação com o amido nativo, após o tratamento.

Na prática, apesar de trabalhar adequadamente com instrumentos bem calibrados, as diferenças nas respostas podem afetar o processo de controle de qualidade principalmente para amostras submetidas a pequenas faixas de tolerância, do que aquelas que estão sujeitas a uma maior variação (KORIFI, *et al*, 2013).

A cor é um atributo que caracteriza os objetos que se constitui num dos principais critérios para aceitação ou não do mesmo. É clara a importância da cor em qualquer material, uma vez que ela é um dos primeiros contatos visuais, podendo indicar de forma imediata sua finalidade (MORI, *et al*, 2005).

6 CONCLUSÕES

As curvas Termogravimétricas, para todas as amostras foram semelhantes, com três perdas de massa (primeira, segunda e terceira perdas referentes à desidratação, decomposição e oxidação da matéria orgânica), sendo mais claramente observadas essas três perdas com as curvas de Termogravimetria Derivada, sobrepostas às curvas TG. Os amidos apresentaram pouca variação para perda de massa para os amidos nativos nas fases de decomposição e oxidação da matéria orgânica. Com relação à temperatura e a estabilidade em que ocorreram todas as perdas, também houve pouca variação para as duas amostras. Após a modificação, ocorreu diminuição nos valores para a primeira perda, aumento na segunda, sendo que esse valor foi gradual para o amido com ácido fólico e ferro conforme aumento da umidade e diminuição nos valores referentes a terceira perda de massa.

Nas curvas de Calorimetria Exploratória Diferencial, os resultados de temperaturas iniciais, de pico, de conclusão foram semelhantes para os amidos nativos com entalpia de gelatinização diferente, sendo maior para o amido sem ácido fólico e ferro, e após a modificação, para todos os amidos, tanto as entalpias de gelatinização como as temperaturas de início, pico e conclusão foram menores. Para o amido de trigo com ácido fólico e ferro, ocorreu diminuição gradual do ΔH_{gel} , conforme aumento da umidade utilizada durante a modificação.

Os difratogramas obtidos com as análises de Difração de Raios X mostraram que todos os amidos, apresentaram padrão de difração do tipo “A”, típico para amido de cereais. Para os amidos nativos, não houve deslocamento acentuado de pico, ocorrendo porém deslocamento de uma unidade para outra para todos os amidos modificados fisicamente. Para os amidos nativos, a cristalinidade não teve diferença significativa e para os amidos modificados fisicamente, em presença de ácido fólico e ferro, apresentaram diminuição de cristalinidade conforme ocorreu aumento da umidade e para os amidos com ausência de ácido fólico e ferro, estes apresentaram as cristalinidades aumentadas, conforme aumento da umidade durante a modificação.

Com a utilização da técnica de Microscopia de Força Atômica (AFM), modo não-contato, pode ser verificado que todos os amidos de trigo, nativos e modificados, apresentaram distribuição de tamanho bimodal, com grânulos maiores,

que se caracteriza o tipo A, com formato lenticular e grânulos menores, caracterizados como do tipo B, com formato arredondado. Com relação a rugosidade, o amido com ácido fólico e ferro apresentou maior rugosidade, e após a modificação, todos os amidos tiveram a rugosidade aumentada. Também foram observados pequenos furos e canais, que são característicos dos grânulos.

Nos viscoamilogramas pode-se verificar que o pico de viscosidade mais alto de viscosidade ocorreu para o amido nativo com ácido fólico e ferro, porém após a modificação do amido sem ácido fólico e ferro, as amostras modificadas com 15 e 20 % de umidade tiveram maior pico em comparação com os amidos nativos. Após a modificação, houve aumento da temperatura de pasta e diminuição para o pico de viscosidade e viscosidade final para os amidos com ácido fólico e ferro.

Com relação ao teor de ferro, determinado por Espectrometria de Absorção Atômica, modo chama, o amido sem ácido fólico e ferro apresentou ausência de ferro na sua composição, e o amido com ácido fólico e ferro, apresentou pouca perda após a extração da farinha.

Com relação ao parâmetro de cor, a amostra com ausência de ácido fólico e ferro apresentou maior luminosidade e tendência à cor branca em comparação com o amido com ácido fólico e ferro. Após a modificação, todas as amostras tiveram aumento no parâmetro b^* , indicando tendência ao amarelamento sendo que para o amido sem ácido fólico e ferro, houve a diminuição ao amarelamento conforme o teor de umidade utilizada na amostra para modificação aumentou.

Portanto entende-se que os grânulos de amido de trigo possuem varias características que podem influenciar no comportamento estrutural, reológico e térmico. Após a modificação, as amostras de amido com ácido fólico e ferro apresentaram comportamento que indica que esses dois nutrientes, podem interferir nas propriedades do amido.

7 REFERÊNCIAS

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.

AKHTAR, S.; ANJUM, F. M.; ANJUM, M. A. Micronutrient fortification of wheat flour: Recent development and strategies. **Food Research International**, v. 44, p.652–659, 2011.

ALBERS, A. P. F. *et al.* Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, v. 48, n. 305, p. 34-37, 2002.

ALBERTON, C. *et al.* Thermal analysis, rheology, X-Ray diffractometry and atomic force microscopy in the evaluation of binary mixtures of “starch-hidrocolloids”. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 3, n. 4, p. 305-309, 2014.

ALTAY, F.; GUNASEKARAN, S. Influence of Drying Temperature, Water Content, and Heating Rate on Gelatinization of Corn Starches. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4235–4245, 2006.

ANDRADE, M. M. P. *et al.* Effects of heat-moisture treatment on organic cassava starch: a thermal, rheological and structural study. **Journal of Thermal analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2115-2122, 2014.

AO, Z.; JANE, J-L. Characterization and modeling of the A- and B-granule starches of wheat, triticale, and barley. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 46–55, 2008.

AROCAS, A.; SANZ, T.; FISZMAN, S. M. Clean label starches as thickeners in white sauces. Shearing, heating and freeze/thaw stability. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 2031–2037, 2009.

ASCHERI, D. P. R. *et al.* Caracterização física e físico-química de rizomas e amido do Lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*). **Pesquisa agropecuária**, v. 40, n. 2, p. 159-166, 2010.

BALDWIN, P. M. *et al.* High Resolution Imaging of Starch Granule Surfaces by Atomic Force Microscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 27, p. 255–265, 1998.

BALDWIN, P. M.; DAVIES, M. C.; MELIA, C. D. Starch granule surface imaging using low-voltage scanning electron microscopy and atomic force microscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 21, p. 103–107, 1997.

BARRERA, G. N. *et al.* Evaluation of the mechanical damage on wheat starch granules by SEM, ESEM, AFM and texture image analysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p.1449–1457, 2013.

BENINCA, C. *et al.* The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. **Thermochimica Acta**, v. 552, p. 65–69, 2013.

BERNAL, C. *et al.* Influência de alguns Parâmetros Experimentais nos Resultados de Análise Calorimétrica Diferencial, DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BICUDO, S. M. W. **Caracterização de amido nativo de diferentes fontes botânicas através de técnicas termoanalíticas e teor de amilose**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, 2008.

BORGES, D. G. *et al.* Fundamentos das espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analítica**, n. 18, p. 58-67, 2005.

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

BURRELL, M. M. Starch: the need for improved quality or quantity-an-overview. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 382, p. 451-456, 2003.

BUZZO, M. L. *et al.* Monitoramento de farinha de trigo e de milho fortificadas com ferro. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 4, p. 645-649, 2012.

BLAZEK, J.; COPELAND, L. Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylose content. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 380–387, 2008.

BLAZEK, J.; GILBERT, E. P. Application of small-angle X-ray and neutron scattering techniques to the characterisation of starch structure: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 281–29, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico. Diário Oficial da União, Brasília, 13 de dezembro de 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução 354, de 1996. Aprova Regulamento técnico sobre as características mínimas de qualidade a que deverá obedecer a farinha de trigo. Diário Oficial da União. Brasília, 22 de junho de 1996.

BORGHT, A. V. D. *et al.* Fractionation of wheat and wheat flour into starch and gluten: overview of the main processes and the factors involved. **Journal of Cereal Science**, v. 41, p. 221–237, 2005.

CANEVAROLO, S. V. **Ciência dos polímeros**: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2. ed. São Paulo, Artliber Editora, 2002. 279 p.

CAPRILES, V. D.; ARÊAS, J. A. G. Desenvolvimento de salgadinhos com teores reduzidos de gorduras saturadas e ácidos graxos trans. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 363-369, 2005.

CANTERI, M. G. *et al.* SASM-Agri – Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n. 2, p. 18-24, 2001.

CHEETHAM, 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.

COLMAN, T. A. D.; DEMIATE, I. M.; SCHITZLER, E. The effect of microwave radiation on some thermal rheological and structural properties of cassava starch. **Journal of Thermal analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2245-2252, 2012.

COPELAND, L. *et al.* Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1527–1534, 2009.

CORRADINI, E. *et al.* Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

DEWETTINCK, K. *et al.* Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 243-257, 2008.

ELFSTRAND, L. *et al.* Recrystallisation behaviour of native and processed waxy maize starch in relation to the molecular characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p.389–400, 2004.

ELIASSON, A-C. Differential Scanning Calorimetry Studies on Wheat Starch-Gluten mixtures I. Effect of Gluten on the Gelatinization of Wheat Starch. **Journal of Cereal**, v. 1, p. 199-205, 1983.

FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H. Microscopia de força atômica aplicada em imunoensaios. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 137-142, 2006.

FINNIE, S. M. *et al.* Variation in polar lipids located on the surface of wheat starch. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 73–80, 2010.

GAMA, T. M. M. T. B. *et al.* influência de tratamentos térmico no teor de amido, cor e aparência microscópica de pinhão nativo (*Araucária Angustifolia*) e pinhão proveniente de polinização controlada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 04, n. 02, p.161-178, 2010.

GIOLITO, I., IONASHIRO, M. A nomenclatura em análise térmica – Parte 2. **Cerâmica**, v. 34, p. 225, 1988.

GOESAERT, H. *et al.* Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 12–30, 2005.

GONÇALVES, M. F. V. *et al.* Tratamento térmico do amido de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) sob baixa umidade em micro-ondas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, n. 29, p. 270-276, 2009.

GUNARATNE, A.; CORKE, H. Effect of hydroxypropylation and alkaline treatment in hydroxypropylation on some structural and physicochemical properties of heat-moisture treated wheat, potato and waxy maize starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 305–313, 2007.

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

GUNARATNE, A.; RANAWEERA, S.; CORKE, H. Thermal, pasting, and gelling properties of wheat and potato starches in the presence of sucrose, glucose,

glycerol, and hydroxypropyl b-cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, p. 112–122, 2007.

GUTKOSKI, L. C. *et al.* Armazenamento da farinha de trigo enriquecida com ferro e ácido fólico e seu efeito na produção de pão de forma. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 1, p. 93-100, 2007.

HEIJBLUM, G. S.; SANTOS, L. M. P. Anemia ferropriva em escolares da primeira série do ensino fundamental da rede pública de educação de uma região de Brasília, DF. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 10, n. 2, p. 258-266, 2007.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S.B.S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HOOVER, H. *et al.* Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review Food. **Research International**, n. 43, p. 399–413, 2010.

HOOVER, H. *et al.* The effects of defatting and heat-moisture treatment on the retrogradation of starch gels from wheat, oat, potato, and lentil. **Carbohydrate Research**, v. 261, p. 13-24, 1994.

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

HORMDOKA, R.; NOOMHORM, A. Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. **LWT**, v. 40, p. 1723–1731, 2007.

HUNG, P. V. *et al.* Physicochemical characteristics and fine structure of high-amylose wheat starches isolated from Australian wheat cultivars. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p.656–663, 2008.

IONASHIRO, M. **Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial, Calorimetria Exploratória Diferencial**. Giz 2 ed, p. 10-44, 2005.

IONASHIRO M., CAIRES F.J., GOMES D.J.C. GIOLITO. **Fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial**. Giz, 2ed, p. 192, 2014.

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.

JAROSLAV, B.; GILBERT, E. P. Application of small-angle X-ray and neutron scattering techniques to the characterisation of starch structure: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 281–293, 2011.

JAYAKODY, L.; HOOVER, R. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins – A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 691–703, 2008.

JIRANUNTAKUL, W. *et al.* Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 246–258, 2011.

JOHNSON, D. J.; MILES, N. J.; HILAL, N. J. A review of atomic force microscopy applied to cell interactions with membranes. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 84, p. 282–292, 2006a.

JOHNSON, D. J.; MILES, N. J.; HILAL, N. J. Quantification of particle–bubble interactions using atomic force microscopy: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 127, p. 67-81, 2006b.

JOBLING, S. Improving starch for food and industrial applications. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p.210–218, 2004.

JUSZCZAK, L.; FORTUNA, T.; KROK, F. Non-contact Atomic Force Microscopy of Starch Granules Surface. Part I. Potato and Tapioca Starches. **Starch/Stärke**, v. 55, p. 1–7, 2003.

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

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

KIM, H-S.; HUBER, K. Channels within soft wheat starch A- and B-type granules. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 159–172, 2010a.

KIM, H-S.; HUBER, K. Impact of A/B-type granule ratio on reactivity, swelling, gelatinization, and pasting properties of modified wheat starch. Part I: Hydroxypropylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 94–104, 2010b.

KIM, J.; REN, C.; SHIN, M. Physicochemical properties of starch isolated from eight different varieties of Korean sweet potatoes. **Starch/Starke**, v. 65, p. 923–93, 2013.

KIM, H-S.; HUBER, K. Reaction patterns of wheat starch granules substituted with an anionic propylene oxide analog (POA) revealed by confocal microscopy and 3D anaglyph imaging. **Carbohydrate Polymers**, n. 95, p. 492–500, 2013.

KOPYCINSKA-MULLER, M.; GEISS, R. H.; HURLEY, D. C. Contact mechanics and tip shape in AFM-based nanomechanical measurements. **Ultramicroscopy**, v. 106, p. 466–474, 2006.

KLEIN, B., *et al.* Effect of single and dual heat–moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhao starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1578–1584, 2013.

KONG, L.; ZIEGLER, G. R. Fabrication of pure starch fibers by electrospinning. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 20-25, 2014.

KORIFI, R. *et al.* Dupuy, n. CIEL*a*b* color space predictive models for colorimetry devices – Analysis of perfume quality. **Talanta**, v. 104, p. 58–66, 2013.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberculosas amiláceas. **Ciência e tecnologia em alimentos**, v. 22, n. 1, p. 65-69, 2002.

LAN, R. *et al.* Impact of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of normal, waxy and high amylose bread wheat starches. **Food Chemistry**, v. 111, p. 663–675, 2008.

LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 579-588, 2007.

LEONEL, M. *et al.* Extração e caracterização do amido de diferentes genótipos de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 3, p. 599-605, 2011.

LI, E.; DHITAL, S.; HASJIM, J. Effects of grain milling on starch structures and flour/starch properties. **Starch/Starke**, v. 66, p. 15–27, 2014.

LIM, S. T.; CHANG, E. H.; CHUNG, H. J. Thermal transition characteristics of head – moisture treated corn and potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, p. 107-115, 2001.

LIMA, U. A. **Matérias primas dos alimentos**. Blucher Ed, p. p. 62, 2010.

LIMA. B. N. B. *et al.* Estudo do amido de farinhas comerciais comestíveis. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 486-490, 2012.

LIMA, J. A.; CATHARINO, R. R.; GODOY, H. T. Ácido fólico em leites e bebidas lácteas enriquecidos – estudo de vida de prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 82-87, 2004.

MAACHE-REZZOUG, Z. *et al.* Structural modifications and thermal transitions of standard maize starch after DIC hydrothermal treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 802–812, 2008.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MAMLEEVA, V., BOURBIGOTB, S. Modulated thermogravimetry in analysis of decomposition kinetics. **Chemical Engineering Science**, v. 60, p. 747–766, 2005.

MARQUES, M. F. *et al.* Fortificação de alimentos: uma alternativa para suprir as necessidades de micronutrientes no mundo contemporâneo. **Revista HU**, v. 38, n. 1, p. 79-86, 2012.

MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. *et al.* Iron deficiency and iron fortified foods—a review. **Food Research International**, v. 35, p. 225–231, 2002.

MATSUKI, J. *et al.* Effects of Environmental Temperature on Structure and Gelatinization Properties of Wheat Starch. **Cereal Chemistry**, v. 80, n. 4, p. 476-480, 2003.

MARTÍNEZ, M. M. *et al.* Influence of marine hydrocolloids on extruded and native wheat flour pastes and gels. **Food Hydrocolloids**, p. 1-8, 2014.

MENDES, M. L. M.; BORA, P. S.; RIBEIRO, A. P. L. Propriedades morfológicas e funcionais e outras características da pasta do amido nativo e oxidado da amêndoa do caroço de manga (*Mangifera indica* L.), variedade Tommy Atkins. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 76-84, 2012.

MOHAMED, A. A.; RAYAS-DUARTE, P. The effect of mixing and wheat protein/gluten on the gelatinization of wheat starch. **Food Chemistry**, v. 81, p. 533–545, 2003.

MORI, C. L. S. O. *et al.* Caracterização da cor da madeira de clones de híbridos de *Eucalyptus* spp. **Cernes**, v. 11, n. 2, p. 137-146, 2005.

NAGULESWARAN, S. *et al.* Amylolysis of large and small granules of native triticales, wheat and corn starches using a mixture of α -amylase and glucoamylase. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 864–874, 2012.

NODA, T.; KOBAYASHI, T.; SUDA, I. Effect of soil temperature on starch properties of sweet potatoes. **Carbohydrate Polymers**, v. 44, p. 239-246, 2001.

OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, p. 375-382, 1997.

OHTANI, T. *et al.* High-resolution imaging of starch granule structure using atomic force microscopy. **Starch/Stärke**, v. 52, p. 150-153, 2000.

OZAWA, T. Thermal analysis D, review and prospect. **Thermochimica Acta**, v. 355, p. 35-42, 2000.

PAULA, C. D. *et al.* Características físico-químicas e morfológicas de rizoforos de inhame. **Biotecnologia, setor agropecuário e agroindustrial**, v. 10, n. 2, p. 61-70, 2012.

PASCOAL, A. L. *et al.* Extraction and chemical characterization of starch from *S. lycocarpum* fruits. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1304–1310, 2013.

PEREIRA, J. G. *et al.* Termogravimetria: um novo enfoque para a clássica determinação de cálcio. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1661-1666, 2009.

PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D. Rice starch vs. Rice flour: Differences in their properties when modified by heat–moisture treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 85–91, 2013.

PRIMO-MARTIN, C. *et al.* Crystallinity changes in wheat starch during the bread-making process: Starch crystallinity in the bread crust. *Journal of Cereal Science*, v. 45, p.219–226, 2007.

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

RODRÍGUEZ, P.; MARTIN, M. E. S. CRUZ, G. G. Calorimetría diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. **Superficies y Vacío**, v. 13, p. 61-65, 2001.

RUDI, H. *et al.* Genetic variability in cereal carbohydrate compositions and potentials for improving nutritional value. **Animal Feed Science and Technology**, v. 130, p. 55–65, 2006.

SANT'ANNA, V. *et al.* Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. **Dyes and Pigments**, v. 98, p. 601-608, 2013.

SCHEUER, P. M. *et al.* Trigo: Características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 211-222, 2011.

SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. S. Resistant Starch— A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, p. 1-17, 2006.

SALERNO, M. *et al.* High resolution imaging of native wheat and potato starch granules based on local mechanical contrast. **Journal of Food Engineering**, v.128, p. 96–102, 2014.

SANDHU, K. S.; SINGH, N. Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. **Food Chemistry**, v. 101, p. 499–1507, 2007.

SHIN, S. I. *et al.* Effect of Hydrothermal Treatment on Formation and Structural Characteristics of Slowly Digestible Non-pasted Granular Sweet Potato. **Starch. Starch/Stärke**, v. 57, p. 421–430, 2005.

SILVA, G. O. *et al.* Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício no Brasil. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 188-197, 2006.

SILVA, R. M. *et al.* Características físico-químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, n. 29, p. 270-276, 2008.

SILVA, C. P.; Voigt, C. L.; Campos, S. X. Determinação de Íons Metálicos em Cigarros Contrabandeados no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 20, n. 20, 2014.

SINGH, N. *et al.* Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219–231, 2003.

SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. M. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1–22, 2007.

SINGH, G. D. *et al.* Influence of heat-moisture treatment and acid modifications on physicochemical, rheological, thermal and morphological characteristics of Indian water chestnut (*Trapa natans*) starch and its application in biodegradable films. **Starch/Stärke**, v. 61, p. 503–513, 2009.

SINGH, J.; MCCARTHY, O. J.; SINGH, H. Physico-chemical and morphological characteristics of New Zealand Taewa (Maori potato) starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, p. 569–581, 2006.

SLAVIN, J. Whole grains and human health. **Nutrition Research Reviews**, v. 17, p. 1-11, 2004.

SOEIRO, B. T. *et al.* Investigação da qualidade de farinhas enriquecidas utilizando Análise por Componentes Principais (PCA). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 618-624, 2010.

SOUSA, F. P.; LUCIANO, M. A.; PASA, V. M. D. Thermogravimetry and Viscometry for Assessing the Ester Content (FAME and FAEE). **Fuel Processing Technology**, v. 109, p. 133-140, 2013.

SWEEDMAN, M. C. *et al.* Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 905– 920, 2013.

TAKAYA T.; SANO, C.; NISHINARI, K. Thermal studies on the gelatinisation and retrogradation of heat–moisture treated starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 97–100, 2000.

TANG, M. C.; COPELAND, L. Investigation of starch retrogradation using atomic force microscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, p. 1–7, 2007.

TANG, M. C.; MITSUNAGA, T.; KAWAMURA, Y. Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 555–560, 2006.

TENG, L. Y.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y. A. Rheological and textural studies of fresh and freeze-thawed native sago starch -sugar gels. Comparisons with other starch sources and reheating effects. **Food Hydrocolloids**, v. 31, p.156-165, 2013.

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

VORA, A. *et al.* Thermal stability of folic acid in the solid-state. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 75, p. 709–717, 2004.

WALTER, M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 974-980, 2005.

WALKER, C. F. *et al.* Interactive effects of iron and zinc on biochemical and functional outcomes in supplementation trials. **Journal Clinical and Nutrition**, v. 2, n. 5, p. 5–12, 2005.

WATCHARATEWINKUL, Y. *et al.* D. Pasting properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 505–511, 2009.

WENDLANDT, W. WM. **Thermal Analysis**, Wiley Interscience publication, Ed.: 3, p.815, 1986.

XIE, X. *et al.* Rong Tsao Isolation and characterization of wheat bran starch. **Food Research International**, v. 41, p. 882–887, 2008.

YADAV, B. S.; GULERIA, P.; YADAV, R.B. Hydrothermal modification of Indian water chestnut starch: Influence of heat-moisture treatment and annealing on the physicochemical, gelatinization and pasting characteristics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, p. 211-217, 2013.

YAMAZAKI, W. T.; DONELSON, J. R.; KNOLEK, W. F. Effects of flour fraction composition on cookie diameter. **Cereal Chemists**, v. 54, n. 2, p. 352-360, 1977.