

**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**

**BÁRBARA RUIVO VÁLIO BARRETTI**

**AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*, PROPRIEDADES ESTRUTURAIS,  
TÉRMICAS E DE PASTA DOS AMIDOS DE MILHO MODIFICADOS POR *HEAT-  
MOISTURE TREATMENT* (HMT) COM ADIÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS**

**PONTA GROSSA  
2020**

**BÁRBARA RUIVO VÁLIO BARRETTI**

**AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*, PROPRIEDADES ESTRUTURAIS,  
TÉRMICAS E DE PASTA DOS AMIDOS DE MILHO MODIFICADOS POR *HEAT-  
MOISTURE TREATMENT* (HMT) COM ADIÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Bittencourt Sydney

**PONTA GROSSA**

**2020**

B274                      Barretti, Bárbara Ruivo Válio  
Avaliação da digestibilidade *in vitro*, propriedades estruturais, térmicas e de pasta dos amidos de milho modificados por *Heat-moisture treatment* (HMT) com adição de ácidos orgânicos / Bárbara Ruivo Válio Barretti. Ponta Grossa, 2020. 74 f.

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda.

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Bittencourt Sydney.

1. Milho regular. 2. Milho ceroso. 3. Amido resistente. 4. Método Englyst. I. Lacerda, Luiz Gustavo. II. Sydney, Eduardo Bittencourt. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. IV.T.

CDD: 664.2

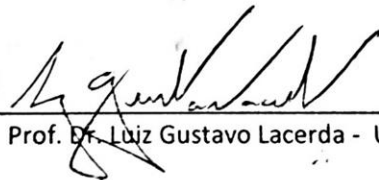
## TERMO DE APROVAÇÃO

**BÁRBARA RUIVO VÁLIO BARRETTI**

**AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE IN VITRO, PROPRIEDADES ESTRUTURAIIS, TÉRMICAS E DE PASTA DOS AMIDOS DE MILHO MODIFICADOS POR HEAT-MOISTURE TREATMENT (HTM) COM ADIÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS.**

Dissertação aprovada como requisito 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. Luiz Gustavo Lacerda - UEPG - PR



Prof. Dr. Marco Aurélio da Silva Carvalho Filho - UP e PUC-PR



Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate - UEPG - PR

Ponta Grossa, 20 de fevereiro de 2020.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me permitir vivenciar essa caminhada com saúde e sabedoria.

Ao orientador Prof. Luiz Gustavo Lacerda por todo apoio e compreensão nessa jornada, me ensinou conhecimentos técnicos e mais que isso contribuiu para minha evolução pessoal. Ao prof. Eduardo Bittencourt Sydney, como coorientador, sempre esteve presente e ajudou nas decisões mais difíceis.

A minha família, em especial minha mãe e Marcelo, meus maiores incentivadores.

Ao grupo de pesquisa da UEPG, em especial minha amiga, parceira de caminhada Vanessa, peça fundamental para o desenvolvimento do projeto, sem ela isso não seria possível.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), a Universidade Estadual de Ponta Grossa, em especial aos professores do departamento de alimentos e química, ao complexo de laboratórios multiusuários (C-LABMU) e a Universidade Positivo – Curitiba/PR por todo suporte dado para o êxito dessa pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para conclusão dessa pesquisa e obtenção desse título.

## RESUMO

O amido resistente (RS) tem ganhado interessantes aplicações alimentícias em razão dos seus benefícios à saúde, quando consumidos adequadamente; sendo o controle de doenças como diabetes e obesidade um das funções mais importantes. Modificações físicas e químicas nos amidos tem sido aplicadas com o intuito de melhorar o conteúdo de RS e aumentar o leque de aplicações nos alimentos. A modificação *Heat moisture treatment* (HMT) combinada com a adição de ácidos orgânicos (acético, cítrico e láctico) foi o alvo desse estudo, que teve por objetivo avaliar a digestibilidade *in vitro* e propriedades térmicas e estruturais dos amidos de milho com diferentes teores de amilose após esse tratamento, possibilitando uma comparação com o amido nativo. Em ambas fontes botânicas, o conteúdo de RS aumentou significativamente, de 62,60% para 76,70% para o tipo regular e de 49,21% para 61,15% para o tipo ceroso. As modificações ácidas provocaram redução da viscosidade, entalpia de gelatinização e cristalinidade relativa (RC%), mas não causaram mudança no padrão de difração de raios X. Dentre os ácidos utilizados, o ácido cítrico apresentou-se mais promissor nas alterações e no aumento de RS, seguido pelo ácido láctico e acético. Esses resultados abrem excelentes oportunidades para aplicação desses amidos modificados em alimentos funcionais ou na forma de amido encapsulado.

**Palavras-chave:** Milho regular. Milho ceroso. Amido resistente. Amilose. Método Englyst.

## ABSTRACT

Resistant starch (RS) has gained interesting food applications because of its health benefits when properly consumed; the control of diseases such as diabetes and obesity is one of the most important functions. Physical and chemical modifications in starches have been applied in order to improve RS content and increase the range of food applications. The Heat moisture treatment (HMT) modification combined with the addition of organic acids (acetic, citric and lactic) was the aim of this study, which aimed to evaluate the *in vitro* digestibility and thermal and structural properties of maize starches with different levels of amylose after this treatment, allowing a comparison with native starch. In both botanical sources, the RS content increased significantly from 62.60% to 76.70% for the regular type and from 49.21% to 61.15% for the waxy type. Acid modifications caused a reduction in viscosity, gelatinization enthalpy and relative crystallinity (RC %), but did not cause changes in the X-ray diffraction pattern. Among the acids used, citric acid was more promising in the alterations and in the increase of RS, followed by lactic and acetic acid. These results open excellent opportunities for application of these modified starches in functional foods or in the form of encapsulated starch.

**Keywords:** Regular maize. Waxy maize. Resistant starch. Amylose. Englyst method.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Componentes do grão de milho .....	14
Figura 2 - Tipos de milho e proporções do endosperma farináceo e vítreo. ....	15
Figura 3 - Fluxograma do grão de milho .....	16
Figura 4 - Representação esquemática da amilose (a) e da amilopectina (b) .....	17
Figura 5 – Ilustração esquemática das sub-cadeias dentro da amilopectina .....	18
Figura 6 – Diagrama da digestão do amido no trato gastrointestinal .....	21
Figura 7 - Representação esquemática da organização do grânulo de amido .....	29
Figura 8 - Padrões de difração de raios X de amidos não tratados e HMT .....	31
Figura 9 - Perfil típico de RVA para um amido de arroz .....	34
Figura 10 - Curva DSC de um sistema amido de trigo-água (1:2).....	37
Figura 11 - Ilustração didática da análise de digestibilidade in vitro .....	42
Figura 12 – Curvas TG/DTG para os amidos de milho regular .....	44
Figura 13 - Curvas TG/DTG para os amidos de milho ceroso.....	45
Figura 14 - Curvas DSC para os amidos de milho regular. ....	49
Figura 15 - Curvas DSC para os amidos de milho ceroso.. ....	49
Figura 16 – Perfil RVA dos amidos de milho.....	53
Figura 17 - Perfil RVA dos amidos de milho ceroso. ....	53
Figura 18 - Difrátogramas dos amidos de milho regular.....	57
Figura 19 - Difrátogramas dos amidos de milho ceroso .....	58
Figura 20 - Microimagens dos amidos de milho regular .....	61
Figura 21 - Microimagens dos amidos de milho ceroso. ....	62



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições de HMT e suas referências .....	25
Tabela 2 - Resultados das curvas TG/DTG para os amidos de milho regular .....	46
Tabela 3 – Resultados das curvas TG/DTG para os amido de milho ceroso .....	47
Tabela 4 - Resultados das curvas DSC para os amidos de milho regular .....	50
Tabela 5 - Resultados das curvas DSC para os amidos de milho ceroso.....	51
Tabela 6 - Dados obtidos da análise de RVA dos amidos de milho regular.....	55
Tabela 7 - Dados obtidos da análise de RVA dos amidos de milho ceroso .....	55
Tabela 8 - Cristalinidade relativa dos amidos de milho regular .....	59
Tabela 9 - Cristalinidade relativa dos amidos de milho ceroso .....	59
Tabela 10 - Conteúdo de RDS, SDS, RS dos amidos de milho regular .....	63
Tabela 11 - Conteúdo de RDS, SDS, RS dos amidos de milho ceroso .....	64

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Cálculo da Cristalinidade relativa .....	41
Equação 2 – Cálculo das frações de amido RDS, SDS, RS .....	42

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>13</b>
3.1 O MILHO .....	13
3.2 AMIDO.....	16
3.2.2 Amido de milho.....	19
3.2.1 Digestibilidade do amido .....	20
3.2.2 Amidos modificados .....	23
3.2.2.1 <i>Heat-moisture treatment</i> (HMT).....	24
3.4 CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO .....	<b>28</b>
3.4.1 Análises estruturais .....	28
3.4.1.1 Difratomia de raios x pelo método de pó (DRX).....	28
3.4.1.2 Microscopia eletrônica de varredura .....	32
3.4.2 Análise viscoamilográfica .....	32
3.4.3 Técnicas termoanalíticas.....	35
3.4.3.1 Termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG).....	36
3.4.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	36
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>38</b>
4.1 MATERIAL .....	38
4.2 MÉTODOS .....	38
4.2.1 Tratamento por <i>heat-moisture treatment</i> (HMT).....	38
4.2.2 Conteúdo de amilose aparente .....	39
4.2.3 Termogravimetria (TG).....	39
4.2.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	40
4.2.5 Propriedades de pasta (RVA).....	40
4.2.6 Difratomia de raios X (DRX) pelo método do pó .....	40
4.2.7 Microscopia eletrônica de varredura emissão de campo (MEV-FEG).....	41
4.2.8 Determinação das frações de amido digeríveis (RDS, SDS, RS) .....	41
4.2.9 Análise estatística .....	42
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>43</b>
5.1 AMILOSE APARENTE .....	43
5.2 TERMOGRAVIMETRIA (TG) .....	43
5.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL - DSC .....	48
5.4 PROPRIEDADES DE PASTA (RVA) .....	52
5.5 DIFRATOMIA DE RAIOS X (DRX) PELO MÉTODO DO PÓ .....	56
5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV-FEG) .....	60
5.7 DIGESTIBILIDADE.....	63
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>67</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a alimentação saudável tem sido uma tendência crescente na vida do brasileiro. A luta constante contra doenças como diabetes mellitus, problemas cardiovasculares e obesidade tem mudado o estilo de vida da população brasileira. Os consumidores estão em busca de alimentos que além das necessidades calóricas essenciais, tragam benefícios à saúde e colaborem para o bom funcionamento do organismo. Nesse cenário, destacam-se os alimentos funcionais que podem melhorar as condições gerais do corpo como os prebióticos e probióticos, diminuir o risco de algumas doenças ou até mesmo ser usados para curá-las.

Os prebióticos, por exemplo, são ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no intestino (cólon), beneficiando a saúde do hospedeiro. Dos prebióticos conhecidos atualmente, o amido resistente é um excelente candidato na execução dessas funções citadas (ZAMAN; SARBINI, 2016)

De acordo com Englyst et al. (1992) o amido pode ser dividido em três categorias: amido rapidamente digerível (RDS), lentamente amido digerível (SDS) e amido resistente (RS). O RDS causa um aumento acentuado na liberação de glicose após sua ingestão, o SDS pode causar uma liberação mais lenta de glicose no corpo humano e o RS é a porção que resiste à digestão e absorção no intestino de indivíduos saudáveis e está disponível para fermentação no intestino (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

Contudo, o amido em sua forma nativa possui propriedades tecnológicas limitadas, não sendo interessantes em aplicações alimentares, como baixa resistência ao cisalhamento e baixa resistência térmica. As modificações no amido abrem novas possibilidades de aplicação, melhorando qualidades de interesse no processamento, como: propriedades de gelatinização e retrogradação (RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2015)

Além disso, modificações físicas e químicas podem provocar alterações na digestibilidade do amido, trazendo benefícios nutricionais, como é o caso da sua função prebiótica. Pesquisas demonstram uma excelente capacidade do amido resistente em atuar como fibra, em termos de fornecimento de saciedade ao consumidor (RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2015)

Recentemente, vários estudos têm sido realizados para ter melhoria no aumento do SDS e RS em amido granular nativo. O tratamento calor-umidade (HMT), realizado em temperatura acima da temperatura de gelatinização com quantidade insuficiente de umidade para gelatinizar o biopolímero tem sido investigados e os dados demonstram que as modificações são eficazes para melhorar os níveis de SDS e RS em comparação com amidos não modificados (SHAIKH et al., 2019).

Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar a formação de SDS e RS do amido de milho regular e ceroso por tratamento HMT com água e com ácidos orgânicos de uso alimentício (acético, láctico e cítrico) submetidos a digestibilidade *in vitro*, além das propriedades térmicas, estruturais e de pasta.

A escolha do milho baseia-se no cenário atual do mundo. Esse grão é principal fonte botânica usada para a extração de amido, que fornece mais de 80% do mercado global. Além disso, o milho é uma das principais culturas alimentares do mundo. Os dados fornecidos pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) revelam que a produção global deste cereal em 2018-19 foi cerca de 1.119 milhões de t (PARAGINSKI et al., 2014;USDA, 2019).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a digestibilidade *in vitro*, propriedades estruturais, térmicas e de pasta dos amidos nativos de milho regular e ceroso e modificados por *Heat-moisture treatment* (HMT) com adição de ácidos orgânicos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Modificar por HMT com água e três ácidos orgânicos (ácido acético, ácido láctico e ácido cítrico) o amido de milho regular e ceroso;
- Avaliar por microscopia eletrônica de emissão de campo (MEV-FEG) a morfologia dos amidos nativos e modificados;
- Obter dados relacionados às propriedades térmicas dos amidos nativo e modificado por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG);
- Avaliar dados de propriedades de pasta dos amidos nativos e modificados por viscoamilografia (RVA);
- Avaliar o efeito das modificações na cristalinidade relativa e padrão de origem botânica das amostras nativa e modificadas por análise de Difração de raios X (DRX);
- Investigar a digestibilidade *in vitro* dos amidos nativos e dos modificados.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 O MILHO

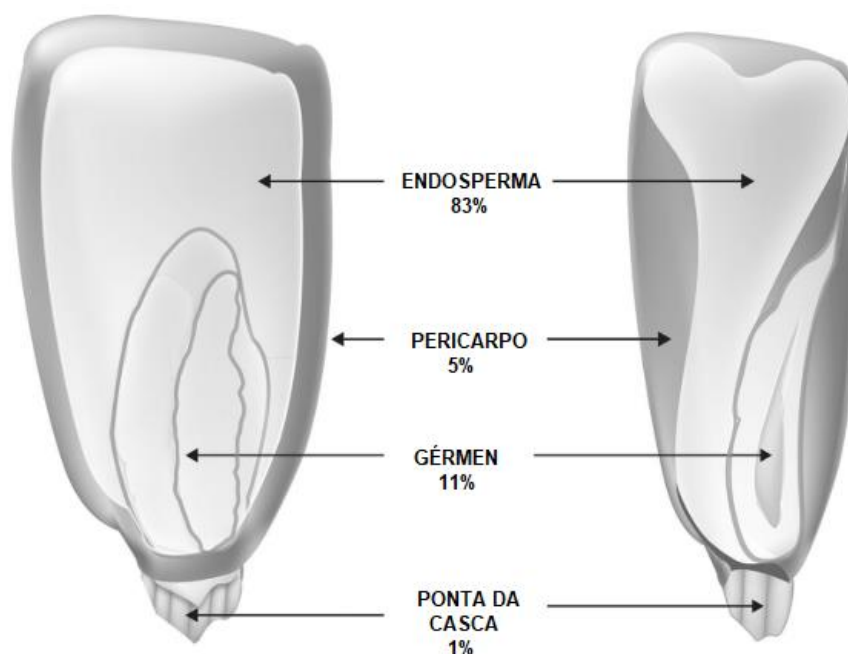
O milho é a principal cultura de grãos no mundo, no Brasil a produção anual em 2017 atingiu cerca de 100 milhões de t. Em todo o mundo o destino desse grão é principalmente para produção de ração animal e etanol. Aproximadamente um terço da produção total é colhida nos Estados Unidos, outros grandes produtores são China, Brasil, Argentina, México e Índia, com produções de 23 até 217 milhões de t. Em termos de produtividade, esse grão cresce adequadamente em agroecologias quentes e úmidas e responde à fertilização e água de irrigação produzindo grandes quantidades de grãos (ROONEY; SERNA-SALDIVAR, 2016).

Nos EUA esse cereal é usado para produção de xarope rico em frutose (HFCS), adoçantes, cereais matinais, salgadinhos, tortilhas, bebidas e extração do amido (PONTONIO et al., 2019; FAO, 2019)

O milho ainda está entre os três principais cereais contribuintes para fonte de calorias e proteínas, ao lado dele estão arroz e trigo; e é comumente consumido nos países em desenvolvimento. Na África e na América, por exemplo, consome-se esse grão, na maior parte, como mingau e produtos nixtamalizados (processo de cozimento e maceração do milho maduro) e fornece as calorias necessárias, além do seu baixo custo. Recentemente, o milho tem sido uma excelente alternativa a ser explorada no mercado de produtos sem glúten recomendados para evitar doenças comumente experimentadas por celíacos (ROONEY; SERNA-SALDIVAR, 2016; SERNA-SALDIVAR; PEREZ CARRILLO, 2018).

A estrutura física geral do milho é composta por quatro estruturas primárias: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e a ponta, conforme a Figura 1.

Figura 1 - Componentes do grão de milho



Fonte: Traduzido de Gwirtz & Garcia-Casal (2014)

O endosperma é constituído, em sua maioria, de amido rodeado por uma matriz proteica e pode ser classificado em farináceo e vítreo, dependendo da conformação entre amido e proteínas. No gérmen encontram-se os lipídeos e vitaminas do complexo B e antioxidantes também são encontradas. O pericarpo é a camada externa do grão, atuando como uma barreira semipermeável com alto teor de fibras (GWIRTZ; GARCIA-CASAL, 2014).

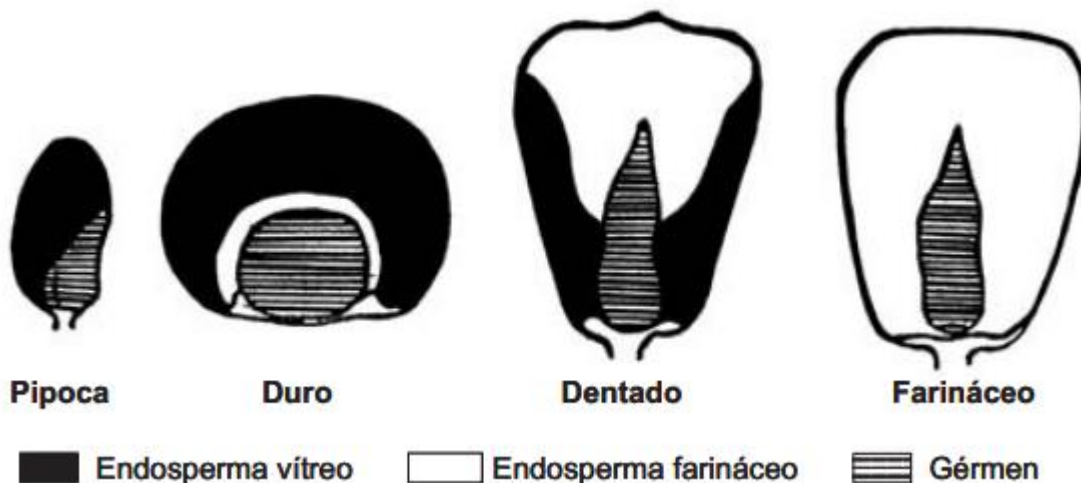
Baseadas nas características do grão, existem cinco classes ou tipos de milho: dentado, duro, farináceo, pipoca e doce. A maioria do milho comercial produzido nacionalmente é do tipo duro ou "*flint*". A principal diferença entre os tipos de milho é a forma e o tamanho dos grãos, milhos duros diferem dos milhos farináceos e dentados na proporção de endosperma vítreo e farináceo (GWIRTZ; GARCIA-CASAL, 2014).

Nos milhos dentados, o endosperma farináceo concentra-se na região central do grão. O tipo duro possui uma proporção maior e contínua de endosperma vítreo, conferindo grãos lisos, mais arredondados e de aparência dura e vítrea. Os grãos do tipo farináceo se assemelham aos dentados, porém o endosperma é completamente farináceo, resultando em uma aparência opaca. Os grãos de milho-pipoca possuem endosperma predominantemente vítreo, são de tamanho menor e formato mais



arredondado, possuem uma incrível capacidade explodir e produzir grandes flocos inchados submetidos a altas temperaturas (Figura 2). Os grãos de milho doce, por sua vez, quando secos, possuem aparência enrugada, isto porque os genes “sugary” ou “brittle” previnem a conversão dos açúcares em amido e o grão passa a acumular fitoglicogênio, um polissacarídeo solúvel (PAES, 2006).

Figura 2 - Tipos de milho e as proporções do endosperma farináceo e vítreo.



Fonte: Paes (2006)

Atualmente há uma lista de espécies de milho com diversas cores e formatos de grãos. O milho branco e amarelo, comumente conhecidos, possuem melhor adaptabilidade e com melhores rendimentos de processamento. Os milhos com mais pigmentos são mais encontrados nas terras altas do México e Peru e algumas civilizações relacionam o milho pigmentado com cultos religiosos. O milho azul, um dos exemplos de milho pigmentado, possui endosperma macio e sua coloração deve-se da presença de antocianinas, frequentemente encontrada na camada aleurona do grão e conferem propriedades nutracêuticas interessantes, agregando valor ao seu consumo (SERNA-SALDIVAR; PEREZ CARRILLO, 2018).

O esquema representado na Figura 3 ilustra didaticamente os caminhos possíveis do grão de milho, após sua colheita, até a mesa do consumidor.

Figura 3 - Fluxograma do grão de milho



Fonte: Traduzido de GWIRTZ & GARCIA-CASAL (2014)

Além do consumo na forma de grão, farinha de milho ou compostos de farinha também podem ser fonte na alimentação, dependendo da tradição e cultura da região. O processamento do milho pode ser por via úmida ou seca; na moagem úmida é possível obter separadamente amido, proteína, óleo e fibras. Na moagem úmida, técnica mais empregada no Brasil, o processo sem água gera os diversos produtos com base no seu tamanho como canjica e fubá. O amido obtido do processamento do milho pode ser novamente processado e aplicado em gama de produtos intermediários, quando refinado pode ser aplicado em adoçantes e vendidos em formas líquidas e secas (GWIRTZ; GARCIA-CASAL, 2014).

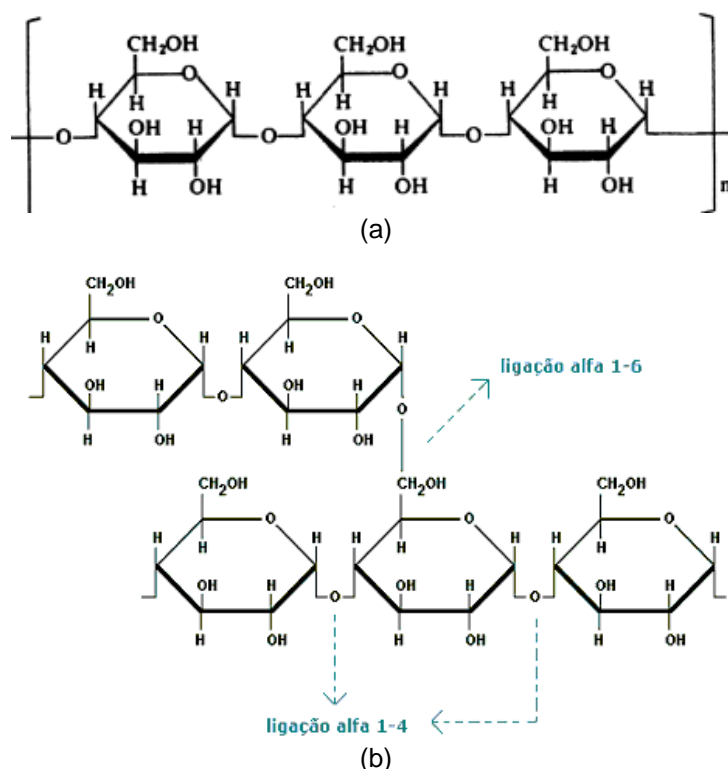
### 3.2 AMIDO

O amido é um biopolímero natural encontrado em vegetais, raízes, tubérculos, cereais, leguminosas e frutos. Trata-se de um polissacarídeo composto de monômeros ligados por ligações alfa-glicosídicas; em sua forma nativa apresenta conformação semicristalina combinadas essencialmente por amilose e amilopectina que conferem essa característica de arranjo complexo. Os grânulos de amido são birrefringentes, isto é, possuem diferentes índices de refração para diferentes direções de propagação da luz polarizada. No entanto, esta birrefringência não implica

necessariamente uma forma cristalina, mas sim um alto grau de organização molecular dos grânulos. Portanto, são considerados semicristalinos. Essas áreas cristalinas controlam seu comportamento na presença de água e o tornam mais ou menos resistente a ataques químicos e enzimáticos. O tamanho dos grânulos de amido geralmente varia entre 1 e 100  $\mu\text{m}$ . (ŠÁRKA; DVOŘÁČEK, 2017).

Na maioria dos amidos, a amilopectina é o maior componente da estrutura, altamente ramificada e a amilopectina contém cadeias curtas de unidades D-glicose ligadas  $\alpha$  - 1,4 que estão interligadas através de ligações  $\alpha$  - 1,6 e  $\alpha$  - 1,4. A amilose possuem cadeias mais longas e lineares com apenas unidades glicose-D com ligações  $\alpha$  - 1,4, conforme esquema demonstrado na Figura 4 (PRATIWI; FARIDAH; LIOE, 2018).

Figura 4 - Representação esquemática da amilose (a) e da amilopectina (b)



Fonte: Traduzido e adaptado de Bertoft (2017)

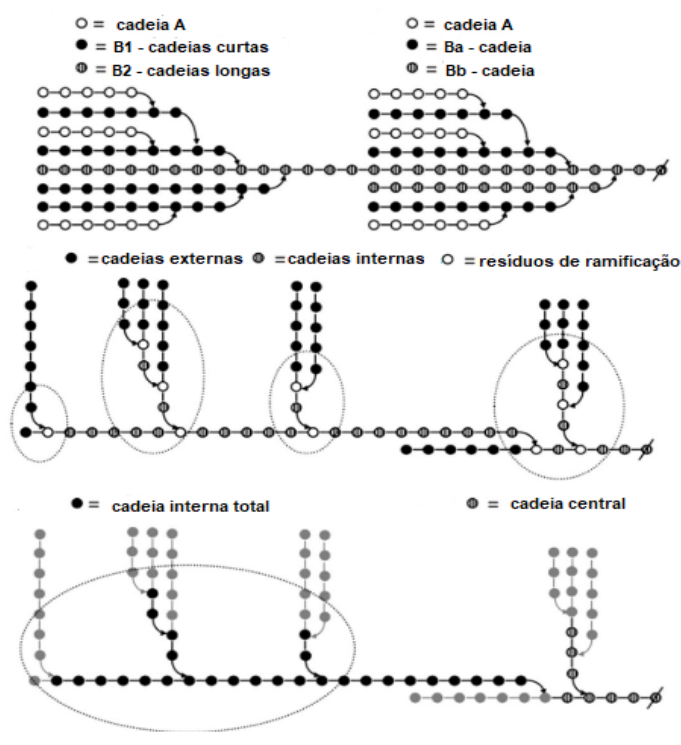
A distribuição da cadeia ramificada da amilopectina, Figura 4, tem impacto na organização cristalina do grânulo de amido; o empacotamento das duplas hélices são as responsáveis por formar as regiões cristalinas do amido, portanto, nota-se que a estrutura da amilopectina é consideravelmente mais enredada que da amilose. Assim, a complexidade na distribuição das cadeias unitárias internas é fundamental para

compreensão da estrutura e arquitetura de toda a macromolécula. (VAMADEVAN; BERTOFT, 2015).

A amilopectina, devido suas ramificações, é classificado em três tipos básicos de cadeias baseadas na distribuição do comprimento da cadeia, ou seja, cadeias do tipo A, B e C. Cadeias do tipo A são cadeias desdobradas mais distantes; enquanto as cadeias B são substituídas por outras cadeias: Ba - substituídas por pelo menos uma cadeia A, Bb que são substituído apenas por uma ou mais cadeias B. A macromolécula contém também uma única cadeia C – central, que carrega o único grupo final redutor (WANG; COPELAND, 2015).

A Figura 5 abaixo demonstra como estão organizadas essas sub-cadeias dentro de uma molécula de amilopectina.

Figura 5 – Ilustração esquemática das sub-cadeias dentro da amilopectina



Fonte: Traduzido e adaptado de Bertoft (2017)

A amilose, por sua vez, atua mais fortemente no fenômeno de retrogradação. Após a solubilização, durante o processo de gelatinização suas cadeias agregam-se de forma mais rápida, formando duplas hélices cristalinas estabilizadas por ligações de hidrogênio. Tem capacidade de se complexar com ácidos graxos livres, glicerídeos componentes de ácidos graxos, iodo e alguns álcoois. Essa complexação de amilose com gorduras e emulsionantes em alimentos como mono- e diglicerídeos podem

alterar a temperatura de gelatinização, a textura e propriedades de pasta e podem ocasionar uma mudança nas propriedades funcionais do amido (ZAVAREZE; DIAS, 2011). O perfil de viscosidade do amido de batata foi alterado quando esse amido foi submetido a fritura. A viscosidade das amostras diminuíram expressivamente, indicando uma possível gelatinização parcial, enfraquecendo a propriedade de expansão e dificultando a interação água e amido (CHEN et al., 2019).

Os amidos mais aplicados comercialmente são provenientes do milho, batata, mandioca e trigo. Além disso, algumas plantas mutantes com baixo ou nenhuma conteúdo de amilose, conhecidas como “waxy” ou ceroso (por exemplo, milho ceroso e arroz ceroso), bem como amidos com alto teor de amilose (por exemplo, “Hylon”) são de valor comercial e carregam propriedades tecnológicas diferentes de sua fonte botânica regular. Amidos tipo waxy são ideais produtos extrusados onde se deseja expansão e textura crocante e confeitaria. Enquanto os de alta amilose são aplicados em alimentos funcionais (VAMADEVAN; BERTOFT, 2015).

Os amidos quando aplicados nos alimentos contribuem com viscosidade, textura, consistência e sensação na boca aos produtos acabados. Uma interessante propriedade funcional – amido resistente - tem sido explorada de grande importância para nutrição e saúde humana no desenvolvimento de ingredientes funcionais ricos em amido. No entanto, devido sua baixa resistência térmica e elevada tendência para retrogradação os amidos em sua forma nativa tem aplicações limitadas (AI; JANE, 2017).

### 3.2.2 Amido de milho

O aumento da procura de alimentos sem glúten por celíacos ou dietas restritivas intensifica o papel do amido no fornecimento de estrutura e textura aos produtos “*gluten free*”. Dentre as possibilidades, o milho pode ser uma alternativa excelente e fácil de aplicação tanto na forma de amido isolado quando como farinha e podem contribuir com textura, atributos sensoriais e valor nutricional dos produtos isentos de glúten (WITCZAK et al., 2016).

A composição do endosperma do milho pode ser alterada por uma diferença de um único gene; o amido de milho, então, pode ser regular, ceroso (waxy) com baixo teor de amilose e versus não ceroso ou também *amylose extender/high amylose*,

devido ao alto teor de amilose. Esses mutantes também podem ser observados em outras fontes botânicas, como arroz, cevada e batata (WEBER, 2009).

Essa variedade, de acordo com o teor de amilose no milho, possibilita aplicações e conferem atributos diferentes aos produtos quando incorporados. Segundo Weber e colaboradores (2009) o amido de milho regular por possuir um gel consistente, aplica-se a alimentos que a viscosidade é uma qualidade quando aquecidos, como sopas desidratadas e molhos; no entanto possui baixa estabilidade a baixas temperaturas, ocasionando o fenômeno da sinérese (liberação de água). Nesse caso, o amido de milho ceroso pode ser melhor incorporado e trazer resultados interessantes, como gel claro e viscoso. Wang et al. (2014) não observaram viscosidade no amido de milho com alto teor de amilose pela análise viscoamilográfica (WANG et al., 2014;WEBER, 2009).

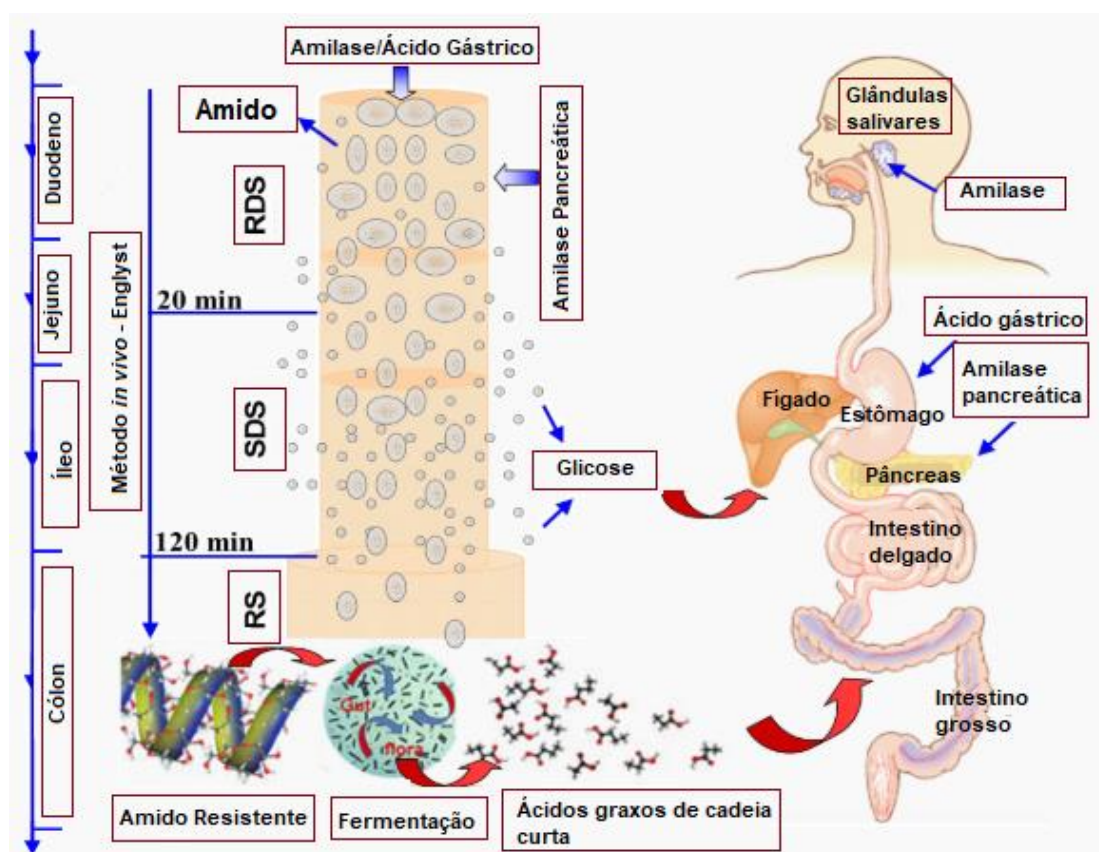
### 3.2.1 Digestibilidade do amido

A digestibilidade dos amidos por humanos é realizada, inicialmente, pela ação das enzimas presente na saliva, a  $\alpha$ -amilase que hidrolisa as ligações  $\alpha$ -1,4. Ao chegar no intestino delgado sofrem a ação de amilases pancreáticas como amiloglucosidase e isoamilase que quebram as ligações  $\alpha$ -1,6. A extensão da digestão do amido no intestino é variável, uma parte do amido presente na dieta escapa da digestão e absorção no intestino delgado e é fermentada no intestino grosso dos seres humanos. Recentemente, esse amido não digerido, de caráter funcional, tem sido alvo nas pesquisas de carboidratos (BELLO-PEREZ; HOYOS-LEYVA, 2017).

Segundo Englyst, Kingman e Cummings (1992), com base na ação das enzimas e na taxa, tempo e extensão da digestão, os amidos podem ser classificados em três tipos: amido de rápida digestão (RDS), amido de digestão lenta (SDS) e amido resistente (RS) (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992).

A Figura 6 ilustra didaticamente a digestão do amido no trato gastrointestinal humano, conforme metodologia publicada por Englyst.

Figura 6 – Diagrama da digestão do amido no trato gastrointestinal



Fonte: Traduzido de Liu et al. (2017)

O RDS, dentro de 20 minutos é convertido em moléculas de glicose pela digestão enzimática. Altos níveis de RDS são encontrados em alimentos ricos em amido cozidos na hora. Quando em altas proporções nos alimentos, libera glicose no sangue rapidamente, elevando seu índices. O RDS está significativamente correlacionado com o índice glicêmico, com base na resposta glicêmica pós-prandial *in vivo*. O SDS corresponde a proporção de amido que leva mais tempo para digestão e é completamente digerido no intestino delgado, após 120 minutos é convertido em glicose. Encontrado geralmente em amidos de cereais crus. Alimentos ricos em SDS são benéficos, retardam a ocorrência de síndrome metabólica, diabetes e doenças cardiovasculares (LIU et al., 2017; SIRÓ et al., 2008).

O grande interesse é no conteúdo de RS; uma pequena fração de amido que resiste à hidrólise, mas pode ser fermentado no intestino grosso em ácidos graxos de cadeia curta, podendo dessa forma trazer benefícios fisiológicos na saúde do cólon, aumentando a taxa de produção de células criptas ou diminuindo a atrofia epitelial do cólon (Figura 6). Há uma forte correlação entre a resistência do amido e o conteúdo

de amilose e amilopectina. A amilose é digerida lentamente, enquanto a digestão da amilopectina é rápida após a retrogradação (ZAMAN; SARBINI, 2016).

Entre todas as fibras da dieta, apenas a RS durante a fermentação produz butirato mais alto, conhecido como principal nutriente dos colonócitos, e sua falta aumentaria o risco de algumas doenças do cólon, como o câncer de cólon. Entre os ácidos graxos de cadeia curta o butirato, tem sido implicado na melhoria da saúde do cólon e na prevenção de chances de câncer colorretal. O butirato fornece energia às células epiteliais e inibe a transformação maligna dessas células in vitro (RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2015).

Dentre a classe do amido resistente, ele pode ser subdividido em cinco categorias, conforme demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Tipos de amido resistente

Tipo	Descrição	Fonte de alimentos
RS I	Fisicamente inacessível	Grãos e sementes inteiros ou parcialmente moídos, legumes
RS II	Amido granular, alta amilose ou padrão de difração tipo B ou C	Banana verde, batatas cruas, algumas leguminosas, amido de alta amilose
RS III	Amido retrogradado	Batatas cozidas e refrigeradas, pão, produtos que passaram por Tratamento térmico úmido
RS IV	Amido modificado quimicamente	Alimentos que contém amidos modificados (pães, bolos)
RS V	Amidos complexados com lipídios	Alimentos com alto teor de amilose

Fonte: Traduzido de Raigond; Ezekiel; Raigond (2015)

Há diversos fatores que influenciam a resistência do amido à digestão, tais como: a forma física dos grãos e sementes, o tamanho e o tipo dos grânulos de amido e a associação entre o amido e a resistência a outros componentes da dieta. Os amidos resistentes RS I e RS II estão presentes naturalmente e vão variar em conteúdo conforme a matriz botânica. No entanto, os processo de preparação como



o cozimento, extrusão, podem ser fatores externos que impactem na resistência do amido (BELLO-PEREZ; HOYOS-LEYVA, 2017; ZAMAN; SARBINI, 2016).

Conforme demonstrado no Quadro 1, os amidos RS III e IV podem também ser produzidos por meio de modificações. O tratamento por HMT promove retrogradação e formação de RS III. Reações químicas de esterificação e enzimáticas formam o RS IV. Os amidos tipo V, complexos amilose-lipídeo, são resistentes à hidrólise da amilase, restringem o inchaço do amido e reduzem a hidrólise enzimática dos grânulos de amido, conseqüentemente contribuem para sua resistência (PRATIWI; FARIDAH; LIOE, 2018; RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2015; ZAMAN; SARBINI, 2016).

O processamento de alimentos, de forma geral, gelatiniza o amido, que perde parte da sua estrutura helicoidal, aumentando o acesso das enzimas hidrolíticas. Resumidamente, pode-se obter uma rápida correlação: o aumento do grau de gelatinização diminui os conteúdos de amido resistente (BELLO-PEREZ; HOYOS-LEYVA, 2017).

Chung e colaboradores (2009) observaram a diminuição do conteúdo de RS e aumento do RDS após o processo de gelatinização dos amidos de ervilha e lentilha (CHUNG; LIU; HOOVER, 2009). Em amidos de cana, à medida que se aumentou o tempo de gelatinização, diminuiu consideravelmente o conteúdo de RS (JUANSANG et al., 2011).

Além das propriedades funcionais, o amido resistente pode melhorar as propriedades de textura. Diferente de outras fibras que geralmente têm sabor forte, possuem textura grossa e sensação de boca seca e ruim, o RS confere uma sensação de boca menos arenosa e mascara sabores em menor grau. Por outro lado, como as condições de processamento e armazenamento podem afetar a produção de SDS e RS (BELLO-PEREZ; HOYOS-LEYVA, 2017).

### 3.2.2 Amidos modificados

Como explicado anteriormente, os amidos na sua forma nativa tem propriedades tecnológicas limitadas. Diante disso, tem-se cada vez mais explorado as modificações nos amidos, visando a melhoria da qualidade do processamento. Elas podem ser químicas (esterificação, ligações cruzadas, hidrólise ácida); enzimáticas (hidrólise enzimática), e físicas (tratamentos térmicos, pré-gelatinização, umidade,

ultrassom, infravermelho) ou também a combinação delas (HUNG; MY; PHI, 2014; WANG; COPELAND, 2015; ZAVAREZE; DIAS, 2011; ZHU; XIE, 2018).

O amido modificado desempenha um papel importante nas aplicações alimentares como ingredientes funcionais. Os tratamentos mais usais são os químicos e físicos com o objetivo de melhorar sua funcionalidade. Os amidos tratados quimicamente são, em sua maioria, para aplicações alimentares e o físico é favorecida com a crescente demanda gerada por alimentos não tóxicos além de ser uma alternativa limpa ao meio ambiente (ZHU; XIE, 2018).

Dentre as várias técnicas de modificações em amido, os tratamentos hidrotérmicos, principalmente o *heat-moisture treatment* (HMT) e o *annealing* (ANN), podem modificar as propriedades funcionais do amido sem causar destruição da estrutura granular do amido (ZAVAREZE; DIAS, 2011).

### 3.2.2.1 *Heat-moisture Treatment* (HMT)

O HMT é uma modificação física que envolve calor e baixa umidade, geralmente < 35% de umidade – quantidade de água insuficiente para gelatinizar o amido - e aquecimento a altas temperaturas sendo elas maior que a temperatura de transição vítrea, mas abaixo da temperatura de gelatinização, por um período que pode variar de 15 min chegando até 16 h. (ZAVAREZE; DIAS, 2011; ZHU; XIE, 2018). Alterações na estrutura e nas propriedades do amido após HMT variam com a fonte botânica, amidos de tuberosas, por exemplo, demonstraram ser mais suscetíveis do que os amidos de leguminosas ou cereais (GUNARATNE; HOOVER, 2002).

Algumas condições de HMT para amidos de diferentes origens botânicas, nos últimos cinco anos, estão resumidas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições de HMT e suas referências

Fonte botânica	Temperatura (°C)	Tempo	Umidade (%)	Referência
Mandioca	100	16h	25	(Chatpapamon et al., 2019)
Milho ceroso	90, 100 e 110	1, 2 e 3h	15, 20 e 25	Dai; Zhang; Cheng (2019)
Aveia	100	16h	30	Kaur; Singh (2019)
Trigo tipo A e B	100	5h	30	Li et al. (2019)
Cevada	110	2h	15, 20, 25 e 30	Liu et al. (2019)
Milho e sorgo	130	1,5h	30	Shaikh et al. (2019)
Amaranto	120	15, 30 e 60 min	10, 15 e 20	Bet et al. (2018)
Bolota	110	24h	20	Molavi;Razavi;Farhoosh (2018)
Milho	110 / 121	16h / 1h	25	Mendes;Demiate;Monteiro (2018)
Milho ceroso	120	1, 3 e 5h	30	Park et al. (2018)
Milho regular, ceroso e alta amilose	120	4h	20	Xie et al. (2018)
Batata e mandioca	110	8h	30	Hung et al. (2017)
Canna	100	1h	40	Juansang et al. (2017)
Batata doce roxa, amarela e branca	100	6h	35	Trung et al. (2017)
Milho	120	15, 30 e 60min	30	Xing et al.(2017)
Arroz	110	8h	30	Hung et al. (2016)
Batata doce	120	12h	20, 25, 30 e 35	Xia; Li; Gao (2016)
Arroz	120	10, 30 e 60 min	13	Arns et al. (2015)
Pearl millet	110	4h	20, 25 e 30	Sharma et al. (2015)

Como já dito, a magnitude das mudanças nas propriedades dos amidos depende de fatores como composição química e estrutura do grânulo de amido e

parâmetros do HMT (tempo, temperatura, umidade). A umidade é considerada um fator importante nas propriedades físico-químicas, a água no amido atua como um agente plastificante, redutor cadeias poliméricas de amido mais flexíveis, isto é, facilita o rearranjo de cadeias de unidades de amilose / amilopectina, refletindo uma maior magnitude de alterações na viscosidade da pasta, cristalinidade e digestibilidade dos amidos HMT com alto conteúdo de umidade. Um aumento no parâmetro temperatura pode ter significativas alterações provocadas pelo HMT, desde que respeite o limite de temperatura para que não ocorra gelatinização do amido com a relação alta temperatura e alta umidade. (CHATPAPAMON et al., 2019).

Nos estudos de Liu et al. (2019) em amido de cevada, o aumento da umidade nas mesmas condições de tempo e temperatura provocou aumento da temperatura de pasta, diminuição da viscosidade de pasta, melhor estabilidade de pasta e aumento do conteúdo de amido resistente (RS) de  $2,27 \pm 0,50$  do amido nativo para  $3,78 \pm 0,10$  até  $13,62 \pm 0,30$  do amido modificado por HMT com 15 e 30% umidade, respectivamente (LIU et al., 2019).

O mesmo comportamento foi observado com aumento da umidade nos ensaios de HMT nos amidos *pearl millet*. A temperatura de pasta aumentou a medida que se aumentou a umidade, indicando a formação de mais ligações durante o HMT, sendo então necessário mais calor para a desintegração estrutural e a formação de pasta. Por outro lado, a viscosidade de pasta foi diminuída significativamente, devido ao fortalecimento das ligações cruzadas entre as cadeias de amido desenvolvidas. As propriedades térmicas, observadas pela análise de Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC também sofreram alteração, a entalpia de gelatinização diminuiu, sendo mais expressiva no tratamento com 25% umidade. Um acréscimo no conteúdo de RS também foi observado (SHARMA et al., 2015).

As temperaturas de início, pico e conclusão obtidas no DSC geralmente aumentam à medida que a intensidade do calor e da umidade aumentam, esse fator está relacionado à alterações estruturais nos grânulos de amido, que envolvem interações amilose-amilose e amilose-lipídios. Essas interações reduzem a mobilidade da região amorfa e como resultado, os amidos tratados por HMT necessitam de uma temperatura mais alta para que o evento de gelatinização aconteça. Em contrapartida, observa-se redução da variação de entalpia de gelatinização –  $\Delta H_{gel}$ , em razão de uma possível gelatinização parcial das moléculas de amilose e amilopectina. (ZAVAREZE; DIAS, 2011; ZHU; XIE, 2018).

Em condições de temperaturas abaixo de 110 ° C a modificação por HMT não afeta a morfologia granular de amidos de aveia, cevada, canna e variedades da batata doce (JUANSANG et al., 2017;KAUR; SINGH, 2019;LIU et al., 2019;TRUNG et al., 2017). Em temperaturas acima de 110°C a birrefringência desapareceu do centro de alguns grânulos de amido de milho e observou-se uma aglomeração dos grânulos de amido de pinhão (KLEIN et al., 2013;XING et al., 2017).

Além das alterações nas propriedades tecnológicas do amido, tem-se explorado os estudos no impacto do HMT no conteúdo de RS. Há evidências que o HMT pode modificar o nível de SDS e RS sem destruir a estrutura granular, atribuindo que essa modificação pode gerar uma estrutura mais altamente ordenada. A quantidade de RS e SDS produzida em amidos HMT também são influenciadas pelas condições do tratamento: umidade, temperatura, período de incubação e fonte de amido (ZHU; XIE, 2018).

HMT aumentou RDS e RS e diminuiu os níveis de SDS nos amidos de milho, lentilha e ervilha. Esse aumento de RDS e diminuição do SDS podem ter sido causados pela interrupção de hélices duplas que formam os cristalitos de amido na superfície do grânulo, bem como pela reorientação do cristalito (CHUNG; LIU; HOOVER, 2009). Por outro lado, observou-se um aumento de SDS e RS e diminuição branda no conteúdo de RDS nos amidos de batata doce roxa, branca e amarela quando tratados com HMT. Esse comportamento foi semelhante ao observado por Hung e colaboradores (2016) nos amidos de arroz com diferentes teores de amilose modificados também por HMT (TRUNG et al., 2017;VAN HUNG; CHAU; PHI, 2016).

As alterações provocadas pelo HMT nas propriedades de amido podem estar associadas a vários fenômenos, tais como: destruição e rearranjo de cadeias ramificadas de amilopectina, interação entre cadeias de amilose e amilopectina, formação de complexo entre lipídios e amilose, transformação de amilose amorfa em estrutura helicoidal e / ou interação entre cadeias de amilose em HMT (CHATPAPAMON et al., 2019).

O teor de amido no RS também pode ser aumentado usando tratamentos químicos como hidrólise ácida e esterificação por oxidação. A esterificação é uma das abordagens mais comumente usadas para modificar quimicamente o amido. Ácidos orgânicos como cítrico, láctico e acético têm sido utilizados para a esterificação de amido; tratam-se de ácidos orgânicos nutricionalmente inofensivos e que podem diminuir a digestibilidade do amido (SHAIKH et al., 2019)

Hung e colaboradores (2016) observaram a diminuição da RDS e o aumento da SDS do amido de arroz, tratados com ácido cítrico, seguido de HMT, quando comparados aos amidos nativos. Para os amidos de sorgo e milho o conteúdo de RS aumentou significativamente após HMT combinado com ácido láctico e cítrico (HUNG; VIEN; LAN PHI, 2016; SHAIKH et al., 2019). A combinação de técnicas de modificação pode trazer resultados interessantes do ponto de vista funcional, como já demonstrado em algumas pesquisas.

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO

Uma combinação de técnicas tem sido usada para caracterizar o amido em relação a organização molecular dentro dos grânulos de amido e discutir suas possíveis aplicações (COPELAND et al., 2009).

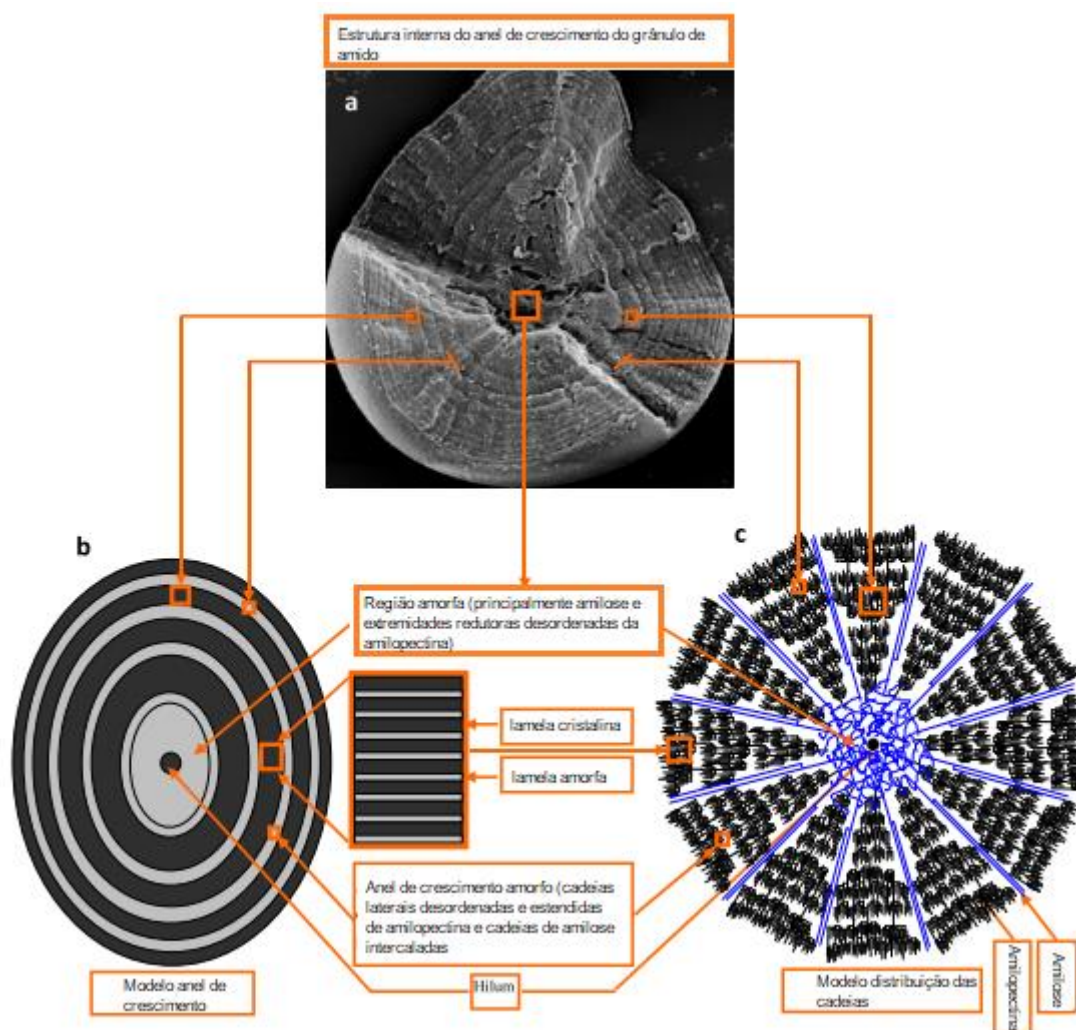
#### 3.4.1 Análises estruturais

##### 3.4.1.1 Difractometria de raios x pelo método de pó (DRX)

A técnica de difratometria de raios X permite avaliar o comportamento cristalino do grânulo de amido, diferenciando-os de acordo com sua fonte botânica. Os grânulos de amido são geralmente compostos por uma área de núcleo de massa amorfa rodeada por anéis de crescimento semicristalinos concêntricos alternando com anéis de crescimento amorfo (WANG; COPELAND, 2015)

A título de exemplificação, a Figura 7 ilustra de forma didática o modelo de organização das cadeias no grânulo de amido; sendo em (a) imagem obtida por microscopia eletrônica de amido de ervilha, após um tratamento ácido, em (b) uma descrição esquemática do modelo de anel de crescimento e o modelo de distribuição de cadeia na letra (c).

Figura 7 - Representação esquemática da organização do grânulo de amido



Fonte: Traduzido de Wang & Copeland (2015).

Os amidos, em relação ao padrão de cristalinidade, podem ser classificados em padrão tipo A, B ou C que podem ser identificadas por padrões espectrais característicos de difração de raios X (DRX).

As estruturas helicoidais duplas nos padrões tipo A e B são essencialmente as mesmas, o que difere é a forma de empacotamento das hélices, sendo mais compactas no tipo A com cadeias de amilopectina mais curtas, enquanto que o padrão tipo B tem estrutura mais aberta com núcleo envolto por seis duplas hélices carregadas de água. Em geral, os amidos de cereais tendem a ter o padrão do tipo A, amidos de tubérculos e amidos ricos em amilose produzem o padrão do tipo B, embora ambos os tipos possam ocorrer juntos. Legumes, raízes e alguns amidos de frutos e caules produzem um padrão do tipo C intermediário, mas se esta é uma mistura dos padrões do tipo A e B (COPELAND et al., 2009).

Os padrão do tipo A caracterizam por picos intensos nos espaços interplanares 15, 17, 18 e 23 ° em  $2(\theta)$ . Já o tipo B os picos são em 5,6; 15; 17; 18 e 23 ° em  $2(\theta)$  e o tipo C traz picos em 5,5; 15; 17; 22 e 23 ° em  $2(\theta)$ , o que comprova que é uma mistura dos padrões A e B. Além disso, quando moléculas de amilose associam-se com lipídios no grânulo de amido, por exemplo, observa-se um padrão cristalino de raios X tipo V com picos, em geral, em 13° e 20° ( $2\theta$ ) (AI; JANE, 2017; ANGELONI MARCON et al., 2009).

Amidos com padrão de cristalinidade tipo B têm sido mais resistentes à hidrólise enzimática. Raigond, Ezekiel e Raigond (2015) explicam que no amidos tipo B, o dano enzimático ocorre apenas na superfície dos grânulos, enquanto nos amidos tipo A sofrem hidrólise enzimática profunda. No entanto, a resistência à hidrólise enzimática não é exclusivamente influenciada pelo organização da molécula, isto é, pelo padrão de cristalinidade, mas sim a um grande número de fatores, tais como tamanho do grânulo, forma da superfície do grânulo, teor de amilose, entre outros (RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2015).

A técnica da difratometria de raios X consiste em determinar a estrutura atômica e molecular de um cristal, na qual a porção cristalina faz com que um feixe de raios X incidente difrate em muitas direções específicas na forma de picos, conferindo uma identidade ao material. Os picos de difração emitidos serão mais intensos, pontiagudos e estreitos quanto maior for a cristalinidade do material. Por meio do difratograma obtido é possível estimar a cristalinidade relativa do amido, sendo calculado pela razão entre a área referente aos picos ( $A_p$ ) e a área total de difração, que compreende a área dos picos ( $A_p$ ) e a área da base ( $A_b$ ) referente a porção não cristalina, amorfa (BET, 2017).

As modificações nos amidos podem causar impacto na cristalinidade desse material, aumentando ou diminuindo a intensidade dos picos ou até mesmo alterar o padrão de cristalinidade. O efeito da modificação *heat moisture treatment* HMT (altas temperaturas e baixa umidade) na cristalinidade depende da fonte do amido e das condições de tratamento (CHUNG; LIU; HOOVER, 2009).

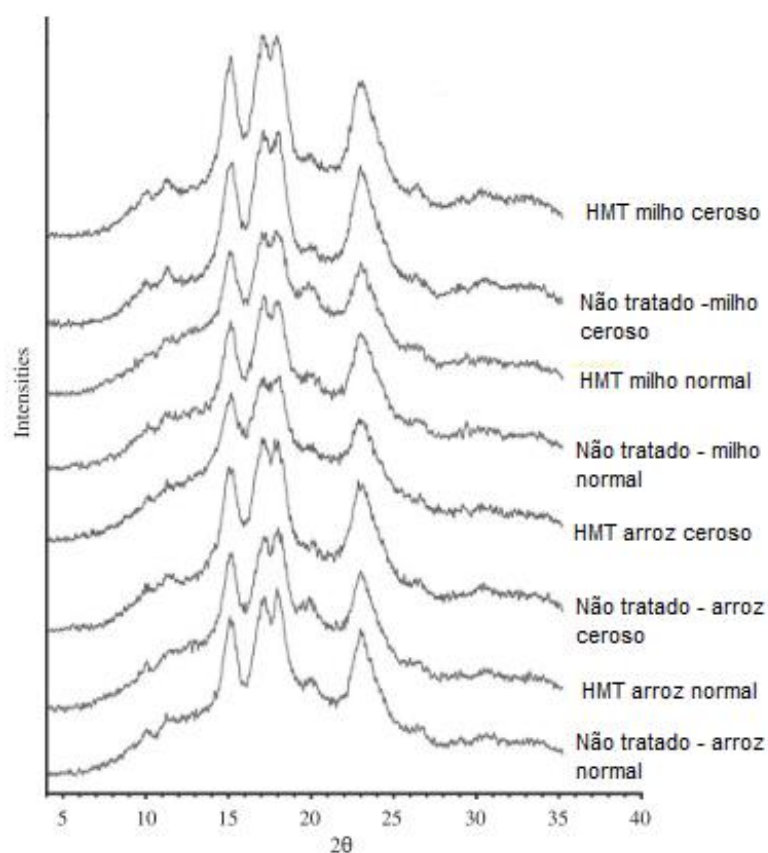
Mudanças no padrão de difração de raios X do tipo B ao tipo A + B e redução da cristalinidade relativa foram observadas em amidos de batatas e inhame tratadas por HMT por Gunaratne & Hoover (2002); no entanto nem todas as condições de temperatura e umidade podem provocar essa alteração de padrão. Por outro lado,



outros tipos de amido não apresentaram mudança no padrão de difração de raios-X após HMT, incluindo taro e mandioca (GUNARATNE; HOOVER, 2002).

Sem alterar o padrão de difração de raios X, a modificação por HMT provocou uma redução nas intensidades dos picos nos amidos de cereais milho regular e ceroso e arroz regular e ceroso (Figura 8), indicando uma tendência em romper a estrutura cristalina (JIRANUNTAKUL et al., 2011).

Figura 8 - Padrões de difração de raios X de amidos não tratados e HMT



Fonte: Adaptado e traduzido de Jiranuntakul et al. (2011).

Outra possível explicação para essa redução da cristalinidade relativa baseia-se no rompimento das ligações de hidrogênio e até ligações covalentes em moléculas de amido pelo HMT, e induziu a mudança da orientação dos cristalitos, o que poderia influenciar toda a estrutura dos grânulos de amido em fase ordenada ou desordenada (CHEN et al., 2017).

### 3.4.1.2 Microscopia eletrônica de varredura

Grânulos de amido exibem diferentes formas e tamanhos a depender de sua fonte botânica. Podem variar da escala submicrométrica a cerca de 100  $\mu\text{m}$  e suas formas mais comuns de grânulo incluem esférico, poligonal, oval, lenticular (disco) e alongado (AI; JANE, 2017).

Amido de milho regular e ceroso têm formas esféricas e poligonais e um diâmetro de 5 a 20  $\mu\text{m}$ . Já O amido de milho com alto teor de amilose, no entanto, consiste em grânulos alongados ou filamentosos além dos grânulos poligonais e esféricos. Uma distribuição bimodal é observada dos amidos de trigo, cevada e centeio: grânulos A grandes têm formato de disco e diâmetro de 18-33  $\mu\text{m}$ , enquanto grânulos B pequenos têm formato esférico e diâmetro de 2-5  $\mu\text{m}$  (AI; JANE, 2017).

Através da análise de microscopia eletrônica de varredura é possível identificar a morfologia do grânulo, bem como seu tamanho, obtendo imagens da superfície com alta profundidade de foco e resolução de uma amostra. A técnica consiste na emissão de um feixe fino de elétrons (<1 nm) de alta energia, em linhas paralelas, focalizado na superfície da amostra (BET, 2017).

A modificação física, baseada em baixa umidade e altas temperaturas – HMT não alterou o tamanho e forma dos grãos de amido de pinhão, exceto no ensaio realizado com umidade de 25%. Pela microscopia eletrônica observou a formação de agregados, relacionado à gelatinização parcial do amido e subsequente lixiviação da amilase durante a HMT, que cria aglomeração de grânulos durante o resfriamento. Outros autores relataram que o HMT não alterou o tamanho e forma dos grânulos de amido arroz e amaranto orgânico (ARNS et al., 2015; BET et al., 2018; PINTO et al., 2015).

### 3.4.2 Análise viscoamilográfica

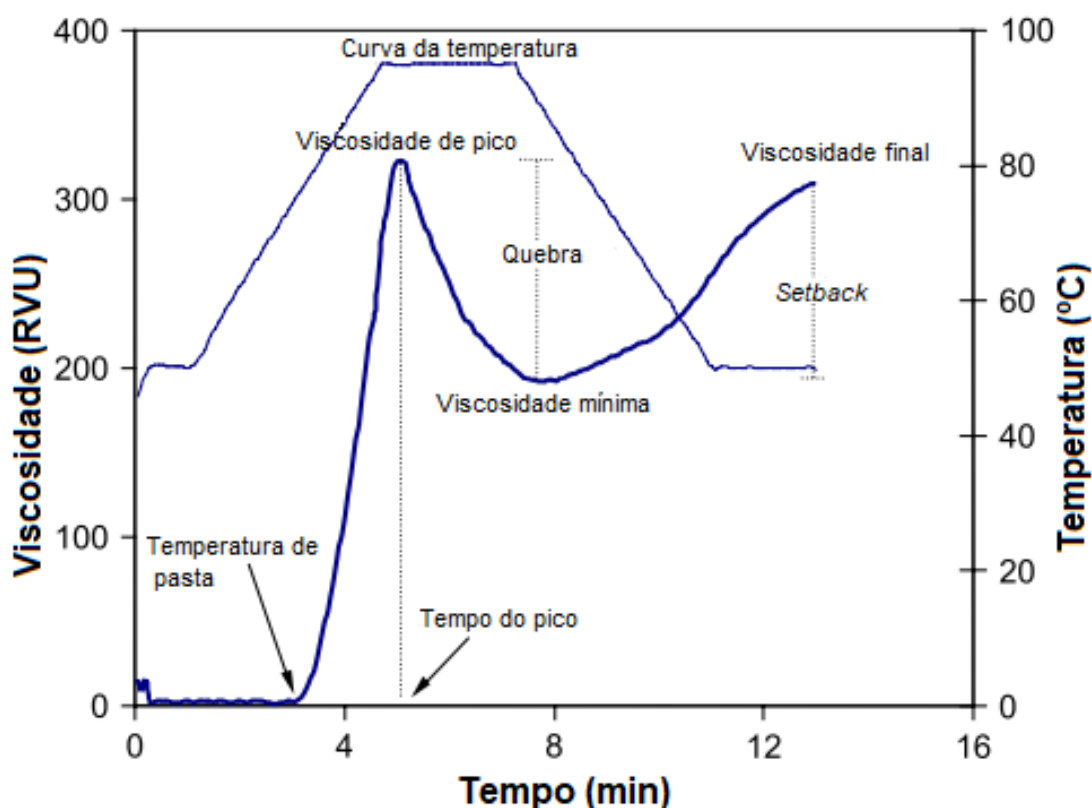
Os grânulos de amido quando aquecidos em temperatura específica e água suficiente exibem um comportamento conhecido como gelatinização, adquirindo elevada viscosidade em razão do inchamento dos grânulos e ruptura gradativa de sua estrutura cristalina. Esse fenômeno é de grande interesse em suas aplicações, principalmente, alimentícias (ZHU; XIE, 2018).

Durante a gelatinização, os grânulos absorvem água, incham e algumas estruturas começam a se danificar. As moléculas de amilose começam a lixiviar, perdendo sua estrutura helicoidal e a máxima viscosidade é atingida, os grânulos ainda não se romperam, mas organização cristalina é irreversivelmente interrompida. Quando resfriado, o amido gelatinizado pode sofrer um fenômeno denominado retrogradação, um processo contínuo de longa duração. Consiste na perda de energia das moléculas de amido, onde as cadeias começam a se associar à procura de um estado mais organizado, fortalecendo as ligações de hidrogênio e resulta na formação de uma rede (AI; JANE, 2017; COPELAND et al., 2009).

A retrogradação da amilose e da amilopectina tem comportamentos diferentes. A amilose retrograda durante minutos a horas formação de ligações de hidrogênio com outras de suas moléculas adjacentes (amilose-amilose) e a amilopectina durante horas a dias, dependendo da capacidade das cadeias ramificadas para formar associações. Na presença de ácidos graxos livres ou lipídios a formação de complexos com a amilose são evidentes. A retrogradação de amilose em alimentos processados é considerada importante para propriedades relacionadas à viscosidade, capacidade de absorção de água e digestibilidade, enquanto a retrogradação da amilopectina pode ter mais relação no endurecimento de pães e bolos (COPELAND et al., 2009).

Essas propriedades de pasta do amido é comumente monitorado por meio de técnicas reológicas em um equipamento *Rapid Visco Analyser* (RVA), exibindo um perfil viscoamilográfico particular de cada amido. Outras técnicas similares a essa são de suma importância na compreensão dos mecanismos de geleificação, as interações moleculares durante a formação do gel e o desenvolvimento do módulo de gel (resistência à deformação) durante o envelhecimento. Um característico perfil RVA é observado na Figura 9 (WANG et al., 2015).

Figura 9 - Perfil típico de RVA para um amido de arroz



Fonte: Traduzido de Copeland et al. (2009).

O perfil RVA típico de amidos fornecem uma infinidade de informações. A temperatura de pasta (PT) é a temperatura na qual o equipamento detecta uma viscosidade possível de ser medida. A viscosidade de pico é o maior viscosidade atingida pelo amido durante o ciclo de aquecimento, corresponde ao máximo inchamento dos grânulos sem o seu rompimento; a queda de viscosidade diminui após esse pico devido ao cisalhamento contínuo que ocorre, onde os grânulos altamente inchados se desintegram. Essa variação entre a viscosidade de pico e a viscosidade mínima é conhecida como quebra, também dá informações a respeito da estabilidade da pasta durante o processo de cozimento. Durante o resfriamento, as cadeias começam a se reagrupar, aumentando novamente a viscosidade (viscosidade final). A diferença entre a viscosidade final e mínima, denominada de *setback* está associada à tendência à retrogradação do amido (VAMADEVAN; BERTOFT, 2015; ZHU; XIE, 2018).

Há muitos fatores que podem afetar as propriedades de pasta do amido, tais como: tamanho de partícula, presença de impurezas e teor de amilose. Modificações nos amidos também podem influenciar em suas propriedades de pasta. O HMT,

modificação física, promove mudanças intensas nos amidos, alterando significativamente seu perfil típico de RVA (ZHU; XIE, 2018).

Estudos realizados por Arns et al. (2018) relataram que a temperatura de pasta aumentou em todos os tratamentos com HMT nos grãos e amido isolado de arroz indicando um fortalecimento das ligações e uma melhor interação das cadeias de amilopectina adjacentes, formando uma estrutura mais estável o que correlaciona positivamente com a diminuição da quebra durante o cozimento. O mesmo comportamento foi observado no amido de cana-de-açúcar que ao sofrer tratamento HMT exibiu menor viscosidade de pico, quebra e *setback* em comparação com o amido nativo e aumento na temperatura de pasta, tornando mais estável (ARNS et al., 2015; JUANSANG et al., 2017). O amido de mandioca, por sua vez, quando submetido ao HMT em condições extremas de pH (alcalino ou ácido) exibiu viscosidade significativamente menor à do amido nativo (CHATPAPAMON et al., 2019)

Entretanto, há controvérsias nas pesquisas em relação a contribuição nas propriedades de pasta do tratamento por anelamento. De forma geral, os resultados publicados sugerem que o efeito dessa modificação nas propriedades de pasta do amido depende principalmente das características estruturais do amido e das condições de análise (ZAVAREZE; DIAS, 2011).

#### 3.4.3 Técnicas termoanalíticas

Quando um sistema é aquecido, fenômenos como absorção ou liberação de calor ou perda de massa são observados e decorrentes de transições de fase (como fusão ou cristalização) ou reações químicas. No amido, o realinhamento de moléculas de amilose e amilopectina interrompidas para formar uma estrutura parcialmente ordenada e a eliminação de água dos géis de amido pode ser monitorada por várias técnicas de análise térmica, incluindo DSC, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e termogravimetria (TG) (WANG et al., 2015).

### 3.4.3.1 Termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG)

A Termogravimetria (TG) consiste em uma análise termoanalítica que traduz graficamente as perdas e/ou ganhos de massa de uma amostra em função do tempo ou temperatura. Nem sempre é possível identificar com facilidade os eventos de variação de massa. Sabendo que a derivada de uma constante é nula, ao haver uma alteração de linha-base, podemos, através de derivada identificar o evento. Neste caso, tem-se a Termogravimetria Derivada (DTG), que portanto, trata-se de um recurso matemático conhecido como derivada primeira da TG (LACERDA et al., 2008).

O equipamento basicamente é provido de uma termobalança, que permite determinar continuamente a variação de massa de uma amostra em função da temperatura e/ou tempo. Com os resultados expressos em curvas é possível avaliar a estabilidade térmica do amido, por exemplo. As perdas de massa observadas no TG nos amidos de maneira geral iniciam com a perda de água, degradação do amido em temperaturas acima de 300°C, seguida de oxidação - oxidação da amostra – apenas em atmosfera não inerte (BET, 2017).

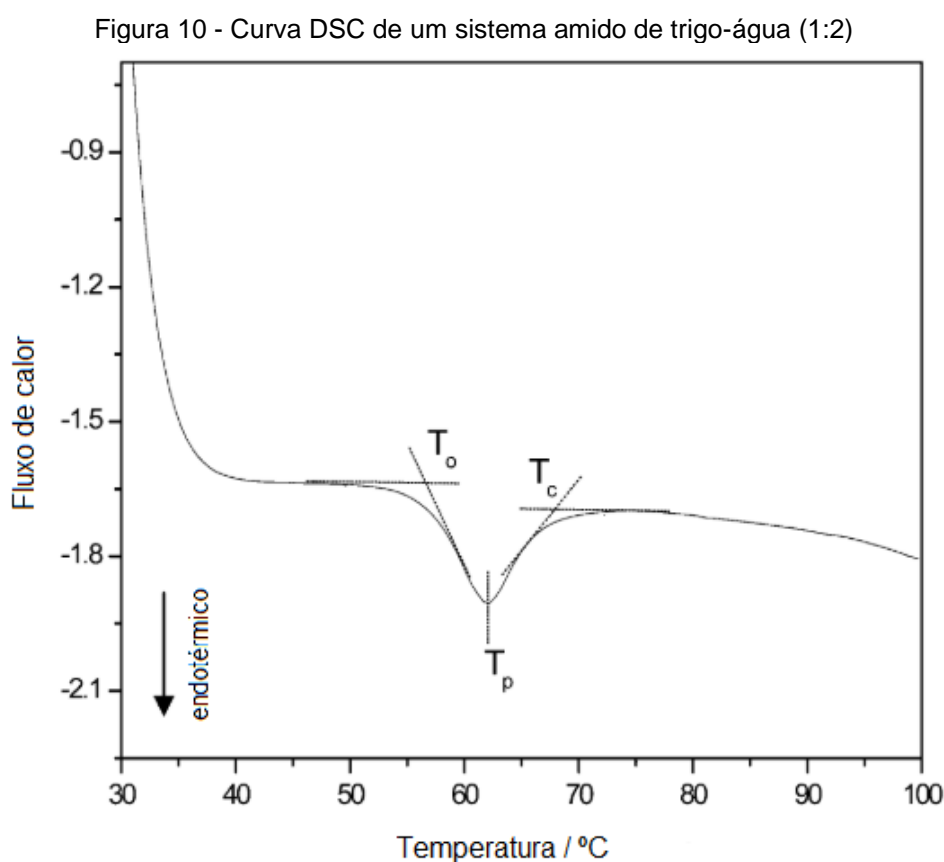
### 3.4.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A técnica conhecida como Calorimetria exploratória diferencial (DSC) identifica eventos que envolvem energia cedida ou recebida em um processo. Como exemplos, podemos citar fusão e cristalização, bem como temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) de uma amostra, propriedade essa importante de materiais poliméricos. Portanto, o equipamento basicamente é um dispositivo ou sistema isolado que controla a temperatura em função de temperatura ou tempo. O termo diferencial é dado pois, regularmente um suporte de amostra idêntico e vazio é inserido no equipamento e o que ocorre na amostra e não no suporte vazio, gera uma diferença energético (IONASHIRO, 2014).

O aquecimento de suspensões de amido em excesso de água e acima de certa temperatura causa uma transição irreversível chamada gelatinização, que pode ser caracterizada por uma endotérmica obtida pelo DSC. Os parâmetros fornecidos pelas curvas DSC que refletem o fenômeno da gelatinização são: entalpia ( $\Delta H$ ) e as temperaturas de gelatinização, incluindo o início ( $T_o$ ), pico ( $T_p$ ), e temperatura de

conclusão ( $T_c$ ). O  $\Delta H$ , nesse caso, é a energia requerida do sistema para ocorrer a gelatinização do amido, indica a perda da ordem molecular e temperatura de pico ( $T_p$ ) é a temperatura do fluxo máximo de calor (COPELAND et al., 2009).

O resultado do DSC produz uma curva bem definida que rastreia as alterações endotérmicas da energia durante o tratamento hidrotérmico do amido. A Figura 10 traz uma curva típica de DSC de um sistema de amido de trigo e água 1:3 com uma razão de aquecimento de  $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (COPELAND et al., 2009).



Fonte: Traduzido e adaptado de Copeland et al. (2009).

Os dados fornecidos pelas curvas de DSC são de grande interesse nas aplicações industriais. A temperatura necessária para iniciar a gelatinização do amido define a proporção de energia necessária para seu cozimento. Amidos modificados por HMT, por exemplo, podem ter seus dados alterados, geralmente as temperaturas aumentam à medida que a intensidade de calor e umidade aumenta. Depois do HMT, as interações amilose-amilose e amilose-lipídio reduzem a mobilidade da região amorfa; como resultado, os amidos tratados com HMT requerem uma temperatura mais alta para que o inchamento e a ruptura das regiões cristalinas ocorram, levando ao aumento dessas temperaturas (ZAVAREZE; DIAS, 2011).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Os amidos de milho regular e ceroso utilizados neste experimento foram cedidos pela Ingredion Brasil, Balsa Nova, PR. Todos os reagentes para execução das análises foram de padrão analítico.

A enzima  $\alpha$ -amilase pancreática suína (E.C. 3.2.1.1, 8 x Especificações USP) e *Aspergillus niger* amiloglucosidase (E.C. 3.2.1.3,  $\geq 260$  U/mL) foram adquiridos à Sigma Chemical Co. (St. Louis). O Kit de Ensaio de D-Glicose (formato GOPOD, K-GLUC) foram adquiridos da Megazyme Inter - nacional (Wicklow, Irlanda).

Os equipamentos e utensílios foram disponibilizados pelo Centro de Tecnologia Agroalimentar (CTA/Departamento de Engenharia de Alimentos) e pelo Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-Labmu) da Universidade Estadual de Ponta Grossa e pela Universidade Positivo em Curitiba-PR.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Tratamento por *heat-moisture treatment* (HMT)

De acordo com a metodologia de Hung e colaboradores (2016) com algumas modificações, uma massa de 30 g (base seca) de cada amostra foi suspensa em diferentes soluções de ácidos orgânicos (0,2 mol.L<sup>-1</sup> de ácido láctico, 0,2 mol.L<sup>-1</sup> de ácido acético e 0,2 mol.L<sup>-1</sup> de ácido cítrico) e água. A adição foi feita para que se atinjam o nível de umidade de 20% em frascos resistentes a pressão identificados com tampas rosqueáveis. Em seguida, os frascos permaneceram em repouso para equilíbrio durante 24 h antes de serem submetidos ao tratamento térmico (HMT) a uma temperatura de 110 °C durante 9 h em estufa. Após o tratamento, as amostras foram neutralizadas com uma solução 1,0 mol.L<sup>-1</sup> de hidróxido de sódio (NaOH) e em seguida, lavadas com água destilada. As amostras tratadas foram recuperadas por centrifugação a 10000 x g durante 30 min e após foram secas em estufa a 40 °C por 24 h (HUNG; VIEN; LAN PHI, 2016).



#### 4.2.2 Conteúdo de amilose aparente

O teor aparente de amilose foi determinado pelo método potenciométrico. Para o cálculo do teor de amilose, o valor de amido (IAs) foi dividido pelo IA de amilose (20%) usando a equação:  $\text{Amilose (\%)} = 100\% \text{ IAs} / 0,2$  (DEMIATE et al., 2016)

Embora a amostra de amido tenha sido obtida industrialmente, ou seja, o grau de pureza é de 99%, conforme descrito em laudo, o amido foi desengordurado com 85% (v / v) de metanol usando extratores de Soxhlet por 24 h (DEMIATE et al., 2016)

Reagentes utilizados para a análise: solução de Iodeto de potássio – KI (0,5 N), ácido clorídrico – HCl (0,5 N), Hidróxido de potássio – KOH (1,0 N) e solução estoque (KI + KCl). 100 mg de amostra previamente desengordurada foram adicionadas em um béquer de 250 mL e adicionou-se 1 mL de água deionizada e 5 mL de KOH (1 N). Essa mistura foi agitada por 30 min à temperatura ambiente até a gelatinização química do amido. Alaranjado de metilo foi utilizado como indicador de pH, após adicionar três gotas do mesmo, foi adicionado HCl (0,5 N) até ocorrer a mudança de cor, para neutralizar a solução. Em seguida, foi adicionado 10 mL de KI (0,5 N) e completado com água até totalizar a massa de 100,9 g. A titulação ocorreu por meio de um equipamento (Titrino Plus, Metrohm, Suíça) auto-titulador com eletrodo, bureta e software de titulação (BERTOFT, 2017).

#### 4.2.3 Termogravimetria (TG)

As propriedades térmicas do amido podem ser demonstradas através de técnicas laboratoriais, a análise termogravimétrica é de grande importância na caracterização de amido. As curvas termogravimétricas foram obtidas por meio do equipamento DTG 60 (Shimadzu, Japão). Aproximadamente 6 mg de cada amostra é pesada em cadinhos de  $\alpha$ -alumina abertos e então aquecidos de 30 a 600 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, sob um fluxo de ar comprimido com vazão de 100 mL min<sup>-1</sup>. Variações de massa em função do aquecimento foram determinadas com auxílio do software de análise de dados TA-60 WS. O mesmo software foi utilizado para o cálculo da termogravimetria derivada (DTG) ou a primeira derivada da curva obtida (LACERDA et al., 2014).

#### 4.2.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Com intuito de avaliar as propriedades térmicas dos amidos, a calorimetria exploratória diferencial foi realizada utilizando-se um equipamento DSC 60 (Shimadzu, Japão) previamente calibrado com índio de alto grau de pureza de 99,99 %, ponto de fusão em 156,6 °C e  $\Delta H_{\text{fusão}} = 28,56 \text{ J g}^{-1}$ . As condições utilizadas foram: fluxo de ar de 50 mL.min<sup>-1</sup>, faixa de aquecimento de 30 a 100 °C e razão de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>. Uma massa de aproximadamente 2,0 mg de cada amostra (base seca) foi pesada e homogeneizada em 6,0 µL de água deionizada em cadinhos de alumínio hermeticamente seláveis (BET et al., 2018).

#### 4.2.5 Propriedades de pasta (RVA)

Para verificar as propriedades de pasta do amido, aplicou-se a análise viscoamilográfica. Um equipamento RVA-4 (Newport Scientific, Australia) foi utilizado para avaliação das propriedades de pasta dos amidos nativos e das amostras modificadas por HMT. Para isso, uma suspensão em água a 8% (m/m) de amido em base seca (28 g de massa total) foi preparada e submetida a um ciclo de aquecimento até 95 °C e resfriamento controlado sob agitação rotacional constante (160 rpm). O perfil de análise consiste no aquecimento contínuo de 50 °C a 95 °C a uma razão de aquecimento de 6 °C.min<sup>-1</sup>, seguido por um resfriamento até o término da análise, totalizando em 23 min (LACERDA et al., 2014).

#### 4.2.6 Difractometria de raios x (DRX) pelo método do pó

O comportamento semicristalino do amido pode ser observado pelos difratogramas extraídos da análise de difratometria de raios X. Sua obtenção se dá utilizando-se um difratômetro de raios-X Ultima IV (Rigaku, Japão), e empregando-se radiação CuK $\alpha$  ( $\lambda = 1,541 \text{ \AA}$ ), sendo configurada a tensão de 40 kV e corrente de 20 mA. A radiação dispersa foi detectada em um intervalo angular de 3 ° a 40 ° a 2( $\theta$ ) com velocidade de escaneamento de 2 ° min<sup>-1</sup>, e um passo de 0,02 ° (BET et al., 2018). A cristalinidade relativa (CR) obtida foi calculada com base na relação entre as áreas de pico e total usando os gráficos sem tratamento, evitando assim erros de leitura, conforme equação 1 (NARA; KOMIYA, 1983).

Equação 1 – Cálculo da Cristalinidade relativa

$$CR (\%) = \frac{A_c}{(A_c \times A_a)} \times 100$$

Onde:

CR = Cristalinidade relativa,

$A_c$  = Área cristalina,

$A_a$  = Área amorfa no difratograma

#### 4.2.7 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG)

A morfologia característica bem como a mensuração da dimensão dos grânulos dos amidos nativos e após os tratamentos por HMT foram observados por microscópio eletrônico de emissão de campo (MEV-FEG) MIRA 3 (Tescan, República Tcheca). A tensão do feixe de elétrons é de 15 kV no canhão de emissão de campo, gerada por uma lâmpada com filamento de tungstênio. As amostras foram pulverizadas sobre uma fita de carbono, e como o amido não é condutor de elétrons, necessitou de metalização (150 s; 20 mA) sob pressão reduzida de todas as amostras com ouro e paládio, para promover a passagem de elétrons (ITO et al., 2018).

#### 4.2.8 Determinação das frações de amido conforme a digestibilidade (RDS, SDS, RS)

Para determinar as porcentagens das frações de amido, incluindo amido de rápida digestibilidade (% RDS), amido de digestibilidade lenta (% SDS) e amido resistente (% RS) das amostras nativas e tratadas foi realizada a digestibilidade *in vitro* dos amidos com base no método de Englyst et al. (1992) com modificações (DEMIATE et al., 2016). A digestão *in vitro* ocorre em tubos de 50 mL com cerca de 900 mg de amido granular, 50 mg de goma guar, cinco bolas de vidro e 20 mL tampão acetato 0,1M pH 5,2. Os tubos foram levados ao banho térmico a 37°C por 5 min para estabilização de temperatura. Em seguida foram adicionados 5 mL de solução enzimática contendo  $\alpha$ -amilase pancreática e amiloglicosidase. Duas alíquotas de 0,250 mL de amostra foram retiradas após 20 minutos e 120 minutos de incubação a

37 °C, G<sub>20</sub> e G<sub>120</sub>, respectivamente, e colocadas em tubos contendo 10 mL de etanol 66%. Os tubos foram centrifugados por 5 min (1000 xg) e a fração do sobrenadante foi utilizada para determinação de glicose, pelo método de GOPOD. O hidrolisado final foi então determinado para a concentração total de glicose (GT). Os valores obtidos para G<sub>20</sub>, G<sub>120</sub> e GT foram utilizados para calcular RDS, SDS e RS como descrito na Equação 2:

Equação 2 – Cálculo das frações de amido RDS, SDS, RS

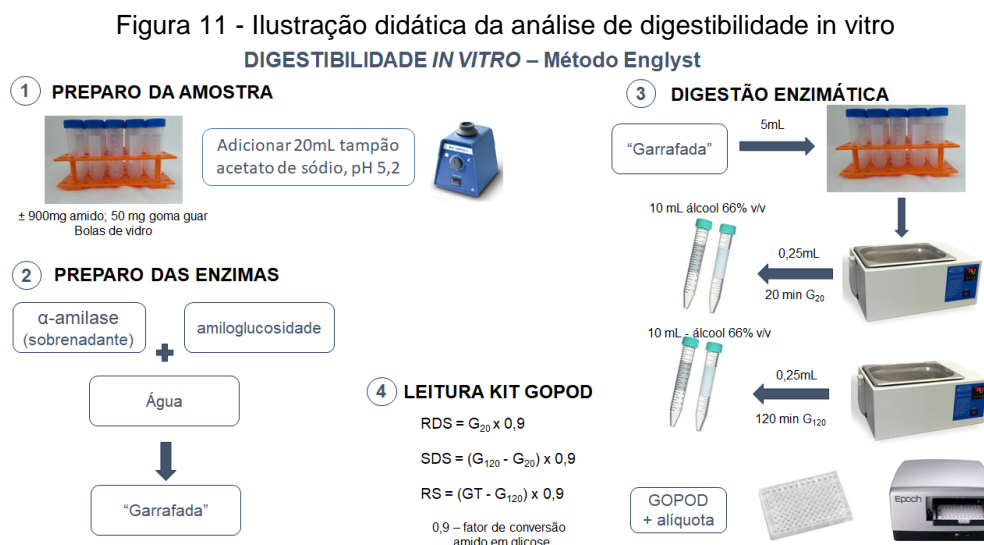
$$\text{RDS} = G_{20} \times 0,9$$

$$\text{SDS} = (G_{120} - G_{20}) \times 0,9$$

$$\text{RS} = (GT - G_{120}) \times 0,9$$

\* Sendo 0,9 fator de conversão do amido em glicose.

A Figura 11 traz didaticamente o passo a passo de como se procedeu a análise de digestibilidade *in vitro*.



#### 4.2.9 Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para estudar o comportamento das amostras. Os testes de Tukey foram realizados para determinar diferenças entre as médias no nível de confiança de 95% (p <0,05) (ITO et al., 2018).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 AMILOSE APARENTE

Embora a amilose seja o componente menor na maioria dos grânulos, ela tem uma grande influência nas propriedades do amido. Em resumo, a amilose interage fortemente com o iodo, adquirindo uma coloração conhecida como azul profundo. A cor e a intensidade do complexo dependem do comprimento da cadeia da amilose (BERTOFT, 2017).

Os dados do conteúdo de amilose dos amidos nativos de milho regular e ceroso foram  $25,53\% \pm 0,50$  e  $0,77\% \pm 0,16$ , respectivamente, expressos em termos de porcentagem (%) de amilose. Dados consistentes com as pesquisas de Chen et al. (2017) que encontraram os valores de 26,8% e 0,5% para os amidos de milho regular e ceroso, respectivamente (CHEN et al., 2017).

Os amidos cerosos consistem quase exclusivamente em amilopectina, uma molécula de alto peso molecular. Os ramos da amilopectina são dispostos em uma estrutura agrupada que permite que cadeias adjacentes formem duplas hélices. O empacotamento dessas hélices resulta em regiões cristalinas do amido (ŠÁRKA; DVOŘÁČEK, 2017), o que confirma os maiores valores encontrados de cristalinidade relativa do amido ceroso, descrito no tópico Difração de raios X.

As diferenças nos conteúdos de amilose dos amidos de milho regular e ceroso refletem nas propriedades tecnológicas, térmicas e na digestibilidade do amido. As modificações nos amidos também podem provocar diferentes resultados devido à presença ou ausência de amilose (ZHU; XIE, 2018)

### 5.2 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

As curvas termogravimétricas (TG / DTG) do amido nativo regular e ceroso e suas amostras modificadas (HMT H<sub>2</sub>O, HMT AA, HMT LA e HMT CA) foram realizadas e são mostradas na Figura 12 e 13. O perfil das curvas TG foi similar para todas as amostras, apresentando três etapas de perda de massa e um período de estabilidade como é comumente visto em amidos. A primeira perda está associada à evaporação da água (ZHU; ZHANG, 2014), evento esse que ocorre em temperaturas abaixo de

155 ° C. Com base nesta primeira etapa, foram obtidos valores de umidade para as amostras modificadas, variando de 9-11%, expressos na Tabela 2 e 3.

Figura 12 – Curvas TG/DTG para os amidos de milho regular. N – amido de milho regular; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.

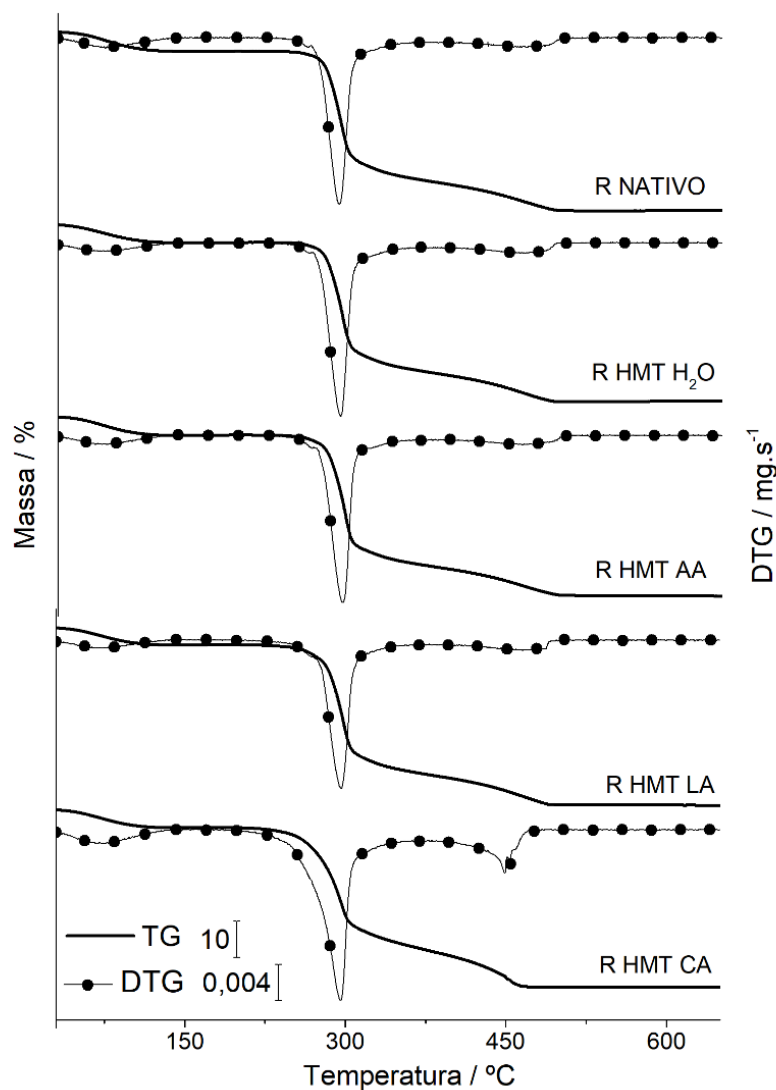


Figura 13 - Curvas TG/DTG para os amidos de milho regular. C – amido de milho ceroso; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico

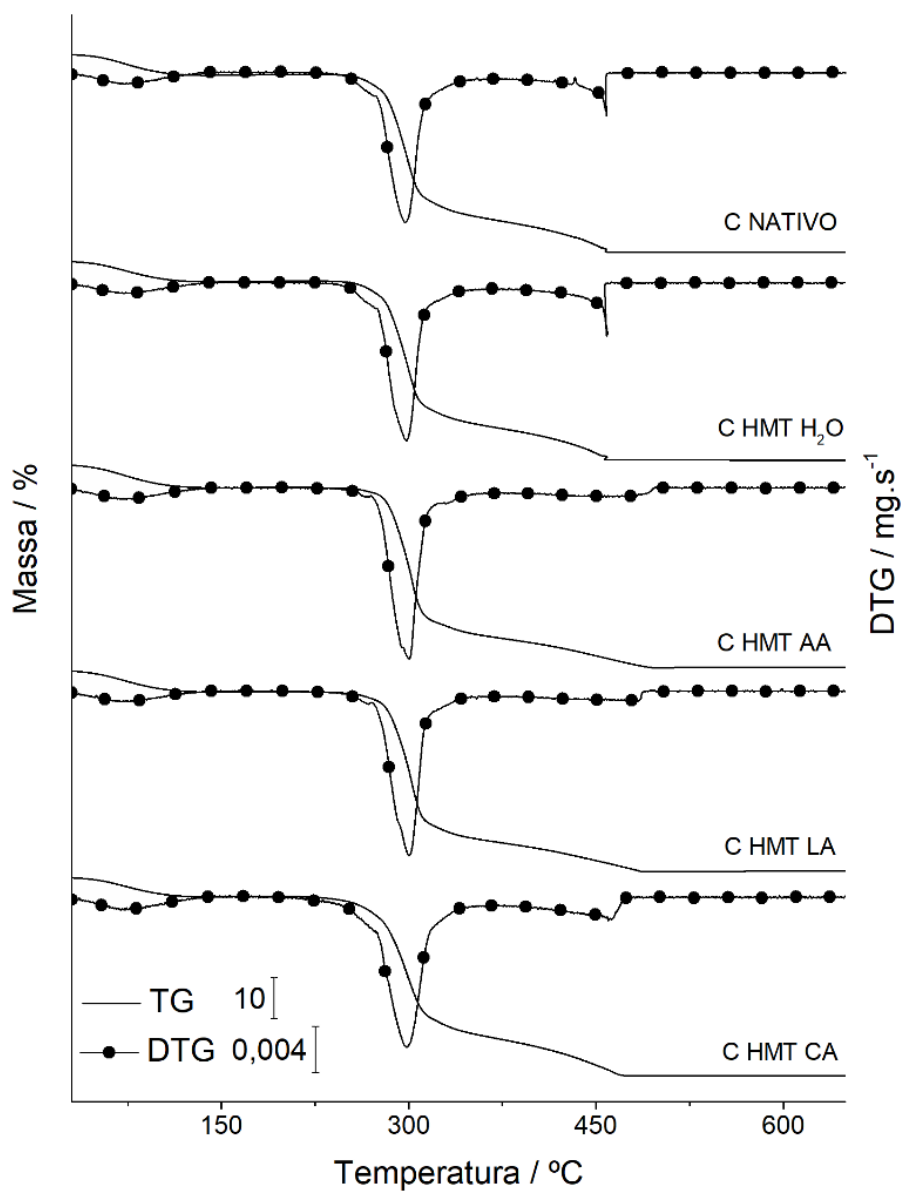


Tabela 2 - Resultados das curvas TG/DTG para amido de milho regular

Amostra	Resultados TG			Resultados DTG
	Etapa	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
R NATIVO	1 <sup>a</sup>	10,60	30 - 150	74
	2 <sup>a</sup>	68,00	258 – 350	292
	3 <sup>a</sup>	19,80	350 – 528	460
	Cinzas	1,60		
R HMT H <sub>2</sub> O	1 <sup>a</sup>	10,20	30 – 133	70
	2 <sup>a</sup>	72,40	259 – 351	294
	3 <sup>a</sup>	16,01	351 – 522	465
	Cinzas	1,39		
R HMT AA	1 <sup>a</sup>	10,33	30 – 134	70
	2 <sup>a</sup>	70,00	258 – 358	294
	3 <sup>a</sup>	18,70	358 – 530	465
	Cinzas	0,97		
R HMT LA	1 <sup>a</sup>	9,54	30 – 128	72
	2 <sup>a</sup>	71,80	257– 350	297
	3 <sup>a</sup>	16,11	350 – 520	465
	Cinzas	2,55		
R HMT CA	1 <sup>a</sup>	9,74	30 –126	75
	2 <sup>a</sup>	67,10	241 – 380	296
	3 <sup>a</sup>	20,58	380 – 507	449
	Cinzas	2,58		

R – amido de milho regular; C – amido de milho ceroso; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.



Tabela 3 – Resultados das curvas TG/DTG para amido de milho ceroso

Amostra	Resultados TG			Resultados DTG
	Etapa	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
C NATIVO	1 <sup>a</sup>	10,30	30 – 126	72
	2 <sup>a</sup>	72,42	258 – 384	297
	3 <sup>a</sup>	16,20	384 – 518	458
	Cinzas	1,08		
C HMT H <sub>2</sub> O	1 <sup>a</sup>	9,84	30 – 122	72
	2 <sup>a</sup>	72,40	261 – 381	298
	3 <sup>a</sup>	15,60	381 – 477	458
	Cinzas	2,16		
C HMT AA	1 <sup>a</sup>	10,80	30 – 122	74
	2 <sup>a</sup>	72,00	265 – 364	301
	3 <sup>a</sup>	15,00	364 – 514	455
	Cinzas	2,20		
C HMT LA	1 <sup>a</sup>	10,21	30 – 120	76
	2 <sup>a</sup>	72,44	263 – 367	300
	3 <sup>a</sup>	14,70	367 – 522	482
	Cinzas	2,65		
C HMT CA	1 <sup>a</sup>	10,02	30 – 119	73
	2 <sup>a</sup>	70,00	254 – 380	299
	3 <sup>a</sup>	17,10	380 – 503	460
	Cinzas	2,88		

C – amido de milho ceroso; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.

Conforme visto nas Tabelas 2 e 3, o período de estabilidade foi ligeiramente maior para o amido de milho ceroso, comparado com amido nativo. Após o HMT, observou um aumento suave da estabilidade térmica, consistente com o relatado por Zavareze et al. (2010) e por De Oliveira et al. (2018).

Li et al. (2010) relacionam a estabilidade térmica com a quantidade de grupos hidroxilas, quando menos grupos hidroxilas presentes maior a estabilidade térmica. Dessa forma, pode-se justificar a maior estabilidade térmica observada nos amidos modificados, devido a provável reação de esterificação entre os ácidos e as cadeias de amido. Dados consistentes foram encontrados em outro estudo (DE SIQUEIRA et al., 2019).

Em contrapartida, a modificação combinada com ácido cítrico causou uma suave diminuição na estabilidade térmica do amido. De acordo com MALUCELLI et al. (2015) essa diminuição pode ter causado devido ao aumento da área superficial que pode ser observado pela presença de alguns poros nas microimagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura. Em adição, (SHI et al., 2019) sugere que esse comportamento pode ser ocorrido em razão da ruptura da região cristalina do amido, diminuindo também sua cristalinidade relativa pela possível reação de esterificação.

A segunda perda de degradação das cadeias de amido, em geral, começaram a partir 250°C, principalmente devido à desidratação dos grupos hidroxila, em outras palavras, despolimerização, e à subsequente formação de espécies de carbono de baixo peso molecular, insaturadas, alifáticas e de carbono (SIN et al., 2011). O terceiro passo foi relacionado à oxidação da matéria, levando à formação de cinzas.

O teor final de resíduos após a decomposição térmica (cinza) do amido de milho regular foi de 1,60% para a amostra nativa e de 1,39; 0,97, 2,55 e 2,58% para as amostras modificadas, conforme ordem descrita, respectivamente. Para o amido de milho ceroso, o teor final de cinzas foi de 1,08% para a amostra nativa e de 2,16; 2,20; 2,65 e 2,88 para as modificadas, respectivamente.

### 5.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL - DSC

As curvas DSC obtidas estão apresentadas na Figura 14 e 15 demonstram o comportamento térmico dos amidos nativos (regular e ceroso) e modificados.

Figura 14 - Curvas DSC para os amidos de milho regular. R – amido de milho regular; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.

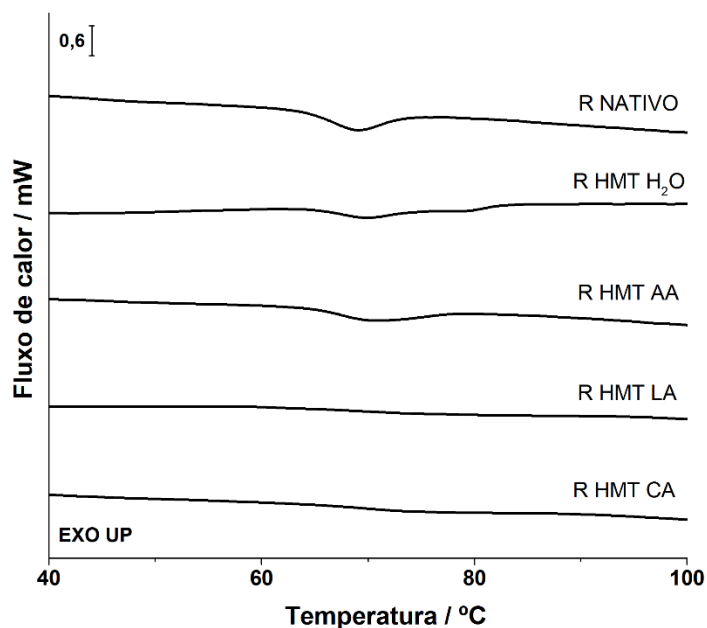
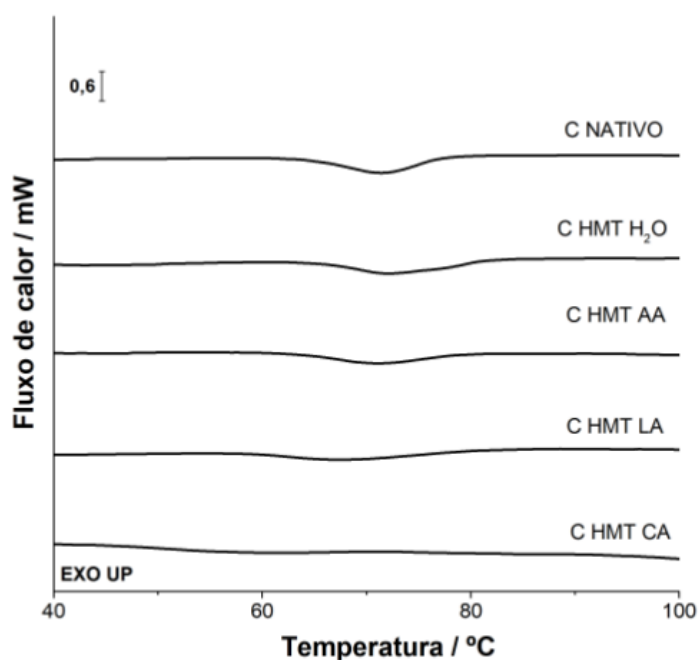


Figura 15 - Curvas DSC para os amidos de milho ceroso. C – amido de milho ceroso; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.



As curvas obtidas por DSC para amidos, apresentam o evento endotérmico, referente à gelatinização do amido, nas quais percebeu-se um deslocamento deste evento para temperaturas mais elevadas nos tratamentos de HMT H<sub>2</sub>O e HMT AA, para ambos os amidos, isto é, aumento nas temperaturas de início (T<sub>0</sub>), pico (T<sub>p</sub>) e

conclusão do evento ( $T_c$ ) (Figura 14 e 15). Um comportamento similar foi observado também nos amidos de milho regular e ceroso (JIRANUNTAKUL et al., 2011), amido de pinhão, de batata e de mandioca (KLEIN et al., 2013) quando submetidos ao HMT, em condições de umidade e temperatura maiores que 20% e 100°C, respectivamente.

O aumento de  $T_o$ ,  $T_p$  e  $T_c$  pode ser atribuído a alterações estruturais nos grânulos de amido, que envolvem interações amilose-amilose e amilose-lipídios, reprimindo a mobilidade das cadeias de amido nas lamelas amorfas; em outras palavras devido a uma nova reorganização cristalina e ligações formadas, exigindo maior temperatura para que esse processo ocorra (ZAVAREZE; DIAS, 2011).

O aumento da temperatura de conclusão, em particular, pode ser atribuído à formação de cristalino mais estável durante o HMT (CHEN et al., 2017). Outra possível explicação para esse comportamento pode ser devido a uma restrição da penetração de água nos grânulos pela nova camada superficial formada por HMT, retardando o inchaço dos grânulos (JIRANUNTAKUL et al., 2011). Essa conduta pode ser melhor visualizado na Tabela 4 e 5 dos amidos de milho regular e ceroso, respectivamente.

Tabela 4 - Resultados das curvas DSC para amido de milhoregular. R – amido de milho regular; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.

Tratamento	$T_o$ / °C	$T_p$ / °C	$T_c$ / °C	$T_c - T_o$ /°C	$\Delta H_{gel}$ /J.g <sup>-1</sup>
R Nativo	63,6 <sup>b</sup> ± 0,1	69,0 <sup>c</sup> ± 0,1	73,3 <sup>c</sup> ± 0,3	10,0 <sup>c</sup> ± 0,4	9,4 <sup>a</sup> ± 0,1
R HMT H <sub>2</sub> O	65,0 <sup>a</sup> ± 0,2	70,0 <sup>b</sup> ± 0,1	82,6 <sup>a</sup> ± 0,2	17,6 <sup>a</sup> ± 0,1	8,8 <sup>b</sup> ± 0,1
R HMT AA	65,3 <sup>a</sup> ± 0,1	70,8 <sup>a</sup> ± 0,1	77,5 <sup>b</sup> ± 0,3	12,3 <sup>b</sup> ± 0,3	7,9 <sup>c</sup> ± 0,3
R HMT LA	-	-	-	-	-
R HMT CA	-	-	-	-	-

Nota:  $T_i$  – temperatura inicial,  $T_p$  – temperatura de pico,  $T_c$  – temperatura de conclusão,  $\Delta H_{gel}$  – entalpia de gelatinização. Valores apresentados como valores médios ± desvio padrão. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 5 - Resultados das curvas DSC para amido de milho ceroso. C – amido de milho ceroso; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.

Tratamento	$T_o/ ^\circ\text{C}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$T_c/ ^\circ\text{C}$	$T_c - T_o/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H_{\text{gel}}/\text{J.g}^{-1}$
C NATIVO	63,9 <sup>b</sup> ± 0,3	71,6 <sup>c</sup> ± 0,1	77,8 <sup>c</sup> ± 0,2	14,8 <sup>a</sup> ± 0,5	11,4 <sup>a</sup> ± 0,5
C HMT H <sub>2</sub> O	66,2 <sup>a</sup> ± 0,1	72,0 <sup>a</sup> ± 0,1	81,4 <sup>a</sup> ± 0,1	15,2 <sup>a</sup> ± 0,2	11,1 <sup>a</sup> ± 0,1
C HMT AA	64,6 <sup>b</sup> ± 0,3	71,5 <sup>b</sup> ± 0,1	79,7 <sup>b</sup> ± 0,1	15,2 <sup>a</sup> ± 0,3	8,5 <sup>b</sup> ± 0,2
C HMT LA	-	-	-	-	-
C HMT CA	-	-	-	-	-

Nota:  $T_i$  – temperatura inicial,  $T_p$  – temperatura de pico,  $T_c$  – temperatura de conclusão,  $\Delta H_{\text{gel}}$  – entalpia de gelatinização. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Antes do HMT, os amidos de milho regular e ceroso apresentaram uma transição endotérmica característica ocorrendo entre 60 e 80 °C, sendo a entalpia de gelatinização do amido de milho ceroso conforme Tabela 5. Gunaratne & Hoover (2002) reportaram que o valor de  $\Delta H$  é representativo do número de duplas hélices que se desenrolam e se rompem durante a gelatinização, por essa razão os valores mais altos de  $\Delta H$  para amido ceroso podem ser atribuídos à presença de um número maior de duplas hélices e quase ausência de amilose (GUNARATNE; HOOVER, 2002; XIE et al., 2018). Resultados similares foram encontrados em estudos envolvendo HMT por Chen et al. (2017) para amidos de milho regular e ceroso, Jiranuntakul et al. (2011) para amidos normais e cerosos de batata, arroz e milho e Shaikh et al. (2019) para amidos de milho e sorgo (CHEN et al., 2017; JIRANUNTAKUL et al., 2011; SHAIKH et al., 2019).

Embora suave, é possível observar na Figura 14 uma endotérmica bifásica ocorrida na amostra R HMT H<sub>2</sub>O, podendo ser decorrente de uma distribuição não homogênea de umidade durante o processo HMT (JIRANUNTAKUL et al., 2011).

As modificações por HMT combinadas aos ácidos orgânicos provocaram significativas alterações nos parâmetros térmicos obtidos pelo DSC, sendo os dados mais expressivos para as modificações com ácido láctico e cítrico. O pico endotérmico diminuiu gradualmente ou mesmo desapareceu com o aumento da força dos ácidos, tanto para amido de milho regular como para o ceroso.

Esse comportamento corrobora com os dados de Li et al (2019) para amido de trigo e Mei et al. (2015) para amido de mandioca, tratados por HMT com adição de ácido cítrico. Esse fenômeno pode ser indicativo de que reação de esterificação provocada pelos ácidos afetou a cristalinidade do amido de forma a aumentar a região amorfa do amido (LI et al., 2019;MEI et al., 2015;XIA; LI; GAO, 2016). Esses resultados explicam e confirmam a diminuição da cristalinidade relativa, observados pela difração de raios X.

Li et al. (2019) ainda relatam que a ausência do evento endotérmico nas curvas DSC nas amostras de amido de trigo modificadas por HMT com ácido cítrico pode ter sido ocasionada pela formação de monoésteres de citrato de amido durante o tratamento térmico. Quando aquecidos pelo DSC, resulta na formação de diésteres de amido, formando assim uma estrutura de reticulação, isto é, mais resistente (LI et al., 2019).

#### 5.4 PROPRIEDADES DE PASTA (RVA)

Durante a análise de RVA uma suspensão de amido em água é aquecida para observar mudanças na viscosidade durante o aquecimento seguido de resfriamento de uma suspensão de amido. Além disso, é possível avaliar a desintegração dos componentes do amido e sua tendência à retrogradação quando novas ligações de hidrogênio são formadas (VARELA; NAVARRO; YAMUL, 2016).

Os amidos nativos e modificados exibiram perfis de viscosidade demonstrados na Figura 16 e17. Os dados extraídos da análise estão apresentados na Tabela 6 e 7.

Figura 16 – Perfil RVA dos amidos de milho regular. R – amido de milho regular; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.

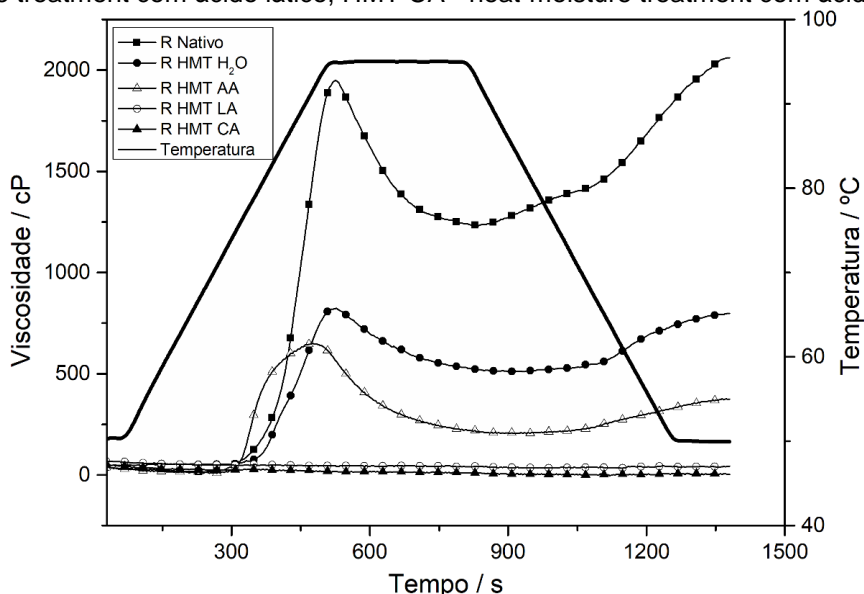
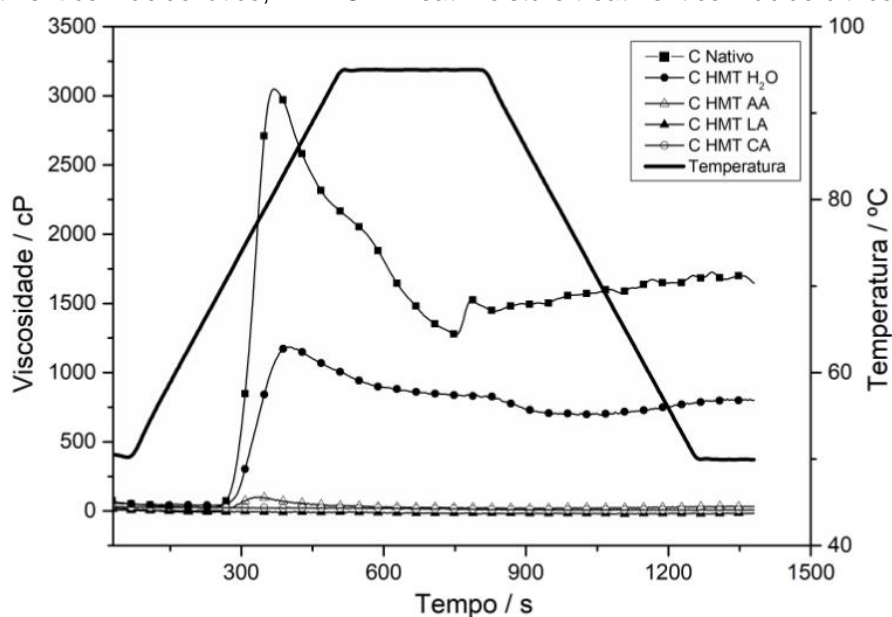


Figura 17 - Perfil RVA dos amidos de milho ceroso. C– amido de milho ceroso; HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.



Comparando os perfis de viscosidade das amostras nativas, o amido de milho do tipo ceroso não tratado por HMT obteve elevada viscosidade de pico, *breakdown* significativo e baixo valor de *setback* (Figura 17), quando comparadas a amostra de amido regular (Figura 16). Em contrapartida, a temperatura de pasta foi superior para o amido de milho regular (Tabela 5), temperatura essa detectada pelo equipamento no início do inchamento dos grânulos, isto é, aumento de viscosidade.

Os tipos ceroso dos amidos de milho, batata e arroz não tratados também exibiram propriedades de pasta semelhantes, sendo essas diferenças drásticas entre os amidos normais e cerosos atribuídas ao conteúdo de amilose, lipídeos e proteínas, explicam Juranuntakul et al. (2011). Um perfil de RVA semelhante foi encontrado por Park et al. (2017) no amido de milho ceroso nativo (JIRANUNTAKUL et al., 2011;PARK et al., 2018).

Outro parâmetro discrepante é a maior tendência a retrogradação pelo amido de milho regular, comparado ao amido de milho ceroso, observado pelo valor de *setback*, presente da Tabela 5 em razão ao maior conteúdo de amilose no grânulo de amido regular, pois se sabe que, no primeiro estágio da retrogradação, a principal molécula envolvida é a amilose, enquanto a amilopectina retrograda mais lentamente após dias de armazenamento (WEBER, 2009).

Portanto, atribui-se essa diferença de parâmetros, nesse estudo, ao conteúdo de amilose, visto que as amostras foram obtidas industrialmente com alto grau de pureza. A amilose atua tanto como diluente quanto como inibidor do inchaço; quando na presença de lipídeos essa função ocorre mais expressivamente, formando complexos insolúveis com parte da amilose durante o inchaço e a gelatinização (JIRANUNTAKUL et al., 2011;WANG et al., 2014).

Nos estudos de Chen et al. (2019), após a fritura, a viscosidade das amostras de amido de batata diminuiu acentuadamente e exibiram perfis de RVA atípicos, os quais são indicativos da gelatinização parcial e ruptura dos grânulos de amido durante a fritura, levando à formação de nódulos amiláceos que compõem grânulos fundidos e amilose lixiviada (CHEN et al., 2019).



Tabela 6 - Dados da análise viscoamilográfica RVA dos amidos de milho regular

Tratamento	Temperatura de pasta/°C	Pico de viscosidade /mPa s	Breakdown /mPa s	Setback /mPa s	Viscosidade final /mPa s
R Nativo	79,8 <sup>b</sup> ± 0,3	2017,5 <sup>a</sup> ± 0,7	788,5 <sup>a</sup> ± 2,1	853,0 <sup>a</sup> ± 2,8	2082,0 <sup>a</sup> ± 1,4
R HMT H <sub>2</sub> O	81,8 <sup>a</sup> ± 0,3	823,0 <sup>b</sup> ± 1,4	312,5 <sup>c</sup> ± 0,7	288,0 <sup>b</sup> ± 1,4	798,5 <sup>b</sup> ± 0,7
R HMT AA	75,8 <sup>c</sup> ± 0,3	649,5 <sup>c</sup> ± 0,7	442,5 <sup>b</sup> ± 0,7	169,0 <sup>c</sup> ± 0,1	376,0 <sup>c</sup> ± 1,4
R HMT LA	-	-	-	-	-
R HMT CA	-	-	-	-	-

Nota: mPa s “millipascal segundo”, s “segundo”. R – amido de milho regular, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico. Valores apresentados como valores médios ± desvio padrão. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p <0,05).

Tabela 7 - Dados da análise viscoamilográfica RVA dos amidos de milho ceroso

Treatments	Temperatura de pasta/°C	Pico de viscosidade /mPa s	Breakdown /mPa s	Setback /mPa s	Viscosidade final /mPa s
C Nativo	70,90 <sup>b</sup> ± 0,32	3157,5 <sup>a</sup> ± 6,31	1922,0 <sup>a</sup> ± 7,01	483,0 <sup>a</sup> ± 1,41	1718,5 <sup>a</sup> ± 2,12
C HMT H <sub>2</sub> O	72,72 <sup>a</sup> ± 0,03	1183,5 <sup>b</sup> ± 2,12	493,0 <sup>b</sup> ± 1,41	109,5 <sup>b</sup> ± 3,53	800,0 <sup>b</sup> ± 0,01
C HMT AA	71,00 <sup>b</sup> ± 0,01	99,0 <sup>c</sup> ± 1,41	82,5 <sup>c</sup> ± 2,12	15,5 <sup>c</sup> ± 2,12	32,0 <sup>c</sup> ± 1,41
C HMT LA	-	-	-	-	-
C HMT CA	-	-	-	-	-

Note: mPa s “millipascal-second”, s “second”. C – amido de milho ceroso, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico. Valores apresentados como valores médios ± desvio padrão. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p <0,05).

Após a modificação por HMT, a temperatura de pasta aumentou para os amidos tratados com água (HMT H<sub>2</sub>O) e com ácido acético (HMT AA) tanto para o amido de milho regular quanto para o ceroso, sendo mais expressivo esse aumento para a amostra R HMT H<sub>2</sub>O, atingindo o valor de 81,80 ± 0,28 °C. Segundo Kaur e Singh (2019) e Demiate e colaboradores (2018) esse aumento pode ser em razão da formação de mais ligações cruzadas, menor poder de intumescimento e aperfeiçoamento da perfeição dos cristalitos no HMT, dessa forma é necessário maior

quantidade de calor e mais tempo para desintegração dos grânulos e formação da pasta (KAUR; SINGH, 2019; MENDES; DEMIATE; MONTEIRO, 2018).

Os demais parâmetros também foram influenciados pelos tratamentos térmicos. Os valores de pico de viscosidade, viscosidade final, *breakdown* e *setback* de todas as amostras modificadas foram inferiores às amostras nativas de amido de milho regular e ceroso (Tabela 5 e 6).

Os menores valores de *breakdown* podem ser indicativos de estabilidade das amostras tratadas e os valores de *setback* são afetados pelo conteúdo e lixiviação da amilose (XING et al., 2017), o que justifica os valores superiores para as amostras de amido de milho regular e corroboram com as tendências observadas nas temperaturas de gelatinização, conforme demonstrado pelo DSC, especialmente após a combinação do HMT com ácido láctico e cítrico. Um comportamento semelhante foi observado por Xing et al. (2017) em amostras de amido de milho submetidas a modificação dupla combinação da hidrólise ácida e do HMT (XING et al., 2017).

Para as amostras modificadas com ácido láctico e cítrico (HMT LA e HMT CA) as propriedades de pasta não foram medidas pelo equipamento de RVA. A diminuição da viscosidade da pasta é causada por alterações da fração amorfa (amilose interagindo com amilopectina e segmentos ramificados de amilopectina) nos anéis de crescimento semicristalino e amorfo (JUANSANG et al., 2017). Essas frações amorfas podem ser hidrolisadas sob condições ácidas, assim, as cadeias de amido se movem mais livremente. Esse movimento flexível de degradado pode resultar em empacotamento próximo das cadeias de amido, portanto, a combinação com HMT pode absorver menos água (CHATPAPAMON et al., 2019).

Diferenças estruturais como o número de grupos carboxila e hidroxilas que os ácidos orgânicos possuem também podem afetar a hidrólise das moléculas de amido para se tornar um polímero de glicose linear derivado da amilose ou amilopectina (KIM; SHIN, 2011). A presença de mais grupos hidroxilas e carboxilas no ácido láctico e ácido cítrico pode ser uma das razões para as alterações nas propriedades térmicas e de pasta mais significativas nesses tratamentos.

## 5.5 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (DRX) PELO MÉTODO DO PÓ

A técnica de difração de raios X é empregada para avaliar o comportamento semicristalino dos amidos, diferenciando-os entre si. Regiões cristalinas são ricas em

amilopectina e a fase amorfa é composta pela amilose (ZAVAREZE; DIAS, 2011; ZHU; XIE, 2018). Na Figura 18 e 19 e Tabela 8 e 9 podem ser observados os padrões de difração de raios X e a cristalinidade relativa dos amidos nativos e modificados.

De acordo com os picos observados, os amidos de milho regular e ceroso nativos e suas amostras modificadas por HMT apresentaram padrões de difração característicos do tipo A, com picos principais em, aproximadamente,  $2\theta \approx 15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $18^\circ$ ,  $23^\circ$  e um pico suave em  $20^\circ$ . Resultados similares foram encontrados por (JIRANUNTAKUL et al., 2011).

Figura 18 - Difratomogramas dos amidos de milho regular

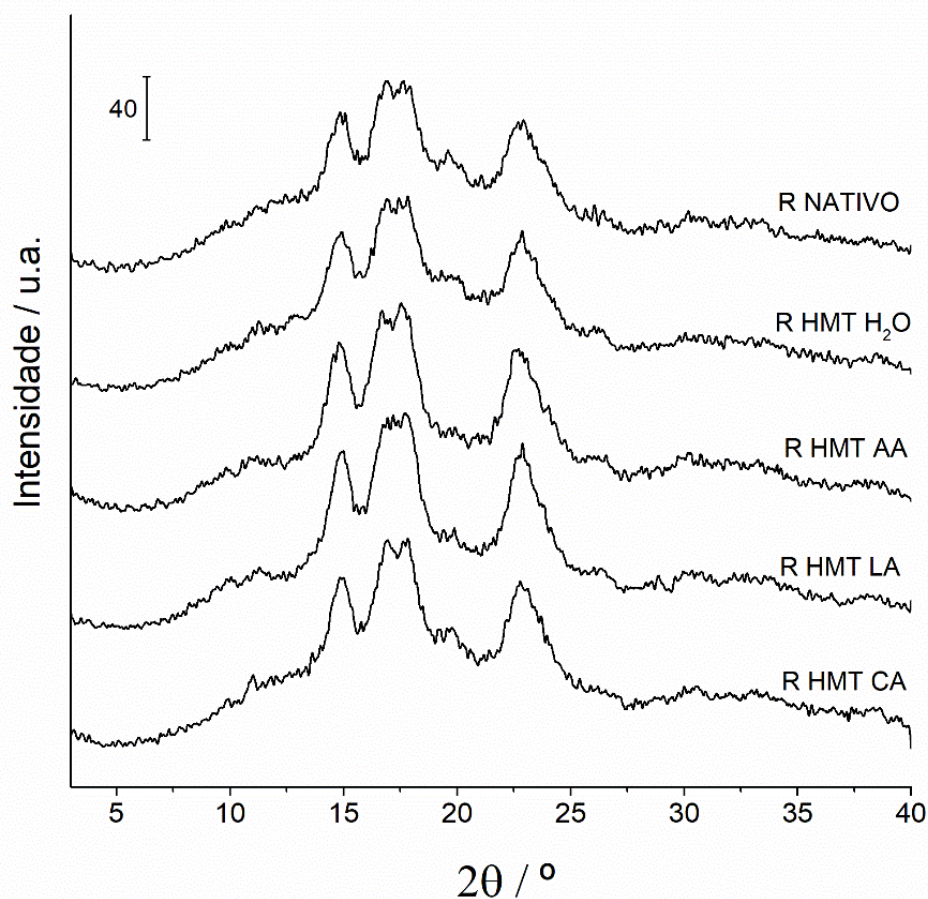
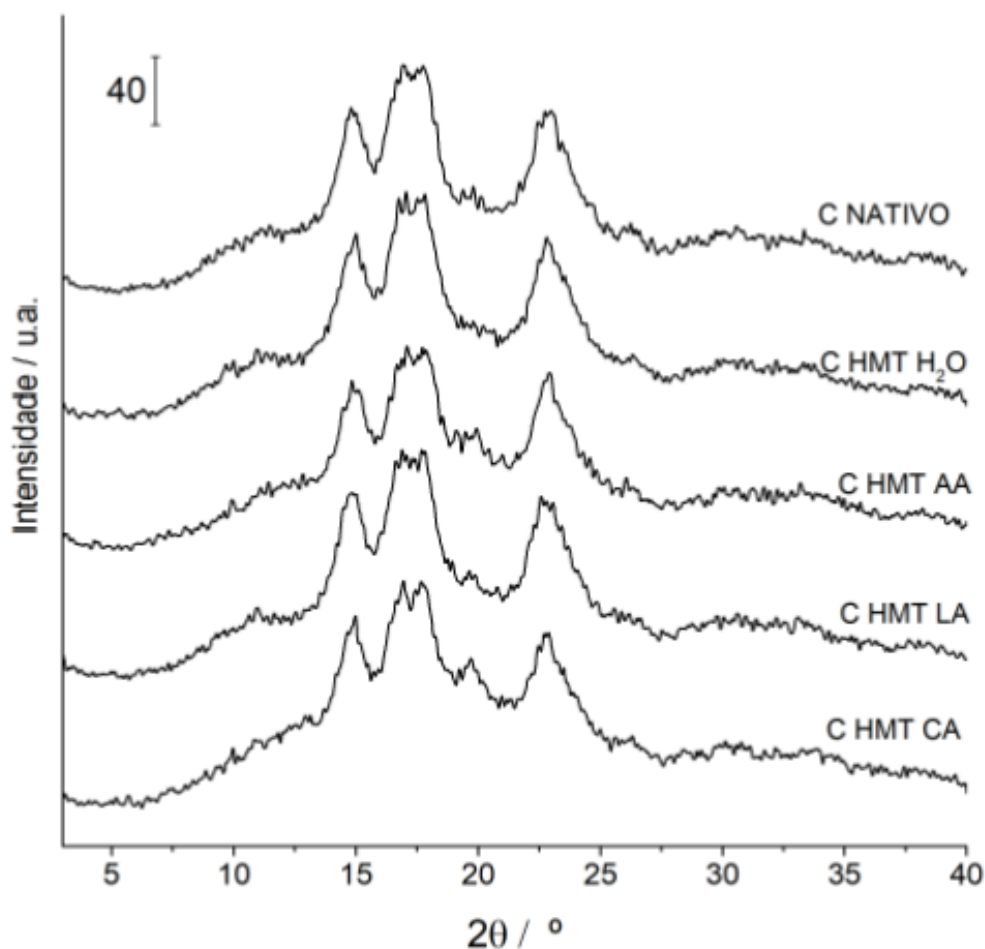


Figura 19 - Difrátogramas dos amidos de milho ceroso



O HMT não alterou os padrões de difração dos amidos de milho regular e ceroso, ainda que combinado com os ácidos orgânicos (Figura 18 e 19). Esse fato também foi observado em amidos de padrão tipo A, como mandioca e taro (GUNARATNE; HOOVER, 2002), arroz e milho (JIRANUNTAKUL et al., 2011) e amaranto orgânico (BET et al., 2018).

Por outro lado, em outros trabalhos o amido de batata (HUNG et al., 2017) e de inhame (HUNG; MY; PHI, 2014) mudaram de padrão de difração tipo B para tipo C após HMT com adição de ácidos orgânicos; sendo possível relacionar que a fonte botânica, conteúdo de amilose e arranjo da estrutura do amido influenciam na resposta ao tratamento térmico. As duplas hélices presentes nas cadeias dos amidos tipo B possuem mais mobilidade, ou seja, mais propensas a sofrer ruptura do que as do tipo A (GUNARATNE; HOOVER, 2002).

Tabela 8 – Cristalinidade relativa dos amidos de milho regular

Tratamento	Cristalinidade relativa - RC/ %
R NATIVO	29,50 <sup>a</sup> ± 0,16
R HMT H <sub>2</sub> O	26,04 <sup>c</sup> ± 0,11
R HMT AA	27,30 <sup>b</sup> ± 0,33
R HMT LA	25,23 <sup>d</sup> ± 0,15
R HMT CA	25,30 <sup>cd</sup> ± 0,20

Valores apresentados como valores médios ± desvio padrão. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). R – amido de milho regular, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico

Tabela 9 - Dados de cristalinidade relativa dos amidos de milho ceroso

Tratamento	Cristalinidade relativa – RC%
C NATIVO	32,60 <sup>a</sup> ± 0,30
C HMT H <sub>2</sub> O	29,85 <sup>b</sup> ± 0,18
C HMT AA	27,90 <sup>c</sup> ± 0,06
C HMT LA	28,70 <sup>bc</sup> ± 0,15
C HMT CA	23,80 <sup>d</sup> ± 0,25

Valores apresentados como valores médios ± desvio padrão. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). C – amido de milho ceroso, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.

No entanto, após o HMT é possível observar reduções significativas na cristalinidade relativa (RC %) – Tabelas 8 e 9 para os amidos de milho regular e ceroso modificados, respectivamente. Em outras palavras, a intensidade de difração dos picos foi menor ou a região amorfa foi maior. Os resultados são consistentes com o estudos com amido de amaranto orgânico (BET et al., 2018), batata e mandioca (HUNG et al., 2017), batata doce (XIA; LI; GAO, 2016). A combinação de HMT com ácidos orgânicos teve uma influência semelhante na estrutura cristalina do que nas amostras tratadas apenas por HMT (HMT H<sub>2</sub>O). A redução da RC dos amidos tratados estão de acordo com os resultados encontrados pela análise de DSC.

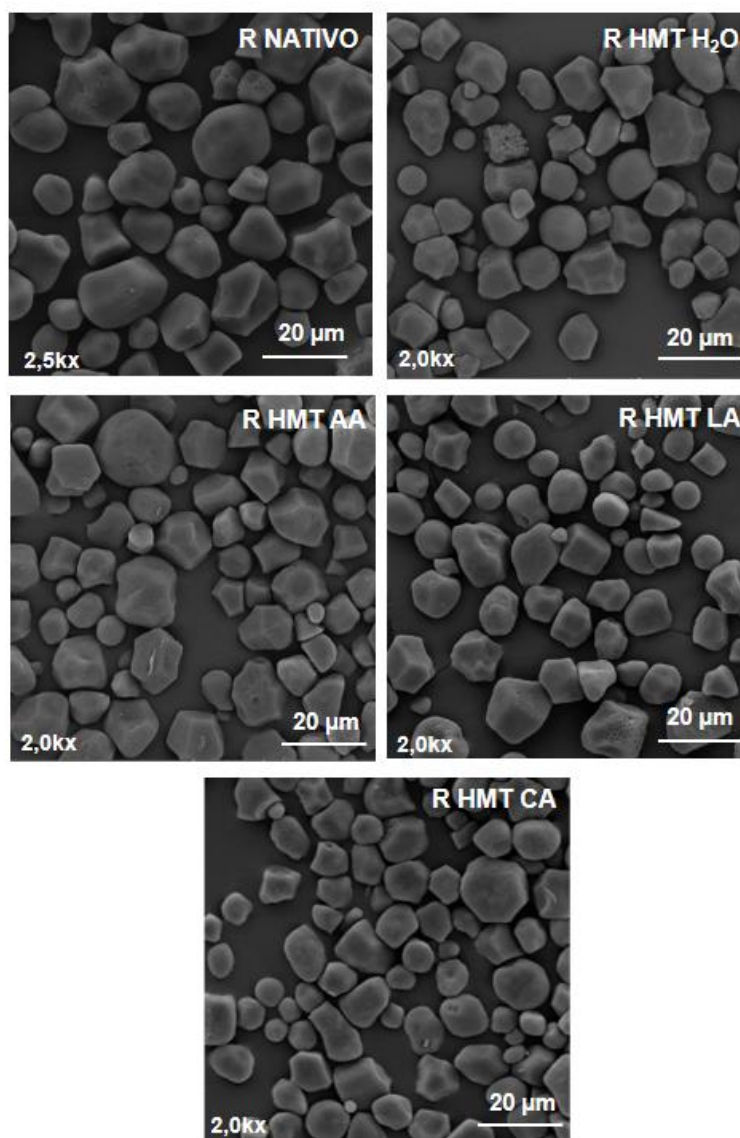
Os menores valores obtidos de RC foram nos tratamentos combinando HMT com ácido láctico e cítrico. Para o amido de milho regular a RC foi de 29,5% amostra nativa para 25,30% no tratamento HMT CA (Tabela 8); enquanto para o amido de milho ceroso esse range foi de 32,60% para 23,80% também no tratamento com ácido cítrico (Tabela 9). A influência da amilopectina na porção cristalina do amido confirmam os maiores valores de RC% para os amidos de milho ceroso. Essas observações são consistentes com os dados encontrados por Li et al (2019) em amidos de trigo tipo A e B de grânulo após esterificação com ácido cítrico, relacionando esse fenômeno com uma possível decomposição da estrutura cristalina do amido pelo ácido cítrico (LI et al., 2019)

A esterificação por ácido cítrico pode ocorrer tanto na fase amorfa quanto na porção cristalina do amido. A substituição de grupos citratos nas cadeias de amido possibilita a formação de um amido altamente reticulado, o qual pode limitar a mobilidade da cadeia, relata Xia et al. (2016) após modificar amidos de batata doce com ácido cítrico seguido de HMT (XIA; LI; GAO, 2016).

## 5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA COM EMISSÃO DE CAMPO (MEV-FEG)

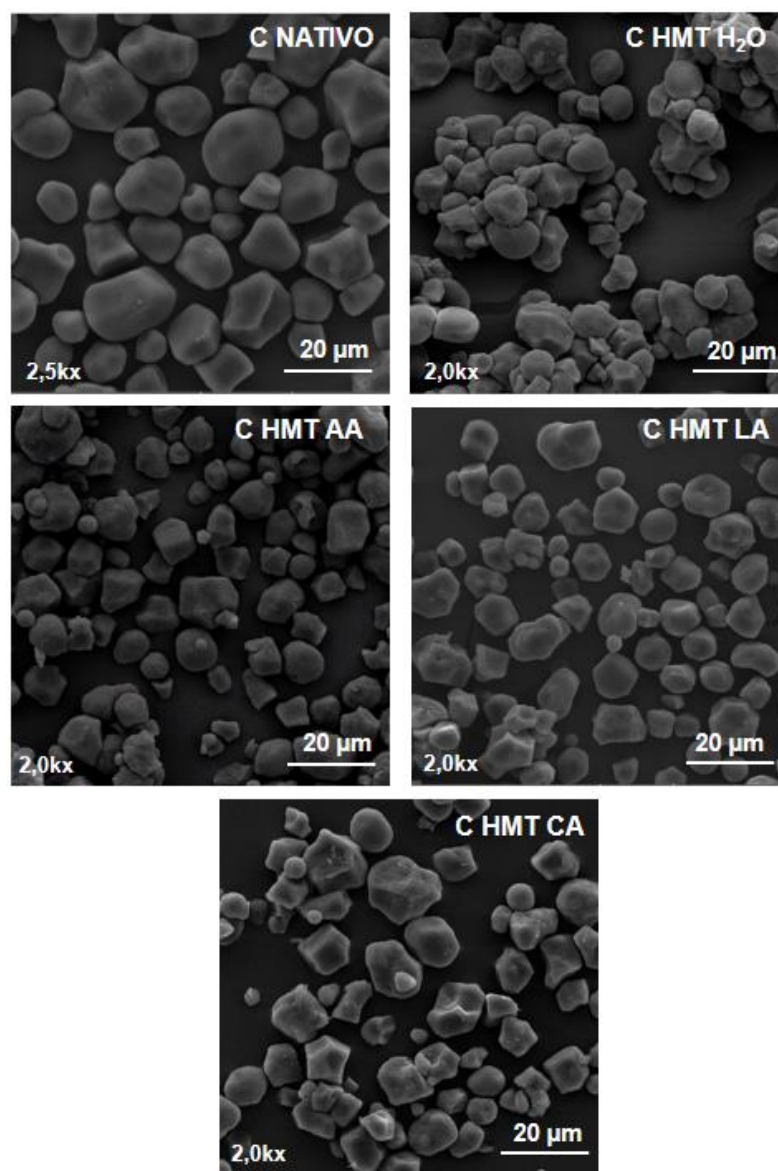
As imagens dos amidos de milho nativos regular e ceroso e as amostras modificadas por HMT combinadas com ácidos orgânicos estão na Figura 20 e 21, respectivamente. Para os amidos nativos regular e ceroso, os grânulos apresentaram formas arredondadas, irregulares ou em formato de cotovelo, com tamanhos diferentes e de superfícies lisas, como encontrado por (JIRANUNTAKUL et al., 2011).

Figura 20 - Microimagens dos amidos de milho regular. R – amido de milho regular, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.



Após HMT, pequenas alterações foram observadas na morfologia dos grânulos. É possível observar uma aglomeração dos grânulos nas amostras modificadas apenas por HMT H<sub>2</sub>O, especialmente para a amostra C HMT H<sub>2</sub>O. Resultados similares foram relatados por Zavareze et al. (2010) em amidos de arroz com diferentes teores de amilose modificados por HMT e por Chen et al. (2017) nos amidos de milho regular e ceroso modificados por HMT com 25%, sugerindo que essa aglomeração tenha sido causada por uma possível gelatinização parcial do amido durante o tratamento térmico (CHEN et al., 2017;ZAVAREZE et al., 2010).

Figura 21 - Microimagens dos amidos de milho ceroso. C – amido de milho ceroso, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido lático, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico.



Os resultados da Figura 20 e 21 indicam que as modificações contendo ácidos orgânicos, embora não tenham causado a ruptura do grânulo, provocaram a quebra do grânulo em pedaços menores e alguns poros e cavidades foram observadas nas imagens. Hung et al. (2017) encontraram comportamentos similares nos amidos de batata e mandioca modificados por HMT com adição de ácido lático e cítrico (HUNG et al., 2017). Nos amidos de batata doce, a modificação por HMT com ácido cítrico provocou colapso e destruição dos grânulos, devidos à destruição da estrutura granular do amido nativo por aquecimento e recristalização durante o armazenamento (XIA; LI; GAO, 2016).



Conforme pesquisas relacionadas, o ácido cítrico pode interromper a estrutura cristalina e criar reticulação intermolecular nas regiões amorfa e cristalina, resultando na inibição do inchaço dos grânulos (HUNG et al., 2017; LI et al., 2019). Alterações na estrutura granular dos amidos observadas nas microimagens podem afetar as propriedades tecnológicas e na digestibilidade dos amidos (HUNG; MY; PHI, 2014).

## 5.7 DIGESTIBILIDADE

As frações de RDS, SDS e RS dos amidos nativos e modificados foram tabelados e divididos de acordo com sua fonte botânica. Então, amido de milho regular e seus modificados encontram-se na Tabela 10 e amido de milho ceroso e modificados na Tabela 11. Em linhas gerais, a digestibilidade do amido sofreu significativas alterações com a modificação HMT + ácidos orgânicos.

Tabela 10 - Conteúdo de RDS, SDS, RS do amido de milho regular

Treatments	RDS %	SDS %	RS %
R NATIVO	15,71 <sup>a</sup> ± 0,36	21,70 <sup>a</sup> ± 0,72	62,60 <sup>d</sup> ± 0,36
R HMT H <sub>2</sub> O	15,09 <sup>ab</sup> ± 0,26	17,75 <sup>b</sup> ± 0,01	67,16 <sup>c</sup> ± 0,26
R HMT AA	15,16 <sup>ab</sup> ± 0,17	17,33 <sup>b</sup> ± 0,45	67,51 <sup>c</sup> ± 0,27
R HMT LA	14,33 <sup>b</sup> ± 0,12	14,50 <sup>c</sup> ± 0,58	71,17 <sup>b</sup> ± 0,46
R HMT CA	15,70 <sup>b</sup> ± 0,17	7,60 <sup>d</sup> ± 0,40	76,70 <sup>a</sup> ± 0,23

Nota: RDS – amido de rápida digestão; SDS – amido de lenta digestão, RS – amido resistente. R – amido de milho regular, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p <0,05).

Tabela 11 - Conteúdo de RDS, SDS, RS do amido de milho ceroso

Treatments	RDS %	SDS %	RS %
C NATIVO	14,22 <sup>cd</sup> ± 0,13	36,57 <sup>a</sup> ± 0,68	49,21 <sup>c</sup> ± 0,81
C HMT H <sub>2</sub> O	13,39 <sup>d</sup> ± 0,31	34,05 <sup>a</sup> ± 0,66	52,56 <sup>bc</sup> ± 0,91
C HMT AA	26,14 <sup>a</sup> ± 0,67	22,69 <sup>b</sup> ± 0,57	51,18 <sup>bc</sup> ± 0,10
C HMT LA	22,42 <sup>b</sup> ± 0,40	22,81 <sup>b</sup> ± 0,62	54,80 <sup>b</sup> ± 1,03
C HMT CA	15,87 <sup>cd</sup> ± 0,31	23,00 <sup>b</sup> ± 0,66	61,15 <sup>a</sup> ± 0,36

Nota: RDS – amido de rápida digestão; SDS – amido de lenta digestão, RS – amido resistente. C – amido de milho ceroso, HMT H<sub>2</sub>O - heat-moisture treatment com água destilada, HMT AA - heat-moisture treatment com ácido acético; HMT LA - heat-moisture treatment com ácido láctico, HMT CA - heat-moisture treatment com ácido cítrico. Os valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p <0,05).

Inicialmente, comparando as frações de RDS, SDS e RS das amostras nativas, o conteúdo de RS foi maior para o amido de milho regular, cerca de 62,60% em relação ao amido de milho ceroso com 49,21%. Essas diferenças podem estar relacionadas ao conteúdo de amilose e amilopectina (XIE et al., 2018). Zaman e Sarbini (2016) relataram que um maior teor de amilose dos amidos se correlaciona com maior resistência à digestão enzimática, em razão de sua estrutura linear compacta.

Em adição, a presença de ligação de hidrogênio ligando a cadeia glicêmica da amilose confere mais resistência à atividade enzimática; no entanto os fatores de impacto na digestibilidade não se limitam apenas ao conteúdo de amilose, porém é uma explicação plausível para tal comparação (ZAMAN; SARBINI, 2016).

Após o HMT, o comportamento das amostras R HMT H<sub>2</sub>O e C HMT H<sub>2</sub>O foi semelhante. O conteúdo de RDS e SDS diminuiu e de RS aumentou de forma significativa para ambos. O conteúdo de RS aumentou de 62,60% para 67,18% 66,24% e de 49,21% para 52,56% para os amidos de milho regular e ceroso, respectivamente, após HMT. Tendências similares foram encontradas para amidos de batata e mandioca também tratados por HMT em (HUNG et al., 2017).

Hung et al. (2016) sugere que o aumento do RS possa ser em razão de interações formadas durante o HMT, restringindo parcialmente a acessibilidade das cadeias de amido às enzimas de hidrólise (HUNG; VIEN; LAN PHI, 2016). O HMT pode ser usado para aumentar o teor de amido resistente no amido sem o rompimento da estrutura granular, relata (ZAVAREZE; DIAS, 2011)

Com a adição de ácidos orgânicos, as alterações nas frações de RDS, SDS e RS foram mais intensificadas e proporcionais à intensidade dos ácidos, sendo os valores mais significativos nos tratamentos com ácido cítrico, ácido que contém mais grupos hidroxilas e carboxilas.

O ácido cítrico quando aquecido, sofre desidratação e produz um anidrido, esse anidrido cítrico pode reagir com esse polissacarídeo para formar amido de citrato e alterar suas propriedades, em especial, sua digestibilidade. Mei et al. (2015) reportaram o aumento do conteúdo de RS nos amidos de mandioca com o aumento da concentração de ácido cítrico adicionada a esse biopolímero, pois mais hidroxilas em suas moléculas foram substituídos pelo anidrido cítrico para formar amido de citrato, que era composto da estrutura reticulada. Essa estrutura poderia resistir à hidrólise enzimática (MEI et al., 2015).

Para o amido de milho regular, o conteúdo de SDS diminuiu e o de RS aumentou após os tratamentos adicionados de ácidos orgânicos, em valores significativos ( $p < 0,05$ ). O conteúdo de RS foi de 62,60 % para o R Nativo e de 67,51%, 71,17% e 76,70% para as modificações R HMT AA, R HMT LA, R HMT CA, respectivamente. Um desempenho similar foi observado nos amidos de milho ceroso que aumentou sua fração de RS de 49,21% em C Nativo para 61,15% em C HMT CA.

Em geral, a diminuição da SDS nas amostras modificadas por HMT e ácidos orgânicos pode ter ocorrido devido à ruptura das hélices duplas que formam a estrutura do amido, evidenciada pela diminuição na entalpia de gelatinização (CHUNG; LIU; HOOVER, 2009).

O melhor impacto no conteúdo de RS pelo ácido cítrico seguido pelo ácido láctico nesse estudo consistem com pesquisas anteriores, onde as frações de amido resistente nos amidos de batata e mandioca (HUNG et al., 2017) e amidos de inhame e batata doce (HUNG; MY; PHI, 2014) foram superiores às suas amostras nativas após modificações por HMT e os ácidos láctico e cítrico.

Os autores em questão atribuíram esse desempenho a hidrólise parcial do amido, que causou movimento e rearranjo das moléculas; portanto um melhor rendimento de RS observado (HUNG et al., 2017; HUNG; MY; PHI, 2014). Shaikh et al. (2019) também avaliaram a influência do HMT combinado com ácido láctico e cítrico na digestibilidade de amidos de milho e sorgo e também relatam a hidrólise parcial ácida como uma possível responsável desse aumento. Além disso a esterificação pelo

ácido cítrico pode promover a formação de uma estrutura reticulada, essa mais resistente à hidrólise enzimática (SHAIKH et al., 2019).

A esterificação por ácido cítrico nos amidos foi avaliada por Li et al.(2019). Em seu estudo, amido de trigo de grânulos tipo A e B foram submetidos a modificação por ácido cítrico seguido de HMT e os resultados corroboram com as pesquisas anteriores. Teores elevados de RS foram encontrados, atribuídos a formação de diésteres de amido que podem resistir à hidrólise enzimática. Além da esterificação, as interações da cadeia de amido curta e ramificada geradas pela hidrólise do ácido cítrico durante o HMT podem resistir à hidrólise da enzima digestiva e, conseqüentemente, aumentar o conteúdo de RS (LI et al., 2019).

As metodologias recentes aplicadas às pesquisas de Li et al. (2019) e Shaikh et al. (2019) aos amidos de trigo, milho e sorgo, respectivamente, consistem em previamente suspender o amido em solução ácida por um tempo e concentração determinados e em seguida, submeter ao HMT. Com isso, a interação ácido e amido são mais intensificadas e os resultados, por sua vez, mais surpreendentes. Os relatos de aumento de amido resistente são expressivos, de forte impacto na morfologia do grânulos e nas propriedades tecnológicas do amido, tais como: propriedades de pasta e térmica.

## 6 CONCLUSÃO

A modificação por HMT demonstrou-se capaz de alterar as propriedades tecnológicas do amido; quando combinadas com ácidos orgânicos essas alterações são intensificadas e promovem o aumento do conteúdo de amido resistente, observados pelo método de digestibilidade *in vitro*.

Algumas características do amido permaneceram inalteradas, como padrão de difração e em geral, a morfologia dos grânulos. No entanto, funções de caráter espessante e textura são perdidas após essa modificação, visto que os amidos tratados com HMT e ácidos orgânicos apresentaram baixo ou quase nenhum pico de viscosidade, detectado pelo RVA e confirmados pelo DSC.

Os dados obtidos pela análise Termogravimetria (TG) não apresentaram diferenças significativas entre as amostras modificadas por HMT e os amidos nativos; preservando assim as características térmicas pertinentes desse biopolímero.

Comparando as fontes botânicas utilizadas, é notório a influência da amilose em todos os resultados. Alta cristalinidade relativa, elevado pico de viscosidade, maior entalpia de gelatinização e menores porções de amido resistente foram observados nos amidos de milho do tipo ceroso, quando comparados ao amido de milho regular.

A proposta inicial de avaliação da digestibilidade torna-se de grande valia, devido ao aumento significativo estatisticamente no conteúdo de amido resistente, principalmente nas modificações com ácido láctico e cítrico, tanto do amido de milho regular, quanto ao tipo ceroso. Alimentos com altos níveis de amido resistente podem ser considerados alimentos funcionais, atuando no controle da glicemia e na prevenção de doenças crônicas, como diabetes e obesidade.

Aplicações podem ser estudadas para o aproveitamento dos amidos modificados, trazendo benefícios nutricionais a quem os consome. A modificação por HMT, além disso, trata-se de uma tecnologia verde e a combinação com ácidos orgânicos, de uso alimentício, mantém a proposta de preservação ambiental e ecologicamente correta.

## REFERÊNCIAS

- AI, Y.; JANE, J. L. **Understanding Starch Structure and Functionality**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2017.
- ANGELONI MARCON, M. J.; KURTZ, D. J.; RAGUZZONI, J. C.; DELGADILLO, I.; MARASCHIN, M.; SOLDI, V.; REGINATTO, V.; AMANTE, E. R. Expansion properties of sour cassava starch (Polvilho Azedo): Variables related to its practical application in bakery. **Starch/Staerke**, v. 61, n. 12, p. 716–726, 2009.
- ARNS, B.; BARTZ, J.; RADUNZ, M.; EVANGELHO, J. A. DO; PINTO, V. Z.; ZAVAREZE, E. DA R.; DIAS, A. R. G. Impact of heat-moisture treatment on rice starch, applied directly in grain paddy rice or in isolated starch. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 708–713, 2015.
- BELLO-PEREZ, L. A.; HOYOS-LEYVA, J. D. **Development of Foods High in Slowly Digestible and Resistant Starch**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2017.
- BERTOFT, E. **Analyzing Starch Molecular Structure**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2017.
- BET, C. D. **Extração e caracterização de amido de amaranto orgânico nativo e modificado por Heat-moisture treatment**. [s.l.] Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2017.
- BET, C. D.; DE OLIVEIRA, C. S.; COLMAN, T. A. D.; MARINHO, M. T.; LACERDA, L. G.; RAMOS, A. P.; SCHNITZLER, E. Organic amaranth starch: A study of its technological properties after heat-moisture treatment. **Food Chemistry**, v. 264, n. January, p. 435–442, 2018.
- CHATPAPAMON, C.; WANDEE, Y.; UTTAPAP, D.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V. Pasting properties of cassava starch modified by heat-moisture treatment under acidic and alkaline pH environments. **Carbohydrate Polymers**, v. 215, p. 338–347, 2019.
- CHEN, L.; ZHANG, H.; MCCLEMENTS, D. J.; ZHANG, Z.; ZHANG, R.; JIN, Z.; TIAN, Y. Effect of dietary fibers on the structure and digestibility of fried potato starch: A comparison of pullulan and pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 215, n. March, p. 47–57, 2019.
- CHEN, Y.; YANG, Q.; XU, X.; QI, L.; DONG, Z.; LUO, Z.; LU, X.; PENG, X. Structural changes of waxy and normal maize starches modified by heat moisture treatment and their relationship with starch digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 177, p. 232–240, 2017.
- CHUNG, H.; LIU, Q.; HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible , slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn , pea and lentil starches q. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 3, p. 436–447, 2009.

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1527–1534, 2009.

DAI, L.; ZHANG, J.; CHENG, F. Succeeded starch nanocrystals preparation combining heat-moisture treatment with acid hydrolysis. **Food Chemistry**, v. 278, n. June 2018, p. 350–356, 2019.

DE OLIVEIRA, C. S.; BET, C. D.; BISINELLA, R. Z. B.; WAIGA, L. H.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E. Heat-moisture treatment (HMT) on blends from potato starch (PS) and sweet potato starch (SPS). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, n. 3, p. 1491–1498, 2018.

DE SIQUEIRA, G. L. DE A.; DA SILVEIRA, A. C.; LAZZAROTTO, S. R. DA S.; DE GODOY, R. C. B.; SCHNITZLER, E.; LAZZAROTTO, M. Hydrolysis of the low gelatinization temperature *Araucaria angustifolia* pine seed starch: Thermal, rheological and structural properties. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, n. 2, p. 1269–1278, 2019.

DEMIATE, I. M.; FIGUEROA, A. M.; ZORTÉA GUIDOLIN, M. E. B.; RODRIGUES DOS SANTOS, T. P.; YANGCHENG, H.; CHANG, F.; JANE, J. LIN. Physicochemical characterization of starches from dry beans cultivated in Brazil. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 812–820, 2016.

ENGLYST, H. N.; KINGMAN, S. M.; CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European journal of clinical nutrition**, v. 46 Suppl 2, n. July, p. S33-50, 1992.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 4, p. 425–437, 2002.

GWIRTZ, J. A.; GARCIA-CASAL, M. N. Processing maize flour and corn meal food products. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1312, n. 1, p. 66–75, 2014.

HUNG, P. VAN; THI, N.; HUONG, M.; THI, N.; PHI, L. Physicochemical characteristics and in vitro digestibility of potato and cassava starches under organic acid and heat-moisture treatments. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 299–305, 2017.

HUNG, P. VAN; MY, N. T. H.; PHI, N. T. L. Impact of acid and heat-moisture treatment combination on physicochemical characteristics and resistant starch contents of sweet potato and yam starches. **Starch/Stärke**, v. 66, n. 11–12, p. 1013–1021, 2014.

HUNG, P. VAN; VIEN, N. L.; LAN PHI, N. T. Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. **Food Chemistry**, v. 191, p. 67–73, 2016.

IONASHIRO, M. **Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica**

**Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. 2<sup>a</sup> ed. 2014.

ITO, V. C.; BET, C. D.; WOJEICCHOWSKI, J. P.; DEMIATE, I. M.; SPOTO, M. H. F.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice (*Oryza sativa* L.) flour. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, n. 1, p. 529–537, 2018.

JIRANUNTAKUL, W.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D. Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 2, p. 246–258, 2011.

JUANSANG, J.; PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D.; RUNGSARDTHONG, V.; PUTTANLEK, C. Effect of gelatinisation on slowly digestible starch and resistant starch of heat-moisture treated and chemically modified canna starches. **Food Chemistry**, v. 131, n. 2, p. 500–507, 2011.

JUANSANG, J.; PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; WATCHARATEWINKUL, Y. Concentration of plasticizers applied during heat–moisture treatment affects properties of the modified canna starch. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1587–1594, 2017.

KAUR, M.; SINGH, S. Influence of heat-moisture treatment (HMT) on physicochemical and functional properties of starches from different Indian oat (*Avena sativa* L.) cultivars. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 312–319, 2019.

KIM, W.; SHIN, M. Effects of organic acids and starch water ratios on the properties of retrograded maize starches. **Food Science and Biotechnology**, v. 20, n. 4, p. 1013–1019, 2011.

KLEIN, B.; PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. D. R.; COLUSSI, R.; EVANGELHO, J. A. DO; GUTKOSKI, L. C.; DIAS, A. R. G. Effect of single and dual heat-moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhao starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1578–1584, 2013.

LACERDA, L. G.; DA SILVA CARVALHO FILHO, M. A.; DEMIATE, I. M.; BANNACH, G.; IONASHIRO, M.; SCHNITZLER, E. Thermal behaviour of corn starch granules under action of fungal  $\alpha$ -amylase. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 93, n. 2, p. 445–449, 2008.

LACERDA, L. G.; DA SILVA CARVALHO FILHO, M. A.; BAUAB, T.; DEMIATE, I. M.; COLMAN, T. A. D.; ANDRADE, M. M. P.; SCHNITZLER, E. The effects of heat-moisture treatment on avocado starch granules. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, n. 1, p. 387–393, 2014.

LI, M.; XIE, Y.; CHEN, H.; ZHANG, B. Effects of heat-moisture treatment after citric acid esterification on structural properties and digestibility of wheat starch, A- and B-type starch granules. **Food Chemistry**, v. 272, n. June 2018, p. 523–529, 2019.



LI, X.; GAO, W. YUAN; HUANG, L. JING; WANG, Y. LI; HUANG, L. QI; LIU, C. XIAO. Preparation and physicochemical properties of carboxymethyl *Fritillaria ussuriensis* Maxim. starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 768–773, 2010.

LIU, G.; GU, Z.; HONG, Y.; CHENG, L.; LI, C. Structure, functionality and applications of debranched starch: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 63, p. 70–79, 2017.

LIU, K.; ZHANG, B.; CHEN, L.; LI, X.; ZHENG, B. Hierarchical structure and physicochemical properties of highland barley starch following heat moisture treatment. **Food Chemistry**, v. 271, n. July 2018, p. 102–108, 2019.

MALUCELLI, L. C.; LACERDA, L. G.; DA 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, n. 1, p. 528–532, 2015.

MEI, J. Q.; ZHOU, D. N.; JIN, Z. Y.; XU, X. M.; CHEN, H. Q. Effects of citric acid esterification on digestibility, structural and physicochemical properties of cassava starch. **Food Chemistry**, v. 187, p. 378–384, 2015.

MENDES, M. P.; DEMIATE, I. M.; MONTEIRO, A. R. G. Effect of individual and combined physical treatments on the properties of corn starch. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 40, p. 1–7, 2018.

MOLAVI, H.; RAZAVI, S. M. A.; FARHOOSH, R. Impact of hydrothermal modifications on the physicochemical, morphology, crystallinity, pasting and thermal properties of acorn starch. **Food Chemistry**, v. 245, n. October 2017, p. 385–393, 2018.

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the Relationship Between Water-saturated State and Crystallinity by the Diffraction Method for Moistened Potato Starch. **Starch - Stärke**, v. 35, n. 12, p. 407–410, 1983.

PAES, M. C. D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho 75**. Sete Lagoas, MG: 2006.

PARAGINSKI, R. T.; VANIER, N. L.; BERRIOS, J. D. J.; DE OLIVEIRA, M.; ELIAS, M. C. Physicochemical and pasting properties of maize as affected by storage temperature. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 209e214-214, 2014.

PARK, E. Y.; MA, J. G.; KIM, J.; LEE, D. H.; KIM, S. Y.; KWON, D. J.; KIM, J. Y. Effect of dual modification of HMT and crosslinking on physicochemical properties and digestibility of waxy maize starch. **Food Hydrocolloids**, v. 75, p. 33–40, 2018.

PINTO, V. Z.; MOOMAND, K.; VANIER, N. L.; COLUSSI, R.; VILLANOVA, F. A.; ZAVAREZE, E. R.; LIM, L. T.; DIAS, A. R. G. Molecular structure and granule

morphology of native and heat-moisture-treated pinhão starch. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 282–289, 2015.

PONTONIO, E.; DINGEO, C.; GOBBETTI, M.; RIZZELLO, C. G. Maize Milling By-Products: From Food Wastes to Functional Ingredients Through Lactic Acid Bacteria Fermentation. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. March, p. 1–14, 2019.

PRATIWI, M.; FARIDAH, D. N.; LIOE, H. N. Structural changes to starch after acid hydrolysis, debranching, autoclaving-cooling cycles, and heat moisture treatment (HMT): A review. **Starch/Staerke**, v. 70, n. 1–2, p. 1–13, 2018.

RAIGOND, P.; EZEKIEL, R.; RAIGOND, B. Resistant starch in food: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 10, p. 1968–1978, 2015.

ROONEY, L. W.; SERNA-SALDIVAR, S. O. **Food-Grade Corn Quality for Lime-Cooked Tortillas and Snacks**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2016. v. 2013

ŠÁRKA, E.; DVOŘÁČEK, V. New processing and applications of waxy starch (a review). **Journal of Food Engineering**, v. 206, p. 77–87, 2017.

SERNA-SALDIVAR, S. O.; PEREZ CARRILLO, E. **Food Uses of Whole Corn and Dry-Milled Fractions**. 3. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2018.

SHAIKH, F.; ALI, T. M.; MUSTAFA, G.; HASNAIN, A. Comparative study on effects of citric and lactic acid treatment on morphological, functional, resistant starch fraction and glycemic index of corn and sorghum starches. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 314–327, 2019.

SHARMA, M.; YADAV, D. N.; SINGH, A. K.; TOMAR, S. K. Effect of Heat-Moisture Treatment on Resistant Starch Content as well as Heat and Shear Stability of Pearl Millet Starch. **Agricultural Research**, v. 4, n. 4, p. 411–419, 2015.

SHI, M.; JING, Y.; YANG, L.; HUANG, X.; WANG, H.; YAN, Y.; LIU, Y. Structure and Physicochemical Properties of Malate Starches from Corn, Potato, and Wrinkled Pea Starches. **Polymers**, v. 11, n. 9, p. 1523, 19 set. 2019.

SIN, L. T.; RAHMAN, W. A. W. A.; RAHMAT, A. R.; MOKHTAR, M. Determination of thermal stability and activation energy of polyvinyl alcohol-cassava starch blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 303–305, 2011.

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456–467, 2008.

TRUNG, P. T. B.; NGOC, L. B. B.; HOA, P. N.; TIEN, N. N. T.; HUNG, P. VAN. Impact of heat-moisture and annealing treatments on physicochemical properties and digestibility of starches from different colored sweet potato varieties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1071–1078, 2017.

USDA. **COARSE GRAINS CORN PRICES Selected Export Bids**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain-corn->

coarsegrains.pdf>. Acesso em: 5 ago. 2019.

VAMADEVAN, V.; BERTOFT, E. Structure-function relationships of starch components. **Starch/Staerke**, v. 67, n. 1–2, p. 55–68, 2015.

VAN HUNG, P.; CHAU, H. T.; PHI, N. T. L. In vitro digestibility and in vivo glucose response of native and physically modified rice starches varying amylose contents. **Food Chemistry**, v. 191, p. 74–80, 2016.

VARELA, M. S.; NAVARRO, A. S.; YAMUL, D. K. Effect of hydrocolloids on the properties of wheat/potato starch mixtures. **Starch/Staerke**, v. 68, n. 7–8, p. 753–761, 2016.

WANG, S.; WANG, J.; YU, J.; WANG, S. A comparative study of annealing of waxy, normal and high-amylose maize starches: The role of amylose molecules. **Food Chemistry**, v. 164, p. 332–338, 2014.

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, n. 5, p. 568–585, 2015.

WANG, S.; COPELAND, L. Effect of Acid Hydrolysis on Starch Structure and Functionality: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 8, p. 1079–1095, 2015.

WEBER, F. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de ...**, v. 29, n. 4, p. 748–753, 2009.

WITCZAK, M.; ZIOBRO, R.; JUSZCZAK, L.; KORUS, J. Starch and starch derivatives in gluten-free systems - A review. **Journal of Cereal Science**, v. 67, n. 2015, p. 46–57, 2016.

XIA, H.; LI, Y.; GAO, Q. Preparation and properties of RS4 citrate sweet potato starch by heat-moisture treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 55, p. 172–178, 2016.

XIE, H.; GAO, J.; XIONG, X.; GAO, Q. Effect of heat-moisture treatment on the physicochemical properties and in vitro digestibility of the starch-guar complex of maize starch with varying amylose content. **Food Hydrocolloids**, v. 83, p. 213–221, 2018.

XING, J. JIE; LIU, Y.; LI, D.; WANG, L. JUN; ADHIKARI, B. Heat-moisture treatment and acid hydrolysis of corn starch in different sequences. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 11–20, 2017.

ZAMAN, S. A.; SARBINI, S. R. The potential of resistant starch as a prebiotic. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 578–584, 2016.

ZAVAREZE, E. D. R.; DIAS, A. R. G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 317–328,

2011.

ZAVAREZE, E. DA R.; STORCK, C. R.; DE 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, n. 2, p. 358–365, 2010.

ZHU, F.; XIE, Q. Structure and physicochemical properties of starch. In: **Physical Modifications of Starch**. [s.l.: s.n.]. p. 1–14.

ZHU, W.; ZHANG, Z. Preparation and characterization of catechin-grafted chitosan with antioxidant and antidiabetic potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 70, p. 150–155, 2014.