

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

GEISA LIANDRA DE ANDRADE DE SIQUEIRA

**EFEITO DO TRATAMENTO ÁCIDO EM MEIO AQUOSO E ALCOÓLICO NA
MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE PINHÃO (*Araucaria angustifolia*)**

PONTA GROSSA

2017

GEISA LIANDRA DE ANDRADE DE SIQUEIRA

**EFEITO DO TRATAMENTO ÁCIDO EM MEIO AQUOSO E ALCOÓLICO NA
MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE PINHÃO (*Araucaria angustifolia*)**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa-PR.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lazzarotto
Coorientador (a): Prof. Dra. Rossana Catie Bueno de Godoy.

PONTA GROSSA

2017

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

S618 Siqueira, Geisa Liandra de Andrade de
Efeito do tratamento ácido em meio
aquoso e alcoólico na modificação do amido
de pinhão (*Araucaria angustifolia*)// Geisa
Liandra de Andrade de Siqueira. Ponta
Grossa, 2017.
120f.

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

Orientador: Prof. Dr. Marcelo
Lazzarotto.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Rossana Catie
Bueno de Godoy.

1. Amido modificado. 2. Modificação ácida
aquosa e alcoólica. 3. TG-DTA. 4. DSC.
5. RVA. I. Lazzarotto, Marcelo. II. Godoy,
Rossana Catie Bueno de. III. Universidade
Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. IV. T.

CDD: 664.7

TERMO DE APROVAÇÃO

GEISA LIANDRA DE ANDRADE DE SIQUEIRA


EFEITO DO TRATAMENTO ÁCIDO EM MEIO AQUOSO E ALCOÓLICO NA MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE PINHÃO (*Araucaria angustifolia*).

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. Marcelo Lazzarotto – EMBRAPA /PR



Prof. Dr. Flávio Junior Caires – UNESP /Bauru



Prof. Dr. Egon Schnitzler – UEPG /PR

Ponta Grossa, 10 de fevereiro de 2017.

Dedico esta dissertação à minha mãe Alaide, ao meu pai José (*in memoriam*), ao meu marido Daniel, à minha irmã Gipsi e aos demais familiares e amigos que estiveram comigo nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pelo dom da vida, por todas as bênçãos recebidas e pela oportunidade de realizar mais este sonho.

À minha mãe Alaide que sempre incentivou meus estudos e me apoiou em todos os momentos com seu amor e dedicação incondicionais. Ao meu pai José (*in memoriam*) que com certeza esteve presente espiritualmente ao meu lado me encorajando na busca da concretização de mais esta etapa da minha vida.

Ao meu esposo Daniel pelo amor, companheirismo, paciência e incentivo para alcançar meus objetivos e por acreditar que conseguiria concluir mais esta etapa.

À minha irmã Gipsi, cunhado Gustavo, afilhada Giovanna, sogra Eliane, tios Francisca e Nilton, primos Letícia e Ruy e demais familiares que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em todas as decisões e torcendo pelo meu sucesso.

Aos meus padrinhos de crisma Celita e Odivair que me ofereceram hospedagem, amor, carinho e incentivo durante toda a trajetória do mestrado.

Ao Prof^o Dr. Marcelo Lazzarotto pela orientação, confiança, amizade e apoio, com quem aprendi não somente os ensinamentos para a carreira científica e pertinentes a esta dissertação, mas também para a vida.

À querida amiga Prof^a Dra Rossana de Godoi pela coorientação, amizade e incentivo desde o início do mestrado e pela ajuda direcionada ao acompanhamento e revisão deste estudo.

Aos Professores integrantes da banca examinadora, Dr. Egon Schnitzler, Dr. Ivo Demiate, Dr. Luís Gustavo Lacerda e ao Dr. Flávio Caires pelas correções e sugestões que muito contribuíram no enriquecimento deste trabalho.

À minha querida amiga Prof^a Dra. Cilene Ribeiro que sempre me incentivou a seguir na carreira acadêmica desde a faculdade e pela confiança e ajuda que me ofereceu para ir em busca do mestrado. À querida amiga Maria de Fátima pela parceria e apoio desde o processo seletivo do mestrado e que sempre acreditou que tudo isto seria possível.

Às minhas queridas amigas Simone e Polyanna que me ajudaram desde o início, pela amizade sincera, conversas, ensinamentos, parceria e apoio que foram de suma importância para a realização deste trabalho.

À querida amiga Leydi pela amizade, ajuda e conversas de apoio que foram fundamentais para a concretização desta pesquisa. Aos meus colegas de turma (José, Taís, Camila, Laércio e Jânio) pela parceria, ensinamentos e auxílio durante os dois anos de curso.

Às minhas queridas amigas Deborah e Francielen pela amizade, companheirismo, ajuda e incentivo diário que foram essenciais para a conclusão desta dissertação. Aos queridos amigos Tainise, Bruno, Suellen e Fabiane pela amizade e parceria durante o período que estive na Embrapa. As queridas alunas de Iniciação Científica (Maryana e Ana Cláudia) pela ajuda na dissertação e parceria de trabalhos efetuados durante o mestrado. Aos demais amigos que me incentivaram e torceram para que conseguisse conquistar os meus sonhos e objetivos.

Aos profissionais da Embrapa Florestas por toda ajuda durante a revisão bibliográfica, coleta de dados e análises instrumentais (Tiélidy Lima, Cristiane Helm, Elizabeth Câmara, Simone Sopchaki, Dayanne Andrade, Yeda de Oliveira).

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e a Embrapa Florestas por proporcionarem todo o suporte necessário ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores, alunos, ex-alunos e funcionários do programa MESCTA, DEA e C-LabMu que contribuíram para a elaboração desta dissertação.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado e ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

MUITO OBRIGADA!!!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

(José de Alencar)

RESUMO

Araucaria angustifolia (Bert.) O. Kuntze é uma conífera presente nas florestas brasileiras e as suas sementes apresentam alto teor de amido. Os pinhões utilizados nesta pesquisa foram provenientes de materiais genéticos e selecionados com base em testes preliminares por apresentarem temperatura de gelatinização inferior a 60°C. Esta é considerada uma característica interessante e vantajosa, podendo economizar tempo e energia durante o processo de gelatinização do amido. O amido na sua forma natural apresenta limitações, portanto uma das alternativas é a hidrólise ácida que tem o intuito de alterar as suas propriedades físico-químicas. Este tratamento aliado a solução alcoólica apresenta a capacidade de recuperar grande parte do grânulo. O objetivo deste estudo foi identificar os efeitos da modificação ácida em meio aquoso e alcoólico de amidos de pinhão (*A. angustifolia*) com temperaturas de gelatinização abaixo de 60 °C. As amostras foram avaliadas quanto ao pH e Colorimetria, por análise térmica (TG-DTA e DSC), pelo comportamento reológico (RVA), por análises estruturais (DRX e MEV) e por análises estatísticas (ANOVA e Tukey). A recuperação do grânulo de amido foi maior no meio aquoso e no meio alcoólico os valores ficaram próximos a 90% de recuperação. Os valores de pH comprovaram que o processo eliminou o ácido utilizado na modificação e a colorimetria identificou a coloração branca e levemente amarela para ambos os acessos, mostrando que os tratamentos não alteraram as características colorimétricas dos amidos de pinhão. Nas curvas TG-DTA em ar sintético foram observadas três perdas de massa. As amostras nativas apresentaram diferença no DTA e as temperaturas finais demonstraram maior resistência térmica dos amidos. Nas curvas TG-DTA em nitrogênio foram encontradas duas perdas de massa. As amostras tratadas apresentaram semelhança no DTA e as temperaturas finais não foram alteradas devido à atmosfera inerte. Na análise de DSC, a T_c e a ΔH_{gel} não apresentaram diferenças significativas, apenas no T_o e T_p . Os tratamentos mais intensos mostraram leve resistência térmica e menor ΔH_{gel} . No RVA foi observado redução nos parâmetros de viscosidade conforme a intensidade do tratamento. O DRX identificou o padrão do tipo C para os amidos e a cristalinidade relativa aumentou conforme a intensidade da hidrólise ácida. Pelo MEV foram observadas alterações superficiais nos grânulos. Diante dos resultados encontrados, os amidos de pinhão demonstraram ser promissores para aplicações industriais visando *specialties*, ou seja, para produtos com escala reduzida. O intuito é estimular os pequenos produtores, proporcionar agregação de valor ao produto final e a manutenção da espécie *A. angustifolia*.

Palavras chaves: amido modificado, modificação ácida aquosa e alcoólica, TG-DTA, DSC, RVA, DRX, MEV.

ABSTRACT

Araucaria angustifolia (Bert.) O. Kuntze is a conifer present in Brazilian forests and its seeds are high in starch. The pinhões used in this research were derived from genetic material and selected based on preliminary tests because they presented a gelatinization temperature below the 60 °C. This is considered an interesting and advantageous feature, which can save time and energy during the starch gelatinization process. Starch in its natural form has limitations, so one of the alternatives is acid hydrolysis, which has the purpose of altering its physicochemical properties. This treatment combined with alcoholic solution has the ability to recover majority of the granule. The aim of this study was to identify the effects of acidic modification on aqueous and alcoholic solutions of pinhão starches (*A. angustifolia*) with gelatinization temperatures below of 60 °C. The samples were evaluated for pH and Colorimetry by thermal analysis (TG-DTA e DSC), by rheological behavior (RVA), by structural analysis (XRD and SEM) and by statistical analysis (ANOVA and Tukey). The recovery of the starch granule was higher in the aqueous medium and in the alcoholic solution; the values were close to 90% recovery. The pH values showed that the process eliminated the acid used in the modification and the Colorimetry identified the white and slightly yellow coloration for both accessions, showing that the treatments did not alter the colorimetric characteristics of the pinhão starches. In the TG-DTA curves in synthetic air, three mass losses were observed. The native samples presented a difference in the DTA and the final temperatures showed a higher thermal resistance of the starches. In the TG-DTA curves in nitrogen, two mass losses were found. The treated samples showed similarity in DTA and the final temperatures were not changed due to the inert atmosphere. In the DSC analysis, T_c and ΔH_{gel} did not show significant differences, only in T_o and T_p . The most intense treatments showed light thermal resistance and lower ΔH_{gel} . In the RVA, a reduction in the viscosity parameters was observed according to the intensity of the treatment. XRD identified the type C pattern for starches and relative crystallinity increased as the acid hydrolysis rate increased. Superficial changes in the granules were observed by SEM. Considering the results found, the pinhão starches demonstrated to be promising for industrial applications aiming *specialties*, that is, for products with reduced scale. The intention is to stimulate small producers, provide benefits to the final product and the maintenance of the species *A. angustifolia*.

Keywords: modified starch, aqueous and alcoholic acid modification, TG-DTA, DSC, RVA, XRD, SEM.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	<i>Araucaria angustifolia</i> (Bert.) O. Kuntze.....	19
FIGURA 2	Área de ocorrência da Floresta Ombrófila Mista da região sul do Brasil.....	22
FIGURA 3	Área de remanescentes da Floresta Ombrófila Mista da região sul do Brasil.....	22
FIGURA 4	Mapa do Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina.....	23
FIGURA 5	Visão externa do pinhão com revestimento.....	24
FIGURA 6	Visão interna do pinhão com revestimento.....	24
FIGURA 7	Pinhões crus sem revestimento.....	24
QUADRO 1	Produção de pinhão no Brasil por estados.....	26
FIGURA 8	Produção de pinhão no Brasil por ano em mil toneladas.....	27
FIGURA 9	Estrutura molecular da amilose.....	29
FIGURA 10	Estrutura molecular da amilopectina.....	30
FIGURA 11	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do amido de pinhão.....	37
FIGURA 12	Interação e origem de alguns elétrons com a amostra.....	47
FIGURA 13	Fluxograma do procedimento experimental.....	49
FIGURA 14	Etapas principais do processo de modificação do amido por hidrólise ácida.....	51
FIGURA 15	Representação esquemática do sistema de avaliação de cor.....	53

FIGURA 16	Curva de viscosidade típica do RVA mostrando os parâmetros.....	55
FIGURA 17	Parâmetros para o cálculo do grau de cristalinidade relativa.....	56
FIGURA 18	Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso C em ar sintético.....	64
FIGURA 19	Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso I em ar sintético.....	65
FIGURA 20	Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso C em nitrogênio.....	71
FIGURA 21	Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso I em nitrogênio.....	72
FIGURA 22	Curvas DSC das amostras de amidos de pinhão acesso C.....	76
FIGURA 23	Curvas DSC das amostras de amidos de pinhão acesso C.....	76
FIGURA 24	Curvas RVA das amostras de amidos de pinhão acesso C.....	81
FIGURA 25	Curvas RVA das amostras de amidos de pinhão acesso I.....	82
FIGURA 26	Curvas da análise de DRX para as amostras de amidos de pinhão acesso C.....	87
FIGURA 27	Curvas da análise de DRX para as amostras de amidos de pinhão acesso I.....	88
FIGURA 28	Microimagens de MEV das amostras de amido de pinhão acesso C.....	95
FIGURA 29	Microimagens de MEV das amostras de amido de pinhão acesso I.....	96

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Recuperação dos grânulos de amidos de pinhão acesso C.....	58
TABELA 2	Recuperação dos grânulos de amidos de pinhão acesso I.....	59
TABELA 3	Determinação do pH das amostras de amidos de pinhão acesso C.....	60
TABELA 4	Determinação do pH das amostras de amidos de pinhão acesso I.....	60
TABELA 5	Resultados de Colorimetria cor das amostras de amido de pinhão acesso C.....	61
TABELA 6	Resultados de Colorimetria das amostras de amido de pinhão acesso I.....	62
TABELA 7	Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso C em ar sintético.....	66
TABELA 8	Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso I em ar sintético.....	67
TABELA 9	Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso C em nitrogênio.....	73
TABELA 10	Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso I em nitrogênio.....	74
TABELA 11	Valores de DSC obtidos das amostras de amido de pinhão acesso C.....	77
TABELA 12	Valores de DSC obtidos das amostras de amido de pinhão acesso I.....	78
TABELA 13	Resultados de RVA obtidos das amostras de amido de pinhão acesso C.....	83

TABELA 14	Resultados de RVA obtidos das amostras de amido de pinhão acesso I.....	84
TABELA 15	Picos obtidos através de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso C.....	89
TABELA 16	Picos obtidos através de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso I.....	90
TABELA 17	Resultados de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso C.....	91
TABELA 18	Resultados de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso I.....	92
TABELA 19	Diâmetro médio por MEV das amostras de amidos de pinhão acesso C.....	97
TABELA 20	Diâmetro médio por MEV das amostras de amidos de pinhão acesso I.....	98

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

TG	Termogravimetria
DTA	Análise Térmica Diferencial
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
T_o	Temperatura “onset”
T_p	Temperatura de pico
T_c	Temperatura de conclusão
ΔT	Variação de temperatura
ΔH_{gel}	Entalpia de gelatinização
RVA	Rápido Visco-Analisador
DRX	Difratometria de Raios X
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 <i>Araucaria angustifolia</i> (Bert.) O. Kuntze.....	19
3.2 Dados do mapeamento florestal da <i>A. angustifolia</i>	20
3.3 Pinhão.....	23
3.4 Produção de pinhão no Brasil.....	25
3.5 Amido em geral.....	27
3.5.1 Amilose.....	28
3.5.2 Amilopectina.....	29
3.5.3 Propriedades morfológicas e térmicas do grânulo de amido.....	30
3.5.4 Gelatinização.....	30
3.5.5 Retrogradação.....	32
3.6 Modificação do amido.....	33
3.6.1 Modificação ácida do amido.....	34
3.6.2 Modificação ácida do amido em meio metanólico e etanólico.....	35
3.7 Amido de pinhão.....	36
3.7.1 Extração do amido de pinhão.....	37
3.7.2 Modificação ácida do amido de pinhão.....	38
3.8 Determinação de pH.....	39
3.9 Colorimetria.....	39
3.10 Análise Térmica.....	40
3.10.1 Termogravimetria (TG).....	41
3.10.2 Análise Térmica Diferencial (DTA).....	42
3.10.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	43
3.11 Análise Viscoamilográfica (RVA).....	44
3.12 Difractometria de Raios X (DRX).....	45
3.13 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	46

4 MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1 Material.....	48
4.1.1 Matéria prima.....	48
4.1.2 Reagentes.....	48
4.2 Métodos.....	49
4.2.1 Fluxograma do procedimento experimental.....	49
4.2.2 Extração do amido.....	50
4.2.3 Modificação do amido por tratamento de ácido clorídrico em meio aquoso, metanólico e etanólico.....	50
4.2.4 Determinação de pH.....	52
4.2.5 Colorimetria.....	52
4.2.6 Análise Térmica.....	53
4.2.6.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial (TG-DTA)	53
4.2.6.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	53
4.2.7 Análise Viscoamilográfica (RVA).....	54
4.2.8 Difractometria de Raios X (DRX).....	56
4.2.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	57
4.2.10 Análises Estatísticas.....	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 Determinação de pH.....	59
5.2 Colorimetria.....	61
5.3 Análise Térmica.....	63
5.3.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial (TG-DTA) em ar sintético.....	63
5.3.2 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial (TG-DTA) em nitrogênio.....	70
5.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	75
5.5 Análise Viscoamilográfica (RVA).....	81
5.6 Difractometria de Raios X (DRX).....	87
5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	94
6. CONCLUSÃO	100
REFERENCIAS	102

1 INTRODUÇÃO

O pinhão é a semente da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze, pertencente à família *Araucariaceae* (KOCH e CÔRREA, 2002). Essa espécie encontra-se distribuída nos estados brasileiros do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, no nordeste da Argentina, no Paraguai e no Chile (CARVALHO, 2003).

O pinhão possui composição química variável apresentando proporções de nutrientes diferentes dentro da mesma espécie (GAMA et al., 2010). Esta semente crua contém valores médios de: amido (36%), proteínas (3%), lipídios (1%), açúcares solúveis (2,4%), além de fibras, minerais e compostos fenólicos (menor que 0,2 mg %) (BICUDO et al., 2009).

Existem poucas pesquisas que mencionam outras aplicações ao pinhão com o objetivo de aumentar o seu consumo. Uma alternativa promissora é a utilização do seu amido, porém o amido natural ou nativo apresenta limitações em função das condições de processamento e das características do produto final (CEREDA, 1996 e SPADA et al., 2013). O amido modificado é uma opção viável que tem sido empregada com o intuito de superar a maior parte das limitações dos amidos naturais e alavancar o seu uso em aplicações industriais (JIMENEZ et al., 2012; ZAMBRANO e CAMARGO, 2001).

Através da hidrólise ácida em meio alcoólico é possível um melhor controle da degradação molecular do amido. Justifica-se este fato pela diferença de penetração ao interior do grânulo do catalisador H_3O^+ , quando comparado com a mesma reação em meio aquoso. Assim permite a expansão do grânulo conforme o tempo de tratamento. Alguns estudos encontraram até 90% de recuperação do grânulo após a modificação (LIN; LEE e CHANG, 2003; LIN e CHANG, 2006; LIN et al., 2011). As alterações das características das amostras hidrolisadas em meio aquoso e alcoólico foram avaliadas através das análises termogravimétricas, pelo comportamento reológico e pelas análises estruturais.

A análise térmica apresenta atualmente um alto grau de sofisticação, conquistando espaço em vários setores da pesquisa, como por exemplo a identificação da funcionalidade e da estrutura das moléculas de amido. Dentre as ferramentas utilizadas nas análises termoanalíticas destacam-se a Termogravimetria

(TG), a Análise térmica diferencial (DTA) e a Calorimetria exploratória diferencial (DSC) (IONASHIRO; CAIRES e GOMES, 2014; LACERDA et al., 2008a).

A técnica reológica, utilizando o Rápido visco-analisador (RVA), é uma alternativa para realizar a interpretação de dados à respeito da taxa de deformação que o amido apresenta quando sujeito a uma tensão, poder de inchamento dos grânulos e estabelecimento dos perfis de gelatinização e empastamento (ZORTÉA et al., 2011).

As técnicas estruturais como Difratomia de raios X/ DRX (BENINCA et al., 2013a) e Microscopia eletrônica de varredura/ MEV (AMINI; RAZAVI e MORTAZAVI, 2015) são consideradas instrumentos importantes para determinar as modificações na porção cristalina do polímero e investigar as alterações morfológicas dos grânulos de amido.

Neste trabalho foram usados amidos de pinhão provenientes de materiais genéticos e selecionados com base em testes preliminares por apresentarem baixa temperatura de gelatinização (abaixo de 60 °C). Esta é considerada uma característica interessante e vantajosa pois economiza tempo e energia durante o processo de gelatinização do amido. Estes amidos foram submetidos a modificação ácida em meio aquoso e alcoólico. O intuito foi obter amidos de pinhão modificados com propriedades diferenciadas e com possível aplicação pelas indústrias.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar os efeitos da modificação ácida em meio aquoso e alcoólico de amidos de pinhão (*A. angustifolia*).

2.2 Objetivos Específicos

- 1- Obter amido isolado das sementes de *A. angustifolia*;
- 2- Modificar por hidrólise ácida em meio aquoso e alcóólico os amidos de pinhão de baixa gelatinização (abaixo de 60°C);
- 3- Caracterizar os amidos naturais e modificados usando técnicas termoanalíticas;
- 4- Determinar o comportamento reológico dos amidos naturais e modificados;
- 5- Verificar os grânulos de amidos naturais e modificados utilizando técnicas estruturais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze

A *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze, representada na Figura 1, pertencente à família *Araucariaceae*, é uma conífera antiga nas florestas brasileiras que apresenta um tronco reto e ramos horizontais, medindo cerca de 30 a 50 metros de altura e o diâmetro do tronco pode chegar a um metro ou até dois metros e meio (KOCH e CÔRREA, 2002). Também é conhecida como pinheiro-do-paraná, pinho, pinho-do-paraná, pinheiro-brasileiro, pinheiro-das-missões, curil, curi ou curiúva (nomes indígenas), dentre outros nomes. Esta espécie apresenta ampla ocorrência, desde a região Sudeste e Sul do Brasil, até Argentina e Paraguai. No sul do Brasil, distribui-se em altitudes médias de 600 a 800 m no Planalto Sul-Brasileiro, sendo que em algumas poucas áreas atinge mais de 1000 m (CARVALHO, 2003; CAPELLA et al., 2009; HENRÍQUEZ et al., 2008; HUECK, 1972).

Figura 1 - *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze



Fonte: A Autora.

O clima da região sul favoreceu o crescimento e a expansão das araucárias, porém, com o aumento das temperaturas ao longo dos anos, foi tornando esta conífera restrita as regiões de maiores altitudes, caracterizadas por um clima com temperaturas mais frias (KOCH e CÔRREA, 2002). Sua polinização ocorre entre os

meses de agosto e outubro e suas sementes, chamadas pinhões, são colhidas a partir de abril (GAMA et al., 2010). Esta árvore não possui apenas valor comercial, mas também cultural uma vez que faz parte da tradição dos povos do sul, tanto nas histórias populares quanto na culinária (CAPELLA et al., 2009, HENRÍQUEZ et al., 2008).

3.2 Dados do mapeamento florestal da *A. angustifolia*

De acordo com a Lei nº 11428 de 22 de dezembro de 2006, o Bioma Mata Atlântica é formado por um conjunto de formações florestais, dentre elas a Floresta Ombrófila Mista, a qual refere-se a área de ocorrência das Araucárias (BRASIL, 2006). No Brasil, a área original desta floresta era de aproximadamente 182.295 km² até início do século XX, em altitudes entre 500 a 2.300 m, sendo 40% da área no estado do Paraná (73.780 km²), 31% em Santa Catarina (56.693 km²), 25% no Rio Grande do Sul (46.482 km²), 3% em São Paulo (5.340 km²) e 1% da área no Rio de Janeiro e Minas Gerais (HUECK, 1972). A espécie *A. angustifolia* representa mais de 40% dos indivíduos da Floresta Ombrófila Mista, apresentando valores elevados de prevalência e periodicidade se comparado às demais espécies componentes desta associação e ainda protege diversas espécies da fauna e flora localizadas na região (SCHÄFFER e PROCHNOW, 2002).

Apesar da importância da *A. angustifolia*, durante a colonização da região sul as florestas foram exploradas sem preocupação com a preservação ou com o método extrativista, sendo a principal fonte madeireira do Brasil durante grande parte do século XX (KOCH e CÔRREA, 2002). A exploração desordenada da sua madeira, desmatamento e queimadas para aumento de território e ampliação das zonas urbanas, substituição da vegetação por pastagens, agricultura, reflorestamento com espécies exóticas e limitações de reprodução, são fatores que provocaram a redução da área das florestas originais (DANNER, ZANETTE e RIBEIRO, 2012; MEDEIROS, SAVI e BRITO, 2005).

Conforme alguns dados extraoficiais existem várias divergências em relação à estimativa real da quantidade de remanescentes pertencentes a Floresta Ombrófila Mista. Dados do Ministério do Meio Ambiente/ MMA (BRASIL, 2002b) informam que a área original não totaliza mais de 0,7%. Outras indicações mencionam o registro de 1 a 2% das áreas originais cobertas pela floresta com a

Araucária considerando os três estados da região Sul (KOCH e CÔRREA, 2002). No Paraná, estudos realizados pelo PROBIO Araucária (FUPEF, 2001), revelam a ocorrência de apenas 0,8% (66.109 hectares) da Floresta Ombrófila Mista, sendo que a distribuição dos remanescentes apresenta-se distribuída em parcelas pequenas e médias, mas inferior a 5.000 hectares. Uma das prováveis explicações para tanta divergência é a fonte de dados, ou seja, falta de mapeamentos oficiais, sendo os números obtidos por estimativas de especialistas. Outro problema é que alguns autores se referem à área remanescente de florestas em “estágio avançado de conservação”, não ao total de áreas com florestas, em diferentes estágios.

Devido a este cenário, o Ministério do Meio Ambiente (MMA) sancionou a Instrução Normativa nº 6 de 23 de setembro de 2008 (BRASIL, 2008) reconhecendo a *A. angustifolia* como uma das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. Esta legislação considerou os estados de Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo, onde esta espécie é pertencente ao Bioma da Mata Atlântica. As Figuras 2 e 3 demonstram a distribuição da ocorrência original e de remanescentes da Floresta Ombrófila Mista nos três estados da região sul do Brasil, segundo a RBMA (RBMA, 2011), que é um organismo da sociedade civil, que tem entre membros da rede também governos estaduais e instituições públicas. Documentos oficiais que cubram toda a área de ocorrência da araucária, com dados recentes sobre sua área atual não estão disponíveis ainda. Entretanto, há possibilidades de mudanças nesse cenário, com a edição do Inventário Florestal Nacional (IFN-BR), iniciativa oficial do Serviço Florestal Brasileiro (SFB) ligado ao Ministério do Meio Ambiente (MMA). Os dados para os estados do Paraná e para o Rio Grande do Sul já foram coletados e estão em fase de processamento.

Figura 2 – Área de ocorrência da Floresta Ombrófila Mista da região sul do Brasil



Fonte: RBMA (2011).

Figura 3 - Área de remanescentes da Floresta Ombrófila Mista da região sul do Brasil

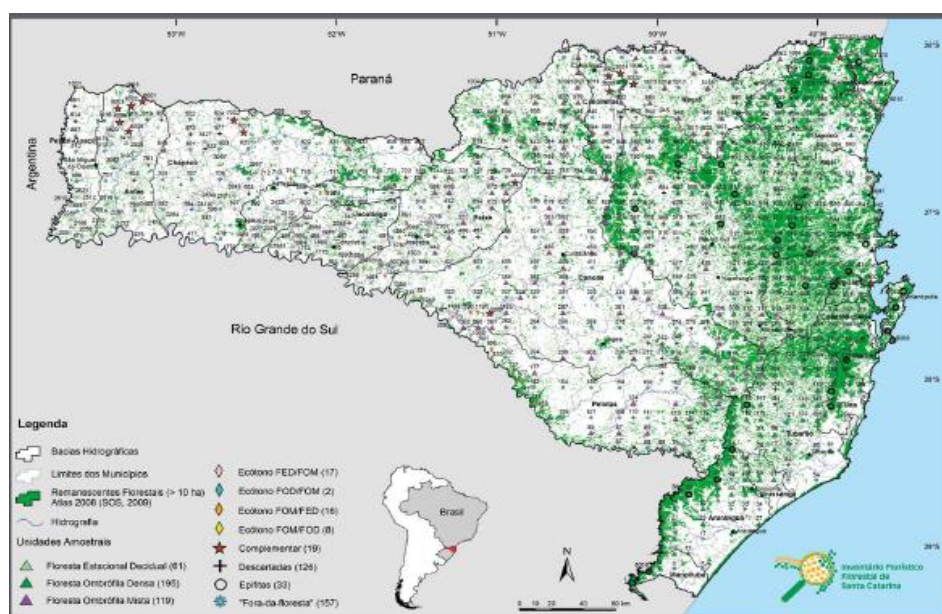


Fonte: RBMA (2011).

Assim, no momento, o único documento oficial disponível é o Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina. Este trabalho indicou que as áreas florestais remanescentes de Floresta Ombrófila Mista apresentaram uma reduzida tendência

de indivíduos jovens arbóreos. Quanto à regeneração natural, denotaram tendência de ocupação permanente nas florestas avaliadas, embora com baixa densidade. A *A. angustifolia* foi encontrada em Unidades Amostrais de ecótono (região resultante do contato entre dois ou mais biomas fronteiriços) entre a Floresta Estacional Decidual e a Floresta Ombrófila Mista, como demonstrado no mapa, Figura 4 (VIBRANS et al., 2012).

Figura 4 – Mapa do Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina



Fonte: Vibrans et al., 2012.

3.3 Pinhão

O pinhão é a semente da pinha, considerada o estróbilo feminino da *A. angustifolia*. Cada pinha possui em torno de 15 a 20 cm de diâmetro e pode ter em média 120 pinhões com tamanhos entre 3 a 8 cm de comprimento por 1 a 2,5 cm de largura e peso médio de 8 g (GODOY et al., 2013). Os pinhões apresentam forma cônica e diferentes tamanhos, conforme demonstrado nas Figuras 5, 6 e 7 (FORLIN et al., 2009). Estas características dependem da variedade, idade e condições de crescimento da espécie (SANQUETTA et al., 2007).

Figura 5 - Visão externa do pinhão com revestimento



Fonte: A autora.

Figura 6 - Visão interna do pinhão com revestimento



Fonte: A autora.

Figura 7 - Pinhões crus sem revestimento



Fonte: A autora.

São constituídos por um envoltório rico em celulose, polpa com alto teor de amido e embrião de elevada quantidade de lipídeos (CORDENUNSI et al., 2004, CAPELLA et al., 2009). A casca do pinhão apresenta uma camada externa de cor marrom-avermelhado, uma mediana de cor branco-amarelado a marrom e outra interna de cor marrom a rosa avermelhado. As duas primeiras camadas conferem maior resistência às sementes, sendo parecidas com a madeira e a última camada é mais fina e membranácea (COSTA et al., 2013). A polpa contém uma massa de amido extremamente dura quando crua. Quando cozido abranda a sua textura, devido a ocorrência da gelatinização do amido, tornando-o comestível (LEITE et al., 2008; CLADERA-OLIVERA et al., 2008).

O pinhão apresenta composição química variável, pois é definida geneticamente e podendo ser influenciada pela proveniência da variedade (GAMA et al., 2010). O estágio de desenvolvimento, a desidratação no final da maturação e a constituição do solo e do clima são outros fatores que podem alterar a sua composição (CAPELLA et al., 2009). Esta semente é uma boa fonte de polissacarídeos complexos, apresentando a cada 100 g do produto cru os seguintes valores médios referente a composição nutricional: amido (36%), proteínas (3%), lipídeos (1%), açúcares solúveis (2,4%), além de fibras, minerais e compostos fenólicos (menor que 0,2 mg %) (BICUDO et al., 2009).

O revestimento interno das sementes de *A. angustifolia* apresenta compostos fenólicos naturais que podem migrar para o pinhão durante o cozimento (CORDENUNSI et al., 2004). Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas e considerados os principais antioxidantes da dieta, podendo proteger os constituintes das células contra os danos oxidativos (HENRIQUEZ et al., 2008). O pinhão apresenta resposta glicêmica baixa por promover a liberação lenta da glicose devido à presença de amido resistente (RS) e amido lentamente digerível (SDS) em sua composição. Isto reduz o risco de algumas patologias como a Diabetes Mellitus, obesidade, doenças cardiovasculares e câncer de cólon (ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017).

3.4 Produção de pinhão no Brasil

Para demonstrar um panorama nacional da produção de pinhão, uma pesquisa realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) através

do levantamento da Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura (PEVS) indicou que em 2014 foram produzidos 8,7 mil toneladas de pinhão. O estado do Paraná é o maior produtor brasileiro. Em segundo lugar encontra-se Santa Catarina e o terceiro estado produtor é o Rio Grande do Sul, seguido pelos demais estados conforme os dados do Quadro 1 (IBGE/PEVS, 2014):

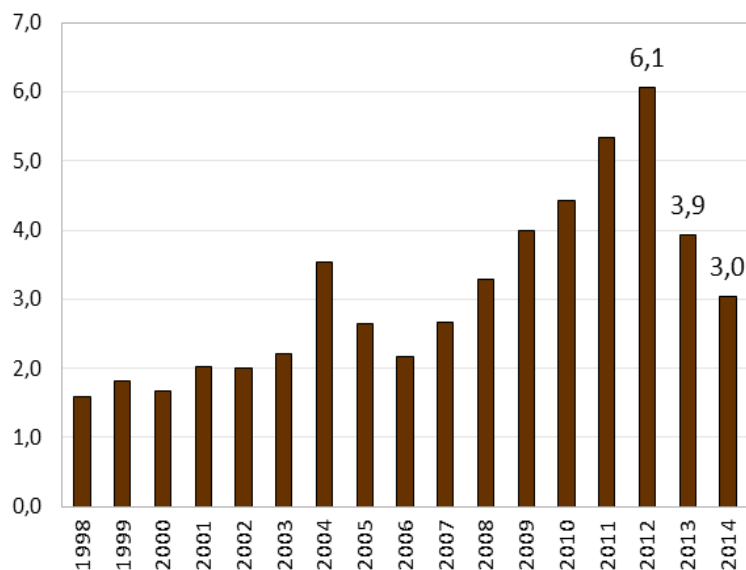
Quadro 1 - Produção de pinhão no Brasil por estados

Estados	Produção (toneladas)	
	2013	2014
Paraná	4.567	3.582
Santa Catarina	3.213	3.147
Rio Grande do Sul	828	881
Minas Gerais	276	1.162
São Paulo	6	6
BRASIL	8.889	8.779

Fonte: IBGE/PEVS (2014).

A última pesquisa realizada em 2015 pelo Departamento de Economia Rural (DERAL) da Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SEAB) revela uma redução na quantidade produzida de pinhão, de acordo com a Figura 8 (SEAB/DERAL, 2016).

A Figura 8, mostra uma redução na quantidade produzida nos dois últimos anos de pesquisa, de 2012 à 2014, obtendo uma redução de 50%, diminuindo o valor de 6,1 para 3,0 mil toneladas. Vários fatores influenciaram nesta redução, porém um dos fatores mais significativos e que merece atenção é a frágil situação da regeneração natural da espécie *A. angustifolia*. Novos incrementos na produção dependem de novos exemplares sendo produzidos, que geralmente chega de 10 a 15 anos o tempo para iniciar a geração e obtenção das sementes (SEAB/DERAL, 2016).

Figura 8 - Produção de pinhão no Brasil por ano em mil toneladas

Fonte: SEAB/DERAL (2016).

3.5 Amido em geral

O amido é o polissacarídeo de reserva mais importante e distribuído em maior quantidade em plantas (HUNG, MAEDA e MORITA, 2007). É o único carboidrato de reserva produzido e armazenado nos amiloplastos e tecidos de plantas superiores (WAGHORN et al., 2003). Ocorre naturalmente sob a forma de grânulos (partículas de 2 a 100 μm) em caules, sementes e raízes de inúmeras plantas. Este polissacarídeo é considerado a mais importante fonte de glicídios para nutrição de humanos e animais (ZOBEL E STEPHEN, 1995). Representa cerca de 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem. (LEONEL e CEREDA, 2002). A interpretação de que o amido é um polissacarídeo nutricionalmente disponível é baseado na hipótese de que seus polímeros amilose e amilopectina sejam tranquilamente hidrolisados no intestino, obtendo carboidratos de menor peso molecular (COLONNA, LELOUP e BULÉON, 1992).

O amido apresenta várias aplicações industriais, como papel, têxteis, materiais de construção, produtos farmacêuticos e químicos. A sua versatilidade é proporcionada pelas suas características naturais como inchamento, gelatinização, viscosidade, agente espessante e ligante, formação de filme, biodegradabilidade e hidrofiliabilidade (JANSEN et al., 2001, MISCHNICK, 2005).

O amido é um polímero semicristalino composto principalmente por duas macromoléculas conhecidas como amilose e amilopectina, que representam cerca de 98 a 99% do peso seco (TESTER, KARKALAS e QI, 2004). Estes polímeros encontram-se dentro de células vegetais, podendo ser extraídos e utilizados para fins industriais (COLMAN et al., 2012, CONFORTI e LUPANO, 2007).

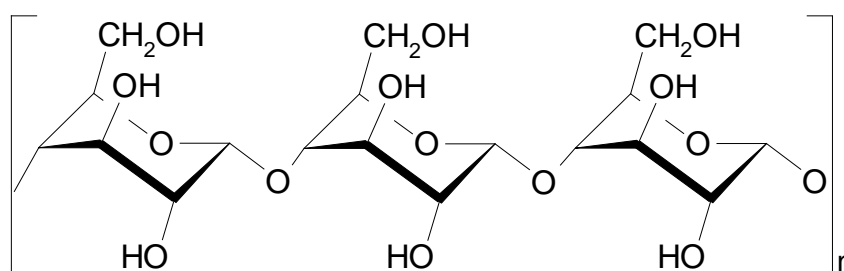
Praticamente boa parte dos amidos contém aproximadamente 20 a 25% de amilose e 75 a 80% de amilopectina. A funcionalidade do amido pode ser afetada devido a quantidade destas duas macromoléculas, como também a organização física das mesmas dentro da estrutura granular. Esta proporção dependerá do nível de maturação do vegetal, da espécie botânica e das condições de cultivo, ocasionando alterações nas características de pasta do amido (JIMENEZ et al., 2012, RIBEIRO et al., 2014a; BICUDO et al., 2009).

3.5.1 Amilose

A amilose, conforme Figura 9, apresenta uma molécula tipicamente linear em sua maioria. É composta normalmente por mais de 1000 unidades de D-glicopiranosídeo interconectadas em uniões α 1,4, ou seja, em ligações glicosídicas entre o C1 de uma unidade e C4 da próxima unidade. As cadeias de D-glicose com uniões α -glicosídicas pertencentes a amilose tendem a assumir um arranjo em hélice (SOLOMONS e FRYHLE, 2006). Também tem sido relatado que contém algumas redes ramificadas (COLMAN et al., 2012, CONFORTI e LUPANO, 2007).

Quimicamente as moléculas de amilose em solução se orientam paralelamente devido à sua linearidade, cercando-se umas nas outras para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Devido à isso, a afinidade do polímero pela água é menor, facilitando a formação de filmes mais resistentes, estáveis e flexíveis (SHIMAZU et al., 2007).

O aumento da proporção de amilose no amido provoca redução no ponto de fusão das regiões cristalinas e na energia para iniciar a gelatinização (T_0). Por possuir cadeias mais curtas exige menores temperaturas (SINGH et al., 2006; HORNUNG et al., 2014). Amidos com elevado teor de polímeros de amilose proporcionam produtos com força e resistência superiores e filmes mais homogêneos (ALMEIDA et al., 2010, KROGARS, 2003).

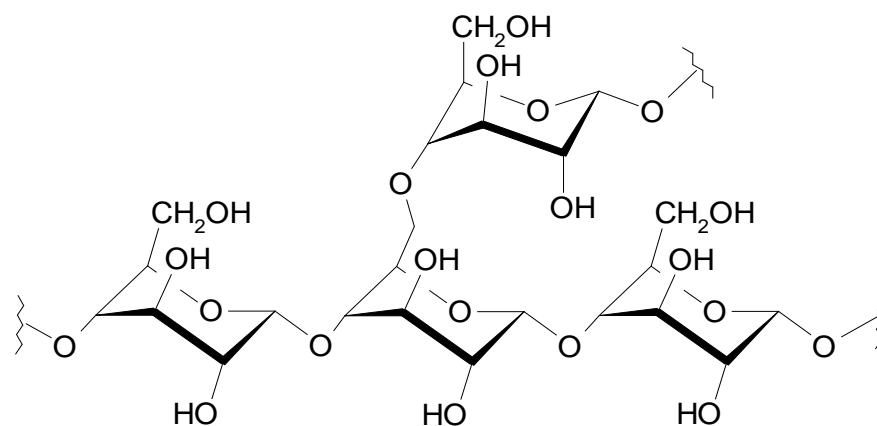
Figura 9 - Estrutura molecular da amilose

Fonte: A autora.

3.5.2 Amilopectina

A amilopectina, demonstrada na Figura 10, é um grande polímero que apresenta-se ramificado. É constituída por centenas de cadeias interconectadas de 20 a 25 unidades de glicose em cada. As ramificações ocorrem entre o C6 de uma unidade de glicose e o C1 de outra unidade de glicose (SOLOMONS e FRYHLE, 2006). Estas cadeias são unidas por ligações α 1,4 que servem como a espinha dorsal, e por ligações α 1,6, que servem como pontes nos pontos de ramificação (COLMAN et al., 2012, CONFORTI e LUPANO, 2007).

A amilopectina apresenta um papel importante na cristalinidade dos grânulos de amido, proporcionando maior resistência à gelatinização e estabilidade na estrutura dos grânulos (SINGH et al., 2006; HORNUNG et al., 2014). Já a presença de elevado teor de amilopectina causará aumento na tendência de separação de fases, obtendo biopolímeros mais frágeis e quebradiços (KROGARS, 2003). A ramificação da cadeia proporciona redução nas interações intramoleculares, relacionadas as ligações de hidrogênio, entre suas cadeias (LIU, 2005; COSTA et al., 2013). Devido a isto, por possuírem longas cadeias, necessitam de maior temperatura para se dissociarem completamente se comparado a amilose (SINGH et al., 2006; HORNUNG et al., 2014).

Figura 10 - Estrutura molecular da amilopectina

Fonte: A autora.

3.5.3 Propriedades morfológicas e térmicas do grânulo de amido

O amido encontra-se organizado sob a forma de grânulos. Estes são unidades minúsculas individuais e densas. A estrutura dos grânulos de amido são bastante complexas. A origem botânica, a variação genética, o estágio de desenvolvimento da planta, a hidrólise do amido e as condições do ambiente determinam o seu tamanho e forma (WAGHORN et al., 2003). O estudo da estrutura dos grânulos de amido é importante para proporcionar o esclarecimento de suas propriedades físico-químicas, as quais influenciam seu desempenho em vários processos industriais (STAHL et al., 2007).

No interior do grânulo de amido, a amilose e a amilopectina encontram-se em camadas sucessivas em torno de um núcleo proporcionando-lhe um caráter semicristalino (HULLEMAN et al., 1999; STADING et al., 2001). A região amorfa é composta por cadeias de amilose e por ramificações da amilopectina (SOUZA e ANDRADE, 2000). Esta região é menos densa, facilitando o ataque de enzimas e a absorção de elevada quantidade de água em temperaturas mais baixas que a gelatinização (ALMEIDA, 2012).

As regiões cristalinas encontram-se no interior do grânulo de amido, sendo regiões mais ordenadas e constituídas pelas partes lineares das moléculas de amilopectina, a qual possui estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila (SOUZA e ANDRADE, 2000).

3.5.4 Gelatinização

O aquecimento do amido em presença de água provoca uma desordem, considerada como uma transição de fase, chamada de gelatinização, a qual ocorre em determinado intervalo de temperatura, variando com a espécie do amido utilizado (ZHANG et al., 2005; SIQUEIRA et al., 2016). Este processo de gelatinização provoca várias alterações como difusão de água no grânulo, absorção de água pela região amorfa promovendo hidratação e inchamento dos grânulos de amido, perda de birrefringência e de cristalinidade, ganho de calor, dissociação das duplas hélices nas regiões cristalinas e lixiviação da amilose (ATWELL et al., 1988; BILIADERIS, 1991). Alguns polissacarídeos resultantes do processo podem ainda formar estrutura helicoidal, interagindo com diferentes lipídeos (BILIADERIS e SENEVIRATNE, 1990).

Quimicamente a gelatinização é um processo onde ocorre a quebra das ligações intermoleculares de moléculas de amido na presença de água e calor, o que permite a ligação de hidroxilas para haver a penetração de maior quantidade de água. A estrutura do grânulo de amido aumenta enquanto a extensão da região semicristalina diminui. Devido à isto a disponibilidade de amido para a hidrólise aumenta melhorando a sua digestibilidade (JENKINS e DONALD, 1998). As propriedades de gelatinização podem se apresentar diferentes em amidos pertencentes da mesma espécie, isso justifica-se pela influência de efeitos ambientais (RUSSELL, 1987; TESTER e KARKALAS, 2001). Um destes efeitos que afetam as propriedades do amido é a temperatura durante a etapa de maturação do vegetal (KOHYAMA et al., 2004).

Durante o processo de gelatinização a água executa uma função térmica importante no amido. Neste sentido, a temperatura de gelatinização diminui com o aumento do teor de água nas suspensões de amido. Além disso, a presença de outras substâncias também podem influenciar na gelatinização do amido como sais, açúcares, lipídeos, ácidos orgânicos, álcoois alcalinos e os seus sais, entre outras. A presença destas substâncias podem provocar o rompimento das ligações de hidrogênio no interior do grânulo de amido, ou por meio da formação de complexos solúveis com o amido. Oferecendo este impacto sobre a temperatura de gelatinização podem interferir portanto no grau de gelatinização (ZOBEL, 1984).

A gelatinização geralmente ocorre a uma extensa faixa de temperatura, à qual será determinada pela fonte de amido selecionada (SINGH et al., 2003). A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) tem sido utilizada para analisar sistemas

de amido em água e quantificar a gelatinização. Com o uso da microscopia óptica sob luz polarizada observa-se que o grânulo de amido em solução aquosa é birrefringente. A refração proporcionada pelas regiões cristalinas resulta no modelo conhecido como “Cruz de Malta” que caracteriza a orientação radial das macromoléculas (ELIASSON, 2004). Após o processo de gelatinização é possível observar a perda de birrefringência e conseqüentemente a ausência da “Cruz de Malta” (BICUDO et al., 2009; GARCIA et al., 1997).

Através da microscopia podem ser avaliados os tamanhos dos grânulos, que pode influenciar nas temperaturas de gelatinização. O aumento da temperatura de gelatinização pode estar relacionado à hidrólise da amilose que provoca alteração na quantidade de amilopectina, aumentando o intumescimento dos grânulos (WANG e WANG, 2003). Além disso, existem outros equipamentos que identificam a viscosidade de pasta dos amidos, conhecidos como viscoamilógrafos (Brabender, RVA – Rapid Visco-Analyser), os quais fornecem o comportamento de gelatinização do amido (SINGH et al., 2003; ELIASSON, 2004).

3.5.5 Retrogradação

A retrogradação é um processo onde ocorre a cristalização das moléculas de amido devido à intensa tendência de formar ligações de hidrogênio entre as moléculas mais próximas. Esta associação promove o desenvolvimento de uma rede tridimensional, à qual é mantida totalmente resistente pelas áreas cristalinas. A rede tridimensional é formada por constituintes do amido em solução e por grânulos de amido parcialmente inchados. Durante o resfriamento, abaixo da temperatura de gelatinização, ocorre a transformação da rede em um gel (HOOVER, 2001). Este gel apresenta a tendência de liberar água com o passar do tempo, conhecida como sinérese. As diversas fontes botânicas retrogradam em diferentes temperaturas, sendo uma característica importante a ser considerada na indústria (CEREDA et al., 2001).

Após a retrogradação, o amido encontra-se alterado em número e/ou na estrutura das regiões reorganizadas em comparação ao amido natural. A explicação destas alterações se deve ao fato que a retrogradação consiste em dois processos principais: mudanças a curto prazo na cristalinidade do amido estão relacionadas a geleificação rápida de amilose, solubilizadas durante a gelatinização. Já as

mudanças a longo prazo estão relacionadas a recristalização lenta do amido atribuída a retrogradação da amilopectina (BILIADERIS, 1990; MATALANIS, CAMPANELLA e HAMAKER, 2009).

A grande preocupação da indústria para a elaboração de alimentos à base de amido, refere-se a ocorrência da retrogradação, pois geralmente promove a deterioração dos sistemas de amido, sendo parte destas modificações a redução da viscosidade, maior firmeza do gel, resistência à enzima e sinérese (WU et al., 2012). Devido a sua complexidade, a retrogradação é geralmente caracterizada à partir de técnicas analíticas, sendo uma delas a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), utilizada para avaliar a entalpia e a temperatura de gelatinização quando o gel é aquecido em água suficiente e a temperatura mais elevada (ATWELL et al., 1988; BERNAZZANI et al., 2008). Para analisar a estrutura cristalina e o arranjo do pacote de duplas hélices (SEVENOU et al., 2002), se utiliza comumente a Difração de raios X / DRX (VERMEYLEN et al., 2006; HAN et al., 2009; ZHOU et al., 2010).

3.6 Modificação do amido

A produção e a utilização do amido encontram-se atualmente em grande crescimento no mercado, incentivando a procura contínua de produtos que atendam às necessidades da indústria e apresentem características específicas. Uma alternativa que tem sido utilizada é o amido modificado, com o intuito de superar as limitações dos amidos naturais e ampliar suas aplicações industriais (JIMENEZ et al., 2012; ZAMBRANO e CAMARGO, 2001).

Dentre as desvantagens e limitações da utilização de amido natural, encontram-se a baixa solubilidade, alta viscosidade do gel de amido em temperatura ambiente, retrogradação irreversível, baixa resistência ao cisalhamento, baixa resistência térmica, decomposição térmica, entre outras (SMITH, 1982; BETTAÏEB, JERBI e GHORBEL, 2014). Devido a estes fatores o amido não pode cumprir com suas propriedades funcionais em aplicações industriais. Para evitá-las é indicado o uso de modificações físicas, químicas, enzimáticas e até mesmo biotecnológicas (HEBEDA, BOWIES e TEAGUE, 1990; KAMASAKA et al., 2002).

As modificações químicas do amido são frequentemente utilizadas para alterar grupos funcionais, o tamanho das cadeias das macromoléculas e adicionar ligantes, mudando assim suas propriedades físico-químicas, oferecendo vantagens

industriais. Estas podem ser obtidas por várias reações e mecanismos químicos diferentes, como derivatização através de éter ou formação de éster, hidrólise ácida das ligações glicosídicas, oxidação dos grupos hidroxila ou ácido carboxílico, esterificação e reticulação (JAYAKODY e HOOVER, 2002).

Quanto a regulamentação do amido modificado no Brasil, destaca-se a Resolução RDC nº 259 de 20 de setembro de 2002, a qual aprova o regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados e revoga a Portaria nº 42 de 14 de janeiro de 1998. A resolução estabelece que os amidos modificados não são considerados aditivos alimentares, mas devem ser mencionados na lista de ingredientes como “amidos modificados”. Entretanto, os amidos naturais e amidos modificados por ação enzimática ou física devem ser descritos na lista de ingredientes como “amidos” (BRASIL, 2002a).

3.6.1 Modificação ácida do amido

A modificação ácida promove alteração nas propriedades físico-químicas do amido, porém apresenta o poder de preservar a estrutura do grânulo (WANG, TRUONG e WANG, 2003; SIQUEIRA et al. 2016). Este tratamento provoca aumento da temperatura e da entalpia de gelatinização, da resistência do gel e da solubilidade e diminui a massa molar, a viscosidade e a sinérese, tornando o amido apto para vários usos industriais, principalmente nas indústrias têxteis e de papel. (WANG, TRUONG e WANG, 2003; CHANG, LIN e CHANG, 2006; LAWAL et al., 2005). A proporção e a extensão da hidrólise ácida tem sido diferenciada através de algumas características como tamanho do grânulo, interação das regiões amorfas e cristalinas dos grânulos de amido, o número de ligações α 1-6 de amilose com lipídeos complexos e a extensão da fosforilação e da distribuição das ligações α 1-6 entre os domínios amorfos e cristalinos (JAYAKODY e HOOVER, 2002).

A utilização da modificação ácida apresenta algumas vantagens como baixo custo, sabor suave e uma boa proteção ao sabor contra a oxidação (WAGNER e WARTHESEN, 1995). É amplamente utilizada para a produção de amidos em alimentos, papel, têxtil e outras indústrias, pois adaptam os amidos para resistirem ao processamento e aumentarem a eficiência nos processos produtivos (BECERRA e ODERMATT, 2014; HORNUNG et al, 2015). Além disso, pode ser interessante para compreender a estrutura interior dos grânulos de amido.

O procedimento mais comum utilizado para a realização da modificação ácida envolve o tratamento do amido em suspensão contendo ácido mineral com uma alta concentração de amido (30 a 40 g/ 100 g de sólidos), à uma temperatura menor que a temperatura de gelatinização do amido (30 a 60 °C), durante um determinado período de tempo. A hidrólise do amido depende da consistência do grânulo, da concentração do ácido, da temperatura e do tempo em que ocorre a reação. A origem botânica do amido e as características estruturais do grânulo também podem influenciar a cinética da hidrólise (CHANG, LIN e CHANG, 2006; SANDHU, SINGH e LIM, 2007).

3.6.2 Modificação ácida do amido em meio metanólico e etanólico

A modificação ácida-alcoólica provoca a quebra ou degradação do amido com ácidos em suspensões de álcoois. Apresenta como vantagens a alta recuperação e maior controle de degradação da molécula do amido, oferecendo apenas pequenas alterações na estrutura do seu grânulo (LIN et al., 2011). Após o tratamento ácido-alcoólico, o peso e o comprimento da cadeia das moléculas de amido diminuem parcialmente (ROBYT et al., 1996, LIN, LEE e CHANG, 2003; LIN e CHANG, 2006). Isso ocorre porque as ligações glicosídicas pertencentes ao amido, principalmente as localizadas nas regiões amorfas, são hidrolisadas pelo ácido (LIN, LEE e CHANG, 2003). Com a utilização da solução alcóolica é possível obter a recuperação dos grânulos após o tratamento com ácido. O meio alcóolico se comparado ao meio aquoso permite a entrada da solução no interior do amido de maneira mais lenta na fase inicial do processo, ocorrendo a expansão do grânulo conforme o tempo de tratamento. Alguns estudos encontraram até 90% de recuperação do grânulo após a modificação (LIN; LEE e CHANG, 2003; LIN e CHANG, 2006; LIN et al., 2011).

Conforme Chang, Lin e Chang (2006) relataram que a modificação ácida-alcoólica demonstrou uma elevada viabilidade em controlar a degradação da molécula de amido. Por meio do controle das condições do tratamento ácido-alcoólico, pode ser preparado amidos com tamanhos diferentes de moléculas e grau de polimerização variando de 106 a 102 unidades de glicose anidra (AGU). Dentre estas condições destacam-se o tempo da reação, a temperatura, a concentração do ácido, o tipo e a concentração do álcool.

3.7 Amido de pinhão

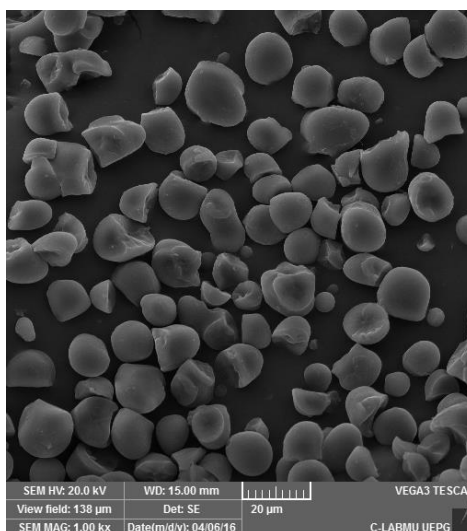
Nos últimos anos, foram evidenciados grandes esforços na busca por novos amidos, com o intuito de estudar suas propriedades funcionais, reológicas e físico-químicas e selecionar o amido mais adequado para uma aplicação específica, além da contínua necessidade de melhorar a qualidade dos produtos e processos industriais (HOOVER, 2001; MOORTHY, 2002; ZHANG et al., 2005; TAKIZAWA et al., 2004). Um exemplo disso é o pinhão, que tem despertado ao longo dos anos um maior interesse pela pesquisa por apresentar características físicas particulares e potencial uso alternativo. O pinhão é uma boa fonte de amido, sendo o principal componente de suas sementes (aproximadamente 34%) e portanto apresenta um grande potencial para uso comercial (CORDENUNSI et al., 2004). Além disso, o pinhão tem mostrado propriedades físico-químicas e reológicas atraentes para utilização industrial (BELLO-PÉREZ et al., 2006).

As diferentes espécies de amidos apresentam grande variação em relação a proporção de amilose/ amilopectina, a morfologia dos grânulos de amidos e a parte estrutural de suas moléculas. Quando se trata de uma mesma espécie, as características funcionais também podem modificar conforme a linha genética e o estágio de maturação dos amidos (LINDEBOOM, CHANG e TYLER, 2004; WAGHORN et al., 2003). Alguns estudos encontraram que o amido de pinhão natural apresenta estrutura cristalina do tipo C, um teor considerável de amilose, e alta viscosidade de pasta e retrogradação (BELLO-PÉREZ et al., 2006; PINTO et al., 2012).

A distribuição dos grânulos de amido em sementes de *A. angustifolia* é diferente do grão de cereal. Em cereais o amido é armazenado no endosperma. Já no pinhão o amido é armazenado em amiloplastos nos embriões e gametófitos femininos (WAGHORN et al., 2003). Apesar de todos os esforços para caracterizar o amido de pinhão, a sua organização estrutural permanece pouco explorada, necessitando de maiores pesquisas à respeito (CLADERA-OLIVERA et al., 2008).

O amido de pinhão, Figura 11, apresenta uma mistura de grânulos de formas arredondadas e ovais, hemisféricos, formas elipsoidais truncadas e superfície lisa. Os grânulos de amido de pinhão apresentam diâmetro médio em torno de 12 μm , variando conforme a origem botânica (CONFORTI e LUPANO, 2007; ZÓRTE-GUIDOLIN et al., 2017).

Figura 11 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do amido de pinhão



Fonte: A autora

3.7.1 Extração do amido de pinhão

Atualmente tem sido investigado inúmeros métodos de extração para manter o estado original dos grânulos de amido natural e para melhorar o rendimento durante o processo de extração. Porém, alguns destes métodos podem provocar alterações irreversíveis na organização estrutural do amido, prejudicando a sua aplicabilidade na indústria. Portanto, antes de selecionar o método de extração, é importante avaliar a extensão das alterações que serão provocadas nos grânulos de amido, sendo o método mais adequado que irá proporcionar o mínimo de modificações (THYS et al., 2010).

Com o intuito de preservar ao máximo os grânulos de amido, Bello-Pérez et al. (2006) desenvolveram um método de isolamento do amido específico para as sementes de pinhão. Neste processo, as sementes foram moídas sem o revestimento interno e externo do pinhão em água fria, utilizando a proporção de 1 kg de pinhão para 1,5 L de água em um misturador doméstico. O homogeneizado foi filtrado através de peneira de aço (100 mesh) e o processo foi repetido por duas vezes. O líquido contendo o amido foi levado para refrigeração à aproximadamente 4 °C durante a noite e posteriormente centrifugado. O amido precipitado foi lavado por três vezes com água fria e a secagem realizada em estufa à 37 °C por uma noite.

3.7.2 Modificação ácida do amido de pinhão

A modificação de amidos por hidrólise ácida oferece aumento da resistência à retrogradação e estabilidade durante os processos de congelamento e descongelamento (BEMILLER, 1997). O estudo de Cordenunsi et al. (2004) mostrou que o amido de pinhão natural apresenta boas características estruturais e funcionais, podendo ser utilizado como uma nova fonte de amido, pois os grânulos contém baixo teor de proteínas e lipídeos e um teor considerável de amilose.

Segundo Wosiacki e Cereda (1985) o amido de pinhão apresenta baixa opacidade de géis quando quente, baixa temperatura de pasta, é bastante resistente a aquecimento e desintegração mecânica, e relativamente estável durante o armazenamento sob refrigeração, sendo características interessantes para a indústria de alimentos. Entretanto, trabalhos mais recentes indicam a existência de pico de viscosidade e altas temperaturas de pasta no amido de pinhão (STAHL et al., 2007; BELLO-PÉREZ et al., 2006).

Thys et al. (2013) estudaram a modificação ácida em amidos de pinhão e de milho. Este tratamento proporcionou aos amidos serem termorreversíveis ao processo de gelatinização e menor tendência a retrogradação. Atualmente encontram-se inúmeras aplicações para os amidos termorreversíveis, na forma de géis, desde de cápsulas para liberação controlada de drogas na indústria farmacêutica até espessantes utilizados em produtos na indústria alimentícia (CARVALHO, 2000).

Outro estudo realizado por Ribeiro et al. (2014b) mostrou que o amido de pinhão tratado com ácido clorídrico provocou aumento em todas as temperaturas de gelatinização envolvidas no processo, como temperatura *onset* (T_o), temperatura de pico (T_p) e temperatura de conclusão (T_c), quando realizada a análise térmica por DSC. Quanto ao valor de entalpia de gelatinização este estudo apresentou queda significativa nas amostras modificadas. O decréscimo na entalpia também foi observado por Oliveira et al. (2014) em amido de milho ceroso devido à ação hidrolítica do ácido e a menor tendência a gelatinização.

3.8 Determinação de pH

A sigla pH representa o potencial hidrogeniônico ou potencial hidrogênio iônico de uma determinada solução ou mistura. Trata-se de um índice que informa a quantidade (concentração molar ou molaridade) de cátions hidrônio (H^+ ou H_3O^+) presentes no meio e indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de qualquer solução. A escala de pH pode variar de 0 à 14, sendo que quanto menor o índice de pH de uma substância, mais ácida esta será (RUSSEL, 1994).

Os métodos colorimétricos ou potenciométricos (ou eletroanalíticos) apresentam a função de avaliar o pH. Os processos colorimétricos usam determinados indicadores (substâncias orgânicas) que provocam alteração na coloração da substância analisada, conforme a concentração de íons H^+ . Apresentam aplicação limitada, pois os valores são aproximados e não se aplicam a soluções com colorações intensas ou turvas e a soluções coloidais, pois existe o risco de absorverem o indicador, influenciando no resultado. Entretanto, os métodos potenciométricos utilizam aparelhos que são potenciômetros especialmente adaptados e permitem uma determinação simples, direta e precisa do pH, oferecendo confiabilidade no resultado (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985).

Para a determinação de pH em amido deve-se realizar a dispersão em água na proporção de 20 gramas de amido para 100 mL de água deionizada e posteriormente a agitação da suspensão pelo tempo de 30 minutos. Recomenda-se imediatamente após a agitação, realizar a leitura do pH em potenciômetro calibrado, à temperatura ambiente (aproximadamente 20° C) (SMITH, 1967).

3.9 Colorimetria

A colorimetria é a ciência que mede e analisa a composição da cor, podendo ser realizada de modo objetivo e matemático quando converte em número as principais características da cor (JÚNIOR e CORRÊA, 2003). Oferece uma forma objetiva de diagnóstico de cor pois se baseia em todo o espectro visível e faz com que seja possível a obtenção do perfil cromático real dos alimentos (OSORIO et al., 2007).

Atualmente a investigação à respeito da cor dos alimentos, os processos químicos envolvidos e os fatores que podem provocar alterações, tem sido objeto de

pesquisa na área de alimentos. A medida de cor especificamente, vem sendo utilizada como uma ferramenta para observar a mudança de um produto e para determinar as características sensoriais relacionadas a qualidade dos alimentos, como aceitação, coloração visual e aparência (HUTCHINGS, 2005;. HERNANZ et al., 2009).

Os parâmetros de cor são definidos pela reflectância de um feixe de luz quando disparado na direção da amostra. Os valores captados pelo colorímetro são matematicamente distribuídos em três eixos, criando um espaço tridimensional de determinação de cor, conhecido como espaço “CIELAB”.

Neste modelo existem três eixos que recebem a seguinte definição:

Eixo L* este eixo varia de 0 que identifica falta de luz (escuro) a 100 que identifica o máximo de luminosidade (branco);

Eixo a* que pode variar de -120 que identifica a cor verde a +120 que identifica a cor vermelha;

Eixo b* que pode variar de -120 que identifica a cor azul a +120 que identifica a cor amarela.

O modelo de colorimetria apresentado acima funciona como ponto de conversão universal, pois pode ser relacionado matematicamente com os demais modelos de detecção de cor existentes como o RGB (Vermelho, Verde e Azul) ou CMYK (Ciano, Magenta, Amarelo e Preto) (MINOLTA, 1998).

A colorimetria por reflectância foi utilizada nos estudos realizados por Lorlowhakarn e Naivikul (2006) para analisar o efeito da temperatura em amostras de farinha de arroz. Os pesquisadores Balasubramanian et al., (2011) também realizaram estudos semelhantes com amido de milheto (*Pennisetum typhoides*).

3.10 Análise Térmica

A definição de Análise Térmica segundo a Confederação Internacional para Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) e as recomendações da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) é um termo que compreende o estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura, enquanto a amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada (LEVER et al., 2014). Permite monitorar uma propriedade física ou química de uma substância, ou de seus

produtos de reação, em função do tempo ou temperatura, sob uma atmosfera específica e a uma temperatura controlada (WENDLANT, 1974).

A instrumentação termoanalítica atingiu alto grau de sofisticação e ganhou crescente divulgação nas duas últimas décadas, em função da sua aplicação prática, sendo uma ferramenta importante para todos os setores da pesquisa científica, principalmente nos estudos em relação ao fenômeno do tratamento térmico em alimentos, avaliando o comportamento dos amidos. Além disso, ainda pode ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos, estudo de excipientes farmacêuticos e no controle de qualidade da produção (SCHNITZLER et al., 2004).

Entre as técnicas mais divulgadas e utilizadas estão: a Termogravimetria (TG), a Termogravimetria Derivada (DTG), a Análise Térmica Diferencial (DTA), a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), a Análise de Gás Liberado (EGA), a Análise Termomecânica (TMA) entre outras (IONASHIRO, CAIRES e GOMES, 2014).

As técnicas de análise térmica fornecem poderosos métodos de investigação as transições que ocorrem quando os polímeros são aquecidos, permitindo obter informações à respeito da variação de massa, estabilidade térmica, caracterização e quantificação de gases liberados pela amostra, água livre e água ligada, pureza, ponto de fusão, ponto de ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética da reação e transições vítreas (LELIÈVRE e LIU, 1994; AGGARWAL e DOLLIMORE, 1998).

3.10.1 Termogravimetria (TG)

A Termogravimetria (TG) é uma técnica analítica na qual a massa da amostra é medida em função da temperatura ou tempo, quando uma amostra é submetida a uma temperatura controlada. A curva resultante da massa da amostra é reproduzida em uma curva de análise termogravimétrica, conhecida como curva TG. Esta curva é característica de um determinado composto, onde as variações de massa resultam a formação ou quebra de ligações químicas ou processos físicos os quais liberam produtos voláteis, produtos de oxidação ou a formação de produtos de maior massa molecular. Fornece ainda os dados necessários para identificar a estequiometria, a estabilidade térmica, a composição da amostra inicial ou de algum composto intermediário (WENDLANT, 1974; LAYE, 2002).

De acordo com Ionashiro, Caires e Gomes (2014), em uma curva TG, os desníveis em relação ao eixo das ordenadas correspondem a perda da massa pela amostra e isto permite a análise quantitativa dos dados. Pode auxiliar a observar o comportamento térmico dos grânulos de amido quando sofrem aumento da temperatura. (LACERDA et al., 2008b).

É importante ressaltar que existem alguns fatores que podem afetar a curva TG: os instrumentais e os referentes às características da amostra. O primeiro envolve a razão de aquecimento, atmosfera e geometria do suporte das amostra em relação ao forno. O segundo engloba características como tamanho das partículas, quantidade da amostra, solubilidade dos gases liberados na própria amostra, calor da reação, compactação da amostra, natureza e condutividade térmica da amostra (IONASHIRO, CAIRES e GOMES, 2014).

3.10.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

É uma técnica que mede a diferença de temperatura entre uma amostra e um material de referência. Essas medições de temperatura são consideradas diferenciais, pois se detecta a diferença entre a temperatura de referência (T_r) e da amostra (T_a), em função da temperatura ou do tempo, onde o aquecimento ou resfriamento determinados serão sempre realizados em ritmo linear (IONASHIRO, CAIRES e GOMES, 2014).

Existem alguns fatores importantes que podem interferir no resultado das curvas DTA: natureza do suporte da amostra, razão de aquecimento do forno, natureza da substância inerte utilizada como referência, compactação da amostra, referência nos orifícios do bloco de suporte e natureza, dimensões e localização dos termopares diferenciais (HAINES, 2012; IONASHIRO, CAIRES e GOMES, 2014).

Por meio da utilização desta técnica é possível acompanhar os efeitos e variações de calor relacionados a alterações físicas ou químicas da amostra, como por exemplo as transições de fase. Incluem-se nestas transições: fusão, ebulição, sublimação, congelamento e inversões de estruturas cristalinas; reações de desidratação, de dissociação, de decomposição, de oxidação-redução, entre outras (IONASHIRO, CAIRES e GOMES, 2014).

3.10.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

É uma técnica que mede de duas diferentes formas conforme o tipo de DSC. No DSC com compensação de potência, mede a diferença de potência elétrica entre uma amostra e um material de referência, em função da temperatura (método dos aparelhos Perkin-Elmer). No DSC com fluxo de calor, mede a diferença na razão do fluxo de calor entre uma amostra e um material de referência, também em função da temperatura, sendo este o modelo que será utilizado no presente trabalho. (IONASHIRO, CAIRES e GOMES, 2014).

Segundo Wendlant (1974) pode ser definida como a medida da diferença de energia fornecida entre a amostra e um material de referência em função da temperatura ou tempo, durante o processo de aquecimento ou resfriamento de ambos, o registro desta variação é a curva DSC.

Com a utilização do DSC, é possível estudar as variações de entalpia (ΔH), sendo as mais comuns as transições vítreas que sofrem certos polímeros. É possível acompanhar também as reações endotérmicas e exotérmicas, sendo geralmente as transições de fase, desidratações, reduções e certas reações de decomposição relacionadas aos efeitos endotérmicos, enquanto as cristalizações, oxidações, algumas reações de decomposição referem-se aos efeitos exotérmicos (IONASHIRO, CAIRES e GOMES, 2014).

Dentre os fatores que podem modificar a forma das curvas DSC, conforme Ionashiro, Caires e Gomes (2014), destacam-se:

- razão de aquecimento do forno;
- natureza do suporte de amostras;
- profundidade do orifício do cadinho usado para colocar a amostra;
- localização, natureza e dimensões dos termopares diferenciais;
- natureza da substância inerte utilizada como referência;
- compactação da amostra e da referência no cadinho;
- efeito de colocação da tampa sobre o cadinho;
- influência da atmosfera do forno;
- tamanho das partículas da amostra e seu grau de cristalinidade;
- os cátions adsorvidos e a presença de misturas na argila.

As principais vantagens da utilização do DSC, de acordo com Ionashiro, Caires e Gomes (2014), é a rapidez nas determinações, o uso de pouca massa da

amostra, a possibilidade da amostra estar na forma líquida ou sólida, é aplicável a processo de resfriamento e medidas sob alta pressão e oferece o estudo de diferentes tipos de reações químicas.

Em relação as aplicações, a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) tem sido bastante empregada para estudar principalmente os fenômenos de gelatinização e retrogradação (ANDRADE et al., 2014). A curva DSC de um amido varia conforme sua origem e com as condições de DSC, podendo ser influenciada pela estrutura ordenada em duplas hélices da amilopectina (KOHYAMA et al., 2004).

Na gelatinização do amido, estas análises fornecem medidas quantitativas deste processo associado ao fluxo de calor, avaliando os fenômenos endotérmicos que geralmente se apresentam com picos mais elevados devido ao alto teor de amilopectina (BILIADERIS, 1990; RUSSELL, 1987). Conforme estudos realizados por Biliaderis (1991), a ocorrência da gelatinização depende da quantidade de água no sistema, influenciando assim a curva DSC. Portanto, quanto mais água no sistema, menor será a temperatura do evento e mais definida será a curva.

O fenômeno da retrogradação pode ser observado através da utilização do DSC, uma vez que a região reorganizada em amilopectina funde-se endotermicamente, além de permitir o estudo a longo prazo da retrogradação do amido com um conteúdo de água constante e os cadinhos selados (NAKAZAWA et al., 1985).

3.11 Análise Viscoamilográfica (RVA)

A análise de RVA é utilizada para estudar o comportamento de pasta do amido, sendo necessário uma pequena quantidade de amostra e um curto período de tempo para a sua realização. O grau de degradação do amido, o inchamento do grânulo e a geleificação da pasta de amido são algumas das informações geradas à partir desta análise (RYU, NEUMANN e WALKER, 1993).

O Rápido Visco-analisador modelo RVA-4 é um viscosímetro rotacional muito utilizado para a avaliação da qualidade de amidos e farinhas em muitos países (THOMAS e ATWELL, 1999). O perfil de empastamento de amidos obtidos pelo RVA inclui pico de viscosidade, tempo para atingir o pico, quebra, viscosidade final e temperatura de pasta.

Quando o aquecimento começa acontece o inchamento dos grânulos de amido, que proporcionam a elevação na viscosidade da suspensão de amido conforme o tempo e a temperatura de pasta, onde os polímeros como a amilose são lixiviados. O pico de viscosidade é visualizado quando os grânulos de amido estão completamente inchados, mantendo a pasta em 95 °C de temperatura em movimento constante. Os grânulos de amido quebram e ocorre a solubilização dos polímeros que provocam a redução da viscosidade, apontada no gráfico como curva de quebra. O resfriamento do grânulo ocasiona a reorganização da amilose e da amilopectina, isso eleva a opacidade e viscosidade da pasta por meio de um processo conhecido como *setback* e que acontece por causa da grande tendência para formar ligações de hidrogênio entre as moléculas mais próximas (WHISTLER e BEMILLER, 1997).

É importante ressaltar que vários perfis de gelatinização e empastamento podem ser gerados pelo equipamento de RVA, isso dependerá do tipo de amido, considerando sua fonte botânica e se o amido utilizado é natural ou modificado. Além disso, o nível de sólidos, o pH e o regime de aquecimento são outros fatores que auxiliam na determinação destes perfis (THOMAS e ATWELL, 1999).

3.12 Difractometria de Raios X (DRX)

O processo para gerar a radiação de raios X ocorre por meio do bombardeamento do ânodo por elétrons do cátodo. As radiações eletromagnéticas, como são conhecidas as radiações, apresentam diferentes comprimentos de onda (λ), variando aproximadamente de 0,02 Å a 100 Å. Um cristal promove a difração dos raios X, pois os elétrons dos seus átomos absorvem a radiação, servindo como fontes secundárias que emitem novamente as radiações em todas as direções (RUSSEL, 1994).

Estas ondas reemitidas reforçam-se mutuamente em algumas direções e cancelam-se umas às outras (RUSSEL, 1994). A aplicação da Difractometria de Raios X em amidos permite determinar matematicamente a porção cristalina do polímero, o tamanho da partícula e a rugosidade (BENINCA et al., 2013b).

Segundo Mestres (1996), os amidos podem apresentar três diferentes padrões de cristalinidade. O primeiro denomina-se tipo A, apresentando maior intensidade de pico para ângulos de refração 2θ à 15 °, 17 °, 18 ° e 23 °, e isso é

típico para amidos de cereais. O segundo denomina-se tipo B, com maior intensidade de pico para ângulos de refração 2θ a 5° , 6° , 15° , 17° , 22° e 23° , sendo mais comum em amidos de tubérculos. O terceiro denomina-se tipo C, o qual contém o perfil mais complexo dos demais pois é uma mistura dos tipos A e B. Apresenta proporções diferentes no amido sendo considerado a seguinte classificação: tipo C-A (maior predominância do tipo A), tipo C (proporções iguais dos tipos A e B) e tipo C-B (maior predominância do tipo B) (CAI et al., 2014).

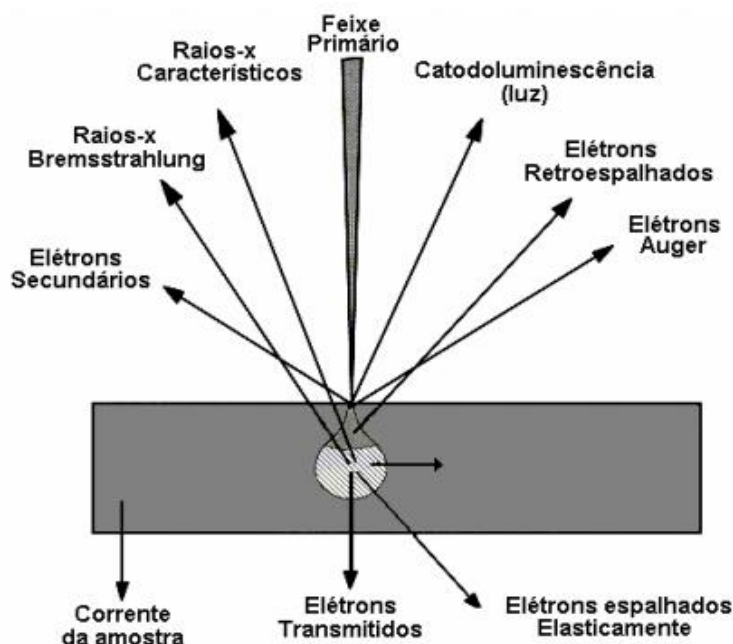
3.13 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um equipamento muito utilizado em análises morfológicas e estruturais de materiais sólidos e apresenta inúmeras funções. A interpretação dos dados obtidos é simples, porém o mecanismo utilizado para detectar as imagens é complexo (MUCCILLO, 2009).

A técnica aplicada pelo MEV baseia-se na irradiação por um feixe de elétrons de pequeno diâmetro. A interação do feixe de elétrons com a superfície da amostra promove a perda de energia dos elétrons, à qual é liberada de diversas formas, como elétrons secundários, retroespalhados, raios X, elétrons auger e fótons (KITAJIMA e LEITE, 1997). As radiações quando atraídas corretamente propiciam informações à respeito da amostra, como topografia da superfície, composição e cristalografia e por meio de linhas sucessivas transmitem o sinal do detector a uma tela da qual a varredura está sincronizada com o feixe incidente (MALISKA, 2004; KITAJIMA e LEITE, 1997).

Para a formação da imagem referente à superfície da amostra deve ocorrer a emissão de sinais que proporcionem as informações necessárias, sendo os elétrons secundários e retroespalhados os mais relevantes. A interação do feixe primário com a amostra, Figura 12, converte-se em elétrons secundários. Os elétrons retroespalhados pertencentes ao feixe primário mudam de direção após atingir o núcleo dos átomos da amostra e, portanto, são desprendidos do material. Estas diferenças de número atômico dos elementos que constituem a amostra resultam no contraste das imagens geradas (MALISKA, 2004).

Figura 12 – Interação e origem de alguns elétrons com a amostra



Fonte: Maliska (2004).

O estudo e caracterização da superfície externa dos grânulos de amido tem grande importância para a determinação das propriedades químicas e do nível de modificação sofrido pelos grânulos de amido (SAIBENE e SEETHARAMAN, 2008; TŪSKE, LÁSZLÓ e PINTYE-HÓDI, 2007). Nos amidos em geral, o MEV apresenta a finalidade de detectar as alterações no tamanho e forma dos grânulos. Ambos os fatores são influenciados pela espécie da planta e podem identificar e determinar a origem do amido (MUCCILLO, 2009).

Os amidos naturais de diversas fontes vegetais apresentam as características morfológicas variando de acordo com as práticas culturais e o genótipo da planta. Portanto podem apresentar por exemplo uma forma arredonda, no caso da fécula de mandioca e manga, ou mostrar uma forma oval como encontrado na fécula de batata e banana (HOOVER, 2001; ROMERO-BASTIDA et al., 2005). Geralmente a maior parte dos grânulos de amido natural são birrefringentes e exibem as características do padrão de "cruz de malta" quando submetidos à luz de polarização. Esta birrefringência provoca um alto grau de orientação das moléculas no interior do grânulo, mas não está relacionada com a forma cristalina (BELLO-PÉREZ et al., 2006).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Matéria prima

As sementes de pinhão foram coletadas de árvores de *A. angustifolia* pertencentes ao banco de Germoplasma da Embrapa Florestas localizado sobre as coordenadas de latitude 25°16'36"S e longitude 49°04'58"W no município de Colombo-PR. Este município apresenta classificação climática de Köppen-Geiger, sendo subtropical úmido mesotérmico, com temperatura média variando de 22° C à 18° C. Os invernos são rigorosos com ocorrências de severas geadas.

O Banco de Germoplasma de Araucária da Embrapa Florestas foi desenvolvido com o intuito de pesquisar a caracterização e avaliação da diversidade do germoplasma disponível. Para a formação deste banco foram escolhidas sementes de diferentes localidades que foram plantadas em Colombo-PR. Atualmente, o banco possui um total de 224 acessos, com idade média de 31 anos. Entretanto, o estudo selecionou dois acessos de diferentes procedências identificados como C05-B1 e I27-B1, considerados pinhões tardios e cuja a procedência se localiza nas cidades de Caçador-SC e Irati-PR, respectivamente. Estas sementes foram coletadas no referido Banco Ativo de Germoplasma (BAG) no mês de julho de 2013 e testes preliminares evidenciaram que estas amostras apresentavam temperatura do evento de gelatinização abaixo de 60 °C, sendo uma característica interessante e vantajosa para a indústria (economiza tempo e energia durante o processo de gelatinização do amido). Para facilitar a compreensão do presente estudo as amostras selecionadas foram denominadas como acessos C e I.

4.1.2 Reagentes

Os reagentes que foram utilizados neste trabalho estão listados abaixo:

- Ácido Clorídrico (P. A.) – Marca Vetec;
- Álcool Etílico Absoluto (Padrão HPLC) – Marca PanReac – AppliChem – ITW Reagents;

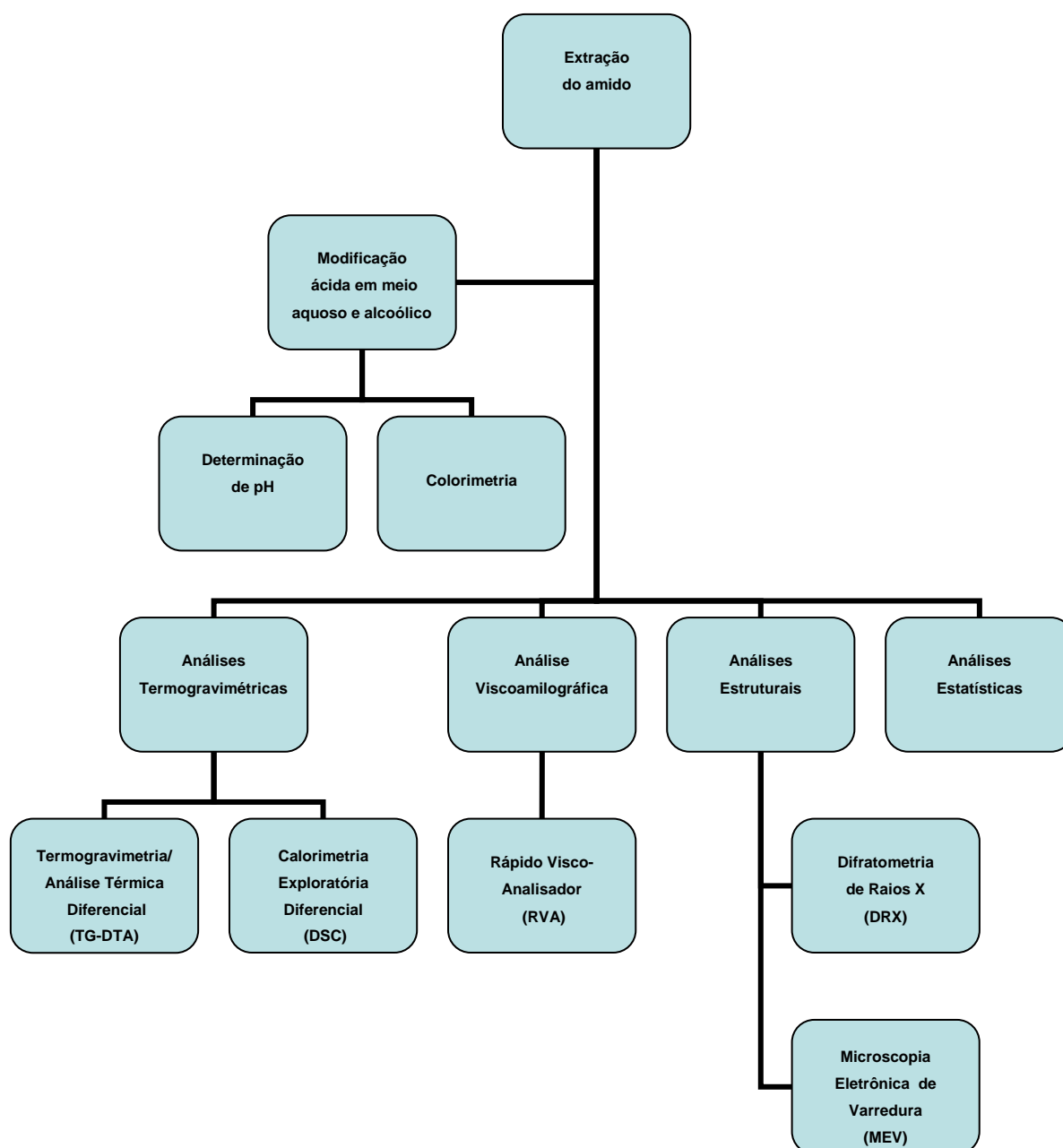
- Álcool Metílico Absoluto (Padrão HPLC) – Marca PanReac – AppliChem – ITW Reagents.

A água tipo II foi usada para a realização da diluição das amostras tratadas com ácido clorídrico em meio aquoso e no enxague das amostras modificadas.

4.2 Métodos

4.2.1 Fluxograma do procedimento experimental

Figura 13 - Fluxograma do procedimento experimental



Fonte: A autora.

4.2.2 Extração do amido

A metodologia de extração foi realizada conforme Costa et al. (2014). A primeira etapa refere-se ao descascamento do pinhão, onde foi efetuado com as sementes cruas. Foi realizado um corte transversal e outro longitudinal no meio da semente, para facilitar a abertura e a retirada da casca.

A segunda etapa refere-se a remoção da película e do embrião, localizados no centro da semente, com o intuito de facilitar o isolamento do amido. Na terceira etapa foi realizada a trituração, em equipamento específico juntamente com água para facilitar o processo. Depois segue-se para a quarta etapa, onde foi realizado a filtração do amido de pinhão triturado, com o uso de um filtro de pano fino do tipo poliéster. Este processo foi realizado por duas vezes, sendo triturada na segunda vez antes de passar por uma nova filtração.

A quinta etapa refere-se a decantação da fração líquida obtida anteriormente, sendo depositada em formas de alumínio por cerca de 2 a 3 horas. Após esta etapa, foi eliminado o excesso de água, sem desprezar o precipitado que formou no fundo do recipiente. A massa obtida deste processo foi encaminhada para a sexta etapa, onde realizou-se uma secagem em estufa à 40 °C por 24 horas. A última etapa compreende a maceração e o peneiramento, onde o amido foi moído até formar pó e realizado posteriormente o peneiramento para a desintegração dos grumos com peneiras de 250 e 100 mesh (63 µm e 150 µm).

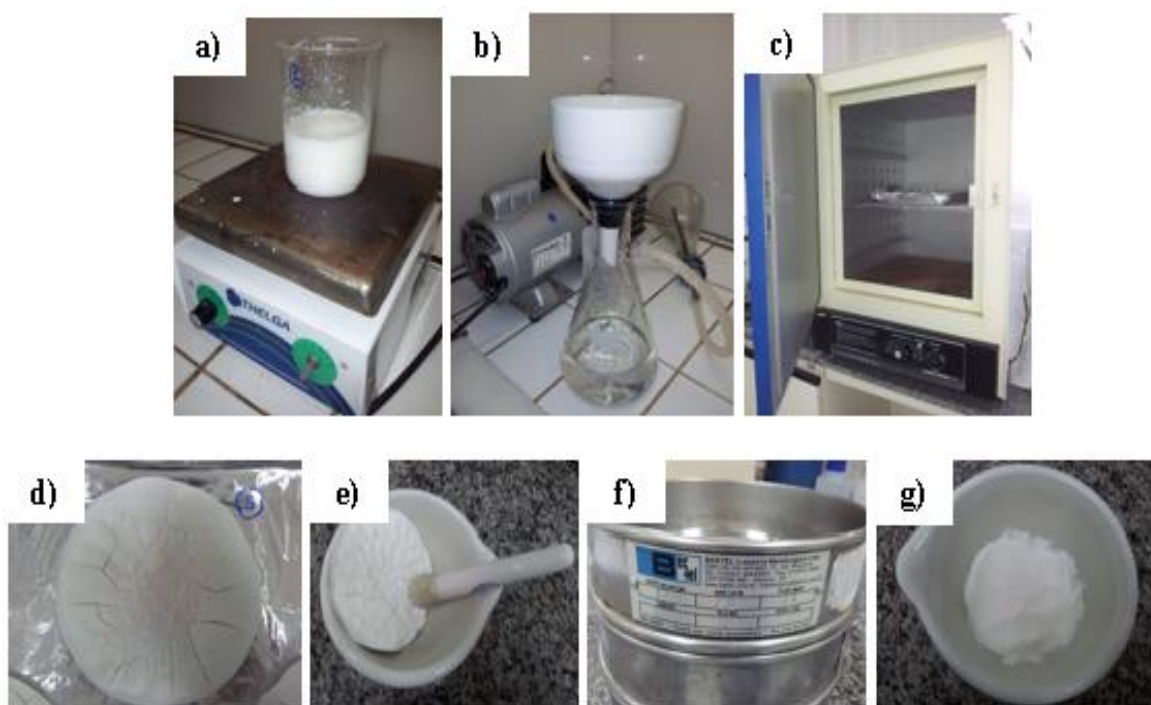
4.2.3 Modificação do amido por tratamento de ácido clorídrico em meio aquoso, metanólico e etanólico

Após a secagem, os amidos de pinhão dos acessos C e I, foram divididos em sete amostras cada, contendo massa aproximada de 10 gramas, totalizando 14 amostras. Destas sete amostras de cada acesso, seis foram destinadas a modificação química e uma amostra foi separada como amostra natural. A modificação foi realizada com base na metodologia adaptada de Mukerjea et al. (2007) e Siqueira et al. (2016). As soluções utilizadas foram de ácido clorídrico 0,1 e 0,5 mol L⁻¹ em meio aquoso e alcoólico (metanol e etanol).

Para a modificação dos amidos de pinhão foi primeiramente preparada as soluções ácidas em meios aquoso e alcoólico. Em três béqueres de 200 ml foi

colocado aproximadamente 100 ml de cada uma das soluções de água, metanol e etanol separadamente. Em seguida, foi adicionado lentamente 11,36 ml de HCl concentrado para cada béquer, sendo que as soluções foram transferidas posteriormente para três balões volumétricos de 250 ml sendo preenchidos com os respectivos solventes até a marca do menisco. A diluição estipulada foi de 10 gramas de amido em 50 mL de solução ácida padronizada em meio aquoso, metanólico e etanólico. As amostras tratadas sofreram hidrólise ácida durante 1 hora em agitação magnética em temperatura ambiente, Figura 14 a. Posteriormente foram filtradas em funil de Büchner e lavadas com água de osmose reversa, Figura 14 b, até a eliminação completa do ácido utilizando o indicador nitrato de prata a uma concentração de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Os amidos secaram em estufa a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas, Figura 14 c e em seguida sofreram moagem e peneiramento por duas vezes com peneiras 80 e 170 mesh ($180 \text{ }\mu\text{m}$ e $90 \text{ }\mu\text{m}$), Figura 14 d-g. As amostras modificadas foram acondicionadas em dessecador até o momento da realização das análises (SIQUEIRA et al., 2016).

Figura 14 – Etapas principais do processo de modificação do amido por hidrólise ácida



Fonte: A autora.

(*) a) agitação magnética por 1 hora; b) lavagem e filtragem a vácuo; c) secagem em estufa a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas; d) amido de milho tratado após secagem; e) trituração do amido; f) tamisação com uso de tamis 80 e 170 mesh; g) amido de milho tratado em pó.

4.2.4 Determinação de pH

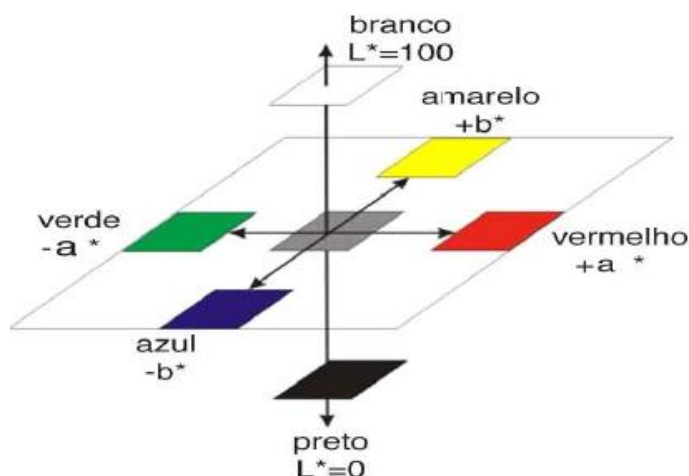
Para determinação do pH foi utilizado o medidor de pH digital (HI-2221 – Calibration Check pH/ORP Meter, Hanna Instruments, Romania – Europa) utilizando uma suspensão aquosa de 2% (massa/volume), 2 mL de água diluídos em 40 mg de amido. As soluções foram acondicionadas em tubos de ensaio Falcon à temperatura ambiente de acordo com a metodologia adaptada de Daudt et al. (2014). Posteriormente foram agitadas e homogeneizadas com o equipamento de ultrassom (Ultra Cleaner 1400 A – Unique – Ultra Sonic Clean, São Paulo - Brasil) para evitar a deposição de amido pela dificuldade de manter em suspensão e para facilitar a liberação das espécies ácidas que por ventura tenham ficado retidas. A programação utilizada foi a frequência de 40 KHz e o tempo total de 30 minutos. O intuito da determinação de pH foi avaliar a presença de ácido residual nas amostras modificadas após a lavagem e filtração, complementando a informação do teste com nitrato de prata.

4.2.5 Colorimetria

Para determinar os parâmetros de cor foi utilizado o equipamento conhecido como espectrofotômetro de reflectância MiniScan XE 45/0-L Plus (*Hunter Inc.*, EUA), que consiste na indicação de três componentes de cor: L^* , a^* e b^* .

A cor das amostras modificadas e da nativa de amido de pinhão foram avaliados pelos seguintes parâmetros, Figura 15: L^* é o eixo da luminosidade que varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* é o eixo de variação de cor verde (a negativo) para o vermelho (a positivo) e b^* é o eixo de variação de cor azul (b negativo) e amarelo (b positivo). (COLMAN, DEMIATE e SCHNITZLER, 2014).

Figura 15 - Representação esquemática do sistema de avaliação de cor



Fonte: Adaptado de HunterLab (1996).

4.2.6 Análise Térmica

4.2.6.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial (TG-DTA)

As curvas TG-DTA foram obtidas por meio do equipamento de análise térmica (modelo DTG-60H – Shimadzu, Japão). Foi usado o padrão mono-hidrato de oxalato de cálcio para verificar a calibração do equipamento. As amostras foram pesadas em balança analítica e acondicionadas em cadinhos de alumina pré-tarados na balança.

As análises foram baseadas na metodologia adaptada de Ramos et al. (2015). As amostras foram analisadas em duas atmosferas diferentes, primeiro em ar sintético e posteriormente em nitrogênio. Em ambas as análises foi usado aquecimento de 30 °C a 650 °C, um fluxo de ar e N₂ de 100 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. A massa inicial das amostras analisadas com ar sintético foram de 2,98±0,02 mg para ambos os acessos. Para a atmosfera de nitrogênio as massas foram de 3,00±0,01 mg para os acessos C e I. As porcentagens de perda de massa foram determinadas pelo programa de análise TA 60WS (Shimadzu, Japão).

4.2.6.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram analisadas à partir do sistema de análise térmica (modelo DSC-60A – Shimadzu, Japão), calibrado com padrão de índio puro (99,99%), ponto de fusão $T_p = 156,6 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta H = 28,56 \text{ J g}^{-1}$.

As condições para a análise foram baseadas na metodologia adaptada de Hornung et al. (2015). Foi utilizada a atmosfera de nitrogênio, massa da amostra de 1,5 mg e o volume de água de 4,5 μL (proporção de água/amido w/w 3:1), fluxo de N_2 de 50 mL min^{-1} , razão de aquecimento de 2 $^\circ\text{C min}^{-1}$ e temperatura de 30 até 100 $^\circ\text{C}$. As amostras foram acondicionadas em cadinhos de alumínio fechados e selados. Os resultados foram analisados por meio das curvas de DSC no software Universal Analysis 2000 (TA Instruments, EUA).

4.2.7 Análise Viscoamilográfica (RVA)

Antes da realização das análises no viscosímetro RVA foi determinado a porcentagem de umidade com o intuito de realizar um ajuste de cálculo para massa seca. Para isto, foi inserido aproximadamente 0,5 g de cada amostra em uma balança determinadora de umidade (marca Sartorius, modelo MA 35 M – AG Germany).

Uma suspensão de amido foi preparada baseada no seguinte padrão: 8% m/m de 28 g de massa total. Este valor foi adaptado conforme o valor de porcentagem de umidade da amostra detectado na balança determinadora de umidade. Com o resultado realizou-se um cálculo para avaliar a quantidade de amostra e de água que foi utilizada no preparo e a suspensão foi misturada no porta amostras do RVA.

Para o preparo da suspensão foi utilizado um homogeneizador tipo turrax (marca Marconi, modelo TE 102, série 892588 – Piracicaba – SP) com a intenção de homogeneizar a suspensão de amido de pinhão a fim de não comprometer a leitura no RVA. Durante a homogeneização foi empregada uma velocidade intermediária, pelo período de aproximadamente 1 minuto.

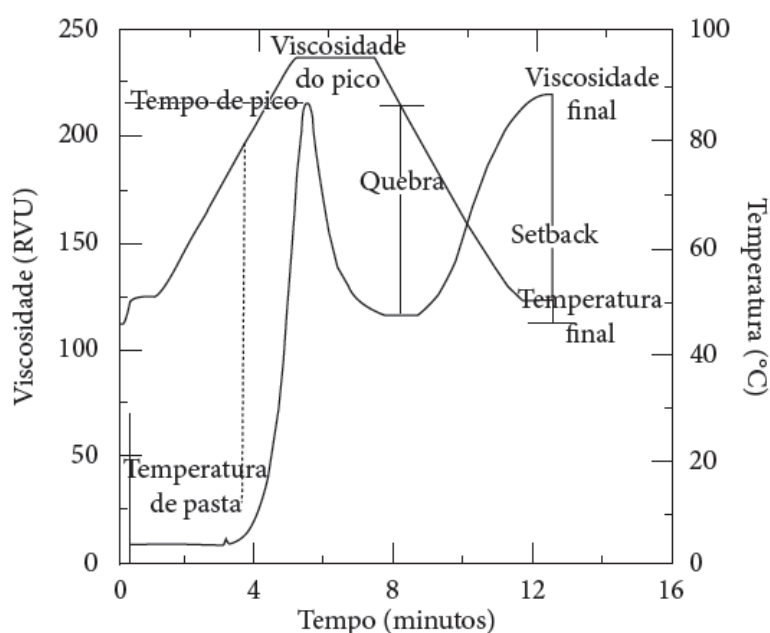
As análises de Rápido visco-analisador (RVA), foram realizadas no Rapid Visco Analyser (marca Newport Scientific – RVA-4 – modelo NSW 2102 – Austrália), um equipamento que vem sendo utilizado em todos os países para a avaliação da qualidade dos amidos e farinhas (ZÓRTEA et al., 2011). As repetições analíticas não foram realizadas devido à restrição na quantidade de massa das amostras de

amidos de pinhão de ambos os acessos e devido ao baixo desvio padrão para esta análise encontrado na literatura em amidos tratados por hidrólise ácida (BET et al., 2016; SUN et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2014; BENINCA et al., 2013a; OKUNLOLA e AKINGBALA, 2013; SINGH et al., 2005).

Após inserir no equipamento, informou-se as condições da amostra, sendo equilibrada a 50 °C por dois minutos, aquecida a 95 °C numa razão de 6 °C min⁻¹, mantendo-se nesta temperatura por cinco minutos. A seguir, a pasta foi resfriada a 50 °C, em uma razão de 6 °C min⁻¹ e mantida nesta temperatura por dois minutos. A amostra permaneceu no equipamento por vinte e três minutos no total, onde a suspensão foi agitada a 160 rpm. As propriedades de pasta dos amidos foram determinadas usando o software Thermocline for Windows, versão 2.2.

Como apresentando na Figura 16, os parâmetros avaliados e o perfil de empastamento típico de amidos obtidos pelo RVA inclui pico de viscosidade, tempo para atingir o pico, quebra, viscosidade final e temperatura de pasta. Observa-se que o gráfico foi separado em três curvas de tempo conforme o comportamento reológico do amido, mostrando três fases distintas, sendo a primeira fase pertencente ao empastamento, a segunda fase referente ao cozimento e a terceira fase relacionado à retrogradação do amido (THOMAS e ATWELL, 1999).

Figura 16 - Curva de viscosidade típica do RVA mostrando os parâmetros



Fonte: Newport Scientific (1998).

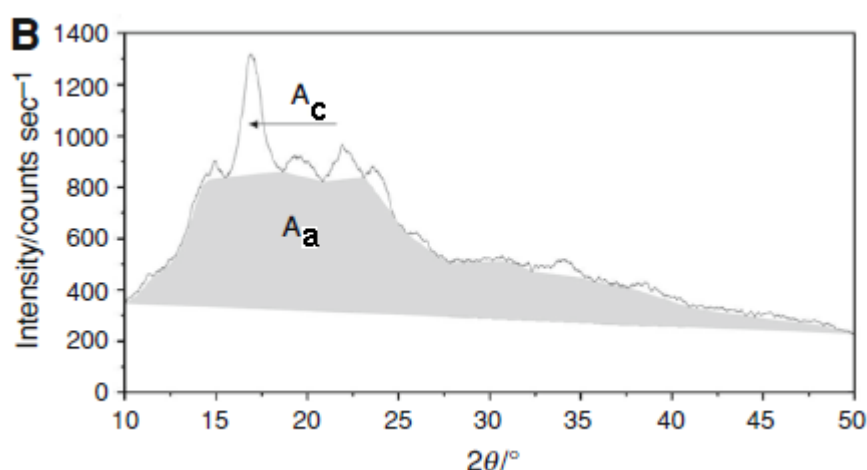
4.2.8 Difractometria de Raios X (DRX)

As amostras foram analisadas no equipamento de difratometria de raios X Ultima IV (*Rigaku*, Japão), do Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-Labmu) da Universidade Estadual de Ponta Grossa. O objetivo da utilização deste equipamento foi para caracterizar e determinar a porção cristalina dos grânulos de amido de pinhão natural e modificados.

As amostras foram depositadas uma à uma sobre um suporte de vidro pertencente ao equipamento e empregando a radiação $\text{CuK}\alpha$ com o comprimento de onda (λ) de 1,541 Å, submetida a 40 kV e a uma corrente de 30 mA. A radiação emitida foi detectada no intervalo angular de 5° a 50° (2θ), com velocidade de escaneamento de 2° min^{-1} e um passo de $0,02^\circ$.

O grau de cristalinidade relativa foi estimado pelo software Microcal Origin 8.0 e conforme metodologia encontrada na literatura (COLMAN, DEMIATE, SCHNITZLER, 2014), sendo que para calcular o grau de cristalinidade dos picos mais acentuados considera-se a região em 10° a 50° . Os espectros de difração por raios X de todas as amostras sofreram aplicação de ‘*smoothing*’ para amenizar os ruídos instrumentais. A Figura 17 mostra os parâmetros considerados para o cálculo do grau de cristalinidade relativa:

Figura 17 - Parâmetros para o cálculo do grau de cristalinidade relativa



Fonte: Adaptado de Zhang et al. (2009).

Onde X_c é o grau de cristalinidade relativa, A_c é a parcela cristalina e A_a é a parcela amorfa. A área do pico de difração demonstrado acima e toda a área de

difração foram interligadas. Conforme Nara e Komiy (1983), existe uma equação para calcular o grau de cristalinidade relativa:

$$X_c = \frac{A_c}{(A_c + A_a)} \cdot 100$$

Fonte: Adaptado de Zhang et al. (2009).

4.2.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As características e mudanças morfológicas do amido foram detectadas através do microscópio eletrônico de varredura (Tescan, VEGA 3, Kohoutovice, República Checa) do Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-Labmu) da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Estas análises foram realizadas com os grânulos de amido de pinhão natural e modificados de ambos os acessos. Os resultados obtidos foram analisados e comparados com as demais técnicas utilizadas.

As amostras foram fixadas nos suportes através de uma fita adesiva dupla-face e posteriormente metalizadas com ouro (Au). As microimagens foram obtidas no MEV utilizando uma escala de leitura de 10 µm, ampliação de 3000 vezes, com 20 kV de tensão no feixe de elétrons, filamento de tungstênio e detector de elétrons retroespalhados. A leitura da imagem ocorre à partir do detector de elétrons, que capta as imagens e as transmite a um software operacional específico do equipamento.

4.2.10 Análises Estatísticas

As análises de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das amostras com nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) foram realizadas usando o programa Agri SAMS 8.2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os amidos de pinhão dos acessos C e I após a modificação ácida em meio aquoso, metanólico e etanólico apresentaram como recuperação parcial dos grânulos de amido os seguintes valores demonstrados nas Tabelas 1 e 2:

Tabela 1 – Recuperação dos grânulos de amidos de pinhão acesso C

Amostras	Recuperação (%)
(C0)	100
(C1)	94
(C2)	93
(C3)	92
(C4)	95
(C5)	93
(C6)	88

(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Analisando os dados observou-se no acesso C que o menor valor de recuperação foi encontrado na amostra C6 (88%) e no acesso I na amostra I5 (87%), indicando que a maior concentração de HCl pode influenciar na recuperação do grânulo. Nos acessos C e I, os maiores valores foram coincidentes sendo identificados nas amostras C4 (95%) e I4 (94%), demonstrando que o meio aquoso proporcionou maior recuperação dos grânulos em ambas as concentrações. De modo geral estes valores encontrados nos acessos C e I corroboram com a literatura que menciona a recuperação de até 90% dos grânulos de amido modificados por hidrólise ácida em meio alcoólico (LIN; LEE e CHANG, 2003; LIN e CHANG, 2006; LIN et al., 2011). Porém, os amidos avaliados no presente estudo obtiveram um

perfil diferente, apresentando maior recuperação parcial dos grânulos no meio aquoso se comparado ao meio alcoólico.

Tabela 2 - Recuperação dos grânulos de amidos de pinhão acesso I

Amostras	Recuperação (%)
(I0)	100
(I1)	93
(I2)	93
(I3)	93
(I4)	94
(I5)	87
(I6)	92

(I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

5.1 Determinação de pH

Os valores de pH dos amidos de pinhão naturais variaram de $6,55 \pm 0,10$ e de $4,99 \pm 0,33$ para as amostras tratadas com HCl em meio aquoso, etanólico e metanólico, Tabelas 3 e 4. De acordo com Häusler (2009), as suspensões de amido que apresentam pH de 4,0 à 8,0, não exibem uma capacidade auto-tamponante. Assim, as amostras naturais e tratadas de ambos os acessos estão dentro dos valores esperados de pH, comprovando que as etapas de lavagem e filtragem eliminaram os resíduos do ácido utilizado na modificação.

Silva et al. (2006) avaliaram as características físico-químicas de amidos de milho, mandioca e milho ceroso modificados por hidrólise ácida e encontrou valores de pH menores (3,4) que o presente estudo, indicando que a lavagem ou neutralização não ocorreu. Constataram ainda que o pH final das amostras alterou, sendo um fator indesejável, podendo prejudicar a aplicação final de amidos

modificados. Portanto, é importante obter a informação do pH do produto após o tratamento ácido, principalmente para as indústrias que utilizam amidos modificados.

Tabela 3 - Determinação do pH das amostras de amidos de pinhão acesso C

Amostras	Valores de pH
(C0)	6,46±0,02 ^a
(C1)	5,28±0,01 ^b
(C2)	5,09±0,08 ^c
(C3)	4,89±0,06 ^d
(C4)	4,81±0,01 ^{de}
(C5)	5,26±0,04 ^{bc}
(C6)	4,65±0,01 ^e

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 4 - Determinação do pH das amostras de amidos de pinhão acesso I

Amostras	Valores de pH
(I0)	6,64±0,04 ^a
(I1)	4,68±0,02 ^d
(I2)	4,94±0,02 ^c
(I3)	5,02±0,04 ^c
(I4)	4,36±0,01 ^e
(I5)	5,44±0,08 ^b
(I6)	5,42±0,05 ^b

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

5.2 Colorimetria

A análise colorimétrica apresentou diferença significativa na maioria das amostras naturais e modificadas de ambos os acessos, conforme observado nas Tabelas 5 e 6. Para o eixo L* ambos os acessos apresentaram elevada luminosidade conferindo cor branca as amostras. Os valores variaram de 84,07 a 90,89 para o acesso C e de 86,42 a 89,80 para o acesso I.

Tabela 5 - Resultados de Colorimetria das amostras de amido de pinhão acesso C

Amostras	Parâmetros de Cor		
	L*	a*	b*
(C0)	84,07±0,23 ^f	-0,99±0,01 ^c	2,06±0,05 ^d
(C1)	86,17±0,27 ^e	-0,79±0,20 ^c	-0,60±0,92 ^e
(C2)	87,80±0,65 ^d	-0,58±0,40 ^{bc}	2,95±1,32 ^{cd}
(C3)	89,64±0,03 ^{bc}	-0,23±0,08 ^b	4,22±0,05 ^{bc}
(C4)	90,89±0,05 ^a	0,50±0,07 ^a	5,37±0,36 ^{ab}
(C5)	89,17±0,38 ^c	0,56±0,01 ^a	5,12±0,02 ^b
(C6)	90,28±0,09 ^{ab}	1,02±0,02 ^a	7,18±0,17 ^a

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 6 - Resultados de Colorimetria das amostras de amido de pinhão acesso I

Amostras	Parâmetros de Cor		
	L*	a*	b*
(I0)	86,42±0,17 ^e	0,46±0,01 ^c	4,24±0,08 ^d
(I1)	86,86±0,15 ^{de}	0,53±0,02 ^c	4,73±0,03 ^c
(I2)	89,03±0,28 ^b	0,74±0,04 ^{bc}	5,57±0,01 ^b
(I3)	87,07±0,10 ^{cd}	0,60±0,05 ^{bc}	4,39±0,05 ^d
(I4)	87,37±0,11 ^c	1,48±0,26 ^a	4,72±0,14 ^c
(I5)	88,96±0,20 ^b	0,82±0,03 ^b	5,62±0,06 ^b
(I6)	89,80±0,07 ^a	1,46±0,02 ^a	6,56±0,02 ^a

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Característica semelhante obtida pelo acesso C foi encontrada em amidos de sementes de jaca (DUTTA et al., 2011) e de castanha portuguesa (KUBIAKI, 2016) utilizando hidrólise ácida. Em outra pesquisa que avaliou as diferenças de cor de farinhas de pinhão cruas e cozidas, foram encontrados valores semelhantes ao eixo L* do acesso I nas farinhas de pinhão cru, variando de 88,18 a 89,92. (CLADERA-OLIVERA et al., 2008). No parâmetro de cor a* em ambos os acessos, foram encontrados valores próximos a zero, indicando que não houve tendência para as colorações verde ou vermelho. Quanto ao eixo b* ambos os acessos apresentaram uma leve tendência a coloração amarela. Em uma pesquisa realizada por Abegunde et al. (2013) utilizando amido de batata doce de 12 cultivares apresentou perfil semelhante, com o valor máximo de b* de 4,21. As colorações predominantes foram típicas do amido, branca com leve desvio para a coloração amarela, mostrando que os tratamentos não alteraram as características colorimétricas do amido.

5.3 Análise Térmica

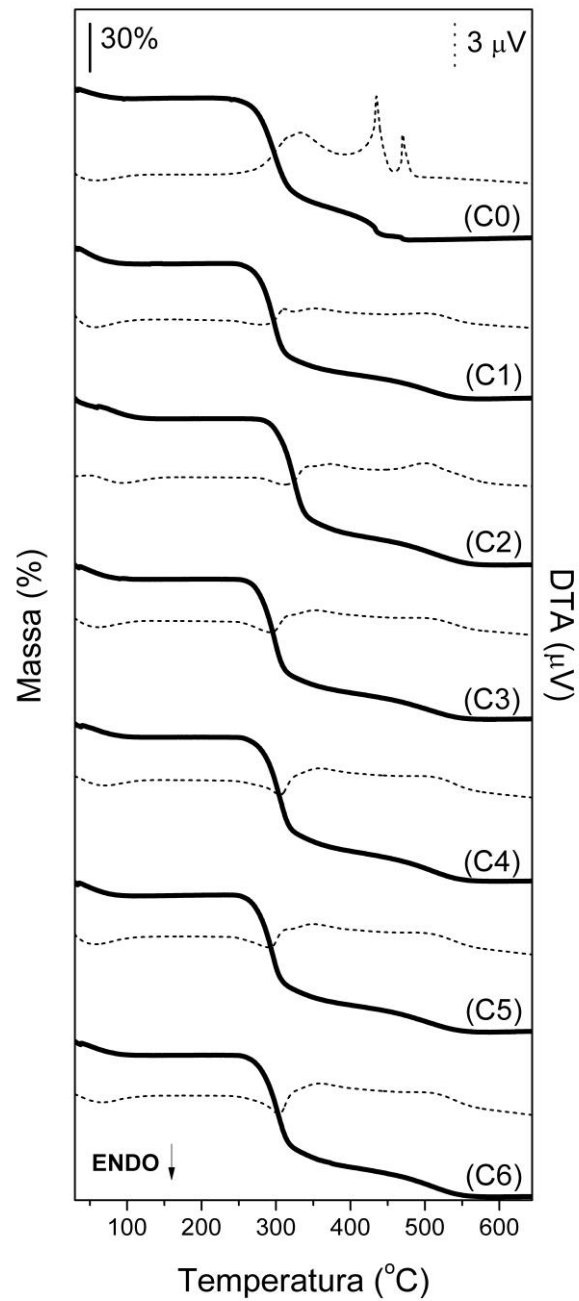
5.3.1 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial (TG-DTA) em ar sintético

Na análise termogravimétrica (TG) realizada sob a atmosfera de ar sintético foram observadas três perdas de massa para todas as amostras de ambos os acessos, Figuras 18 e 19, perfis característicos dos amidos. Observa-se que as curvas DTA das amostras naturais dos acessos C e I também foram similares. Nas amostras tratadas os perfis das curvas DTA foram diferentes das amostras naturais, mostrando semelhança entre os acessos.

A primeira perda de massa refere-se à desidratação que ocorreu à temperaturas de 30 a 105 °C, Tabelas 7 e 8. Este primeiro evento ocasionou a perda de moléculas de água aderidas a superfície dos grânulos de amido e de compostos voláteis presentes nas amostras, variando de 6,33 a 9,02% de redução da umidade dos amidos dos acessos C e I (LACERDA et al., 2014; DI-MEDEIROS et al., 2014).

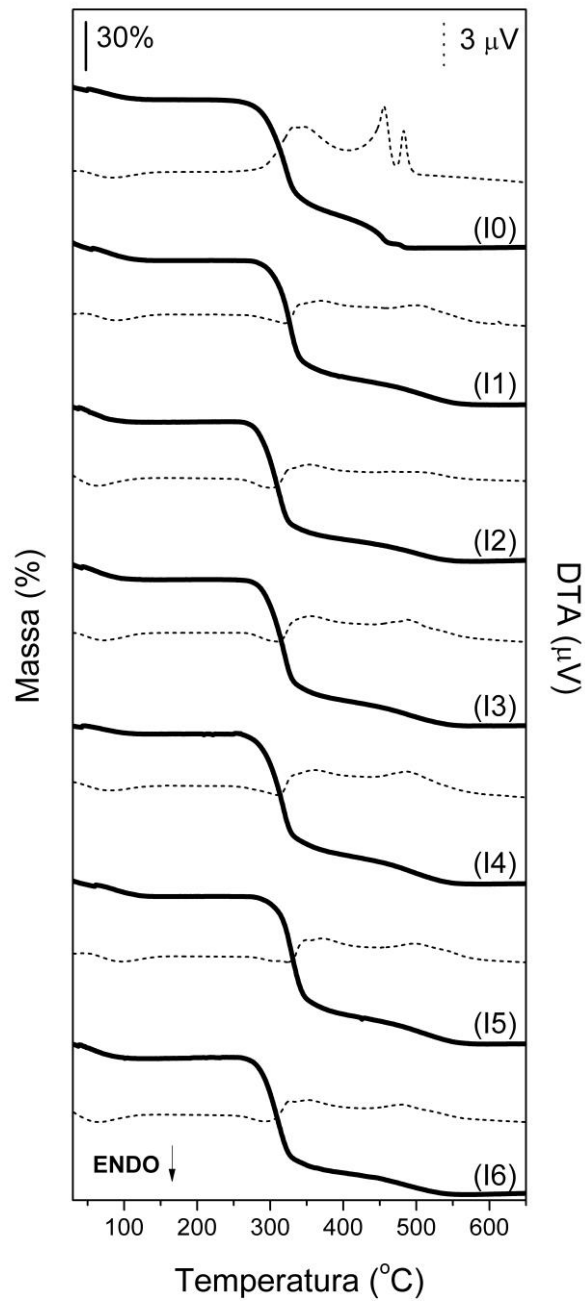
Após um período de estabilidade, observou-se a segunda perda de massa, que ocorreu em ambos os acessos na faixa de 252 a 334 °C. O segundo evento corresponde à decomposição da matéria orgânica, incluindo a amilose e a amilopectina, cuja as perdas variaram de 58,73 a 65,86% nos acessos C e I. O amido sofre alterações irreversíveis, levando inicialmente a formação de pirodextrina. Em temperaturas mais altas, as macromoléculas geradas anteriormente propiciam a formação de compostos como levoglucosano, furfural, produtos voláteis de reduzida massa molecular, restando apenas os compostos carbonáceos (LACERDA et al., 2008a; LACERDA et al., 2014; MALUCELLI et al., 2015).

Figura 18 - Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso C em ar sintético



(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Figura 19 - Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso I em ar sintético



(10) amido de pinhão natural, (11) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (12) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (13) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (14) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (15) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (16) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 7 - Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso C em ar sintético

Amostras	Etapas	TG		DTA
		$\Delta m(\%)$	$\Delta T(^{\circ}C)$	$T_p(^{\circ}C)$
(C0)	1 ^a	6,39±0,20 ^a	30 – 104	70,01±4,69 ^a (endo)
	Estabilidade	-	104 – 252	-
	2 ^a	58,73±1,98 ^a	252 – 329	339,27±2,77 ^a (exo)
	3 ^a	32,40±1,59 ^a	329 – 404	444,86±2,22 ^a (exo)
	Cinzas	3,14±4,33 ^a	404 – 480	478,67±0,25 ^a (exo)
(C1)	1 ^a	9,02±1,33 ^a	30 – 103	65,86±1,84 ^a (endo)
	Estabilidade	-	103 – 257	-
	2 ^a	60,75±3,16 ^a	257 – 325	289,57±6,61 ^b (endo)
	3 ^a	26,68±1,32 ^b	325 – 436	355,00±4,90 ^b (exo)
	Cinzas	3,29±2,74 ^a	436 – 546	492,84±13,64 ^a (exo)
(C2)	1 ^a	7,13±0,54 ^a	30 – 102	70,55±2,75 ^a (endo)
	Estabilidade	-	102 – 257	-
	2 ^a	62,70±1,31 ^a	257 – 325	290,90±1,81 ^b (endo)
	3 ^a	28,20±0,27 ^{ab}	325 – 439	354,33±3,10 ^b (exo)
	Cinzas	0,90±0,86 ^a	439 – 552	490,76±13,24 ^a (exo)
(C3)	1 ^a	7,63±1,22 ^a	30 – 105	68,18±3,56 ^a (endo)
	Estabilidade	-	105 – 258	-
	2 ^a	62,15±1,22 ^a	258 – 326	294,43±4,14 ^b (endo)
	3 ^a	26,69±1,18 ^b	326 – 436	354,78±2,78 ^b (exo)
	Cinzas	2,52±0,84 ^a	436 – 543	492,18±22,80 ^a (exo)
(C4)	1 ^a	8,01±0,16 ^a	30 – 104	69,39±0,58 ^a (endo)
	Estabilidade	-	104 – 255	-
	2 ^a	61,75±2,39 ^a	255 – 326	296,84±11,90 ^b (endo)
	3 ^a	28,68±1,14 ^{ab}	326 – 437	353,79±6,80 ^b (exo)
	Cinzas	0,82±0,34 ^a	437 – 546	490,90±21,13 ^a (exo)
(C5)	1 ^a	7,61±0,71 ^a	30 – 103	68,08±2,47 ^a (endo)
	Estabilidade	-	103 – 256	-
	2 ^a	58,75±2,06 ^a	256 – 324	295,54±2,92 ^b (endo)
	3 ^a	28,74±1,75 ^{ab}	324 – 437	353,31±3,76 ^b (exo)
	Cinzas	4,09±3,22 ^a	437 – 547	486,44±22,21 ^a (exo)
(C6)	1 ^a	8,06±0,72 ^a	30 – 105	66,93±1,06 ^a (endo)
	Estabilidade	-	105 – 254	-
	2 ^a	59,51±1,82 ^a	254 – 324	299,97±5,49 ^b (endo)
	3 ^a	30,60±1,21 ^{ab}	324 – 442	355,64±4,31 ^b (exo)
	Cinzas	1,44±1,28 ^a	442 – 557	491,87±26,75 ^a (exo)

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 8 - Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso I em ar sintético

Amostras	TG			DTA
	Etapas	$\Delta m(\%)$	$\Delta T(^{\circ}C)$	$T_p(^{\circ}C)$
(10)	1 ^a	6,33±0,26 ^a	30 – 103	69,40±0,23 ^a (endo)
	Estabilidade	-	103 – 253	-
		2 ^a	61,10±2,14 ^a	253 – 332
	3 ^a	31,96±1,24 ^a	332 – 406	447,51±2,59 ^a (exo)
	Cinzas	1,26±0,76 ^a	406 – 479	474,20±0,59 ^a (exo)
(11)	1 ^a	7,00±0,48 ^a	30 – 104	68,06±0,78 ^a (endo)
	Estabilidade	-	104 – 258	-
		2 ^a	64,71±0,85 ^a	258 – 329
	3 ^a	25,83±0,74 ^{bc}	329 – 441	351,84±0,14 ^b (exo)
	Cinzas	2,45±1,00 ^a	441 – 551	481,18±4,39 ^a (exo)
(12)	1 ^a	7,77±1,76 ^a	30 – 105	68,14±3,68 ^a (endo)
	Estabilidade	-	105 – 266	-
		2 ^a	65,86±2,96 ^a	266 – 331
	3 ^a	24,59±1,08 ^{bc}	331 – 446	353,54±1,61 ^b (exo)
	Cinzas	2,01±2,64 ^a	446 – 560	489,40±12,25 ^a (exo)
(13)	1 ^a	7,00±1,19 ^a	30 – 104	68,78±3,39 ^a (endo)
	Estabilidade	-	104 – 266	-
		2 ^a	65,01±2,97 ^a	266 – 330
	3 ^a	26,04±1,37 ^{bc}	330 – 446	352,94±3,60 ^b (exo)
	Cinzas	1,96±2,62 ^a	446 – 560	492,23±12,81 ^a (exo)
(14)	1 ^a	5,94±1,55 ^a	30 – 102	70,49±3,10 ^a (endo)
	Estabilidade	-	102 – 254	-
		2 ^a	65,23±1,53 ^a	254 – 329
	3 ^a	27,89±0,27 ^{ab}	329 – 443	353,01±1,59 ^b (exo)
	Cinzas	0,93±0,13 ^a	443 – 556	481,39±0,31 ^a (exo)
(15)	1 ^a	7,83±1,29 ^a	30 – 103	68,70±2,84 ^a (endo)
	Estabilidade	-	103 – 258	-
		2 ^a	65,29±0,90 ^a	258 – 333
	3 ^a	26,00±1,34 ^{bc}	333 – 445	348,64±2,65 ^b (exo)
	Cinzas	1,05±1,03 ^a	445 – 555	473,47±5,27 ^a (exo)
(16)	1 ^a	8,81±0,25 ^a	30 – 104	65,20±1,96 ^a (endo)
	Estabilidade	-	104 – 262	-
		2 ^a	65,80±2,95 ^a	262 – 334
	3 ^a	22,28±0,42 ^c	334 – 442	348,86±4,27 ^b (exo)
	Cinzas	3,41±4,10 ^a	442 – 549	468,39±16,21 ^a (exo)

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (10) amido de pinhão natural, (11) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (12) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (13) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (14) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (15) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (16) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

A terceira perda de massa representa a oxidação dos compostos gerados durante a degradação da matéria orgânica, apresentando perdas nos acessos C e I variou de 22,28 a 32,40%. Este processo de oxidação resulta na formação de pequena quantidade de cinzas, descritas nas Tabelas 7 e 8, onde os valores variaram em média de 0,82 a 4,09% nos acessos C e I. Perfil semelhante, com três perdas de massa e um período de estabilidade foi encontrado em outros estudos utilizando amidos de pinhão (COSTA et al., 2013; CORDOBA, BET e SCHNITZLER, 2015), mandioca (ANDRADE et al., 2014; COLMAN et al., 2014); batata (LEIVAS et al., 2013); milho ceroso (OLIVEIRA et al., 2014) e abacate (LACERDA et al., 2014).

Na curva DTA, Figuras 18 e 19, identificou-se que as amostras naturais de ambos os acessos C e I, obtiveram perfis diferentes em relação as amostras tratadas. Essas curvas apresentaram um evento endotérmico e três exotérmicos, sendo os dois últimos mais intensos em temperaturas de 444 a 448 °C para o segundo evento e de 474 a 478 °C para o terceiro evento. Característica similar foi encontrada em outras pesquisas utilizando oxidação em amido de abacate e hidrólise ácida e enzimática em amido de farinha de babaçu, onde também obtiveram na amostra natural um evento endotérmico e três exotérmicos em temperaturas semelhantes às do presente estudo (LACERDA et al., 2014; ALMEIDA et al., 2011). As amostras tratadas mostraram a formação de dois eventos endotérmicos e dois eventos exotérmicos, resultado semelhante a um estudo que realizou hidrólise ácida em amido de mandioca sob diferentes temperaturas (BENINCA et al., 2013a).

Comparando os resultados de Δm (perda de massa) dos acessos C e I, observou-se comportamento semelhante entre as amostras modificadas. No segundo evento, as amostras tratadas apresentaram uma tendência de aumento das perdas de massa em relação as amostras naturais. Este fato é devido a diminuição das massas moleculares dos amidos hidrolisados. No terceiro evento a perda de massa reduziu conforme o esperado, pois as amostras tratadas sofreram maior decomposição nas etapas anteriores, degradando menos no final do processo.

A variação de temperatura que ocorreram os eventos foram semelhantes entre os acessos C e I. Foi observada uma elevação nos valores das temperaturas finais referente a terceira perda de massa. As amostras naturais tiveram as menores temperaturas de estabilidade (aproximadamente de 250 °C) e para as perdas totais de massa a temperatura foi de aproximadamente 480 °C. No entanto, foi observado

que as amostras apresentaram temperatura final de estabilidade variando de 254 a 258 °C para o acesso C e de 254 a 266 °C para o acesso I, e a perda total de massa variando de 543 a 557 °C para o acesso C e de 549 a 560 °C para o acesso I. Um estudo anterior realizado em amido de arroz tratado com ácido cítrico mostrou que a hidrólise ácida ataca preferencialmente as regiões amorfas do grânulo e converte o amido numa estrutura estável à temperaturas mais elevadas, promovendo assim a formação de novos cristais devido a reorganização das moléculas de amido (SHIN et al. 2009).

Comportamento semelhante à respeito do aumento da temperatura final do ΔT na terceira perda de massa, foi encontrado em outros estudos que utilizaram adição de açúcares em amido de pinhão (RIBEIRO et al., 2014a), tratamento ácido em amidos de milho ceroso (OLIVEIRA et al., 2014), milho (BENINCA et al., 2008), mandioca (BENINCA et al., 2013a; CORDOBA et al., 2013), ervilhaça (BET et al., 2016) e banana verde (SILVA et al., 2015) e tratamento enzimático em amido de milho ceroso (MALUCELLI et al., 2015).

Segundo Bet et al. (2016), isso ocorreu porque as amostras necessitavam nesta terceira etapa de maiores temperaturas para promover a carbonização total e a formação dos resíduos finais e como as amostras tratadas apresentaram uma determinada resistência térmica provocou a elevação destas temperaturas quando comparadas as nativas. Este comportamento foi demonstrado de maneira mais evidente na amostra C6, apresentando temperatura final de 557 °C e nas amostras I2 e I3, apresentando temperaturas finais de 560 °C. No trabalho de amido de ervilhaça que utilizou hidrólise ácida, foi encontrado este perfil na amostra tratada com maior concentração de HCl, corroborando com o resultado observado para a amostra C6 do presente estudo.

Algumas amostras modificadas de ambos os acessos, apresentaram valores de cinzas superiores as amostras naturais, sendo o maior valor 4,09% (C5). Resultado semelhante foi observado em outro estudo que utilizou modificação enzimática de amido de pinhão (CORDOBA, 2015). Outros estudos de análises térmicas, em atmosfera oxidante, realizados com amido apresentaram similaridade aos perfis do presente estudo (HORNUNG et al., 2016, HORNUNG et al., 2015; BENINCA et al., 2013a; BENINCA et al., 2013b).

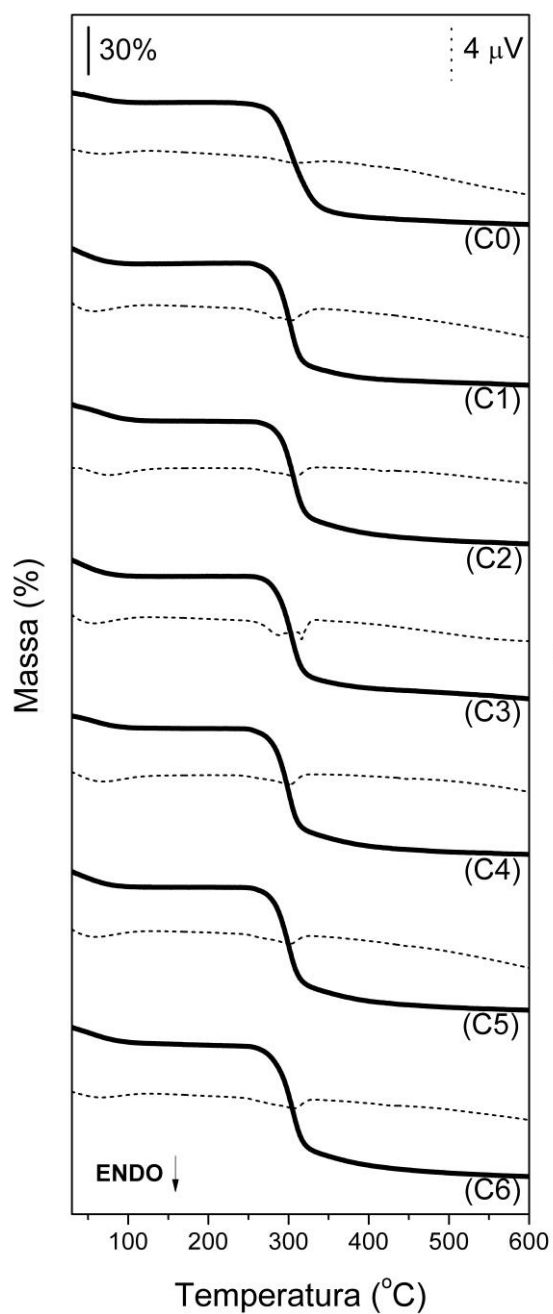
5.3.2 Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial (TG-DTA) em nitrogênio

As curvas termogravimétricas (TG) realizadas em atmosfera de nitrogênio foram similares em todas as amostras de ambos os acessos, Figuras 20 e 21, apresentando duas perdas de massa com intervalo de estabilidade. As curvas DTA apresentadas nos gráficos e conforme os valores demonstrados nas Tabelas 9 e 10, também foram semelhantes entre os acessos C e I, apresentando a formação de dois picos endotérmicos.

O primeiro evento é devido à perda de umidade, resultando na desidratação intermolecular do amido, observado entre as temperaturas de 30 a 110 °C, Tabelas 9 e 10. Após o período de estabilidade, o segundo evento proporcionou uma perda de massa média de 64,31% (de 255°C a 338°C), para o acesso C e 67,88% (de 257°C a 342°C), para o acesso I. Isto representa a degradação da matéria orgânica, que ocorre devido a remoção de CO₂ ou de hidrocarbonetos, provocando no final desta etapa reações de pirólise e carbonização com resíduos carbonáceos remanescentes (LAZZAROTTO, 2016; CHEN et al., 2010). Neste evento a maioria das amostras de ambos os acessos apresentaram diferenças não significativas nas perdas de massa comparando as amostras naturais com as tratadas. Isto pode ser explicado pelo fato da atmosfera inerte não propiciar a reação com o oxigênio, sem provocar mudanças nas temperaturas finais e na estabilidade térmica destes amidos, justificado pela ausência de formação do terceiro evento. Vários mecanismos ocorrem para a decomposição do amido, sendo um deles a despolimerização que é a reação de desidratação entre os grupos hidroxila do amido indicando que quanto menor for a quantidade de grupos hidroxila deixados no amido maior será a sua estabilidade térmica (LI et al., 2010). Outro estudo com amido de milho modificado em ácido láurico (GAO et al., 2014) apresentou característica semelhante na etapa final de decomposição.

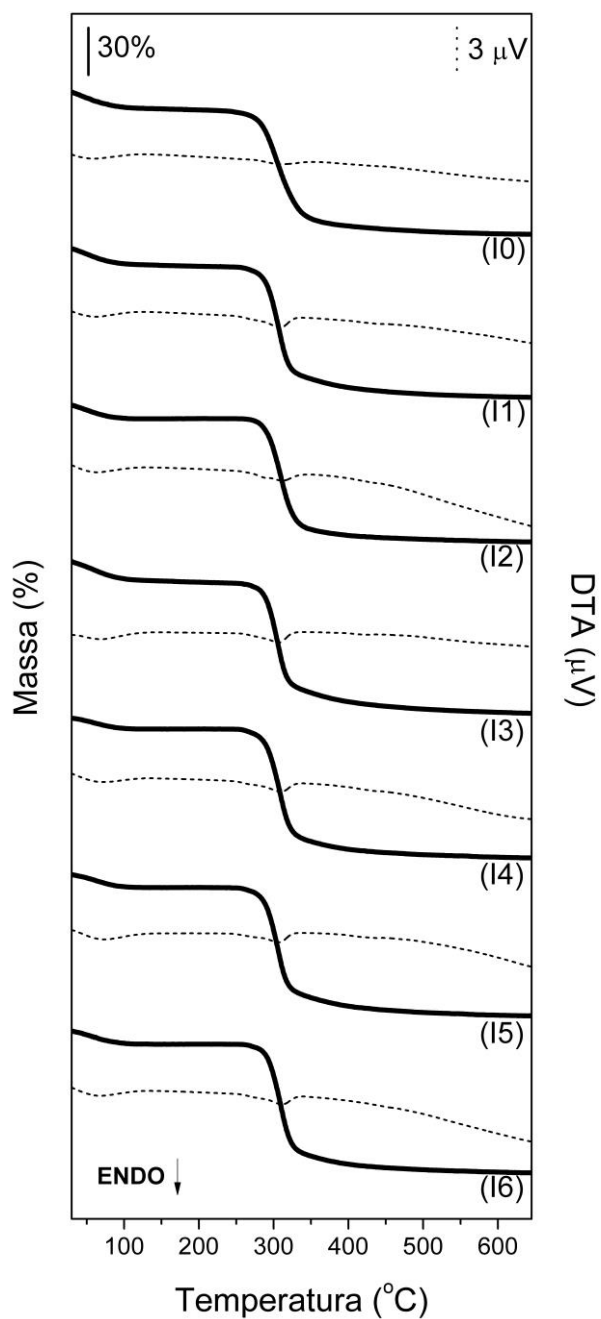
Comportamento similar apresentando duas perdas de massa e dois períodos de estabilidade em atmosfera inerte foi encontrado em outros estudos utilizando amidos de pinhão modificado por oxidação induzida com permanganato de potássio (LAZZAROTTO, 2016), de milho modificado com ácido láurico (GAO et al., 2014), carboximetilação com amido de *Fritillaria ussuriensis* Maxim (LI et al., 2010) e amido de batata tratado com ácido linoleico em atmosfera de argônio (KAPUSNIAK e SIEMION, 2007).

Figura 20 - Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso C em nitrogênio



(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Figura 21 - Curvas TG-DTA das amostras de amidos de pinhão acesso I em nitrogênio



(10) amido de pinhão natural, (11) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (12) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (13) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (14) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (15) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (16) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 9 - Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso C em nitrogênio

Amostras	Etapas	TG		DTA
		$\Delta m(\%)$	$\Delta T(^{\circ}\text{C})$	$T_p(^{\circ}\text{C})$
(C0)	1 ^a	6,62±0,43 ^a	30 – 114	69,78±1,70 ^a (endo)
	Estabilidade	-	107 – 256	-
	2 ^a	65,23±0,17 ^a	256 – 338	312,94±0,02 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	10,95±5,68 ^a		
(C1)	1 ^a	10,20±0,55 ^a	30 – 107	63,24±1,30 ^b (endo)
	Estabilidade	-	107 – 258	-
	2 ^a	64,59±0,01 ^a	258 – 326	290,90±6,97 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	9,03±3,42 ^a		
(C2)	1 ^a	9,88±0,73 ^a	30 – 108	67,85±0,50 ^{ab} (endo)
	Estabilidade	-	108 – 259	-
	2 ^a	64,98±2,79 ^a	259 – 327	306,26±0,01 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	7,84±2,55 ^a		
(C3)	1 ^a	8,98±1,86 ^a	30 – 106	65,21±3,90 ^{ab} (endo)
	Estabilidade	-	106 – 263	-
	2 ^a	65,28±3,08 ^a	263 – 327	292,62±2,05 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	7,71±1,98 ^a		
(C4)	1 ^a	8,48±1,29 ^a	30 – 105	68,99±2,11 ^{ab} (endo)
	Estabilidade	-	105 – 256	-
	2 ^a	63,25±2,88 ^a	256 – 325	296,96±13,32 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	11,46±1,02 ^a		
(C5)	1 ^a	9,74±0,11 ^a	30 – 105	65,55±2,84 ^{ab} (endo)
	Estabilidade	-	105 – 257	-
	2 ^a	61,77±2,55 ^a	257 – 326	304,62±0,45 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	11,48±1,39 ^a		
(C6)	1 ^a	9,31±0,76 ^a	30 – 110	68,52±2,62 ^{ab} (endo)
	Estabilidade	-	110 – 255	-
	2 ^a	65,09±4,32 ^a	255 – 327	306,21±0,84 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	8,06±6,42 ^a		

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 10 - Valores de TG-DTA obtidos das amostras de amidos de pinhão acesso I em nitrogênio

Amostras	TG			DTA
	Etapas	$\Delta m(\%)$	$\Delta T(^{\circ}\text{C})$	$T_p(^{\circ}\text{C})$
(10)	1 ^a	9,87±0,04 ^a	30 – 105	62,41±1,57 ^a (endo)
	Estabilidade	-	105 – 263	-
	2 ^a	67,59±1,61 ^a	263 – 342	314,43±5,88 ^a (endo)
	Resíduo carbonáceo	7,02±2,99 ^a		
(11)	1 ^a	8,74±1,69 ^a	30 – 107	69,29±6,92 ^a (endo)
	Estabilidade	-	107 – 262	-
	2 ^a	70,96±1,59 ^a	262 – 332	310,07±0,75 ^{ab} (endo)
	Resíduo carbonáceo	4,14±1,20 ^a		
(12)	1 ^a	9,10±0,69 ^a	30 – 105	65,06±0,55 ^a (endo)
	Estabilidade	-	105 – 267	-
	2 ^a	67,68±1,05 ^a	267 – 334	295,03±8,70 ^b (endo)
	Resíduo carbonáceo	10,16±3,38 ^a		
(13)	1 ^a	10,23±1,84 ^a	31 – 107	65,06±0,75 ^a (endo)
	Estabilidade	-	107 – 268	-
	2 ^a	66,64±1,40 ^a	268 – 330	309,95±0,97 ^{ab} (endo)
	Resíduo carbonáceo	7,21±5,83 ^a		
(14)	1 ^a	7,87±1,46 ^a	30 – 106	68,15±3,72 ^a (endo)
	Estabilidade	-	106 – 257	-
	2 ^a	67,30±1,62 ^a	257 – 331	309,66±0,18 ^{ab} (endo)
	Resíduo carbonáceo	10,78±0,16 ^a		
(15)	1 ^a	7,14±1,30 ^a	30 – 108	72,73±3,33 ^a (endo)
	Estabilidade	-	108 – 260	-
	2 ^a	66,67±0,24 ^a	260 – 332	309,55±0,08 ^{ab} (endo)
	Resíduo carbonáceo	9,09±0,88 ^a		
(16)	1 ^a	8,23±0,23 ^a	30 – 106	68,65±0,72 ^a (endo)
	Estabilidade	-	106 – 267	-
	2 ^a	68,37±0,63 ^a	267 – 333	311,37±0,27 ^{ab} (endo)
	Resíduo carbonáceo	9,31±0,27 ^a		

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

As frações de resíduos carbonáceos foram similares entre as amostras, Tabelas 9 e 10, com uma tendência de maior proporção nas amostras modificadas em relação à amostra natural. Este fato também sugere que o processo de decomposição dos amidos tratados ocorreu de maneira desproporcional.

5.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

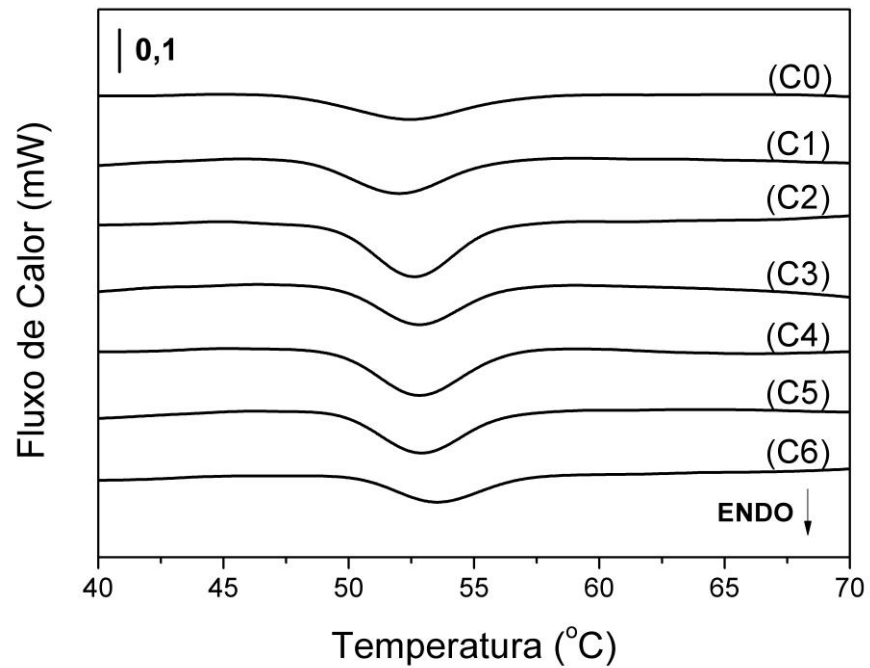
As curvas de DSC apresentaram eventos endotérmicos, perfis característicos dos amidos. Foi observado no amido de pinhão do acesso C, Figura 22, que as amostras tratadas apresentaram um deslocamento para temperaturas mais altas no processo de gelatinização. No amido de pinhão do acesso I, Figura 23, foi observado uma tendência de deslocamento da curva para temperaturas mais baixas, exceto apenas a amostra I1.

Esta diferença entre os acessos foi observada em uma pesquisa que utilizou quatro tipos de acessos distintos de *A. angustifolia*. Constataram-se diferenças no comportamento de gelatinização entre as amostras, devido as alterações genéticas, o que pode afetar as propriedades de gelatinização quando as sementes são de diferentes origens (COSTA et al., 2013).

A tendência de acréscimo das temperaturas de gelatinização obtida pelas amostras do acesso C foi encontrada em outros estudos que utilizaram amidos de pinhão (CORDOBA, BET e SCHNITZLER, 2015), batata (LIN, LEE e CHANG, 2003) e milho (SANDHU, SINGH e LIM, 2007). Isto pode ser justificado pelo tratamento ácido, que provoca a quebra da amilose e da amilopectina, ocasionando o desenvolvimento de ligações cruzadas, o que pode proporcionar uma maior resistência ao processo de gelatinização (HIRASHIMA et al, 2005).

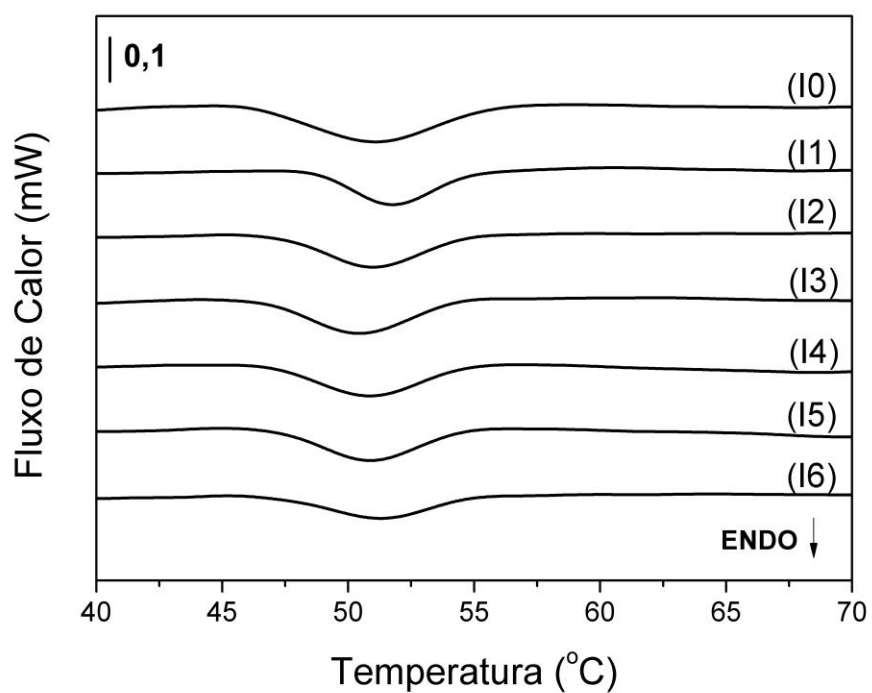
Em outros trabalhos realizados com amidos de milho (LIN, SINGH, WEN e CHANG, 2011) e milho ceroso (OLIVEIRA et al, 2014) encontraram características semelhantes como o decréscimo dos parâmetros de gelatinização observada no acesso I. Esta redução na temperatura de gelatinização geralmente ocorre em tratamentos por hidrólise ácida, porque promove a degradação das cadeias de moléculas de amido (LIN, LEE e CHANG, 2003).

Figura 22 - Curvas DSC das amostras de amidos de pinhão acesso C



(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Figura 23 - Curvas DSC das amostras de amidos de pinhão acesso I



(I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Comparando os dois acessos de amido de pinhão (C e I), Tabelas 11 e 12, constatou-se que as amostras naturais apresentaram comportamentos semelhantes, principalmente em relação as temperaturas “onset” e de conclusão (T_o e T_c), iniciando a gelatinização antes e finalizando depois das demais amostras.

Em outros dois estudos realizados com amido de pinhão natural da espécie *Araucaria angustifolia*, foram encontrados valores das temperaturas de gelatinização (T_o , T_p e T_c), ΔT ($T_c - T_o$) e ΔH_{gel} (entalpia) significativamente maiores que os valores encontrados nos acessos do presente estudo. Isto reforça que estas amostras realmente são de baixa gelatinização, ocorrendo o processo completo abaixo de 60 °C (PINTO et al, 2012 e CONFORTI e LUPANO, 2007).

Tabela 11 - Valores de DSC obtidos das amostras de amido de pinhão acesso C

Amostras	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔT (°C)	ΔH_{gel} (J.g ⁻¹)
(C0)	48,00±0,24 ^b	52,44±0,04 ^{cd}	56,54±0,40 ^a	8,55±0,64 ^a	7,40±1,12 ^a
(C1)	48,40±0,25 ^b	52,06±0,06 ^d	55,60±0,45 ^a	7,21±0,70 ^{ab}	7,28±0,74 ^a
(C2)	49,77±0,08 ^a	52,65±0,06 ^{bc}	55,58±0,11 ^a	5,81±0,19 ^b	8,98±2,27 ^a
(C3)	50,00±0,05 ^a	52,92±0,13 ^b	56,02±0,28 ^a	6,03±0,23 ^b	6,53±1,54 ^a
(C4)	50,15±0,38 ^a	52,83±0,00 ^{bc}	56,06±0,21 ^a	5,91±0,17 ^b	9,78±0,33 ^a
(C5)	49,96±0,45 ^a	52,76±0,18 ^{bc}	55,94±0,06 ^a	5,98±0,51 ^b	7,53±1,02 ^a
(C6)	50,56±0,16 ^a	53,50±0,04 ^a	56,53±0,03 ^a	5,97±0,13 ^b	5,30±0,42 ^a

(*) T_o “onset” temperatura inicial, T_p “peak” temperatura de pico, T_c “endset” temperatura de conclusão, ΔT ($T_o - T_p$) heterogeneidade da recristalização dos grânulos de amido, ΔH_{gel} entalpia de gelatinização.(**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 12 - Valores de DSC obtidos das amostras de amido de pinhão acesso I

Amostras	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔT (°C)	ΔH_{gel} (J.g ⁻¹)
(10)	46,79±0,57 ^c	51,14±0,08 ^b	55,08±0,21 ^a	8,29±0,78 ^a	8,32±2,16 ^a
(11)	49,01±0,01 ^a	51,78±0,02 ^a	54,78±0,13 ^a	5,77±0,12 ^b	6,92±0,97 ^a
(12)	47,74±0,45 ^b	50,88±0,16 ^{bc}	54,26±0,36 ^a	6,52±0,08 ^b	7,74±0,80 ^a
(13)	46,89±0,07 ^c	50,48±0,04 ^c	54,02±0,15 ^a	7,14±0,22 ^{ab}	7,10±1,15 ^a
(14)	47,36±0,19 ^{bc}	50,91±0,07 ^{bc}	54,56±0,17 ^a	7,21±0,02 ^{ab}	7,91±1,22 ^a
(15)	47,30±0,13 ^{bc}	50,69±0,24 ^{bc}	54,12±0,42 ^a	6,83±0,29 ^b	7,76±0,98 ^a
(16)	47,50±0,26 ^{bc}	51,04±0,35 ^b	54,32±0,41 ^a	6,82±0,15 ^b	6,80±2,48 ^a

(*) T_o “onset” temperatura inicial, T_p “peak” temperatura de pico, T_c “endset” temperatura de conclusão, ΔT ($T_o - T_p$) heterogeneidade da recristalização dos grânulos de amido, ΔH_{gel} entalpia de gelatinização. (**) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (10) amido de pinhão natural, (11) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (12) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (13) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (14) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (15) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (16) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Nas Tabelas 11 e 12, a temperatura “onset” (T_o) de ambos os acessos apresentaram similar característica, onde todas as amostras tratadas quando comparadas as amostras naturais obtiveram acréscimo. Esta tendência de aumento da temperatura “onset” foi encontrada em outras pesquisas que utilizaram tratamento ácido em meio alcoólico em amidos de batata e mandioca (LIN, LEE e CHANG, 2003; CAVALLINI e FRANCO, 2010). Também foi encontrado esta tendência em amido de milho modificado por hidrólise ácida combinado com controle de calor / umidade (SUN et al, 2015).

Todavia, a temperatura de pico (T_p) mostrou uma tendência oposta entre os acessos, sendo de acréscimo para C e decréscimo para I, com exceção das amostras C1 e I1. Resultado similar com tendência de aumento para T_p foi observado em amidos de batata doce (BABU et al, 2015), mandioca (CAVALLINI e FRANCO, 2010), milho e milho ceroso (LUO et al, 2011). Entretanto, a característica

de redução do T_p foi encontrado no mesmo estudo citado para redução de T_c , em relação ao primeiro dia de tratamento ácido para amido de milho (LAWAL et al, 2005).

Os dados de temperatura de conclusão (T_c) identificados em ambos os acessos C e I, não demonstraram diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey a 5% de significância. Porém, observou-se nos valores apresentados nas Tabelas 11 e 12, uma leve tendência de redução para T_c . Este mesmo perfil foi encontrado apenas no primeiro dia de um estudo que utilizou tratamento ácido em amido de milho por períodos diferentes (um, dois e sete dias) comparando com a modificação por oxidação (LAWAL et al, 2005).

No acesso C, observou-se que o tratamento mais intenso (0,5 mol L⁻¹) provocou leve resistência térmica ao processo de gelatinização dos amidos, pois os valores de T_o , T_p e T_c foram mais elevados quando comparados ao tratamento menos intenso (0,1 mol L⁻¹). No acesso I, constatou-se que somente o tratamento mais intenso em meio etanoico (amostra I6) demonstrou esta leve resistência ao processo de gelatinização. O rearranjo da molécula de amido durante o tratamento com ácido / álcool promove a formação de cristalitos de diferentes estabilidades, podendo ser influenciada pela concentração do ácido (LUO et al, 2011).

Dentre as amostras tratadas, a amostra C6 foi a que demonstrou alterações significativas, resultando em temperaturas “onset” e de pico (T_o e T_p) superiores. No acesso I, as amostras I1 e I2, obtiveram as maiores temperaturas de pico e “onset” (T_p e T_o), respectivamente. Isto pode ser justificado pelo fato da hidrólise ácida degradar preferencialmente a região amorfa do grânulo de amido, aumentando assim a região cristalina e conseqüentemente as temperaturas de gelatinização (LAWAL et al., 2005; TESTER e MORRISON, 1990; SPADA et al, 2012).

O ΔT ($T_o - T_c$) é um parâmetro que informa sobre a heterogeneidade da recristalização dos grânulos. Nas Tabelas 11 e 12, verificou-se que o grau de heterogeneidade de cristalitos no interior do grânulo de amido natural e modificados é diferente. As amostras tratadas em ambos os acessos apresentaram uma maior homogeneidade em relação aos valores das amostras naturais. Os maiores valores de ΔT foram para as amostras naturais (C0 e I0). Comportamento semelhante foi observado em um estudo com amido de milho, onde apresentou redução do ΔT em todos os períodos de tratamento ácido (primeiro, segundo e sétimo dia) quando comparados a amostra natural (LAWAL et al, 2005).

O ΔH_{gel} informa o valor global de cristalinidade e indica a desestruturação molecular no interior do grânulo durante o processo de gelatinização, como por exemplo a perda da dupla-hélice (TESTER et al., 1994; COOKE e GIDLEY, 1992). As amostras dos acessos C e I, não demonstraram diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey a 5% de significância nos resultados de entalpia de gelatinização. Entretanto analisando os valores encontrados, percebe-se uma tendência de decréscimo nas amostras do acesso I, quando comparadas a amostra natural, sendo os menores valores encontrados em I1, I3 e I6 e os maiores valores em I2, I4 e I5. Portanto, sugere-se que a modificação ácida em meio aquoso e alcoólico, exclusivamente neste acesso (I), promoveu uma diminuição dos custos de energia para a realização do processo de gelatinização, o que proporciona economia à indústria papelreira, fator desejável para qualquer indústria (HORNUNG et al., 2014; SIQUEIRA et al., 2016). Perfil semelhante foi encontrado em outros estudos que utilizaram tratamento ácido em amido de milho, milho ceroso e batata-doce (SUN et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2014; BABU et al., 2015).

O acesso C, não mostrou um comportamento semelhante entre as amostras, sendo as amostras C1, C3 e C6 as menores e as amostras C2, C4 e C5 as maiores em relação a amostra natural. A justificativa encontrada para esta tendência de aumento da entalpia de gelatinização em comparação a amostra natural, pode ser devido ao fato destas amostras (C2, C4 e C5) apresentarem um aumento da característica cristalina do material, o que provavelmente reduz a intensidade da ação do HCl no interior do grânulo (LACERDA et al., 2008a; BENINCA et al., 2013a). Outros estudos apresentaram características similares utilizando amido de mandioca modificado por hidrólise ácida, demonstrando elevar significativamente os valores de ΔH_{gel} nas amostras tratadas (LACERDA et al., 2008a; BENINCA et al., 2013a).

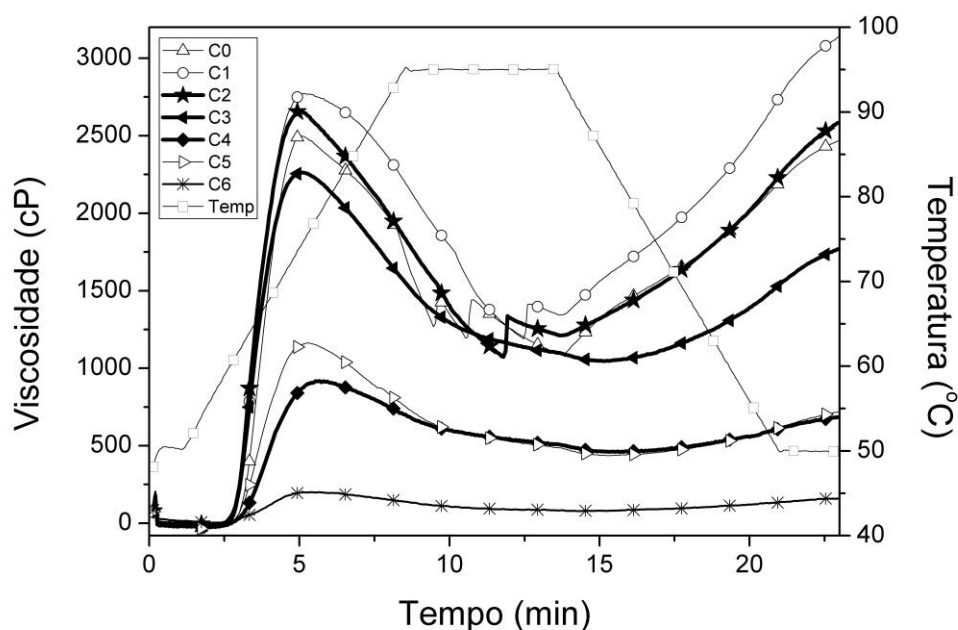
As amostras que sofreram o tratamento mais intenso foram a C6 e I6 (0,5 mol L⁻¹ em meio etanoico). Estas amostras apresentaram os menores valores de ΔH_{gel} . Isto indica que a presença de maiores concentrações de HCl provoca perda da estrutura ordenada no interior do grânulo de amido, ocasionando diminuição da cristalinidade e conseqüentemente a redução nos valores de ΔH_{gel} (HOOVER e VASANTHAN, 1994; BABU et al., 2015).

5.5 Análise Viscoamilográfica (RVA)

A análise de RVA avalia as alterações de viscosidade, que é uma das propriedades funcionais mais importantes, provocando mudanças na estrutura físico-química durante o aquecimento da suspensão de amido (KLEIN et al., 2013). As características de pasta do amido são influenciadas por diversos fatores, como o tamanho dos grânulos, a composição do amido, ingredientes de processamento e o pré-tratamento químico utilizado (ZHOU et al., 1998; SODHI et al., 2009.).

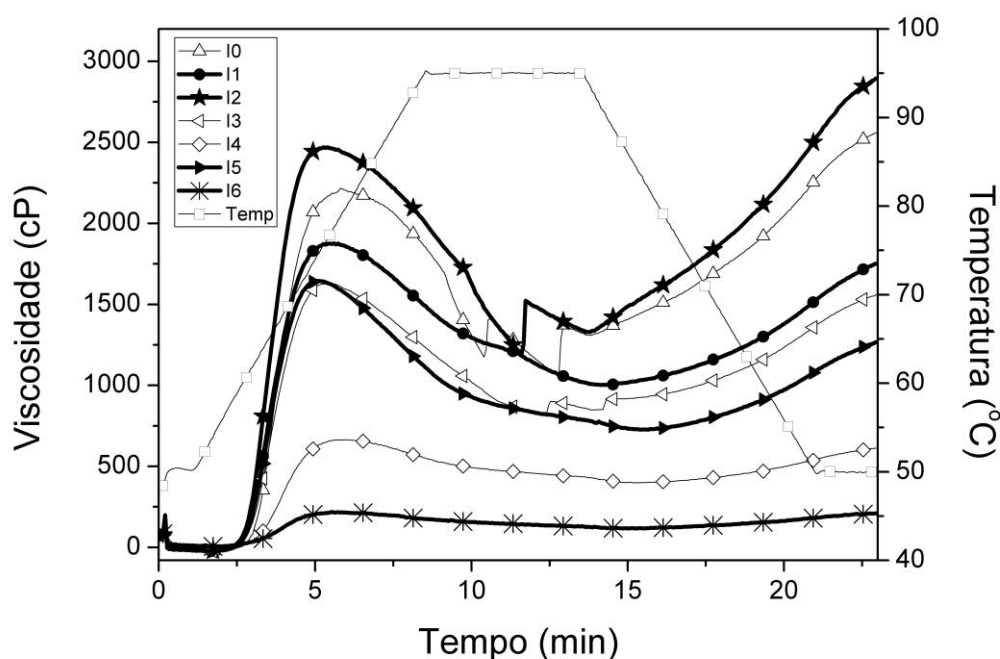
Ambos os acessos apresentaram características diferentes entre as amostras, demonstrando a formação de picos menores nas amostras tratadas com maior concentração de HCl ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), reduzindo significativamente a viscosidade, Figuras 24 e 25. Perfil semelhante foi encontrado em outros estudos que utilizaram hidrólise ácida em amidos de mandioca (CAVALLINI e FRANCO, 2010; BENINCA et al., 2013a), milho ceroso (OLIVEIRA et al., 2014), castanha d'água (SINGH et al., 2009) e castanha portuguesa (KUBIAKI, 2016), onde a viscosidade foi reduzida conforme o aumento na concentração ou no tempo empregado do tratamento ácido.

Figura 24 - Curvas RVA das amostras de amidos de pinhão acesso C



(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + água, (C2) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + água, (C5) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + etanol.

Figura 25 - Curvas RVA das amostras de amidos de pinhão acesso I



(I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

As temperaturas de pasta não apresentaram diferenças significativas entre as amostras de ambos os acessos. Os menores valores foram observados para as amostras C2 e I2 e os maiores valores para as amostras C4 e I4, Tabelas 13 e 14. As amostras naturais (C0 e I0) comportaram-se de forma semelhante de acordo com este parâmetro. Em outra pesquisa realizada com amido de pinhão da espécie *A. angustifolia* encontrou-se valor similar, de 59,6 °C para a temperatura de pasta no amido natural (STAHL et al., 2007).

A viscosidade de pico demonstrou diferença entre as amostras. As amostras C6 e I6 apresentaram as menores viscosidades. Os valores mais elevados foram encontrados nas amostras C1 e I2. A viscosidade de pico é atribuída ao poder de inchamento dos grânulos de amido durante o aquecimento em presença de água.

Analisando ambos os acessos, houve uma tendência de redução destes valores conforme a intensidade do tratamento ácido, indicando que o poder de inchamento diminuiu. Isto pode ser justificado pela hidrólise ácida atacar as regiões amorfas, fragmentando as cadeias de amilose, formando uma estrutura desorganizada. Este amido diminui a capacidade de reter água durante o aumento

da temperatura, devido à redução do número de sítios que se ligarão com as moléculas de água (SANDHU, SINGH e LIM, 2007; LAWAL, 2004). Outros fatores como variações genéticas, condições de clima e solo, estágio de maturação e tempo de colheita, também podem influenciar no poder de inchamento do grânulo de amido (FRANCO et al., 2002).

Tabela 13 - Resultados de RVA obtidos das amostras de amido de pinhão acesso C

Amostras	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade de pico (cP)	Tempo de pico (min.)	Retrogradação (cP)	Quebra (cP)	Viscosidade final (cP)
(C0)	61,10	2499	5,07	1378	1412	2465
(C1)	59,85	2773	5,13	1792	1430	3135
(C2)	59,55	2661	5,07	1372	1450	2583
(C3)	60,35	2262	5,00	722	1215	1769
(C4)	61,80	918	5,67	224	458	684
(C5)	61,15	1162	5,27	281	725	718
(C6)	_____	201	5,07	82	123	160

(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 14 - Resultados de RVA obtidos das amostras de amido de pinhão acesso I

Amostras	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade de pico (cP)	Tempo de pico (s)	Retrogradação (cP)	Quebra (cP)	Viscosidade final (cP)
(I0)	61,05	2216	5,80	1250	908	2558
(I1)	59,75	1876	5,60	748	873	1751
(I2)	59,55	2470	5,27	1565	1141	2894
(I3)	60,35	1630	5,53	710	782	1558
(I4)	63,95	665	5,73	214	266	613
(I5)	59,90	1645	5,07	539	919	1266
(I6)	_____	219	5,53	93	102	210

(I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

O tempo de pico não mostrou características semelhantes entre os resultados dos acessos. Para as amostras C3 e I5 foi observada a redução dos valores e as amostras C4 e I0 apresentaram os maiores tempos de pico. Comparando os efeitos do tratamento nos acessos observa-se que a C demonstra uma tendência de elevação dos valores relacionada com o aumento do rigor do tratamento ácido. No entanto, o acesso I apresenta perfil de redução dos valores relacionada com o aumento do rigor do tratamento ácido. Isto pode ser justificado pela diferença de origem entre os acessos, as quais apresentaram alterações genéticas, o que influencia tanto na resposta ao ataque ácido, quanto no comportamento de gelatinização e nos parâmetros reológicos (COSTA et al., 2013).

A retrogradação encontrou similaridade nos menores valores entre os acessos C e I. As amostras C6 e I6, as quais sofreram o tratamento com HCl mais intenso ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$ em meio etanoico), reduziram significativamente os valores de retrogradação. Para as amostras C1 e I2 foram observados os maiores valores de retrogradação. Este perfil de menor retrogradação para as amostras tratadas indica que ocorreu menos recristalização e que estes amidos se mostraram menos propensos a reassociações (SODHI et al., 2009; LAWAL, 2004). Isto sugere que o tratamento ácido alterou as propriedades físico-químicas do amido, apresentando maior resistência à retrogradação durante o arrefecimento da pasta de amido (MALUCELLI et al., 2015). Outra possível explicação encontrada em alguns estudos é o comportamento Newtoniano do gel de amido e o tempo escasso para que as moléculas de amido possam se reorganizar (CHAMBERLAIN e RAO, 1999; THIRATHUMTHAVORN e CHAROENREIN, 2005; SINGH et al., 2009).

Quanto à quebra, ambos os acessos apresentaram semelhança entre as amostras. Os valores inferiores foram encontrados nas amostras C6 e I6, os valores superiores nas amostras C2 e I2, mas em sua maioria observou-se uma tendência de redução dos valores. Isto indica que os amidos tratados apresentaram maior estabilidade que os amidos naturais durante os processos de aquecimento e agitação mecânica. Esta característica encontrada nos amidos modificados corrobora com outros estudos (PINTO et al., 2012; ZAVAREZE et al., 2010; KLEIN et al., 2013) e justifica-se pela reorientação das cadeias e moléculas dos grânulos de amido, por meio da reestruturação de ligações entre a amilose e amilopectina (SUN et al., 2014; ZAVAREZE e DIAS, 2011).

Na viscosidade final observou-se similaridade nos resultados das amostras C6 e I6, as quais apresentaram os valores inferiores quando comparados as demais amostras. Os valores máximos foram verificados nas amostras C1 e I2, indicando que o tratamento ácido em menor concentração ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) provocou aumento da viscosidade. A taxa e a extensão da formação do gel de amido aumentam com a elevação da massa molecular (MORRIS, 1990). Á partir disso interpreta-se que quanto maior for a taxa de hidrólise ácida no amido, menor será a viscosidade no RVA. Isto explica o porquê que os amidos hidrolisados com maior concentração de HCl ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) obtiveram os menores valores de viscosidade final.

De modo geral foi observado em ambos os acessos uma tendência de redução nos parâmetros de viscosidade de pico, retrogradação, quebra, temperatura

de pasta e viscosidade final de acordo com a intensidade do tratamento ácido, sendo exceção apenas o tempo de pico do acesso C. Esta redução drástica nos parâmetros de viscosidade foi relatada por outros autores que utilizaram hidrólise ácida em amidos de pinhão (THYS et al., 2013), milho, milho ceroso e batata (LIN, LII e CHANG, 2005; LIN, LEE e CHANG, 2003), mandioca e milho (FERRINI et al., 2008), sementes de manga (MENDES et al., 2015), jaca (DUTTA et al., 2011), lentilha (SODHI et al., 2009) e arroz (THIRATHUMTHAVORN e CHAROENREIN, 2005).

Conforme a literatura isto ocorreu pois os íons de hidrogênio (H^+) presentes em soluções aquosa e alcoólica de ácidos fortes atacam preferencialmente as regiões amorfas do grânulo. Isto provoca a clivagem das ligações glicosídicas, o que reduz o peso molecular e o tamanho das cadeias inicialmente de amilose e posteriormente de amilopectina (ATICHOKUDOMCHAI et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2014; FERRINI et al., 2008; LUO et al., 2011). Conseqüentemente, ocorrem alterações na estrutura e nas propriedades do grânulo, como por exemplo a dissolução, aumentando assim a solubilidade do amido (CAVALLINI e FRANCO, 2010). Um estudo realizado com hidrólise ácida em amidos de pinhão e milho encontrou solubilidade significativamente mais elevada no amido de pinhão, indicando que este apresenta maior suscetibilidade a hidrólise ácida quando comparado ao amido de milho (THYS et al., 2013).

A utilização do meio etanólico ainda pode contribuir com esta intensa redução dos parâmetros de viscosidade, pois apresenta a característica de induzir diferentes tipos de ligações a se tornarem mais propensas ao ataque do íon H^+ (ROBYT et al., 1996). Estudos realizados com hidrólise ácida em meio etanólico em amidos de pinhão e de milho ceroso encontraram elevada redução nos parâmetros de viscosidade de acordo com a elevação nas concentrações de HCl e etanol. Este fato corrobora com a conclusão de que além do ácido, o meio etanólico também pode influenciar os resultados do perfil reológico dos amidos (RIBEIRO et al., 2014b; CHANG, LIN e LII, 2004).

As viscosidades de pico e final e a temperatura de pasta estão relacionadas com a ocorrência do processo de gelatinização. A temperatura de pasta pode ser comparada a temperatura “onset” (T_o) identificada pelo equipamento DSC. Analisando ambos os acessos (C e I), verificou-se que as temperaturas de pasta foram mais elevadas que as temperaturas T_o , considerando todas as amostras. Esta

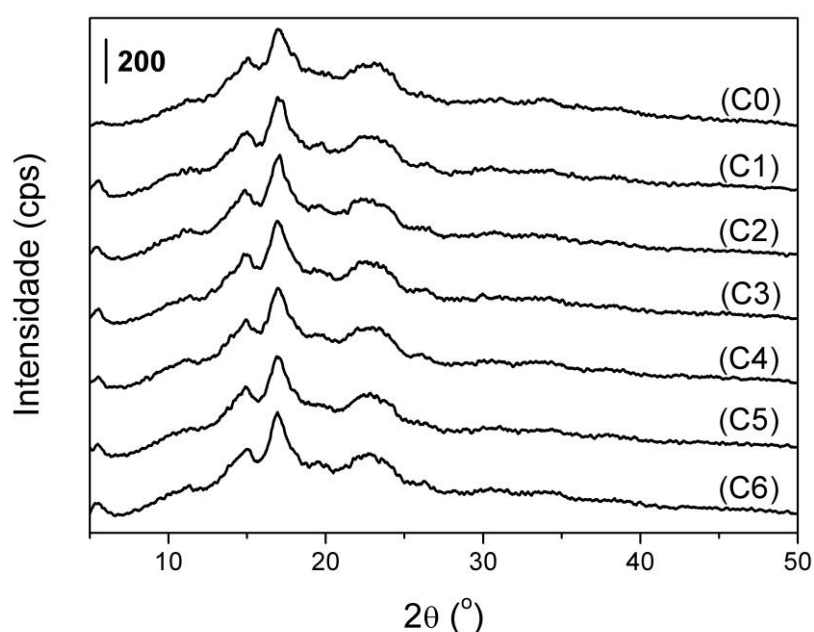
divergência pode ser justificada pela técnica de RVA ser menos sensível na identificação do início do processo de gelatinização, comparado com a técnica de DSC (HORNUNG et al., 2016; OKUNLOLA e AKINGBALA, 2013).

Comparando as viscosidades de pico e final com a entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}), observou-se similaridade entre os resultados. Isto confirma que as amostras C6 e I6, de ambos os acessos, foram as que sofreram maiores alterações nas propriedades reológicas e no comportamento de gelatinização, indicando que este tratamento foi mais intenso.

5.6 Difratomia de Raios X (DRX)

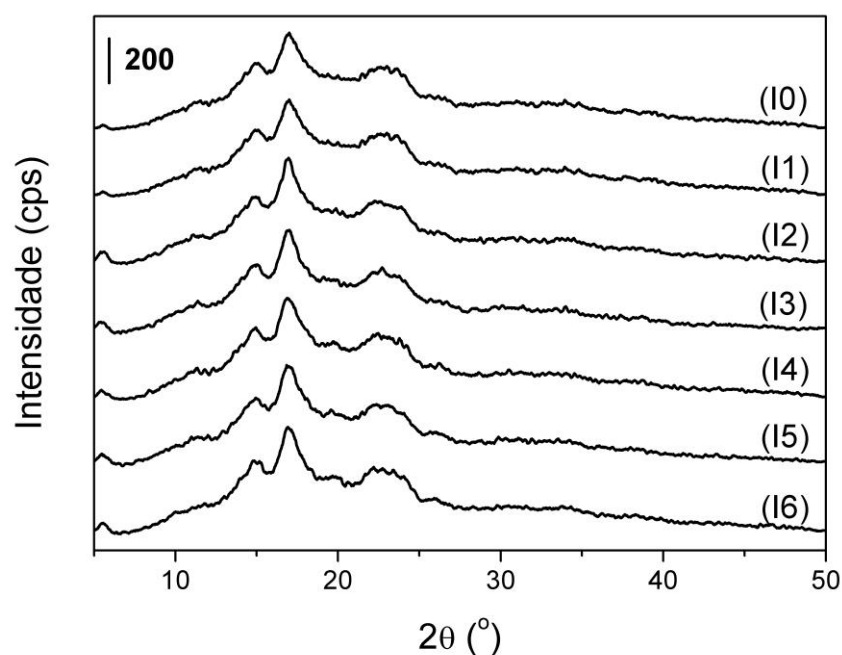
A difratometria de raios X identifica estruturas ordenadas envolvendo o arranjo de duplas hélices, reproduzindo a ordem tridimensional do grau de cristalinidade do amido (WANG et al., 2015). Esta técnica foi utilizada para verificar se o grau de cristalinidade relativa do amido de pinhão foi alterado após a hidrólise ácida em meio aquoso e alcoólico. Como pode ser observado nas Figuras 26 e 27, as curvas apresentaram perfis semelhantes entre as amostras naturais e tratadas, confirmando que não houve mudança no padrão de cristalinidade do amido.

Figura 26 - Curvas da análise de DRX para as amostras de amidos de pinhão acesso C



(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Figura 27 - Curvas da análise de DRX para as amostras de amidos de pinhão acesso I



(I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Os grânulos de amidos naturais possuem estruturas semicristalinas, que apresentam três padrões de difração diferentes: tipo A (15°, 17°, 18°, 20° e 22°), tipo B (5°, 6°, 14°, 17°, 18°, 19° e 23°) e tipo C (características intermediárias entre os padrões de difração dos tipos A e B) (HORNUNG et al., 2015; HORNUNG et al., 2016; DAUDT et al., 2014). Os picos mais intensos à ângulos de refração de 2 θ (teta) das amostras naturais e modificadas de ambos os acessos estão demonstradas nas Tabelas 15 e 16. Os acessos C e I obtiveram valores similares, exibindo dois picos mais proeminentes com uma média de 15° e 17°, e um pico duplo com médias entre 22° à 23°. Isto confirma que as amostras apresentaram um padrão característico pertencente ao tipo C, encontrado em tubérculos, leguminosas e sementes (ANNISON e TOPPING, 1994). É importante reforçar que o amido que apresenta o perfil do tipo C é mais complexo que os demais, pois a proporção presente dos padrões A e B são distintas no amido, podendo ser classificada como

tipo C-A (mais próximo do tipo A), tipo C (proporção idêntica dos tipos A e B) e tipo C-B (mais próximo do tipo B) (CAI et al., 2014; LIN et al., 2015).

Outros estudos realizados com amido de pinhão apresentaram características semelhantes, comprovando que o padrão deste amido pertencia ao tipo C. Os picos mais intensos encontrados em ângulos de refração de 2Θ foram: 15° , 17° , 22° e 23° (DAUDT et al., 2014), 5° , 15° , 17° e 23° (THYS et al., 2008), 15° , 17° e 23° (COSTA et al., 2013) e 15° , 17° , 18° , 23° e 26° (PINTO et al., 2012; RIBEIRO et al., 2014a). Perfil similar relacionado aos picos mais intensos e a forma polimórfica do tipo C, também foi encontrado em outros amidos naturais de batata doce (BABU et al., 2015), de *Dioscorea opposita* Thunb e *Pueraria thomsonii* Benth (JIANG et al., 2011) e de *Dioscorea opposita* Thunb (XIA et al., 2011).

Em um estudo realizado com tratamento ácido em amido de inhame chinês, foi encontrado que o amido pertencia ao padrão C. Após a hidrólise ácida, observou-se que o polimorfo do tipo B foi preferencialmente atacado, pois o mesmo é composto pela parte amorfa do grânulo, indicando ser o maior constituinte do amido em questão. Isto sugere que o amido de pinhão pode também ser constituído principalmente pelo polimorfo do tipo B, sendo classificado como tipo C-B (SHUJUN et al., 2007).

Tabela 15 - Picos obtidos através de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso C

Amostras	Picos ($^\circ$)		
(C0)	$15,05 \pm 0,18^a$	$17,07 \pm 0,13^a$	$22,22 \pm 0,31^a / 23,23 \pm 0,33^a$
(C1)	$14,97 \pm 0,13^a$	$17,01 \pm 0,01^a$	$22,50 \pm 0,14^a / 23,36 \pm 0,03^a$
(C2)	$15,00 \pm 0,08^a$	$17,00 \pm 0,06^a$	$22,22 \pm 0,37^a / 23,25 \pm 0,30^a$
(C3)	$14,95 \pm 0,07^a$	$17,02 \pm 0,03^a$	$22,36 \pm 0,03^a / 23,63 \pm 0,01^a$
(C4)	$15,00 \pm 0,14^a$	$17,04 \pm 0,06^a$	$22,11 \pm 0,10^a / 23,42 \pm 0,03^a$
(C5)	$14,95 \pm 0,13^a$	$17,04 \pm 0,03^a$	$22,61 \pm 0,41^a / 23,23 \pm 0,16^a$
(C6)	$15,09 \pm 0,13^a$	$16,93 \pm 0,01^a$	$22,36 \pm 0,65^a / 23,45 \pm 0,10^a$

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (**) Os picos foram obtidos em ângulos de refração de 2θ . (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + água, (C2) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + água, (C5) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + etanol.

Tabela 16 - Picos obtidos através de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso I

Amostras	Picos ($^{\circ}$)		
(I0)	15,10 \pm 0,06 ^a	16,94 \pm 0,03 ^a	22,43 \pm 0,13 ^a / 23,56 \pm 0,14 ^a
(I1)	15,07 \pm 0,07 ^a	16,96 \pm 0,14 ^a	22,42 \pm 0,54 ^a / 23,27 \pm 0,33 ^a
(I2)	15,02 \pm 0,02 ^a	17,03 \pm 0,01 ^a	22,22 \pm 0,14 ^a / 23,48 \pm 0,65 ^a
(I3)	15,03 \pm 0,18 ^a	17,02 \pm 0,08 ^a	22,61 \pm 0,35 ^a / 23,40 \pm 0,57 ^a
(I4)	14,98 \pm 0,08 ^a	16,97 \pm 0,04 ^a	22,31 \pm 0,30 ^a / 23,57 \pm 0,47 ^a
(I5)	14,98 \pm 0,17 ^a	17,04 \pm 0,08 ^a	22,52 \pm 0,23 ^a / 23,53 \pm 0,24 ^a
(I6)	15,14 \pm 0,20 ^a	17,00 \pm 0,03 ^a	22,19 \pm 0,01 ^a / 23,29 \pm 0,27 ^a

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (**) Os picos foram obtidos em ângulos de refração de 2θ . (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + água, (C2) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + água, (C5) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + etanol.

A cristalinidade relativa foi obtida por cálculo de acordo com a literatura (ZHANG et al., 2009) e os valores são demonstrados nas Tabelas 17 e 18. Comparando os acessos C e I observou-se que ambos apresentaram aspecto semelhante, onde as amostras tratadas obtiveram valores mais elevados que as amostras naturais, demonstrando que a cristalinidade aumentou conforme a realização da hidrólise ácida. Os menores valores para o grau de cristalinidade relativa foram observados para as amostras naturais (C0 e I0) e as amostras (C5 e I3) apresentaram os maiores valores. Este resultado foi semelhante ao encontrado em outros estudos utilizando tratamento com HCl em amidos de batata doce (BABU et al, 2015), inhame e milho (XIA et al., 2010), milho, milho ceroso e com alto teor de

amilose (LUO et al., 2011), mandioca (CAVALLINI e FRANCO, 2010; BENINCA et al., 2013a), jaca (DUTTA et al., 2011), milho, batata e arroz (WANG e WANG, 2001), inhame (SHUJUN et al., 2007; XIA et al., 2011), taioba (LAWAL et al., 2004), e milho (WANG, TRUONG e WANG, 2003; CHUNG e LAI, 2007; LAWAL et al., 2005; LIN et al., 2011). Todos estes trabalhos corroboraram que o grau de cristalinidade aumentou consideravelmente nos amidos modificados à partir da hidrólise ácida.

Tabela 17 – Resultados de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso C

Amostras	Grau de Cristalinidade Relativa (%)
(C0)	11,19±1,05 ^a
(C1)	14,15±2,61 ^a
(C2)	15,86±0,91 ^a
(C3)	13,91±2,67 ^a
(C4)	14,09±2,49 ^a
(C5)	15,91±4,23 ^a
(C6)	13,30±1,00 ^a

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 18 – Resultados de DRX das amostras de amidos de pinhão acesso I

Amostras	Grau de Cristalinidade Relativa (%)
(I0)	12,61±0,90 ^a
(I1)	14,84±0,15 ^a
(I2)	15,20±0,01 ^a
(I3)	16,76±2,14 ^a
(I4)	14,10±0,06 ^a
(I5)	15,39±1,99 ^a
(I6)	14,83±1,56 ^a

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

O grânulo de amido apresenta regiões amorfas que são constituídas por amilose e regiões cristalinas compostas por amilopectina que agregam-se formando duplas-hélices. Durante a hidrólise ácida, as regiões amorfas são atacadas preferencialmente, pois estão localizadas na periferia do grânulo (LUO et al., 2011; CAVALLINI e FRANCO, 2010). Esta desagregação das ligações glicosídicas permite a reorganização dos segmentos da cadeia para oferecer mais estrutura cristalina ao grânulo de amido, com um padrão de raios X mais nítido, justificando desta maneira o aumento da cristalinidade conforme a realização do tratamento ácido (WANG e WANG, 2001; LAWAL, 2004; LAWAL et al., 2005; XIA et al., 2011).

As amostras tratadas com HCl em meio metanólico apresentaram valores elevados em ambas as concentrações (0,1 e 0,5 mol L⁻¹) sugerindo que o meio alcoólico pode influenciar no grau de cristalinidade do amido. Uma pesquisa que utilizou hidrólise ácida em meio metanólico no amido de milho (CHUNG e LAI, 2007), observou que este tratamento reduzia a quantidade de fragmentos granulares, de viscosidade e a sinérese da pasta de amido. Com isso, era possível obter uma maior locomoção e reorganização das moléculas de amido, o que explica este elevado aumento na cristalinidade em comparação com as demais amostras.

Um estudo que realizou acidificação com HCl em amido de sementes de manga identificou um perfil similar ao presente estudo, onde o percentual de cristalinidade relativa aumentou após o tratamento ácido. Isto é devido ao aumento na solubilidade e redução da viscosidade de pico, que está diretamente ligada com ao intumescimento do grânulo de amido (MENDES et al. 2015; LAWAL e ADEBOWALE, 2005).

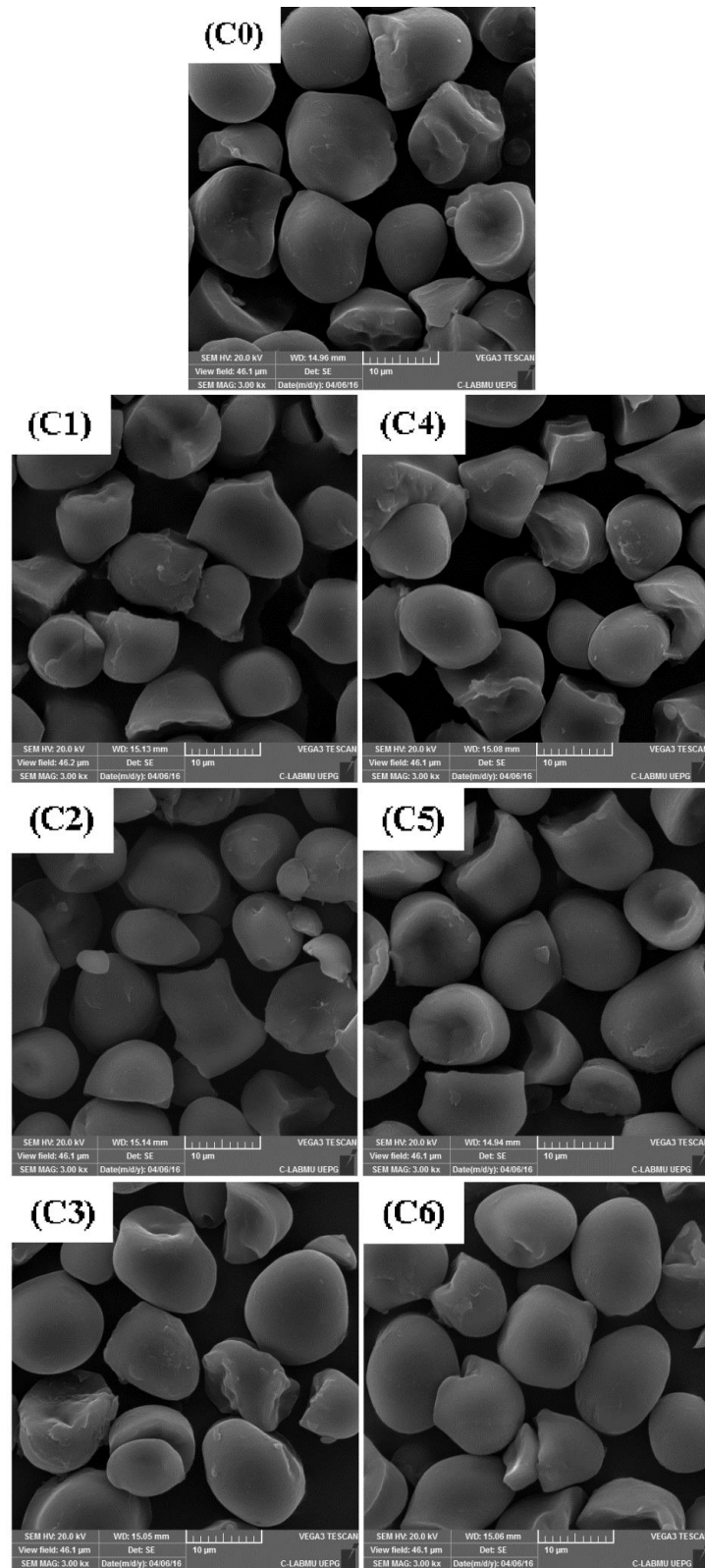
Conforme Chung et al. (2004), os amidos que apresentam baixo grau de cristalinidade, demonstram um aumento na ΔH_{gel} . Esta relação direta foi observada no amido natural (I0), onde observou-se a menor cristalinidade entre os amidos do acesso I (12,61%) e o maior ΔH_{gel} (8,32).

Em outro estudo realizado com amidos de milho e batata, apresentou uma correlação inversamente proporcional entre o grau de cristalinidade relativa e as temperaturas de gelatinização (T_p e T_c) (DHITAL et al., 2011). Comparando estes parâmetros, o acesso I apresentou três amostras (I3, I5 e I2) obtendo simultaneamente os maiores valores de cristalinidade relativa e os menores valores de T_p e T_c , indicando que existe uma influência da cristalinidade do amido nas temperaturas de gelatinização (T_p e T_c).

5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

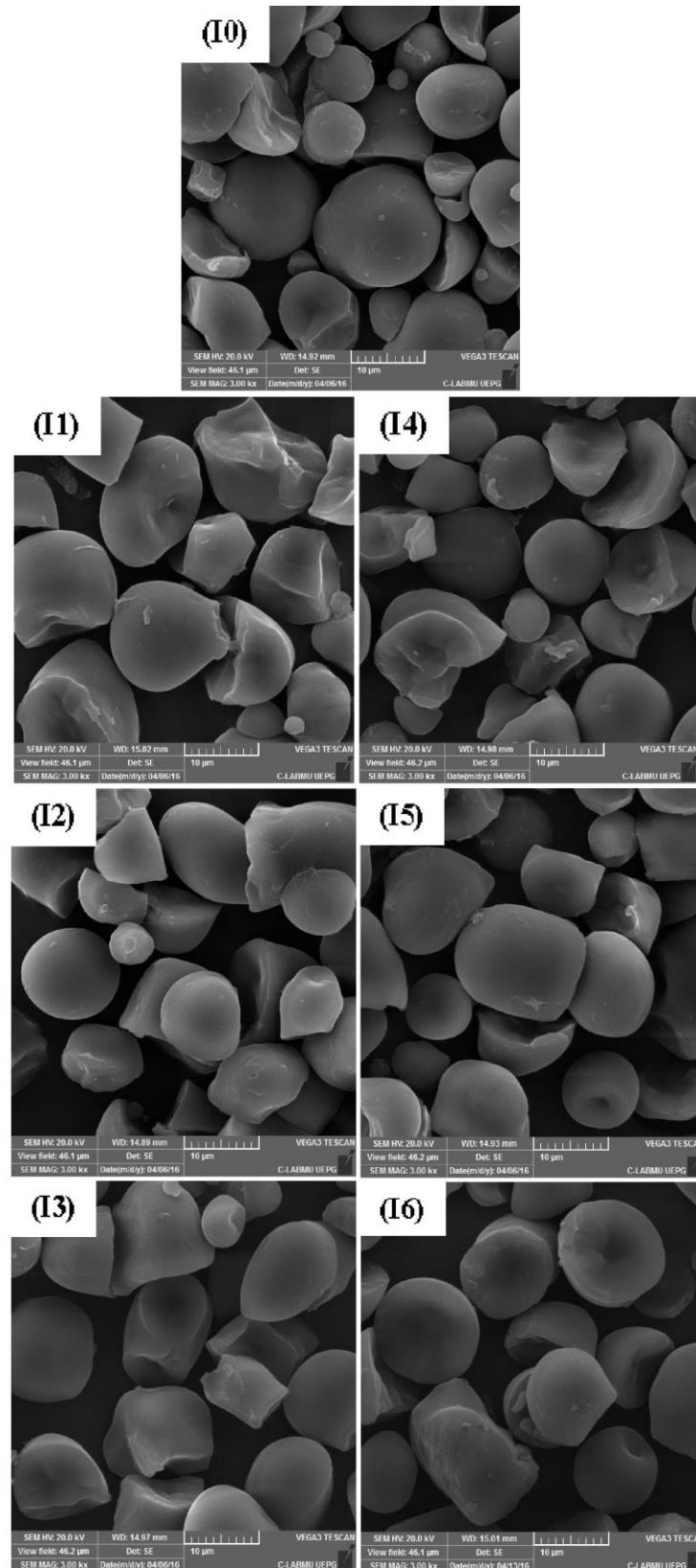
A morfologia granular e o diâmetro médio dos grânulos de amido de pinhão dos acessos C e I, naturais e modificados, foram obtidos através de microimagens, com aumento de 3000x, utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura, as quais estão representadas nas Figuras 28 e 29. Observa-se que os amidos naturais dos acessos C e I apresentaram características similares, onde os grânulos se mostraram de forma arredondada ou ligeiramente ovais, com superfície contendo pequenas irregularidades, mas sem evidências de poros ou erosão. Estudos realizados com amido de pinhão natural da espécie *A. angustifolia* também encontraram formato semelhante (BELLO-PÉREZ et al., 2006; CONFORTI e LUPANO, 2007; GONÇALVES et al., 2014; PINTO et al., 2015).

Figura 28 - Microimagens de MEV das amostras de amido de pinhão acesso C



(C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Figura 29 - Microimagens de MEV das amostras de amido de pinhão acesso I



(I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Analisando as amostras tratadas, de ambos os acessos (C e I), nas Figuras 28 e 29, percebe-se que as amostras modificadas em concentrações de HCl de 0,1 e 0,5 mol L⁻¹, apresentaram alterações morfológicas semelhantes, demonstrando grânulos com diversos formatos e alguns contendo tamanho reduzido. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos utilizando hidrólise ácida em meio alcoólico em amidos de milho e milho ceroso (LUO et al., 2011), de milho com menores tempos de tratamento (CHUNG e LAI, 2006), mandioca (FERRINI et al., 2008) e castanha portuguesa (KUBIAKI, 2016). A justificativa para estas alterações nas amostras tratadas é devido ao fato das moléculas de amilose (região amorfa), se apresentarem mais concentradas na superfície do grânulo e, portanto ficam mais suscetíveis ao ataque do HCl (ATICHOKUDOMCHAI, SHOBSNGOB e VARAVINIT, 2000).

O tamanho médio dos grânulos naturais e modificados, dos acessos C e I, estão descritos nas Tabelas 19 e 20. Os amidos naturais e tratados de ambos os acessos não demonstraram diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey a 5% de significância. Valores semelhantes corroboram com outros estudos para amido de pinhão natural, onde obtiveram tamanho médio de 12,20 µm de diâmetro (CONFORTI e LUPANO, 2007) 12,42 µm de diâmetro (CORDOBA, 2015) e 13,98 µm de diâmetro (RIBEIRO, et al., 2014a).

Tabela 19 – Diâmetro médio por MEV das amostras de amidos de pinhão acesso C

Amostras	Diâmetro médio (µm)
(C0)	13,38±1,61 ^{ab}
(C1)	11,54±2,44 ^{ab}
(C2)	11,69±1,47 ^{ab}
(C3)	13,75±2,48 ^a
(C4)	11,02±1,74 ^b
(C5)	12,57±2,12 ^{ab}
(C6)	12,66±2,41 ^{ab}

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (C0) amido de pinhão natural, (C1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (C2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (C3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (C4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (C5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (C6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Tabela 20 – Diâmetro médio por MEV das amostras de amidos de pinhão acesso I

Amostras	Diâmetro médio (µm)
(I0)	12,30±2,77 ^a
(I1)	13,87±3,08 ^a
(I2)	11,37±2,84 ^a
(I3)	12,97±2,62 ^a
(I4)	11,94±2,31 ^a
(I5)	11,84±2,92 ^a
(I6)	13,07±2,54 ^a

(*) Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (I0) amido de pinhão natural, (I1) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + água, (I2) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + metanol, (I3) amido de pinhão HCl 0,1 mol L⁻¹ + etanol, (I4) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + água, (I5) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + metanol, (I6) amido de pinhão HCl 0,5 mol L⁻¹ + etanol.

Duas das amostras tratadas (C3 e C4) apresentaram diferença significativa no acesso C e no acesso I não ocorreu diferença significativa entre as amostras, conforme o Teste de Tukey (5% de significância). As amostras C4 e I2 apresentaram o menor tamanho médio dos grânulos, com 11,02 e 11,37 µm de diâmetro, respectivamente. O maior tamanho médio dos grânulos foi observado para as amostras C3 e I1, (13,75 e 13,87 µm de diâmetro, respectivamente). No acesso C, observa-se uma tendência de redução do tamanho médio dos grânulos para as amostras tratadas em comparação com a amostra natural. Vários fatores como fonte botânica, origem genética, fase de desenvolvimento da planta, teor de amilose e grau de hidrólise do amido, podem influenciar no tamanho médio e morfologia dos grânulos naturais e modificados (WAGHORN et al., 2003; DEEPIKA et al., 2013;

LAN et al., 2015). No acesso I, foi observado comportamento semelhante apenas para as amostras I2, I4 e I5, sendo que as demais amostras apresentaram aumento no tamanho médio em relação a amostra natural. Esta tendência de redução do amido natural para os amidos tratados também foi observada para os amidos de pinhão (GONÇALVES et al., 2014), milho e batata (LIN, LEE e CHANG, 2003), milho e mandioca (FERRINI et al., 2008) considerando que a alteração foi aumentando gradativamente conforme o tempo de hidrólise ácida em meio alcoólico.

De modo geral, comparando-se os diâmetros de tamanho e microimagens de grânulos naturais e tratados, confirma-se que não houve variação significativa no tamanho entre eles, sofrendo mudanças apenas superficiais. Em outro estudo realizado com amido de milho e batata (DHITAL et al., 2011) foi identificado uma correlação direta entre o tamanho dos grânulos e a cristalinidade relativa, onde quanto maior foi o tamanho do grânulo mais elevado era o grau de cristalinidade relativa. Além disso, também foi encontrada uma relação inversamente proporcional entre estes parâmetros com as temperaturas de gelatinização (T_p e T_c), onde estas temperaturas reduziam conforme o aumento do tamanho e da cristalinidade dos grânulos. Esta relação foi encontrada no presente estudo, nas amostras C5 e I3, onde os valores foram elevados para o diâmetro dos grânulos de amido e grau de cristalinidade relativa, e reduzidos para T_p e T_c .

De acordo com a literatura (OKUNLOLA e ODEKU, 2011), grânulos que apresentam maiores tamanhos gelatinizam mais rapidamente que os grânulos menores. Isto significa que existe uma relação inversamente proporcional entre o tempo de pico e o tamanho do grânulo. Esta correlação foi observada apenas no acesso C, onde a amostra C3 apresentou o maior diâmetro médio (13,7 μ m) e o menor tempo de pico (300s). Entretanto, a amostra C4 apresentou perfil contrário, obtendo o menor diâmetro médio (11,02 μ m) e o tempo de pico mais elevado (5,67 min).

6 CONCLUSÃO

O tratamento ácido em meio alcoólico alterou algumas propriedades do amido de pinhão de ambos os acessos. Quanto à recuperação dos grânulos de amido após a modificação ácida, observou-se que o meio aquoso apresentou os maiores valores de recuperação e o meio alcoólico obteve os valores próximos de 90% de recuperação corroborando com a literatura.

A determinação de pH encontrou valores dentro do esperado para os acessos C e I, comprovando que o ácido foi retirado do amido. Por Colorimetria identificou-se similaridade entre os acessos nos parâmetros L^* e b^* apresentando coloração branca e leve tendência para a coloração amarela, mostrando que o tratamento do amido de pinhão não alterou as características colorimétricas das amostras.

Na análise de TG-DTA em atmosfera de ar sintético foram observadas três perdas de massa. As amostras naturais apresentaram características diferentes para as curvas DTA, um pico endotérmico e três picos exotérmicos. Observou-se que a hidrólise ácida em ambas as concentrações de HCl resultou em aumento das temperaturas finais no terceiro evento. Este tratamento proporciona um aumento na estabilidade térmica final dos amidos, quando analisados em atmosfera de oxigênio.

Para a análise de TG-DTA em atmosfera de nitrogênio foram encontradas duas perdas de massa. As curvas DTA apresentaram semelhança nas amostras tratadas obtendo dois picos endotérmicos. Observou-se que as amostras apresentaram variações não significativas nas temperaturas finais e na estabilidade térmica, devido ao uso da atmosfera inerte. Este fato ocorre pois não ocorre a reação de combustão do terceiro evento, como observado em atmosfera de ar.

Através das curvas de DSC constatou-se que o T_c e o ΔH_{gel} não apresentaram diferenças significativas, demonstrando pequenas diferenças apenas em T_o e T_p . As amostras tratadas com maior concentração de HCl demonstraram leve resistência térmica para o acesso C e em meio etanólico para os dois acessos. Estas últimas amostras também apresentaram os menores valores de ΔH_{gel} .

Na análise reológica por RVA foi observado em ambos os acessos uma tendência de redução dos parâmetros de viscosidade conforme a intensidade do tratamento ácido. A hidrólise ácida, principalmente em meio etanólico, provocou

alterações nas propriedades dos grânulos de amido, indicando que a modificação foi eficaz.

Os difratogramas de raios X apresentaram um padrão característico do tipo C. A cristalinidade relativa apresentou comportamento semelhante entre os acessos, demonstrando aumento à partir da hidrólise ácida com destaque ao meio metanólico. Os íons H^+ atacam preferencialmente as regiões amorfas, promovendo a reorganização das cadeias, o que ofereceu maior estrutura cristalina ao amido.

As microimagens de MEV e o diâmetro médio dos grânulos de amido não apresentaram diferença significativa, ocorrendo apenas alterações superficiais após a modificação ácida.

Diante dos resultados encontrados no presente estudo e considerando o fato do pinhão ser uma matéria prima sazonal, os amidos modificados de pinhão poderiam ser aplicados em *specialties*, voltados para produtos com escala reduzida com o intuito de estimular os pequenos produtores. O desenvolvimento de alternativas para o uso de amido de pinhão aliado ao progresso contínuo da modificação de amidos proporcionam algumas possibilidades de aplicação como: produção de biofilmes, excipientes farmacêuticos, encapsulamento de nutracêuticos, nanoencapsulamento para liberação lenta de biofertilizantes e fabricação de papeis especiais. Conclui-se, portanto, que o potencial do amido de pinhão continua ser promissor como matéria-prima importante para diversas aplicações, conferindo maior valor agregado ao produto final.

REFERÊNCIAS

- ABEGUNDE, O. K.; MU, T. H.; CHEN, J. W.; DENG, F. M. Physicochemical characterization of sweet potato starches popularly used in Chinese starch industry. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 169-177, 2013.
- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, v. 319, p.17-25, 1998.
- ALMEIDA, M. R.; ALVES, R. S.; NASCIMBEM, L.; STEPHANI, R.; POPPI, R. J.; OLIVEIRA, L. F. de. Determination of amylose content in starch using Raman spectroscopy and multivariate calibration analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, 2693-2701, 2010.
- ALMEIDA, R. R.; LACERDA, L. G.; MURAKAMI, F. S.; Gilbert Bannach BANNACH, G.; DEMIATE, I. M.; SOCCOL, C. R.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; SCHNITZLER, E. Thermal analysis as a screening technique for the characterization of babassu flour and its solid fractions after acid and enzymatic hydrolysis. **Thermochimica Acta**, v. 519, p. 50-54, 2011.
- ALMEIDA, E. C. **Amido modificado de taro (Colocasia Esculenta L Schott): propriedades funcionais**. 2012. 144 f. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Pós-Graduação, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.
- AMINI, A. M.; RAZAVI, S. M. A.; MORTAZAVI, S. A. Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, 282-292, 2015.
- ANDRADE, M. M. P.; OLIVEIRA, C. S.; COLMAN, T. A. D.; COSTA, F. J. O. G.; SCHNITZLER, E. Effects of heat-moisture treatment on organic cassava starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2115-2122, 2014.
- ANNISON, G.; TOPPING, D. L. Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. **Annual Review of Nutrition**, v. 14, p. 297-320, 1994.
- ATICHOKUDOMCHAI, N.; SHOBSNGOB, S.; VARAVINIT, S. Morphological Properties of Acid-modified Tapioca Starch. **Starch/Stärke**, v. 52, p. 283-289, 2000.
- ATICHOKUDOMCHAI, N.; SHOBSNGOB, S.; CHINACHOTI, P.; VARAVINIT, S. A Study of Some Physicochemical Properties of High-Crystalline Tapioca Starch. **Starch/Stärke**, v. 53, p. 577-581, 2001.
- ATWELL, W. A.; HOOD, L. F.; LINEBACK, D. R.; VARRIANO-MARSTON, E.; ZOBEL, H. F. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. **Cereal Food Worlds**, v. 33, p. 306-311, 1988.

BABU, A. S.; PARIMALAVALLI, R.; JAGANNADHAM, K.; RAO, J. S. Chemical and structural properties of sweet potato starch treated with organic and inorganic acid. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 9, p. 5745-5753, 2015.

BALASUBRAMANIAN, S.; SHARMA, R.; KAUR, J.; BHARDWAJ, N. Characterization of modified pearl millet (*Pennisetum typhoides*) starch. **Journal of Food Science and Technology**, 2011. First on line. DOI: 10.1007/s13197-011-0490-1.

BECERRA, V.; ODERMATT, J. Direct determination of cationic starches in paper samples using analytical pyrolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.105, p. 348-354, 2014.

BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCÍA-SUÁREZ, F. J.; MÉNDEZ-MONTEALVO, G.; NASCIMENTO, J. R. O. do; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Isolation and Characterization of Starch from Seeds of *Araucaria brasiliensis*: A Novel Starch for Application in Food Industry. **Starch/Stärke**, v. 58, p. 283-291, 2006.

BEMILLER, J. N. Starch modification: Challenges and prospects. **Starch/Starke**, v. 49, p. 127-131, 1997.

BENINCA, C.; DEMIATE, I. M.; LACERDA, L. G.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; IONASHIRO, M.; SCHNITZLER, E. Thermal behavior of corn starch granules modified by acid treatment at 30 and 50°C. **Eclética Química**, v. 33, n. 3, p. 13-18, 2008.

BENINCA, C.; COLMAN, T. A. D.; LACERDA, L. G.; FILHO, M. A. S. C.; BANNACH, G.; SCHNITZLER, E. The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. **Thermochimica Acta**, v. 552, p. 65-69, 2013a.

BENINCA, C.; COLMAN, T. A. D.; LACERDA, L. G.; FILHO, M. A. S. C.; DEMIATE, I. M.; BANNACH, G.; SCHNITZLER, E. Thermal, rheological, and structural behaviors of natural and modified cassava starch granules, with sodium hypochlorite solutions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, p. 2217-2222, 2013b.

BERNAZZANI, P.; PEYYAVULA, V. K.; AGARWAL, S.; TATIKONDA, R. K. Evaluation of the phase composition of amylose by FTIR and isothermal immersion heats. **Polymer**, v. 49, n. 19, p. 4150-4158, 2008.

BET, C. D.; CORDOBA, L. P.; RIBEIRO, L. S.; SCHNITZLER, E. Common Vetch (*Vicia sativa*) as a New Starch Source: Its Thermal, Rheological and Structural Properties After Acid Hydrolysis. **Food Biophysics**, v. 11, p. 275-282, 2016.

BETTAÏEB, N. B.; JERBI, M. T.; GHORBEL, D. Gamma radiation influences pasting, thermal and structural properties of corn starch. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 103, p.1-8, 2014.

BICUDO, S. C. W.; DEMIATE, I. M.; BANNACH, G.; LACERDA, L. G.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; IONASHIRO, M.; SCHNITZLER, E. Thermoanalytical study and characterization of native starches of Paraná pine seeds (*Araucaria angustifolia*,

Bert O. Ktze) and European chestnut seeds (*Castanea sativa*, Mill). **Eclética Química**, v. 34, n. 1, p. 7-12, 2009.

BILIADERIS, C. G.; SENEVIRATNE, H. D. On the supermolecular structure and metastability of glycerol monostearate-amylose complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 13, n.185, 1990.

BILIADERIS, C. G. Thermal analysis of food carbohydrates. In V. R. Harwalker e C.-Y. Ma (Eds.). **Thermal analysis of foods**. London: Elsevier. 1990.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 259 de 20 de setembro de 2002. Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 p, 2002a.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria Ministerial 49, de 06 de fevereiro de 2002. Proposta do grupo de trabalho preservação e recuperação da Floresta Ombrófila Mista no Estado de Santa Catarina. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 77 p, 2002b.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Lei nº 11.428 de 22 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 p, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 06 de 23 de setembro de 2008. Reconhece as espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 52 p, 2008.

CAI J.; CAI, C.; MAN, J.; ZHOU, W.; WEI, C. Structural and functional properties of C-type starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 289-300, 2014.

CARVALHO, A. J. F. Caracterização de géis termorreversíveis de SEBS. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 10, p. 1-7, 2000.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Embrapa Informação Tecnológica. EMBRAPA-CNPQ, Brasília-DF, 2003.1039 p.

CAPELLA, A. C. V.; PENTEADO, P. T. P. S.; BALBI, M. E. Semente de *Araucária angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos – UFPR**, v. 27, p. 135-142, 2009.

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

CEREDA, M. P. Amidos modificados. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 31-36, 1996.

CEREDA, M. P.; FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo, Fundação Cargill, 221 p. (Série: Culturas de tuberosas amiláceas Latino-americanas). v. 1, 2001.

CHAMBERLAIN, E. K.; RAO, M. A. Rheological properties of acid converted waxy maize starches in water and 90% DMSO/10% water. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, p. 251-260, 1999.

CHANG, Y. H.; LIN, J. H.; LII, C. Y. Effect of ethanol concentration on the physicochemical properties of waxy corn starch treated by hydrochloric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p. 89-96, 2004.

CHANG, Y. H.; LIN, J. H.; CHANG, S. Y. Physicochemical properties of waxy and normal corn starches treated in different anhydrous alcohols with hydrochloric acid. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 332-339, 2006.

CHEN, R.; YI, C.; WU, H.; GUO, S. Degradation kinetics and molecular structure development of hydroxyethyl cellulose under the solid state mechanochemical treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 188-195, 2010.

CHUNG, H. J.; CHANG, H. I.; LIM, S. T. Physical aging of glassy normal and waxy rice starches: Effect of crystallinity on glass transition and enthalpy relaxation. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 101-107, 2004.

CHUNG, Y. L.; LAI, H. M. Molecular and granular characteristics of corn starch modified by HCl-methanol at different temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 527-534, 2006.

CHUNG, Y. L.; LAI, H. M. Properties of Cast Films Made of HCl-Methanol Modified Corn Starch. **Starch/Stärke**, v. 59, p. 583-592, 2007.

CLADERA-OLIVERA, F. **Estudos tecnológicos de engenharia para o armazenamento e processamento do pinhão**. 2008. 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

COLMAN, T. A. D.; BICUDO, S. C. W.; LACERDA, L. G.; CARVALHO-FILHO, M. A. S.; DEMIATE, I. M.; BANNACH, G.; SCHNITZLER, E. Characterization of wheat starch by thermoanalytical, rheological and atomic force microscopy techniques. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, v. 1, p. 62-65, 2012.

COLMAN, T. A. D.; DEMIATE, I. M.; SCHNITZLER, E. The effect of microwave radiation on some thermal, rheological and structural properties of cassava starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2245-2252, 2014.

COLONNA, P.; LELOUP, V.; BULEON, A. Limiting factors of starch hydrolysis. **European Journal of Clinical Nutrition**. London, v. 46, n. 2, p. 17-32, 1992.

CONFORTI, P. A.; LUPANO, C. E. Starch Characterisation of *Araucaria angustifolia* and *Araucaria araucana* Seeds. **Starch/Stärke**, v. 59, p. 284-289, 2007.

COOKE D.; GIDLEY, M. J. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinization: origin of the enthalpic transition. **Carbohydrate Research**, v. 227, p. 103-112, 1992.

CORDENUNSI, B. R.; DE MENEZES E. W.; GENOVESE, M. I.; COLLI, C.; SOUZA, A. G. A. de; LAJOLO, F. M. Chemical Composition and Glycemic Index of Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*) Seeds. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 3412-3416, mar. 2004.

CORDOBA, L. P.; RIBEIRO, L. S.; COLMAN, T. A. D.; OLIVEIRA, C. S.; ANDRADE, M. M. P.; COSTA, F. J. O. G.; SCHNITZLER, E. Effect of hydrochloric acid in different concentrations and temperatures up to some properties of organic cassava starch. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, v. 2, n. 1, p. 6-11, 2013.

CORDOBA, L. P. **Efeito da modificação enzimática nas propriedades térmicas, reológicas e estruturais do amido de pinhão (*Araucaria angustifolia*)**. 2015. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Pró-reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

CORDOBA, L. P.; BET, C. D.; SCHNITZLER, E. Study by thermal methods of pinhão starch modified with lactic acid. **Carpathian Journal of Food Science and Technology**, v. 7 (4), p. 41-47, 2015.

COSTA, F. J. O. G.; LEIVAS, C. L.; WASZCZYNSKYJ, N.; DE GODOI, R. C. B.; HELM, C. V.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E. Characterisation of native starches of seeds of *Araucaria angustifolia* from four germplasm collections. **Thermochimica Acta**, v. 565, p. 172-177, mai. 2013.

COSTA, F. J. O. G. da; COUTO, J. M. C.; WASZCZYNSKYJ, N.; GODOY, R. C. B. de; CARVALHO, C. W. P. de; WALTER, E. H. M. **Extração de amido de pinhão**. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. 4 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 349).

DANNER, M. A.; ZANETTE, F.; RIBEIRO, J. Z. O cultivo da araucária para produção de pinhões como ferramenta para a conservação. **Brazilian Journal of Forestry Research**, v. 32, n. 72, p. 441-451, 2012.

DAUDT, R. M.; KULKAMP-GUERREIRO, I. C.; CLADERA-OLIVERA, F.; THYS R. C. S.; MARCZAK, L. D. F. Determination of properties of pinhão starch: Analysis of its applicability as pharmaceutical excipient. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 420-429, 2014.

DHITAL, S.; SHRESTHA, A. K.; HASJIM, J.; GIDLEY, M. J. Physicochemical and Structural Properties of Maize and Potato Starches as a Function of Granule Size. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 10151-10161, 2011.

DI-MEDEIROS, M. C. B.; PASCOAL, A. M.; BATISTA K. A.; BASSINELLO, P. Z.; LIÃO, L. M.; LELES M. I. G.; FERNANDES, K. F. Rheological and biochemical properties of *Solanum lycocarpum* starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 104, p. 66-72, 2014.

DEEPIKA, V.; KUMAR, K. J.; ANIMA, P. Isolation and physicochemical characterization of sustained releasing starches from *Dioscorea* of Jharkhand. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 55, p. 193-200, 2013.

DUTTA, H.; PAUL, S. K.; KALITA, D.; MAHANTA, C. L. Effect of acid concentration and treatment time on acid-alcohol modified jackfruit seed starch properties. **Food Chemistry**, v. 128, n. 2, p. 284-291, 2011.

ELIASSON, A.C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 2004. 605p.

FERRINI, L. M. K.; ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M.; FRANCO, C. M. L. Effect of acid-methanol treatment on the physicochemical and structural characteristics of cassava and maize starches. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 417-425, 2008.

FORLIN, D.; VIDAL BEZERRA, J. R. M.; RIGO, M.; BASTOS, R. G.; KOPF, C. Viabilidade do processamento de pães com farinha de pinhão e iogurte. **Ambiência**, v. 5, n. 1, p. 93-100, 2009.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. 221p.

FREITAS, M. C. J. Amido Resistente: propriedades funcionais. **Nutrição Brasil**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 40-48, 2002.

FUNDAÇÃO DE PESQUISAS FLORESTAIS DO PARANÁ – FUPEF –. **Conservação do Bioma Floresta com Araucária: relatório final**. Diagnóstico dos remanescentes florestais/ PROBIO Araucária, Curitiba, v. 2, 2001. 236 p.

GAMA, T. M. M. T. B.; MASSON, M. L.; HARACEMİY, S. M. C.; ZANETTE, F.; CÓRDOVA K. R. V. A influência de tratamentos térmicos no teor de amido, cor e aparência microscópica de pinhão natural (*Araucaria angustifolia*) e pinhão proveniente de polinização controlada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 2, p. 161-178, 2010.

GAO, Y.; WANG, L.; YUE, X.; XIONG, G.; WU, W.; QIAO, Y.; LIAO, L. Physicochemical properties of lipase-catalyzed laurylation of corn starch. **Starch/Stärke**, v. 66, p. 450-456, 2014.

GARCIA, V.; COLONNA, P.; BOUCHET, B.; GALLANT, D. J. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents. **Starch/Stärke**, v. 49, p. 171-179, 1997.

GODOY, R. C. B.; NEGRE, M. F. de O., MENDES, L. M.; SIQUEIRA, G. L. A.; HELM, C. V. **O pinhão na culinária**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 137 p.

GONÇALVES, P. M.; NOREÑA, C. P. Z.; SILVEIRA, N. P.; BRANDELLI, A. Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, p. 21-27, 2014.

HAINES, P. J. **Thermal methods of analysis: principles, applications and problems**. Springer Science e Business Media, 2012.

HAN, Z.; ZENG, X. A.; ZHANG, B. S.; YU, S. J. Effects of pulsed electric fields (PEF) treatment on the properties of corn starch. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 3, p. 318-323, 2009.

HÄUSLER, O. Starch. In: Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. (Eds.), Handbook of Pharmaceutical Excipients. **Pharmaceutical Press**, London, pp. 685-691, 2009.

HEBEDA, R. E.; BOWIES, L. K.; TEAGUE, W. M. Development in enzymes for retarding staling of baked goods. **Cereal Food World**, v. 35, p. 453-455, 1990.

HENRÍQUEZ, C.; ESCOBAR, B.; FIGUEROLA, F.; CHIFFELLE, I.; SPEISKY, H.; ESTÉVEZ, A. M. Characterization of pinõn seed (*Araucária araucana* (Mol) K. Koch) and the isolated starch from the seed. **Food Chemistry**, v. 107, p. 592-601, 2008.

HERNANZ, D; GALLO, V.; RECAMALES, A. F.; MELÉNDEZ-,MARTÍNEZ, A. J.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J. Effect of storage on the phenolic content, volatile composition and colour of white wines from the varieties Zalema and Colombard. **Food Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 530-537, 2009.

HIRASHIMA, M.; TAKANASHI, R.; NISHINARI, K. Effects of adding acids before and after gelatinization on the viscoelasticity of cornstarch pastes. **Food hydrocolloids**, v. 19, n. 5, p. 909-914, 2005.

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

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

HORNUNG, P. S.; LAZZAROTTO, S. R. S.; SCHNITZLER, E.; LAZZAROTTO, M. **Estudo da gelatinização do amido modificado de mandioca**: potencial matéria-prima para indústria papeleira. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. 4 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 344).

HORNUNG, P. S.; GRANZA, A. G.; OLIVEIRA C. S. de; LAZZAROTTO, M.; SCHNITZLER, E. Study of the Effects of Ultraviolet Light and Sodium Hypochlorite Solutions on Properties of Cassava Starch Granules. **Food Biophysics**, v. 10, 368-374, 2015.

HORNUNG, P. S.; OLIVEIRA C. S. de; LAZZAROTTO, M.; LAZZAROTTO, S. R. S.; SCHNITZLER, E. Investigation of the photo oxidation of cassava starch granules: Thermal, rheological and structural behavior. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, 2129-2137, 2016.

HUECK, K. **As florestas da América do Sul**: ecologia, composição e importância econômica. São Paulo: Polígono/ Brasília: Ed. UnB, 1972, cap 27 e 28. 466 p.

HULLEMAN, S. H. D.; KALISVAART, M.G.; JANSSEN, F.H.P.; FEIL, H.; Vliegenthart, J. F. G. Origins of B-type crystallinity in glycerol-plasticised, compression moulded potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 39, p. 351-360, 1999.

HUNG, V. P.; MAEDA, T.; MORITA, N. Study on physicochemical characteristics of waxy and high-amylose wheat starches in comparison with normal wheat starch. **Starch/Stärke**, v. 59, p. 125-131, 2007.

HUNTERLAB. CIE L*a*b* Color Scale. **Applications Note**, v. 8, n. 7, 1996. Disponível em: <www.hunterlab.com/appnotes/an07_96a.pdf>. Acesso: 20 jun. 2015.

HUTCHINGS, J. B. Color Measurements. **Encyclopedia of Analytical Science**, p. 198-208, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 27.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE –. Departamento de Agropecuária. **Produção da Extração Vegetal e da Sicultura (PEVS)**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/bibliotecacatalogo?view=detalhes&id=774>>. Acesso em: 01/10/2016.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. **Giolito**: Fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/ calorimetria exploratória diferencial. 2. ed. São Paulo: Giz Editorial, 2014. 191 p.

JANSEN, G.; FLAMME, W.; SCHÜLLER, K.; VANDREY, M. Tuber and starch quality species and cultivars of wild and cultivated potato. **Potato Research**, v. 44, p. 137-146, 2001.

JAYAKODY, L.; HOOVER, R., The effect of lintnerization on cereal starch granules. **Food Research International**, v. 35, p. 665-680, 2002.

JENKINS, P. J.; DONALD, A. M. Gelatinisation of starch: a combined SAXS/WAXS/DSC and SANS study. **Carbohydrate Research**, v. 308, p. 133-147, 1998.

JIANG, Q. Q.; GAO, W.; LI, XIA; ZHANG, J.; HUANG, L. Effect of acid-ethanol on the physicochemical properties of *Dioscorea opposita* Thunb. and *Pueraria thomsonii* Benth. starches. **Starch/Stärke**, v. 63, p. 302-310, 2011.

JIMENEZ, A.; FABRA, N. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and biodegradable starch films: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2058-2076, 2012.

JÚNIOR, P. C. A.; CORRÊA, P. C. Influência do tempo de armazenagem na cor dos grãos de café pré-processados por “via seca” e “via úmida”. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1268-1276, nov./dez. 2003.

KAMASAKA, H.; SUGIMOTO, K.; TAKARA, H.; NISHIMURA, T.; KURIKI, T. *Bacillus stearothermophilus* neopullulanase selective hydrolysis of amylose to maltose in the presence of amylopectin. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 1658-64, 2002.

KAPUSNIAK, J.; SIEMION, P. Thermal reactions of starch with long-chain unsaturated fatty acids. Part 2. Linoleic acid. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 323-332, 2007.

KITAJIMA, E. W.; LEITE, B. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. Piracicaba: ESALQ, v. 37, 1997.

KLEIN, B.; PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. R.; COLUSSI, R.; EVANGELHO, J. A.; GUTKOSKI, L. C.; DIAS, A. R. G. Effect of single and dual heat-moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhão starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1578-1584, 2013.

KOCH, Z.; CORRÊA, M. C. **Araucária: a floresta do Brasil meridional**. Curitiba: Olhar Brasileiro, 2002.

KOHYAMA, K.; MATSUKI, J.; YASUI, T.; SASAKI, T. A differential thermal analysis of the gelatinization and retrogradation of wheat starches with different amylopectin chain lengths. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 71-77, 2004.

KROGARS, K. **Aqueous-based amylose-rich maize starch solution and dispersion: a study on free films and coatings**. 2003. Academic Dissertation. Faculty of Science of the University of Helsinki, 2003.

KUBIAKI, F. T. **Avaliação das propriedades térmicas, reológicas e estruturais do amido de castanha portuguesa (*Castanea sativa*, Mill) modificado por hidrólise ácido-alcoólica**. 2016. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Pró-reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2016.

LACERDA, L. G.; AZEVEDO, J. A. M.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; DEMIATE, I. M.; SCHNITZLER, E.; VANDERBERCHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R. Thermal

characterization of partially hydrolyzed cassava (*Manihot esculenta*) starch granules. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 1209-1215, 2008a.

LACERDA, L. G.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; DEMIATE, I. M.; BANNACH, G.; IONASHIRO, M.; SCHNITZLER, E. Thermal behavior of corn starch granules under action of fungal α -amylase. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 93, n. 2, p. 445-449, 2008b.

LACERDA, L. G.; COLMAN, T. A. D.; BAUAB, T.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; DEMIATE, I. V.; VASCONCELOS, E. C.; SCHNITZLER, E. Thermal, structural and rheological properties of starch from avocado seeds (*Persea americana*, Miller) modified with standard sodium hypochlorite solutions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 155, p. 1893-1899, 2014.

LAN, X.; LI, Y.; XIE, S.; WANG, Z. Ultrastructure of underutilized tuber starches and its relation to physicochemical properties. **Food Chemistry**, v. 188, p. 632-640, 2015.

LAZZAROTTO, S. R. S. **Efeito da oxidação induzida com permanganato de potássio na modificação do amido de pinhão**. 2016. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Pró-reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2016.

LAWAL, O. S. Composition, physicochemical properties and retrogradation characteristics of native, oxidised, acetylated and acid-thinned new cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) starch. **Food Chemistry**, v. 87, p. 205-218, 2004.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O.; ODERLINDE, R. Functional properties of amylopectin and amylose fractions isolated from bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*) starch. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, p. 399-404, 2004.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O. Physicochemical characteristics and thermal properties of chemically modified jack bean (*Canavalia ensiformis*) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 331-341, 2005.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O.; OGUNSANWO, B. M.; BARBA, L. L.; ILO, N. S. Oxidized and acid thinned starch derivatives of hybrid maize: functional characteristics, wide-angle X-ray diffractometry and thermal properties. **Internacional Journal of Biological Macromolecules**, v. 35, p. 71-79, 2005.

LAYE, P. G. Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry. **Principles of thermal analysis and calorimetry**, v. 52, p. 63-122, 2002.

LEITE, D. M. C.; JONG, E. V. de; NOREÑA, C. P. Z.; BRANDELLI, A. Nutritional evaluation of *Araucaria angustifolia* seed flour as a protein complement for growing rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 1166-1171, 2008.

LEIVAS, C. L.; COSTA, F. J. O. G.; ALMEIDA, R. R.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; SCHNITZLER, E. Structural, physico-chemical, thermal and pasting properties of

potato (*Solanum tuberosum* L.) flour. Study of different cultivars and granulometries. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, 2211-2216, 2013.

LELIÈVRE, J.; LIU, H. A review of thermal analysis studies of starch gelatinization. **Thermochimica Acta**, v. 246, p. 309-315, 1994.

LEONEL, M., CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 65-69, 2002.

LEVER, T.; HAINES, P.; ROUQUEROL, J.; CHARLESLEY, E. L.; ECKEREN, P. V.; BURLETT, D. J. ICTAC nomenclature of thermal analysis (IUPAC Recommendations 2014). **Pure and Applied Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 545-553, 2014.

LI, X.; GAO, W.; HUANG, L.; WANG, Y.; HUANG, L.; LIU, C. Preparation and physicochemical properties of carboxymethyl *Fritillaria ussuriensis* Maxim. Starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 768-773, 2010.

LIN, J. H.; LEE, S. Y.; CHANG, Y. H. Effect of acid-alcohol treatment on the molecular structure and physicochemical properties of maize and potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, p. 475-482, 2003.

LIN, J. H.; LII, C.; CHANG, Y. H. Change of granular and molecular structures of waxy maize and potato starches after treated in alcohols with or without hydrochloric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 507-515, 2005.

LIN, J. H.; CHANG, Y. H. Molecular degradation rate of rice and corn starches during acid-methanol treatment and its relation to the molecular structure of starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 5880-5886, 2006.

LIN, J. H.; SINGH, H.; WEN, C. Y.; CHANG, Y. H. Partial-degradation and heat-moisture dual modification on the enzymatic resistance and boiling-stable resistant starch content of corn starches. **Journal of Cereal Science**, v. 54, p. 83-89, 2011.

LIN, L.; HUANG, J.; ZHAO, L.; WANG, J.; WANG, Z.; WEI, C. Effect of granule size on the properties of lotus rhizome C-type starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 448-457, 2015.

LINDEBOOM, N.; CHANG, P. R.; TYLER, R. T. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: A review. **Starch/Stärke**, v. 56, p. 89-99, 2004.

LIU, Q. Understanding Starches and Their Role in Foods. In: CUI, S. W. (ed) **Food Carbohydrates: chemistry, physical properties and applications**. Boca Raton: CRC Press, p. 309-355, 2005.

LORLOWHAKARN, K.; NAIVIKUL, O. Modification of rice flour by heat moisture treatment (HMT) to produce rice noodles. **Kasetsart Journal (Nat Sci)**, v. 40, p.135-43, 2006.

LUO, Z. G.; FU, X.; GAO, Q. Y.; YU, S. J. Effect of acid hydrolysis in the presence of anhydrous alcohols on the structure, thermal and pasting properties of normal, waxy and high-amylose maize starches. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 429-435, 2011.

MALISKA, A. M. **Microscopia eletrônica de varredura**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. 2004. 98 p. Disponível em: <http://www.usp.br/nanobiodev/wp-content/uploads/MEV_Apostila.pdf>.

MALUCELLI, L. C.; LACERDA, L. G.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; FERNÁNDEZ, D. E. R.; DEMIATE, I. M.; OLIVEIRA, C. S.; SCHNITZLER, E. Porous waxy maize starch: Thermal, structural and viscographic properties of modified granules obtained by enzyme treatment. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, p. 525-532, 2015.

MATALANIS, A. M.; CAMPANELLA, O. H.; HAMAKER, B. R. Storage retrogradation behavior of sorghum, maize and rice starch pastes related to amylopectin fine structure. **Journal of Cereal Science**, v. 50, p. 74-81, 2009.

MEDEIROS, J. D.; SAVI, M.; DE BRITO, B. F. A. Seleção de áreas para criação de Unidades de Conservação na Floresta Ombrófila Mista. **Biotemas**, v.18, n. 2, p. 33-50, 2005.

MENDES, M. L. M.; RIBEIRO, A. P. L.; ALMEIDA, E. C. Efeito da acidificação nas propriedades físico-químicas e funcionais do amido de sementes de manga (*Mangifera indica* L.), variedade Tommy Atkins. **Revista Ceres**, v. 62, n. 3, p. 225-232, 2015.

MESTRES, C. Los estados físicos del almidón. In: Anais (Ed.), **Conferencia Internacional del almidón**. Anais, Quito, p. 2, 1996.

MINOLTA, K. **Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação**. Japão: Minolta Corporation. 59 p. 1998.

MISCHNICK, P. Structure, chemistry, analysis and physiological aspects of starch and modified starches. **Proceedings of Euro Food Chem XIII**, vol. 1, n. 7, 2005.

MOORTHY, S. N. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: a review. **Starch/Stärke**, v. 54, p. 559-592, 2002.

MORRIS, V. J. Starch gelation and retrogradation. **Trends in Food Science e Technology**, Cambridge, v. 1, p. 2-6, 1990.

MUCCILLO, R. C. S. T. **Caracterização e avaliação de amido natural e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas**. 2009. 156 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química do Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, 2009.

MUKERJEA, R.; SLOCUM, G.; ROBYT, J. F. Determination of the maximum water solubility of eight native starches and the solubility of their acidic-methanol and - ethanol modified analogues. **Carbohydrate Research**, v. 342, p. 103-110, 2007.

NAKAZAWA, F.; NOGUCHI, S.; TAKAHASHI, J.; TAKADA, M. Retrogradation of gelatinized starch studied by differential scanning calorimetry. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 49, p. 953-957, 1985.

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

NEWPORT SCIENTIFIC. **Operation manual for series 4**: instructions manual. Austrália: Warriewood, 1998. 123 p.

OKUNLOLA, A.; ODEKU, O. A. Evaluation of starches obtained from four *Dioscorea* species as binding agent in chloroquine phosphate tablet formulations. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 19, p. 95-105, 2011.

OKUNLOLA, A.; AKINGBALA, O. Characterization and evaluation of acid-modified starch of *Dioscorea oppositifolia* (Chinese yam) as a binder in chloroquine phosphate tablets. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 699-708, 2013.

OLIVEIRA, C. S. de; ANDRADE, M. M. P.; COLMAN, T. A. D.; COSTA, F. J. O. G.; SCHNITZLER, E. Thermal, structural and rheological behaviour of native and modified waxy corn starch with hydrochloric acid at different temperatures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 13-18, 2014.

OSORIO, C.; FRANCOA, M. S.; CASRAÑOB, M. P.; GONZÁLEZ-MIRETC, M. L.; HEREDIAC, F. J.; MORALES, A. L. Colour and flavour changes during osmotic dehydration of fruits. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 3, p. 353-359, 2007.

PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; KLEIN, B.; ZAVAREZE, E. R.; ELIAS M. C.; GUTKOSKI, L. C.; HELBIG E.; DIAS, A. R. G. Physicochemical, crystallinity, pasting and thermal properties of heat-moisture-treated pinhão starch. **Starch/Stärke**, v. 64, p. 855-863, 2012.

PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; DEON, V. G.; MOOMAND, K.; EL HALAL, S. L. M.; ZAVAREZE, E. D. R.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G. Effects of single and dual physical modifications on pinhão starch. **Food Chemistry**, v. 187, 98-105, 2015.

RAMOS, A. P.; DEMIATE, I. M.; SCHNITZLER, E.; BEDIN, A. C.; TELIS-ROMERO, J.; LOPES-FILHO, J. F. Morphological, thermal and physicochemical characteristics of small granules starch from *Mirabilis jalapa* L. **Thermochimica Acta**, v. 602, p. 1-7, 2015.

RESERVA DA BIOSFERA DA MATA ATLÂNTICA – RBMA. **Projeto Inventário dos Recursos Florestais da Mata Atlântica**. São Paulo, 2011. Disponível em:

<http://www.rbma.org.br/anuario/mata_03_anosdedesttuicao_dest_araucaria.asp>. Acesso em: 18/01/2017.

RIBEIRO, L. S.; CORDOBA L. P.; COLMAN, T. A. D.; OLIVEIRA, C. S.; ANDRADE, M. M. P.; SCHNITZLER, E. Influence of some sugars on the thermal, rheological and morphological properties of “*pinhão*” starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2014a. First on line, DOI 10.1007/s10973-014-3778-3.

RIBEIRO, L. S.; CORDOBA, L. P.; LACERDA, L. G.; LAZZAROTTO, M.; SCHNITZLER, E. Caracterização de amido de pinhão modificado com soluções de ácido clorídrico 0,1 e 0,2M em presença de etanol e metanol. In: **Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria – Abratec**, 9, nov. 2014. Serra Negra, SP. Anais (on line). São Paulo: Abratec, 2014b. Disponível: <http://abratec.com.br/anais2014>. Acesso em: 16/06/2015.

ROBYT, J. F.; CHOE, J. Y.; HAHN, R. S.; FUCHS, E. B. Acid-modification of starch granules in alcohols: effects of temperature, acid concentration, and starch concentration. **Carbohydrate Polymers**, v. 281, p. 203-218, 1996.

ROMERO-BASTIDA, C. A.; BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; SOLORZA-FERIA, J.; ZARITZKY, N. E. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 235-244, 2005.

RUSSEL, J. B. **Química Geral**. v. 1, 2 ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, p. 409-416, 1994.

RUSSELL, P. L. Gelatinization of starches of different amylose/amylopectin content. A study by differential scanning calorimetry. **Journal of Cereal Science**, v. 6, p. 133-145, 1987.

RYU, G. H.; NEUMANN, P. E.; WALKER, C. E. Pasting of wheat flour extrudates containing conventional banking ingredients. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 3, p. 567-573, 1993.

SAIBENE, D.; SEETHARAMAN, K. Use of Iodine as a Tool to Understand Wheat Starch Pasting Properties. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 1-7, 2008.

SANDHU, K. S.; SINGH, N.; LIM, S. T. A comparison of native and thinned acid normal and waxy corn starches: physicochemical, thermal morphological and pasting properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 1527-1236, 2007.

SANQUETTA, C. R. **Pinheiro do Paraná: lendas e realidades**. Curitiba: Optagraf editora e gráfica, 2007, 120p.

SCHNITZLER, E.; KOBELNIK, M.; SOTELO, G. F. C.; BANNACH, G.; IONASHIRO, M. Thermoanalytical study of purine derivatives compounds. **Eclética Química**, v. 29, p. 71- 78, 2004.

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO – SEAB. Departamento de Economia Rural. **Boletim do Pinhão**. Paraná, 2016. Disponível em: <http://www.florestasparana.pr.gov.br/arquivos/File/AREA_TECNICA/Publicacoes/BoIPinh_2016_.pdf>. Acesso em: 01/10/2016.

SEVENOU, O.; HILL, S. E.; FARHAT, I. A.; MITCHELL, J. R. Organization of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n.1-3, p.79-85, 2002.

SCHÄFFER, W. B.; PROCHNOW, M. **A Mata Atlântica e você: como preservar, recuperar e se beneficiar da mais ameaçada floresta brasileira**. Apremavi, Brasília, 156 p. 2002.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79 – 88, 2007.

SHIN, S. I.; LEE, C. J.; KIM, M. J.; CHOI, S. J.; CHOI, H. J.; KIM, Y.; MOON, T. W.. Structural characteristics of low-glycemic response rice starch produced by citric acid treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, p. 588-595, 2009.

SHUJUN, W.; JINGLIN, Y.; JIUGAO, Y.; HAIXIA, C.; JIPING, P. The effect of acid hydrolysis on morphological and crystalline properties of Rhizoma Dioscorea starch. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1217-1222, 2007.

SILVA, G. O.; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; FRANCO, C. M. L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; DEMIATE, I. M. Características físico químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializado no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26 (1), 188-197, 2006.

SILVA, R. G.; CORDOBA, L. P.; RIBEIRO, L. S.; BET, C. D.; SCHNITZLER, E. Thermal, rheological and structural analysis of modified green banana starch with hydrochloric acid. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, v. 4, n. 3, p. 26-31, 2015.

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

SINGH, S.; RAINA, C. S.; BAWA, A. S.; SAXENA D. C. Effect of Heat-Moisture Treatment and Acid Modification on Rheological, Textural, and Differential Scanning Calorimetry Characteristics of Sweetpotato Starch. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 6, p. 373-378, 2005.

SINGH, N.; KAUR, L.; SANDHU, K. S.; KAUR, J.; NISHINARI, K. Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, p. 532-542, 2006.

SINGH, G. D.; BAWA. A. S.; RIAR, C. S.; SAXENA, D. C. 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.

SIQUEIRA, G. L. A.; HORNING, P. S.; LAZZAROTTO, S. R. S.; SCHNITZLER, E.; LAZZAROTTO, M. **Efeito do processo de hidrólise ácida em amido na gelatinização visando à aplicação na indústria papeleira**. Colombo: Embrapa Florestas, 2016. 5 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 388).

SMITH, R. J. Characterization and analysis of starches. In: WHISTLER, R.L., PASCHALL, E. F. **Starch: Chemistry and Technology**. New York, Academic Press, v. 2, p. 569-635, 1967.

SMITH, P. S. Starch derivatives and their use in foods. In: Lineback DR, Inglett GE, editors. **Food carbohydrates**, p. 237-269, 1982.

SODHI, N. S.; CHANG, Y. H.; KAUR, N.; KOHYAMA, K. Effect of acid-methanol treatment on the molecular structure and physicochemical properties of lentil (*Lens culinaris* Medik) starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 2219-2225, 2009.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica**. v. 2. 8 ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora, 2006. 474 p.

SOUZA, R. C. R; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

SPADA, J. C.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of b-carotene using native pinhão starch, modified pinhão starch and gelatin by freeze-drying. **Internacional Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 186-194, 2012.

SPADA, J. C.; NOREÑA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Water adsorption isotherms of microcapsules with hydrolyzed pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch as wall material. **Journal of Food Engineering**, v.114, p. 64-69, 2013.

STADING, M.; RINDLAV-WESTLING, A.; GATENHOLM P. Humidity-induced structural transitions in amylase and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 209-217, 2001.

STAHL, J. A.; LOBATO, L. P.; BOCHI, V. C.; KUBOTA, E. H.; GUTKOSKI, L. C.; EMANUELLI, T. Physicochemical properties of Pinhão (*Araucaria angustifolia*, Bert, O. Ktze) starch phosphates. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, p. 1206-1214, jul. 2007.

SUN, Q.; DAI, L.; NAN, C.; XIONG, L. Effect of heat moisture treatment on physicochemical and morphological properties of wheat starch and xylitol mixture. **Food Chemistry**, v. 143, n. 1, p. 54-59, 2014.

SUN, Q.; ZHU, X.; SI, F.; XIONG, L. Effect of acid hydrolysis combined with heat moisture treatment on structure and physicochemical properties of corn starch. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 1, p. 375-382, 2015

TAKIZAWA, F. F.; SILVA, G. O.; KONKEL, F. E.; DEMIATE, I. M. Characterization of tropical starches modified with potassium permanganate and lactic acid. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 6, p. 921-931, 2004.

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

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R.; GIDLEY, M. J.; KIRKLAND, M.; KARKALAS, J. Properties of Damaged Starch Granules. III. Microscopy and Particle Size Analysis of Undamaged Granules and Remnants. **Journal of Cereal Science**. 1994.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J. The effects of environmental conditions on the structural features and physico-chemical properties of starches. **Starch/Stärke**, v. 53, p. 513-519, 2001.

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

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Practical Guide for Food Industry In: Starches**. Minnesota: Eagan Press, 1999. 30 p.

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

THYS, R. C. S.; NOREÑA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; AIRES, A. G.; CLADERA-OLIVERA, F. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. **Journal of Food Engineering**, v.100, p. 468-473, 2010.

THYS, R. C. S.; AIRES, A. G.; MARCZAK, L. D. F.; NOREÑA, C. P. Z. The effect of acid hydrolysis on the technological functional properties of pinhão (*Araucaria brasiliensis*) starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, supl 1, p. 89-94, 2013.

THIRATHUMTHAVORN, D.; CHAROENREIN, S. Thermal and Pasting Properties of Acid-treated Rice Starches. **Starch/Stärke**, v. 57, p. 217-222, 2005.

TÜSKE, Z.; LÁSZLÓ, K.; PINTYE-HÓDI, K. Connection Between Surface Properties, Specific Surface Area and Component Distribution of Binary Mixtures of Corn Starch and Metronidazole. **Starch/Stärke**, v. 59, p. 510–512, 2007.

VERMEYLEN, R.; GODERIS, B.; DELCOUR, J. A. An X-ray study of hydrothermally treated potato starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 2, p. 364-375, 2006.

VIBRANS, A. C.; SEVEGNANI, L.; GASPER, A. L.; LINGNER, D. V. **Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina**. Floresta Ombrófila Mista. v. 3. Blumenau: Edifurb, 2013. 440p.

XIA, L.; WENYUAN, G.; JUAN, W.; QIANGIAN, J.; LUQI, H. Comparison of the morphological, crystalline, and thermal properties of different crystalline types of starches after acid hydrolysis. **Starch/Stärke**, v. 62, p. 686-696, 2010.

XIA, L.; WENYUAN, G.; QIANGIAN, J.; YANLI, W.; XINHUA, G.; LUQ, H. Physicochemical, crystalline, and thermal properties of native, oxidized, acid, and enzyme hydrolyzed Chinese yam (*Dioscorea oppositifolia* Thunb) starch. **Starch/Stärke**, v. 63, p. 616-624, 2011.

WAGHORN, J.; DEL POZO, T.; ACEVEDO, E.; CARDEMIL, L. The role of two isoenzymes of α -amylase of *Araucaria araucana* (Araucariaceae) on the digestion of starch granules during germination. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 384, p. 901-911, 2003.

WAGNER, L. A.; WARTHESEN, J. J. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes. **Journal of food science**, v. 60, p. 1048-1053, 1995.

WANG, L.; WANG, Y. J. Structures and Physicochemical Properties of Acid-Thinned Corn, Potato and Rice Starches. **Starch/Stärke**, v. 53, p. 570-576, 2001.

WANG, Y. J.; TRUONG, V. D.; WANG, L. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, p. 327-333, 2003.

WANG, Y.; WANG, L. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 52, p. 207- 215, 2003.

WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 568-585, 2015.

WENDLANDT, W. W. M. **Thermal methods of analysis**. A wiley-interscience publication, Ed.: 3, p.815, 1974.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. Starch. In: **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**, Saint Paul: AACC, Eagan Press, p. 117-151, 1997.

WOSIACKI, G; CEREDA, M. P. Characterization of Pinhão Starch. Part I. Extraction and Properties of the Starch Granules. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 37, p. 224-227, 1985.

WU, Y.; LIN, Q. L.; CHEN, Z.; WUB, W.; XIAO, H. Fractal analysis of the retrogradation of rice starch by digital image processing. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 182-187, 2012.

ZAMBRANO, F.; CAMARGO, C. R. O. Otimização das condições de hidrólise ácida de amido de mandioca para obtenção de substituto de gordura. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 4, p. 147-154, 2001.

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

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

ZHANG, P.; WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; HAMAKER, B. R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility – a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 443-458, 2005.

ZHANG, L.; XIE, W.; ZHAO, X.; LIU, Y.; GAO, W. Study on the morphology, crystalline structure and thermal properties of yellow ginger starch acetates with different degrees of substitution. **Thermochimica Acta**, v. 495, p. 57-62, 2009.

ZHOU, M.; ROBARDS, K.; GLENNIE-HOLMES, M.; HELLIWELL, S. Structure and pasting properties of oat starch. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 273-281, 1998.

ZHOU, X.; BAIK, B. K.; WANG, R.; LIM, S. T. Retrogradation of waxy and normal corn starch gels by temperature cycling. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 1, p. 57-65, 2010.

ZOBEL, H. F. Gelatinization of starch and mechanical properties of starch pastes. Starch: **Chemistry and Technology**, v. 2, p. 285-309, 1984.

ZOBEL, H. F.; STEPHEN, A. M. Starch: Structure, analysis and application. In: Stephen, A. M. (Ed) **Food Polysaccharides and their applications**, New York: Marcel Dekker, p. 19-66, 1995.

ZORTÉA, M. E. B.; DEMIATE, I. M.; PRAXEDES, M. A.; WOSIACKI, G. Avaliação da viscosidade aparente de pastas de amidos nos viscosímetros brookfield RVDV-II+PRO e rápido visco-analisador RVA-4. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n.1, p. 326-335, 2011.

ZÓRTEA-GUIDOLIN, M. E. B.; DEMIATE, I. M.; GODOY, R. C. B.; SCHEER, A. P.; GREWELL, D.; JANE, J. L. Structural and functional characterization of starches from Brazilian pine seeds (*Araucaria angustifolia*). **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 19-26, 2017.