

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**CAMILA DELINSKI BET**

**EXTRAÇÃO DE AMIDO DE *Amaranthus caudatus* ORGÂNICO POR  
IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA E INCORPORAÇÃO DE  
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS POR ULTRASSOM E LIOFILIZAÇÃO**

**PONTA GROSSA**

**2021**

**CAMILA DELINSKI BET**

**EXTRAÇÃO DE AMIDO DE *Amaranthus caudatus* ORGÂNICO POR  
IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA E INCORPORAÇÃO DE  
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS POR ULTRASSOM E LIOFILIZAÇÃO**

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

Orientador: Prof. Dr. Egon Schnitzler  
Co-orientadora: Prof. Dra. Marina Tolentino Marinho

**PONTA GROSSA  
2021**

Bet, Camila Delinski

B561            Extração de amido de *Amaranthus caudatus* orgânico por irradiação ultrassônica e incorporação de frutooligossacarídeos por ultrassom e liofilização / Camila Delinski Bet. Ponta Grossa, 2021.  
284 f.

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

Orientador: Prof. Dr. Egon Schnitzler.

Coorientadora: Profa. Dra. Marina Tolentino Marinho.

1. Sonicação. 2. Amarantho. 3. Prebióticos. 4. Alimentos funcionais. I. Schnitzler, Egon. II. Marinho, Marina Tolentino. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. IV.T.

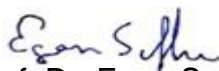
CDD: 664

## TERMO DE APROVAÇÃO

**CAMILA DELINSKI BET**

**“Extração de amido de *Amaranthus caudatus* orgânico por irradiação ultrassônica e incorporação de frutooligossacarídeos por ultrassom e liofilização”.**

Tese aprovada como requisito para obtenção do grau de Doutor(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Egon Schnitzler



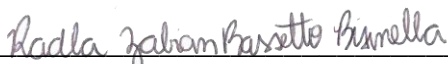
---

Prof. Dr. Augusto Pumacahua Ramos



---

Prof. Dr. Tiago André Denck Colman



---

Profa. Dra. Radla Zabian Bassetto Bisinella



---

Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem

Ponta Grossa, 30 de agosto de 2021.

Dedico a toda minha família, os quais me ajudaram a superar todas as barreiras e me motivaram a buscar o meu melhor todos os dias!

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça da vida, pela sabedoria, por tudo o que sou. À Maria, minha mãe singela, doce e pura, que com seu manto me recobre de proteção e fé!

À minha mãe, Irene Delinski, pela audácia, coragem e determinação, além de todo cuidado e carinho incomparáveis. Aos meus queridos irmãos, Joanise Consuelo, Cleverson e Clayton pela inspiração e motivação em todos os meus sonhos. A todos da minha família que me sustentaram no amor e na alegria!

Ao meu esposo, Bruno Bet, pelo companheirismo, amor e exemplo que é para mim, como pessoa e profissional. Você foi fundamental para que eu conseguisse chegar até aqui. E um agradecimento especial ao nosso querido filho, Breno Rafael, um grande presente e milagre de Deus em nossas vidas. Sem você filho, nossa vida não teria sentido!

Ao grande mestre Professor Dr. Egon Schnitzler, por acreditar em meu trabalho e me dar a oportunidade maravilhosa de aprender contigo. Grandes ensinamentos que carrego para a vida! Não posso deixar de agradecer pelo carinho e torcida contagiante da sua querida esposa Maria Alice Schnitzler.

Minha co-orientadora e amiga, Prof. Dra. Marina Tolentino. Um grande exemplo de formadora desde a minha graduação. Carisma e alegria, recheados de muito conhecimento e análise crítica. Seus conselhos sempre foram certos!

Ao Prof. Dr. Luiz Gustavo pela amizade, incentivo e apoio em todos os trabalhos nos quais tive um enorme aprendizado.

Prof. Dr. Ivo Demiate e Prof. Ana Cláudia Barana que me encaminharam à pesquisa desde a Iniciação Científica e abriram portas para que eu pudesse me encantar com a vida de laboratório!

Ao Prof. Dr. Tiago Colman, um amigo que mesmo de longe não media esforços para me auxiliar. Obrigada pela sua paciência e por compartilhar comigo seu conhecimento vasto.

À Prof. Dra. Renata Dinnies S. Salem pela amizade, pelas aulas brilhantes e de muito conhecimento partilhado.

Ao Prof. Dr. Augusto Pumacahua Ramos, que me impulsionou no estudo do amaranto, e tão bem me recebeu no Peru, uma viagem inesquecível que carrego com tanto carinho.

À Prof. Dra. Cleoci Beninca, amiga de todas as horas, de tantas dicas e conselhos incríveis. Uma irmã na fé!

À Prof. Dra Radla Bisinella, amiga querida, companheira de laboratório que tanto me ensinou e me deu coragem a prosseguir!

À Prof. Dra. Cristina Soltovski, uma amiga especial pela qual tenho tanto respeito e admiração. Você me encaminhou em todas as análises, e com paciência e carinho me ensinou tanto!

À saudosa Universidade Estadual de Ponta Grossa, berço de minha formação. À Denise pela sua disponibilidade e proatividade, e pela riqueza de informações passadas durante todos os anos de caminhada.

Ao Grupo de Estudos Termoanalíticos de Alimentos, Fármacos e Produtos Químicos (GETAFPQ) pela parceria, disposição e partilhas.

Ao Complexo de Laboratórios multiusuários (C-LABMU) na pessoa da Vanessa Parise e Rachel pela amizade e pelo olhar sistêmico, criterioso e preciso para realização das análises.

Ao Laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) na figura ilustre do Prof. Dr. Eduardo, atencioso e prestativo, também possibilitou também a realização deste sonho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

*Por vezes, sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas, o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

(Madre Tereza de Calcutá)



## RESUMO

A indústria alimentícia investe recursos para pesquisa e desenvolvimento em busca de novas formulações e tecnologias relacionadas a alimentos naturais, de boa qualidade sensorial e funcionais, visando reduzir a adição de compostos sintéticos. Devido à capacidade de formação de gel, disponibilidade e baixo custo o amido tem uso diversificado em alimentos, podendo ser explorado como veículo de substâncias bioativas, como os frutooligossacarídeos. Amidos de fontes não convencionais, como o amaranto, também vem sendo valorizados pelas diferentes propriedades tecnológicas. O processo de extração do amido é relativamente simples, e novas técnicas vem sendo pesquisadas, destacando-se os processos físicos, como o ultrassom (US), tecnologia limpa, com menor consumo de solvente, de alta reprodutibilidade, possibilidade de escalonamento e eficácia. Com isso, o objetivo deste estudo foi realizar a extração de amido de *Amaranthus caudatus* assistida por ultrassom a partir do grão e da farinha, avaliar as propriedades do amido extraído a partir de condições definidas por delineamento central composto rotacionado. Na sequência, visou-se realizar a incorporação de frutooligossacarídeos (FOS) em farinha e amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e por ultrassom a partir de ultrassom e liofilização. No Capítulo 1 encontra-se uma abordagem teórica a respeito de amido, extração assistida por ultrassom e enriquecimento de farinha e amidos, voltando-se principalmente para o que já foi estudado envolvendo o amaranto. O Capítulo 2 engloba a morfologia do grão de amaranto, bem como os danos induzidos pela aplicação do ultrassom nas sementes. Foi possível identificar as frações que compõem a semente, com destaque para o perisperma, que empacota o conteúdo amiláceo. Após exposição por US, danos e rompimento da estrutura do grão foram intensificadas com o tempo e amplitude de vibração. O amido liberado durante o tratamento foi visualizado por microscopia e as temperaturas e entalpia de gelatinização analisadas, que foram impactadas pela sonicação. O Capítulo 3 envolve a extração de amido a partir da farinha de amaranto em comparação à metodologia aquosa. A aplicação do US permitiu maior rendimento quando menor tempo de extração foi utilizado, principalmente sob baixa amplitude de vibração, que também conferiu características de pasta, cor, estabilidade térmica, entalpia de gelatinização e conteúdo proteico interessantes para aplicação pela indústria alimentícia. Para concluir, o último Capítulo apresenta a incorporação de FOS tanto na farinha quanto no amido nativo e extraído por US (sendo escolhido o melhor ponto da extração: maior estabilidade térmica, melhor rendimento, menor entalpia de gelatinização). As técnicas utilizadas para incorporação foram o US e a liofilização. As misturas apresentaram melhor distribuição com a aplicação do US precedendo a liofilização, com maior índice de branquura, baixa viscosidade e com a formação de um emaranhado. Foi possível manter alta concentração de FOS no amido nativo e extraído por US. Dessa forma, a utilização de farinha ou amido enriquecido com prebiótico, destacando-se neste estudo, os FOS, é uma estratégia interessante para a indústria. Além de ser direcionado ao público geral, também poderia ser utilizado para portadores de doença celíaca, contribuindo para diversificação da dieta, valor nutricional, melhor composição de aminoácidos quando comparado aos cereais e leguminosas e atendendo a demanda de produtos inovadores e práticos.

**Palavras-chave:** Sonicação; amaranto; prebióticos, alimentos funcionais.

## ABSTRACT

The food industry invests resources for research and development in search of new formulations and technologies related to natural foods, with good sensory quality and functionality, aiming to reduce the addition of synthetic compounds. Due to its gel-forming capacity, availability, and low cost, starch has diversified use in foods, and can be explored as a vehicle for bioactive substances, such as fructooligosaccharides. Starches from non-conventional sources (such as amaranth) have also been valued for their different technological properties. The starch extraction process is relatively easy, and new techniques are being researched, with emphasis on physical processes, such as ultrasound (US), a clean technology, with lower solvent consumption, high reproducibility and efficiency. With this, the objective of this study was to perform the ultrasound-assisted extraction of *Amaranthus caudatus* starch from the grain and flour, evaluate the properties of the extracted starch from conditions defined by central compound rotated design. In the sequence, it was aimed to perform the incorporation of fructooligosaccharides (FOS) in flour and amaranth starch extracted by aqueous methodology and by ultrasound from ultrasound and lyophilization. In Chapter I there is a theoretical approach to starch, ultrasound-assisted extraction and enrichment of flour and starches, focusing mainly on what has already been studied involving amaranth. Chapter II encompasses the morphology of the amaranth grain, as well as the damage induced by ultrasound application to the seeds. The fractions that make up the seed were identified, with emphasis on the perisperm, which packs the starchy content. After US exposure, damage and rupture of the grain structure were intensified with time and vibration amplitude. Starch released during treatment was visualized by microscopy and gelatinization temperatures and enthalpy analysed, which were impacted by sonication. Chapter III involves the extraction of starch from amaranth flour compared to the aqueous methodology. The application of US allowed higher yield when shorter extraction time was used, especially under low vibration amplitude, which also imparted interesting paste characteristics, colour, thermal stability, gelatinization enthalpy and protein content. To conclude, the last Chapter presents the incorporation of FOS both in the flour and in the native and US-extracted starch (the best extraction point being chosen). The techniques used for incorporation were US and freeze-drying. The mixtures presented better distribution with the application of US preceding lyophilization, with higher whiteness index, low viscosity, and with the formation of a tangle. It was possible to maintain high FOS concentration in the native and US-extracted starch. Thus, the use of flour or starch enriched with prebiotics, highlighting in this study, the FOS, is an interesting strategy for the industry. Besides being directed to the general public, it could also be used for people with celiac disease, contributing to diet diversification, nutritional value, better amino acid composition when compared to cereals and legumes, and meeting the demand for innovative and practical products.

**Keywords:** Sonication; amaranth; prebiotics, functional foods.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1	- Representação morfológica de grânulos de amido de diferentes fontes botânicas.....	22
Figura 1.2	- Estrutura do grânulo de amido de milho até a obtenção de nanocristal.....	23
Figura 1.3	- Potenciais aplicações do amaranto na indústria alimentícia.....	30
Figura 1.4	- Corte transversal e longitudinal de semente de amaranto.....	31
Figura 1.5	- Figura 1.5 – Componentes principais de ultrassom de probe.	36
Figura 1.6	- Esquema de cavitação durante a aplicação do US.....	40
Figura 1.7	- Colapso das bolhas de cavitação para extração de materiais da matriz celular.....	41
Figura 1.8	- Desintegração das paredes celulares e liberação do amido por US.....	44
Gráfico 1.1	- Evolução de pesquisas relacionadas às fontes não convencionais de amido.....	30
Quadro 1.1	- Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom.....	48
Quadro 1.2	- Pesquisa relacionada à utilização do amido de amaranto em encapsulação ou incorporação de compostos.....	65
Figura 2.1	- Posicionamento do probe durante tratamento por US.....	76
Figura 2.2	- Microimagens do grão de <i>Amaranthus caudatus</i> .....	79
Figura 2.3	- Cotilédones do grão de amaranto.....	82
Figura 2.4	- Perisperma amiláceo da semente de amaranto.....	83
Figura 2.5	- Microimagens de grãos de amaranto orgânico nativo e exposto ao tratamento por US.....	87
Figura 2.6	- Imagens obtidas por microscopia óptica de grãos de amaranto sonicados.....	91
Figura 2.7	- Microimagens de amido obtidos após sonicação de grãos de amaranto.....	96
Figura 2.8	- Curvas DSC para amido de amaranto extraído de grãos de amaranto.....	108

Figura 3.1	- Desenho esquemático da posição do probe na amostra.....	112
Figura 3.2	- Extração de amido de amaranto assistida por US.....	113
Figura 3.3	- Microimagens da farinha de amaranto.....	124
Figura 3.4	- Microimagens de amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e assistida por ultrassom.....	138
Figura 3.5	- Espaço de cor CIE L*, a*, b*.....	148
Figura 3.6	- Espaço de cor L*C*h <sup>0</sup> .....	151
Figura 3.7	- Curva TG para farinha de amaranto.....	153
Figura 3.8	- Curvas TG para amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e US.....	155
Figura 3.9	- Curvas DSC para a amido de amaranto nativo extraído por metodologia aquosa e assistida por US.....	161
Figura 3.10	- Curvas RVA para amido de amaranto nativo e extraído por ultrassom.....	174
Figura 3.11	- Difractogramas para Farinha e Amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e por US.....	188
Gráfico 3.1	- Pré-testes da concentração farinha:água e rendimento para extração de amido por US.....	125
Gráfico 3.2	- Comparação do rendimento de extração (b.s) para o tempo de 30 min e amplitudes de vibração de 32%, 60% e 88%.....	133
Gráfico 3.3	- Efeito do tempo e amplitude de vibração na T <sub>onset</sub> e T <sub>p</sub> representados por gráfico de contorno.....	172
Gráfico 3.4	- Efeito do tempo e amplitude de vibração na viscosidade mínima e tempo de pico representados por gráfico de contorno.....	186
Fluxograma 3.1	- Processo de extração de amido assistido por ultrassom.....	111
Fluxograma 3.2	- Extração de amido por processo aquoso.....	114
Figura 4.1	- Ensaio de incorporação de FOS em farinha e amido de amaranto.....	205
Figura 4.2	- Incorporação de FOS em farinha e amido de amaranto.....	208
Figura 4.3	- Mistura física para sistema Farinha-FOS e Amido-FOS.....	212
Figura 4.4	- Microimagens de frutooligossacarídeos submetidos ou não ao processo de ultrasonicação e liofilização.....	213

Figura 4.5	- Microimagens de amido de amaranto e influência da sonicação e liofilização na morfologia.....	214
Figura 4.6	- Microimagens de farinha de amaranto incorporada ou não de FOS.....	217
Figura 4.7	- Microimagens de amido de amaranto extraído por metodologia aquosa incorporados ou não com FOS.....	219
Figura 4.8	- Microimagens amido de amaranto extraído por US (15' 40%) incorporados ou não de FOS.....	220
Figura 4.9	- Perfil cromatográfico de Frutooligossacarídeos.....	221
Figura 4.10	- Curvas TG para frutooligossacarídeos.....	223
Figura 4.11	- Curvas TG/DTG para farinha de amaranto incorporada ou não de FOS.....	224
Figura 4.12	- Curvas TG/DTG para amido de amaranto nativo incorporado ou não de FOS.....	225
Figura 4.13	Curvas TG/DTG para amido de amaranto extraído por US (%) incorporado ou não de FOS.....	226
Figura 4.14	- Curvas DSC para farinha e amido de amaranto incorporados ou não com frutooligossacarídeos.....	230
Figura 4.15	- Curvas RVA para farinha e amido incorporados ou não com frutooligossacarídeos.....	236

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	- Comparação da composição nutricional de grãos.....	32
Tabela 1.2	- Comparação da composição nutricional de grãos de diferentes espécies de amaranto.....	32
Tabela 2.1	- Planejamento composto central 2 <sup>K</sup> para sonicação de grãos de amaranto.....	75
Tabela 2.2	- Condições experimentais do ultrassom e rendimento da extração de amido assistida por US a partir do grão de amaranto.....	84
Tabela 2.3	- Resultados para parâmetros de gelatinização do amido extraído do grão de amaranto por US.....	102
Tabela 3.1	- Planejamento composto central 2 <sup>K</sup> para extração de amido da farinha de amaranto.....	113
Tabela 3.2	- Composição proximal da farinha de <i>Amaranthus caudatus</i> .....	120
Tabela 3.3	- Condições experimentais do ultrassom e rendimento da extração de amido assistida por US a partir de farinha de amaranto.....	129
Tabela 3.4	- Tamanho médio dos grânulos de amido de amaranto por extração aquosa ou assistida por ultrassom.....	143
Tabela 3.5	- Resultados de proteínas, cinzas e umidade para farinha de amaranto e amido obtido por extração aquosa e assistida por ultrassom.....	145
Tabela 3.6	- Parâmetros de cor para amido de amaranto extraído por processo aquoso e por ultrassom.....	150
Tabela 3.7	- Resultados de termogravimetria para amido de amaranto extraído por método aquoso e assistido por ultrassom.....	158
Tabela 3.8	- Resultados DSC para amido extraído por US e processo aquoso	162
Tabela 3.9	- Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p) para cada fator em relação à T <sub>onset</sub> e T <sub>pico</sub> utilizando delineamento composto central rotacional.....	171
Tabela 3.10	- Comparação de propriedades de pasta de amido de amaranto, arroz, milho normal e ceroso.....	176

Tabela 3.11	- Resultados de propriedades de pasta para o amido extraído por processo aquoso e assistido por ultrassom.....	178
Tabela 3.12	- Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p) para cada fator em relação à viscosidade mínima e tempo de pico utilizando delineamento composto central rotacional.....	185
Tabela 3.13	- Cristalinidade relativa para amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e assistida por ultrassom.....	189
Tabela 4.1	- Cálculos para determinação da quantidade de FOS a ser incorporada em farinha e amido de amaranto.....	204
Tabela 4.2	Ensaio utilizado para incorporação de FOS em amido e farinha de amaranto.....	206
Tabela 4.3	- Áreas dos picos e concentração de FOS nas amostras incorporadas.....	222
Tabela 4.4	- Resultados extraídos das curvas TG para FOS, farinha e amido de amaranto, bem como para as incorporações por US e liofilização.....	227
Tabela 4.5	- Temperaturas de transição e entalpia de gelatinização para farinha e amido incorporados ou não com frutooligossacarídeos...	230
Tabela 4.6	- Propriedades de pasta para farinha e amido de amaranto incorporado ou não com FOS.....	240
Tabela 4.7	- Colorimetria de farinha e amido incorporados ou não com FOS.....	245

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>CAPÍTULO 1 – EXTRAÇÃO DE AMIDO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E INCORPORAÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS: REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
1.1 INTRODUÇÃO.....	20
1.2 OBJETIVOS.....	21
1.2.1 Objetivo Geral.....	21
1.2.2 Objetivos Específicos.....	21
1.3 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
1.3.1 Amido.....	21
1.3.2 Estrutura Química do Amido.....	23
1.3.3 Utilização Industrial do Amido.....	26
1.3.4 Amido de Amaranto.....	29
1.3.5 Extração de Amido.....	34
1.3.6 Irradiação Ultrassônica.....	35
1.3.7 Tendências para Formulação de Novos Produtos.....	56
1.3.8 Alimentos Funcionais.....	57
1.3.9 Enriquecimento de Farinha e Amido com Compostos Bioativos.....	64
1.3.10 Ultrassom para Incorporação de Compostos.....	68
1.3.11 Liofilização para Incorporação de Compostos.....	69
1.4 CONCLUSÃO.....	71
<b>CAPÍTULO 2 – ASPECTOS MORFOLÓGICOS DAS SEMENTES ORGÂNICAS DE <i>Amaranthus caudatus</i> E IMPACTO DA IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA.....</b>	<b>72</b>
2.1 INTRODUÇÃO.....	73
2.2 OBJETIVOS.....	74
2.2.1 Objetivo Geral.....	74
2.2.2 Objetivos Específicos.....	74
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	74
2.3.1 Materiais.....	74
2.3.2 Irradiação Ultrassônica em Grãos de Amaranto.....	75
2.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) e Microscopia Óptica.....	77



2.3.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	78
2.3.5	Análise Estatística.....	78
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	78
2.4.1	Morfologia da Semente de <i>Amaranthus caudatus</i> .....	78
2.4.2	Tratamento dos Grãos de Amarantho com Irradiação Ultrassônica .....	84
2.4.3	Efeito do Ultrassom na Morfologia de Sementes de Amarantho .....	86
2.4.4	Amido Isolado após Tratamento Ultrassônico dos Grãos .....	94
2.4.5	Calorimetria Exploratória Diferencial.....	101
2.5	CONCLUSÃO .....	105
<b>CAPÍTULO 3 – EXTRAÇÃO DE AMIDO DE AMARANTO ORGÂNICO ASSISTIDA POR ULTRASSOM A PARTIR DA FARINHA.....</b>		<b>106</b>
3.1	INTRODUÇÃO.....	107
3.2	OBJETIVOS.....	109
3.2.1	Objetivo Geral .....	109
3.2.2	Objetivos específicos .....	109
3.3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	110
3.3.1	Materiais .....	110
3.3.2	Composição Proximal da Farinha de Amarantho.....	110
3.3.3	Extração de Amido de Amarantho Assistida por Ultrassom.....	110
3.3.4	Extração de Amido de Amarantho por Processo Aquoso a Temperatura Ambiente e a Quente.114	
3.3.5	Caracterização da Farinha e do Amido.....	115
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	120
3.4.1	Composição Proximal da Farinha de Amarantho.....	120
3.4.2	Microimagens da Farinha de Amarantho .....	122
3.4.3	Extração Assistida por Ultrassom de Amido de Amarantho.....	125
3.4.4	Avaliação da Extração por US .....	130
3.4.5	Caracterização do Amido Isolado por Ultrassom.....	137
3.4.6	Perspectivas para Aplicações de Amarantho e de Amido Extraído por Ultrassom 194	
3.5	CONCLUSÃO .....	196
<b>CAPÍTULO 4 - INCORPORAÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS EM FARINHA E AMIDO DE AMARANTO ORGÂNICO POR IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA ASSISTIDA POR LIOFILIZAÇÃO.....</b>		<b>198</b>
4.1	INTRODUÇÃO.....	199

4.2	OBJETIVOS.....	202
4.2.1	Objetivo Geral.....	202
4.2.2	Objetivos Específicos.....	203
4.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	203
4.3.1	Materiais.....	203
4.3.2	Incorporação de Frutooligossacarídeos em Farinha e Amido de Amaranato ...	203
4.3.3	Caracterização das Amostras com Incorporação de Frutooligossacarídeos ..	208
4.3.4	Análise Estatística.....	211
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	212
4.4.1	Microimagens de Farinha e Amido Incorporados com FOS.....	212
4.4.2	Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	221
4.4.3	Termogravimetria.....	223
4.4.4	Calorimetria Exploratória Diferencial.....	229
4.4.5	Propriedades de Pasta.....	235
4.4.6	Colorimetria.....	244
4.5	Propostas futuras.....	247
4.6	CONCLUSÃO.....	249
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>251</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>253</b>

## INTRODUÇÃO

A irradiação por ultrassom (US) é utilizada na indústria com diversas finalidades, como extração, homogeneização e modificação de compostos a partir do fenômeno de cavitação gerado pelo gradiente de pressão nesta técnica. Esta perturbação que a cavitação acústica promove na matriz celular favorece a liberação de compostos de interesse, como o amido. Entre os pontos positivos desta técnica, destaca-se o seu caráter físico, sem a geração de resíduos químicos, ressaltando-se a questão ambiental, tão valorizada atualmente. Paralelo a isso, o apelo crescente do consumidor por alimentos mais naturais e saudáveis tem sido um fator decisivo nas áreas de pesquisa e desenvolvimento. Com isso, o ultrassom também pode ser utilizado na extração de amido a partir de matérias-primas orgânicas, fato ainda pouco explorado na literatura.

Em função da sua biodegradabilidade, baixo custo e disponibilidade na natureza, o amido é alvo de pesquisas com uma grande diversidade de aplicações tanto na indústria alimentícia, quanto farmacêutica, papelreira, têxtil, entre outras. No entanto, alcançar propriedades tecnológicas específicas para sua aplicação demanda estudos a fim de obter respostas satisfatórias e que supram as exigências de um mercado em expansão.

De acordo com a *Data Bridge Market Research* (2021), em 2027, o mercado global de amido deve lucrar US\$ 139,90 bilhões, mostrando um crescimento a uma taxa composta anual de 6,4% de 2020 a 2027.

Diante desta demanda, uma fonte potencial para extração de amido é o amaranto. A partir de suas características peculiares, pode oportunizar diferentes aplicações para indústria de alimentos. Em 2017 o mercado global do amaranto foi estimado em U\$ 5,88 bilhões, com projeção de expandir 11,3% até 2025. Na Europa foi avaliado em US\$ 2.197,4 milhões em 2020 e deve crescer a uma taxa composta de crescimento anual de 10,8% de 2021 a 2028. Isso se deve principalmente pelos benefícios do consumo, crescente demanda de alimentos proteicos por veganos, e o envelhecimento da população (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

Uma área promissora da aplicação de amido está voltada para a produção de alimentos funcionais. Esta classe soma benefícios ao corpo, promoção do bem-estar, aspectos sensoriais e nutricionais dos alimentos, os quais fazem parte das exigências de um novo perfil de consumidores. O aumento da incidência de doenças crônicas e

a diminuição na qualidade de vida despertou o cuidado com a saúde, encorajando pesquisas que revelem novas perspectivas para o setor alimentício.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o processo de isolamento de amido de *Amaranthus caudatus* orgânico por irradiação ultrassônica por meio de delineamento composto central rotacionado e caracterizar suas propriedades térmicas, de pasta, estruturais e morfológicas. Além disso, realizar a incorporação de frutooligossacarídeos em matriz de farinha e amido de amaranto por meio de ultrassom e liofilização.

Assim, este trabalho foi organizado em quatro capítulos. No primeiro capítulo foi realizada uma pesquisa exploratória por meio de uma revisão bibliográfica conceituando e atualizando informações acerca dos temas relacionados ao trabalho, ou seja, irradiação ultrassônica, amido e alimentos funcionais.

No segundo capítulo, foi estudada a morfologia do grão de amaranto e a influência do tratamento por ultrassom na semente. Uma pequena quantidade de amido foi liberada durante a exposição ao US, a qual foi caracterizada por calorimetria diferencial exploratória e microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo.

No terceiro capítulo é apresentada a extração assistida por US de amido a partir da farinha. O amido extraído foi caracterizado por análise térmica, morfológica, estrutural, colorimétrica e viscoamilográfica. Suas propriedades foram comparadas às obtidas por metodologia de extração aquosa.

No último capítulo encontra-se a parte de aplicabilidade tecnológica do amido extraído por irradiação ultrassônica que apresentou as melhores características avaliadas quanto ao rendimento, estabilidade térmica, entalpia e propriedades de pasta. Assim, foi realizada a incorporação de frutooligossacarídeos (FOS) neste amido, sendo comparado à adição ao amido nativo. A farinha também foi alvo desta adição. O intuito desta incorporação está pautado no apelo da indústria e do consumidor para inovação de produtos, bem como, no desenvolvimento de novas alternativas para melhoria do valor nutricional e funcional de alimentos com apelo prebiótico ou que possam diversificar e enriquecer a dieta de pessoas com dietas restritivas.

## **CAPÍTULO 1 – EXTRAÇÃO DE AMIDO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E INCORPORAÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS: REVISÃO DE LITERATURA**

### **RESUMO**

O amido é um ingrediente estratégico para diferentes ramos industriais devido às propriedades tecnológicas que ele é capaz de conferir. A indústria alimentícia também se beneficia deste polissacarídeo visando conferir viscosidade e textura aos produtos, e até mesmo como veículo de substâncias. Com o aumento do mercado e as novas tendências de consumo, a pesquisa acerca de fontes não convencionais é promissora. Assim, o amaranto se destaca como uma fonte potencial a ser explorada devido às suas características peculiares, principalmente com relação à pequena granulometria. Somado a isso, alternativas para isolamento do amido que propiciem maior rendimento e menor impacto ambiental são relevantes. Neste sentido, o ultrassom tem sido investigado como tecnologia limpa de extração de amido de várias fontes botânicas, apresentando resultados interessantes na melhoria de rendimento e redução do teor proteico residual. O direcionamento da aplicação do amido obtido também se faz necessária, destacando o seu uso na linha de alimentos funcionais, ainda pouco explorada na literatura. A incorporação de prebióticos como fructooligosacarídeos no amido de amaranto poderia agregar valor ao produto, e possibilitar a diversificação da dieta, bem como, a melhoria nutricional de alimentos. Para facilitar a incorporação, o ultrassom e a liofilização são técnicas que despertam a atenção. Assim, o objetivo deste capítulo é apresentar os principais conceitos voltados ao amido de amaranto, extração assistida por US e enriquecimento com fructooligosacarídeos.

**Palavras-chave:** Amaranto. Irradiação ultrassônica. Liofilização. Alimentos funcionais.

### **ABSTRACT**

Starch is a strategic ingredient for different branches of industry due to the technological properties it is able to confer. The food industry also benefits from this polysaccharide to give viscosity and texture to products, and even as a vehicle for substances. With the increase in the market and the new consumption trends, research into non-conventional sources is promising. Thus, amaranth stands out as a potential source to be explored due to its peculiar characteristics, especially with regard to small granulometry. Added to this, alternatives for starch isolation that provide higher yield and lower environmental impact are relevant. In this sense, ultrasound has been investigated as a clean technology for starch extraction from several botanical sources, showing interesting results in yield improvement and reduction of residual protein content. The direction of the application of the starch obtained is also necessary, highlighting its use in the line of functional foods, still little explored in the literature. The incorporation of prebiotics such as fructooligosaccharides in amaranth starch could add value to the product, and enable diet diversification, as well as the nutritional improvement of foods. To facilitate incorporation, ultrasound and freeze-drying are techniques that attract attention. Thus, the objective of this chapter is to present the main concepts related to amaranth starch, US assisted extraction and enrichment with fructooligosaccharides.

**Keywords:** Amaranth. Ultrasonic irradiation. Freeze-drying. Functional foods.

## 1.1 INTRODUÇÃO

O amido é um ingrediente indispensável na indústria de alimentos principalmente pelas propriedades de textura e viscosidade conferidas a partir do fenômeno de gelatinização. Como principal carboidrato de reserva, pode ser encontrado em diversas fontes botânicas, apresentando peculiaridades para cada uma delas, o que desperta o interesse de investigação acerca de suas características. Dentre essas fontes, o amaranto é uma cultura especial, com alto valor nutricional, destacando-se suas proteínas, lipídeos e seu alto teor de amido (55-64%) de característica cerosa (VILLAREAL; RIBOTTA; ITURRIAGA, 2013; PEREZ-REA; ANTEZANA-GOMEZ, 2018)

Vale destacar que a etapa de extração desempenha um papel estratégico não só no rendimento, mas também em suas propriedades. O uso do ultrassom pode potencializar o rendimento da extração, atendendo às demandas por tecnologias limpas. Assim, explorar a técnica quanto aos parâmetros adequados de operação se torna essencial.

Para completar, é importante direcionar o amido que foi extraído para uma aplicação industrial. A grande tendência da indústria de alimentos está voltada para saudabilidade, funcionalidade e praticidade. Portanto, a incorporação de compostos bioativos neste produto, respondendo ao apelo de pesquisas acerca de alimentos funcionais é uma alternativa interessante. Técnicas como ultrassom e liofilização são bastante estudadas para realizar incorporação ou até mesmo encapsulação de compostos, sendo estas priorizadas neste estudo.

Sendo assim, o presente capítulo tem o objetivo de apresentar conceitos relacionados ao amido, extração assistida por ultrassom e aplicabilidade para incorporação de prebióticos.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Apresentar conceitos relacionados ao amido, à extração assistida por US e incorporação de prebióticos por meio de revisão de literatura.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- Revisar definições da estrutura do amido;
- Identificar principais características de amido de amaranto;
- Elucidar o mecanismo de ação do US na extração de amido;
- Compilar resultados da extração assistida por US em amidos de diferentes fontes botânicas;
- Identificar pesquisas voltadas para utilização do amido para incorporação de compostos, e;
- Evidenciar a importância do ultrassom e liofilização na incorporação.

## 1.3 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.3.1 Amido

As plantas utilizam como principal fonte de energia um carboidrato denominado amido, o qual pode ser armazenado sob duas formas (LI; GILBERT, 2016):

- a) Transitória: produzido em órgãos fotossintéticos (cloroplastos) localizados nas folhas durante a fotossíntese diurna, sendo consumido durante a noite como fonte de energia para sustentar o metabolismo da planta); e;
- b) de reserva: presente em órgãos de armazenamento, como o endosperma, que fornece a energia necessária para a germinação das sementes, como em cereais e leguminosas.

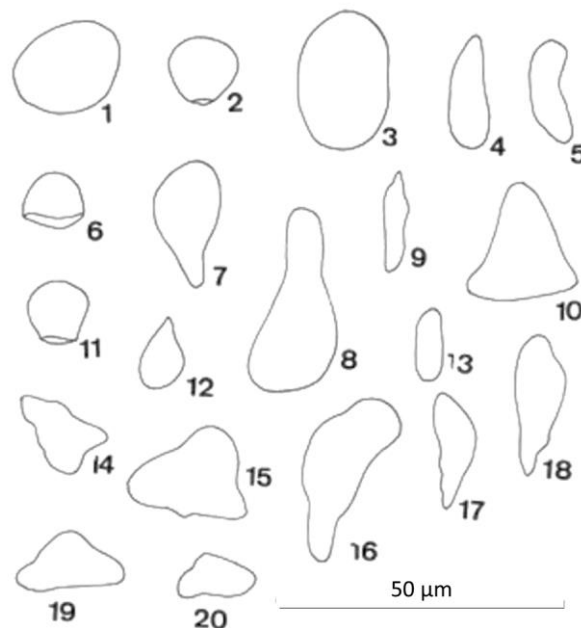
O amido é considerado um polímero natural, renovável e biodegradável, sendo uma matéria prima de grande importância para diferentes indústrias (papel,

têxtil, plástico, alimentos e fármacos). Esta biomacromolécula é classificada como carboidrato, sendo composta de dois  $\alpha$ -glucanos (amilose e amilopectina), os quais influenciam diretamente suas propriedades físico-químicas e direcionam sua aplicabilidade industrial (ZHU; LIU, 2020; ZHU, 2015b; SIT; MISRA; DEKA, 2014).

Pode ser encontrado em cereais (milho, trigo, arroz, amaranto, quinoa, entre outros) e em estruturas vegetais como raízes (mandioca, taro), sementes (pinhão), tubérculos (batatas) e até mesmo nos frutos imaturos (banana, manga, etc), apresentando-se como grânulos semi-cristalinos, de diferentes formas e composição (SAFARI; SADEGHI, 2016; SOYKEABKAEW; THANOMSILP; SUWANTONG, 2015).

Assim, dependendo da fonte botânica, a morfologia dos grânulos pode variar, conforme ilustrado na Figura 1.1.

Figura 1.1 – Representação morfológica de grânulos de amido de diferentes fontes botânicas



\*(1 e 2) arredondada; (3) oval; (4 e 5) alongada; (6) cúpula; (7) clava; (8 e 9) com projeção apendicular; (10) sino; (11) mitra; (12) gota; (13) bastonete; (14 e 15) irregular curta; (16) irregular longa; (17 e 18) tacape; (19 e 20) com projeção lateral.

Fonte: Gama *et al.* (2015).

Além da forma, o tamanho dos grânulos de amido também difere dependendo da espécie botânica da qual foi extraído, compreendendo valores entre 1 a 100  $\mu\text{m}$  (SAFARI; SADEGHI, 2016; LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014).

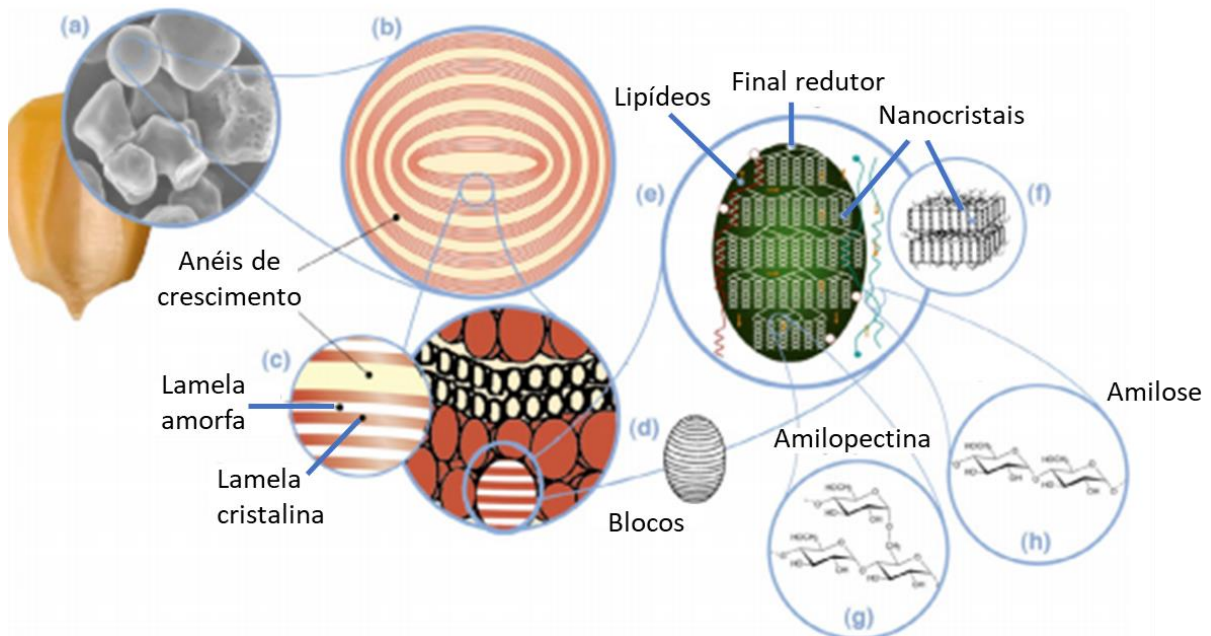


### 1.3.2 Estrutura Química do Amido

O amido é composto de anéis de crescimento formados a partir do *hilum* (120-500 nm), que contêm blocos (20-50 nm) estruturados por unidades de glucose anidra, que se alternam entre arranjos essencialmente linear (amilose) ou ramificada (amilopectina), constituindo as lamelas (9-10 nm). Uma vez que apenas unidades de glucose são interligadas, pode ser classificado como homopolissacarídeo (LI; GILBERT, 2016). A organização física destas moléculas dentro da estrutura granular é diferente para cada espécie botânica.

Gallant, Bouchet e Baldwin (1997) e Tang, Mitsunaga e Kawamura (2006), descrevem que os grânulos de amido são formados por blocos semicristalinos de nanoamidos. A Figura 1.2 possibilita a visualização destes nanoblocos e obtenção de nanoamido na forma de nanocristal ilustrada a partir do amido de milho.

Figura 1.2 – Estrutura do grânulo de amido de milho até a obtenção de nanocristal



Fonte: traduzido de Le Corre; Angellier-Coussy (2014).

Legenda: a) grânulos de amido de milho; b) anéis de crescimento; c) regiões amorfas e cristalinas; d) blocos; e) ampliação dos blocos para avaliação das camadas amorfas e cristalinas; f) nanocristais; g) amilopectina; h) amilose.

O modelo estrutural do grânulo de amido parte dos anéis de crescimento formados a partir do *hilum* (ponto central do anel), distribuídos em duas camadas. Ampliando-se uma pequena porção dessas camadas, tem-se os blocos que compõem

o grânulo, nos quais internamente é possível encontrar as cadeias alternadas de amilose e amilopectina, responsáveis pelas regiões amorfas e cristalinas, respectivamente (LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014).

Os anéis semicristalinos são formados pelas lamelas cristalinas e amorfas alternadas com uma distância de repetição de 8,5-10 nm. A lamela cristalina apresenta uma espessura de 5-6 nm, devido à presença de duplas hélices (com 6 resíduos por volta) de cadeias externas da amilopectina. A lamela amorfa é formada por cadeias internas de amilopectina (longas) e pontos de ramificação. A partir da ruptura destes blocos, ocorre a obtenção dos nanoamidos, ressaltando-se que processos hidrolíticos ou enzimáticos geralmente produzem nanocristais, e tratamentos físicos liberam nanopartículas de amido, afetando a região cristalina (LE CORRE; ANGELLIER-COUSSY, 2014).

A amilose compreende ligações glucosídicas ( $\alpha$ -D-1,4) com poucas ramificações (aproximadamente 9-20 pontos) e um peso molecular de aproximadamente  $10^6$  Da. Denardin e Silva (2009) discutem que moléculas de amilose de cereais são menores que amidos de fontes tuberosas ou leguminosas. A forte presença de hidroxilas (OH) favorece a configuração de sua estrutura como hélices simples, com ligações de hidrogênio unindo as cadeias paralelas de amilose, mantendo as OH projetadas para fora e os hidrogênios na parte interna (BULEÓN *et al.*, 1998).

Essa orientação permite a complexação com outros componentes como lipídeos, iodo, álcoois e ácidos orgânicos, os quais são mantidos na cavidade central de sua estrutura helicoidal (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). A proporção de amilose encontrada no amido é um parâmetro de qualidade para produtos amiláceos, já que ela interfere diretamente em algumas propriedades de interesse na indústria alimentar. Entre elas pode-se citar a gelatinização, solubilidade, propriedades de pasta e textura (ZHU *et al.*, 2008).

A amilopectina apresenta ligações glucosídicas  $\alpha$ -D-1,4 e  $\alpha$ -D-1,6, estrutura ramificada (5-6%) e peso molecular superior à amilose ( $10^7$ - $10^9$  Da). Ela é responsável pela semi-cristalinidade do grânulo devido à formação de duplas hélices de suas cadeias laterais, as quais originam uma estrutura ordenada similar a uma rede (LI; GILBERT, 2016; PATINDOL; SIEBENMORGEN; WANG, 2014).

Portanto, as lamelas amorfas nos grânulos podem ser visualizadas na parte interna, que está entre a extremidade redutora e os ramos externos da amilopectina.

Já, os ramos mais externos até as extremidades não redutoras formam as duplas hélices e cristais (PÉREZ; BERTOFT, 2010).

Em geral, pode-se dizer que o amido é composto de 20-30% de amilose e de 70-80% de amilopectina, mas existem variedades que podem apresentar uma configuração diferente, como é o caso dos amidos de alto teor de amilose (> 40% de amilose), ou cerosos ( $\leq$  15% de amilose) (TESTER; KARLAKAS; QI, 2004; SOYKEABKAEW; THANOMSILP; SUWANTONG, 2015).

Em alguns amidos, principalmente com alto teor de amilose, um material intermediário pode ser encontrado além da amilose e da amilopectina. Ele é precipitado com álcool isoamílico e 1-butanol, mas não com 1-butanol sozinho (KONG *et al.*, 2008).

Fatores como fonte botânica, clima, solo, estado fisiológico podem interferir diretamente no teor de amilose (KARAMAN; TUNCEL; YILMAZ TUNCEL, 2017). Sabe-se que, devido às diferenças na proporção de amilose e amilopectina, propriedades específicas podem ser encontradas dependendo da matriz de onde foi extraído (ZHU *et al.*, 2012).

Além disso, quaisquer alterações na estrutura molecular do amido também podem afetar suas propriedades físico-químicas, como a solubilidade, temperatura de gelatinização, viscosidade e retrogradação. Como resultado, há influência na qualidade, textura e estabilidade de produtos onde serão aplicados (SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000; SCHIRMER *et al.*, 2013; KONG *et al.*, 2008; LAN *et al.*, 2008).

Devido a sua conformação estrutural, a amilose está associada a maior tendência à retrogradação, parâmetro indesejável para a indústria de alimentos principalmente em alimentos refrigerados. Maior teor de amilose também é relacionado a géis mais duros e filmes fortes. Já, a amilopectina produz géis mais macios e filmes fracos, apresenta maior estabilidade ao congelamento e descongelamento, e pode melhorar a estabilidade, uniformidade e textura de alimentos (PÉREZ; BERTOFT, 2010; SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000).

Além destes componentes majoritários, lipídeos, proteínas, minerais (Ca, K, Mg, P, Na) também podem ser integrantes da composição do amido, sendo seu conteúdo influenciado pelo método de extração, grau de purificação e fonte botânica de origem. Dependendo do teor encontrado, estes compostos também podem alterar as propriedades do amido (BALDWIN, 2001).

### 1.3.3 Utilização Industrial do Amido

Os principais usos do amido na indústria de alimentos envolvem a sua adição como espessante, estabilizante, gelificante, edulcorante, mas há interesse como polímero renovável e biodegradável em vista de preocupações ambientais e de sustentabilidade (SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000; SANTACRUZ *et al.*, 2002).

Entre as fontes, as mais utilizadas no mercado para indústria farmacêutica, têxtil, papelreira e alimentícia são milho, batata e trigo (MONROY; RIVERO; GARCÍA, 2018). Mas fontes alternativas devem ser pesquisadas para suprir a grande demanda do mercado, principalmente visando atender propriedades específicas para um produto (ZHU, 2020).

Grande parte do amido utilizado pela indústria passa por modificações para que propriedades indesejáveis como a baixa estabilidade térmica, alta viscosidade e tendência à retrogradação sejam melhoradas. Para tanto, modificações físicas, químicas ou enzimáticas são comumente empregadas, sendo os tratamentos físicos de maior interesse para indústria (SUJKA, 2017; TESTER; KARLAKAS; QI, 2004). Assim, o amido deixa sua forma nativa para ser considerado modificado.

Um fator que exerce especial importância nas propriedades físico-químicas que o amido apresentará é a proporção de amilose e amilopectina, direcionando sua aplicabilidade em nível industrial. Amidos com alto teor de amilose são amplamente empregados como agentes espessantes e gelificantes, além da utilização em *snacks* e produtos fritos, pois diminuem a penetração de óleo, e, conseqüentemente, o consumo de gordura. Porém, altos níveis de amilose conferem alta tendência à retrogradação. Com isso, amidos com maior teor de amilopectina podem substituí-los, para melhorar a uniformidade, textura e estabilidade frente a congelamento e descongelamento (SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000).

Outra linha de aplicação bastante interessante é a utilização de amidos de baixa granulometria como substitutos de gordura. Carboidratos podem desempenhar esse papel devido à capacidade de espessar e estabilizar grandes quantidades de água a partir da formação de géis, apresentando similaridade com os lipídeos nas propriedades: lubrificante, de fluxo, textura e *mouthfeel* (BREWER, 2012; CHUGH; SINGH; KUMBHAR, 2013). Além disso, de acordo com Yackel e Cox (1992) é esta interação entre a água e o carboidrato que permite a sensação reológica similar à gordura na boca. O amido já foi aplicado como substituto de gordura em produtos

como maionese (MA *et al.*, 2006), sorvete (RECHSTEINER, 2009); queijo minas frescal (DIAMANTINO *et al.*, 2014); e bolos e biscoitos (GÜLÇİN; ÖZTÜRK, 2016), apresentando resultados promissores.

#### 1.3.3.1 Gelatinização e retrogradação

Como percebido na seção anterior, a principal aplicabilidade do amido refere-se à sua propriedade de formação de pasta, a qual pode conferir um poder espessante aos alimentos. A formação de géis ou pastas pelo amido é denominada gelatinização, fenômeno que será definido a seguir.

Em sua forma nativa, o amido é parcialmente solúvel em água fria devido ao seu tamanho molecular e às fortes ligações de hidrogênio (CHENG *et al.* 2010; CYRAS *et al.*, 2008), absorvendo 30% do seu volume em água a temperatura ambiente (SILVA *et al.*, 2008). Porém, ao submeter os grânulos de amido ao aquecimento em excesso de água, um fenômeno endotérmico denominado gelatinização ocorre, no qual há formação de uma pasta.

Inicialmente, uma camada de hidratação é formada quando as moléculas de água rompem as cadeias do amido durante o aquecimento do grânulo, plastificando as cadeias, tornando-as completamente separadas e solvatadas. As regiões amorfas são mais suscetíveis devido à fragilidade das ligações de hidrogênio nessas áreas, ao contrário do que ocorre nas regiões cristalinas (SINGH *et al.*, 2003).

No amido desidratado, as duplas hélices se apresentam de forma intacta, num estado conhecido como nemático, colapsado ou “definhado”. Nesta configuração, as cadeias não estão posicionadas lado a lado (forma regular), pois apresentam diferentes comprimentos de ramos radiais e tangenciais. Já, a região amorfa, a qual é mais suscetível à hidratação e ao efeito plastificante pela água (ou outro solvente), se apresenta de forma vítrea e imóvel. A sua mobilidade aumenta com a absorção de água, promovendo uma vibração das cadeias radiais e tangenciais tanto nos domínios amorfos ou cristalinos. Assim, ocorre o intumescimento dos grânulos, permitindo a mobilidade dos domínios cristalinos (JAYAHODY; HOOVER, 2008).

Dessa forma, a permeação da água vai facilitando o inchaço dos grânulos, paralelo à difusão da amilose hidratada pela pasta até a fase de água externa, perturbando as cadeias de amilopectina, alcançando um máximo na viscosidade (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Este aumento da viscosidade é

alcançado devido às ligações de hidrogênio entre as moléculas da água e as hidroxilas expostas da amilose e amilopectina (HOOVER, 2001). A pasta formada corresponde ao amido gelatinizado e consiste de uma fase contínua de amilose solubilizada e de amilopectina, bem como de uma fase descontínua de fragmentos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Esta viscosidade pode ser medida por equipamento denominado analisador rápido de viscosidade (RVA) e indica a capacidade que o amido tem em absorver água e inchar durante o aquecimento e cisalhamento (PRANOTO; RAKSHIT, 2014).

Após esse processo, os grânulos se rompem pela agitação e são dispersos na fase aquosa, num processo denominado de *breakdown* (quebra de viscosidade) (KAUR; SINGH; RANA, 2010), onde há a perda de organização estrutural (ZHU, 2015b).

O resfriamento da pasta de amido proporciona a reassociação e reordenação das cadeias de amilose e amilopectina, restabelecendo ligações  $\alpha$ -1,4, tornando-se progressivamente menos solúvel e adquirindo uma viscosidade final. Esta poderá ser maior ou menor que a viscosidade de pico (máxima viscosidade que a pasta pode alcançar). Este fenômeno recebe o nome de retrogradação (KAUR; SINGH; RANA, 2010; FU *et al.*, 2004).

Durante a estocagem de produtos amiláceos, o fenômeno de retrogradação é bastante importante. Neste processo ocorre uma mudança estrutural nos grânulos rompidos, podendo haver associações dupla hélice nas cadeias de amilose e cristalização da amilopectina por associações ultra periféricas entre os ramos curtos. Uma vez que a amilose apresenta uma cadeia mais linear, suas moléculas podem se orientar paralelamente, aproximando-se para formar ligações de hidrogênio entre as OH adjacentes. Dessa forma, ocorre a diminuição da afinidade por água, a qual é liberada ou expulsa das moléculas num fenômeno conhecido como sinérese, favorecendo a formação de pastas opacas e de filmes resistentes (HOOVER, 2001).

A firmeza inicial do gel retrogradado pode ser atribuída principalmente à formação da matriz de amilose e o subsequente aumento gradativo da dureza do gel à recristalização da amilopectina. E devido ao amaranto ter menor quantidade de amilose, seus géis são mais macios e com maior adesividade (ZHU, 2015a).

De acordo com Zhu (2015a) os géis de amido de amaranto apresentam melhor resistência à retrogradação a temperaturas de armazenamento de 25 °C, 4 °C e -20 °C do que os géis de amido de milho, trigo ou arroz.

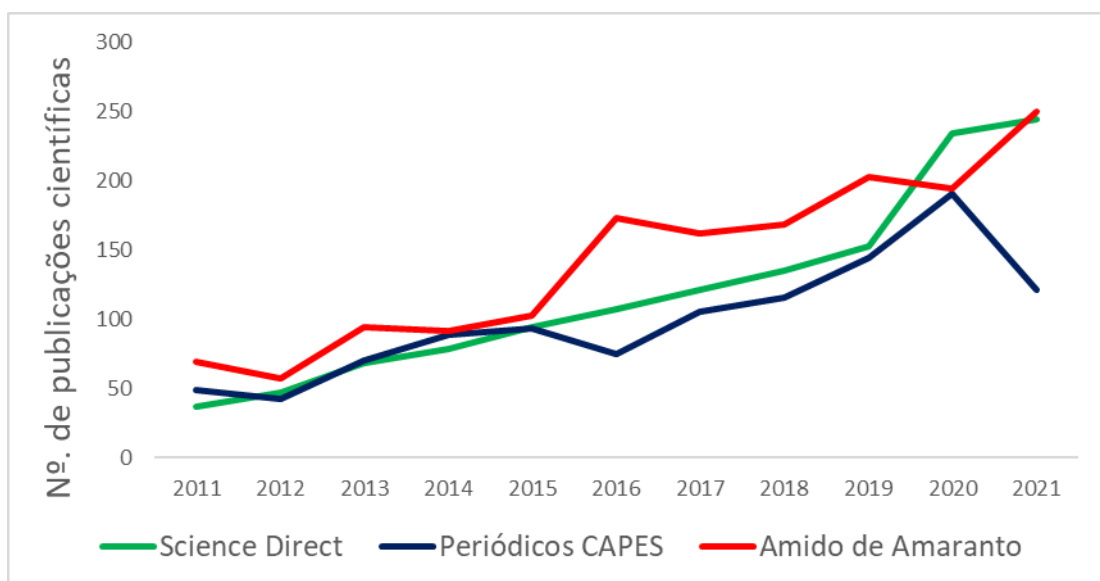
Esta fase de transição do amido é de extrema importância para suas diferentes aplicações, e pode ser influenciada por fatores endógenos e exógenos como: razão amilose:amilopectina, empacotamento das cadeias, quantidade de outros componentes presentes como proteínas e lipídeos, velocidade de aquecimento e resfriamento, comprimento das cadeias e grau de cristalinidade (ZHU, 2015b; DENARDIN; SILVA, 2009).

#### 1.3.4 Amido de Amarantho

Amidos de fontes não convencionais, que envolvem todas as fontes botânicas, exceto milho, batata, mandioca e trigo (ZHU, 2020), têm despertado o interesse de novas pesquisas, uma vez que podem apresentar propriedades físico-químicas interessantes e, conseqüentemente, substituir amidos modificados quimicamente, processo em que há maior geração de resíduos (BERNARDO *et al.*, 2018).

Refinando-se a busca no site *Science Direct* e no portal de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) com o termo “*unconventional starch*” é possível confirmar esta tendência crescente de pesquisas a respeito de novas fontes de amido (Gráfico 1.1) nos últimos 10 anos. Além disso, as pesquisas a respeito do amido de amaranto também têm despontado.

Gráfico 1.1 – Evolução de pesquisas relacionadas às fontes não convencionais de amido.



Fonte: A autora.

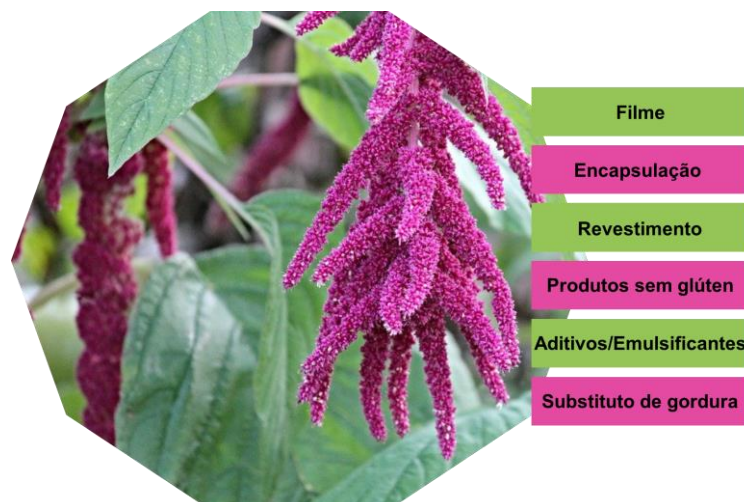
O amaranto é um pseudocereal cultivado há 5.000-7.000 anos de grande importância para as regiões andinas (VILLAREAL; RIBOTTA; ITURRIAGA, 2013). É nativo de regiões de elevada altitude como Bolívia, Peru e Equador. Prefere clima quente, porém cresce bem mesmo em regiões frias ou até mesmo semiáridas. Dicotiledônea pertencente à família *Amaranthaceae*, apresenta mais de 60 espécies, sendo as mais estudadas: *Amaranthus cruentus* (cultivado na Guatemala); *A. caudatus* (Peru e países andinos) e *A. hypochondriacus* (México) (BET *et al.*, 2018a; SINGH *et al.*, 2014).

Os principais produtores deste grão estão nas regiões tropicais como América do Sul, mas também a África, Ásia (Central e Sudeste, especialmente a Índia) e regiões da América do Norte (WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017).

Entre os principais usos do amaranto destacam-se o segmento de higiene pessoal (barreira protetora da pele, suavizar rugas, combater radicais livres, propriedade antioxidante), alimentos e bebidas (na produção de farinhas, biscoitos, pão, granola, macarrão, cereais, panquecas, substituto ao glúten), farmacêutico (óleo e sementes são utilizados para pacientes com doença cardiovascular ou hipertensão). O segmento de produtos de sementes detinha a segunda maior fatia da receita em 2020, sendo que os produtos de farinha também devem apresentar um crescimento significativo devido ao conteúdo de fibra, fósforo, vitamina C e A, potássio e cálcio (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

Na Figura 1.3 é possível visualizar as aplicações potenciais do amaranto na indústria de alimentos.

Figura 1.3 – Potenciais aplicações do amaranto na indústria alimentícia



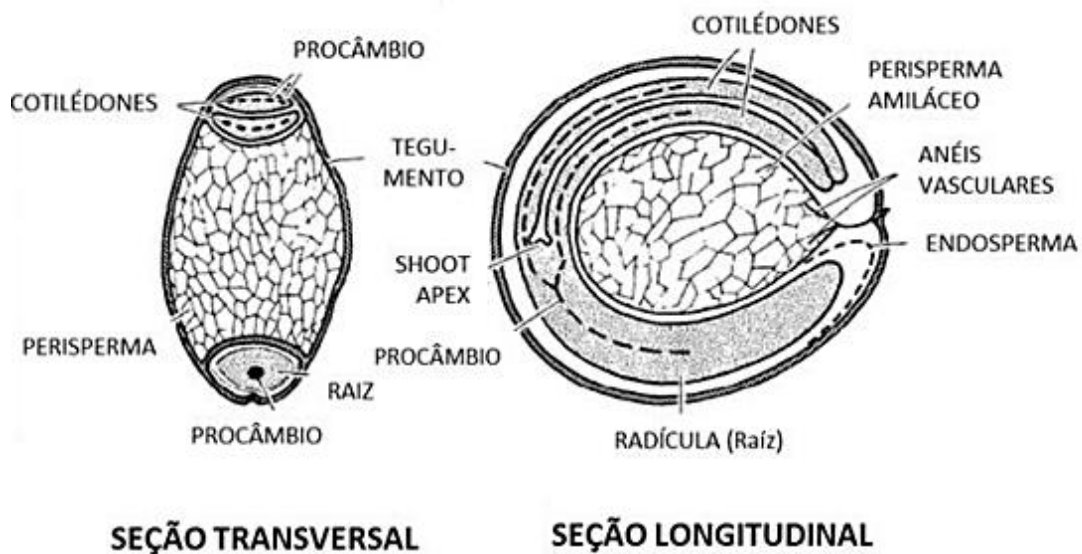
Fonte: A autora.



Suas sementes apresentam entre 1 a 1,5 mm de diâmetro e espessura de 0,5 mm, com um rendimento aproximado de 3-4 ton ha<sup>-1</sup>. O peso de mil sementes está entre 0,5 a 1,4 g e uma planta pode produzir mais de 500 g de sementes. São encontradas nas panículas ou inflorescências, e podem apresentar diferentes cores de acordo com a espécie, como brancas, amarelas, beges, rosadas, vermelhas, cinzas ou pretas (GONZÁLEZ *et al.*, 2007).

Grande parte delas é preenchida pelo embrião, que junto com a casca correspondem a 25% do peso da semente (Figura 1.4). Tanto no amaranto como na quinoa, o embrião envolve o perisperma (tecido rico em amido) na forma de anel, diferenciando-os dos cereais, em que o amido se concentra no endosperma (BETSCHART *et al.* 1981; WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017).

Figura 1.4 – Corte transversal e longitudinal de semente de amaranto.



Fonte: Yamani (2015).

De acordo com Becker (1994) e Segura-Nieto *et al.* (1994), o grão de amaranto é composto por quatro partes principais:

- a) Episperma: camada mais externa composta de células muito finas, com coloração específica da semente (amarela, branca ou vermelha). Apresenta alto teor de cinzas, compostas basicamente por cálcio, sódio e magnésio;
- b) endosperma: aparece logo após o episperma e reveste os cotilédones que formam o embrião;

- c) embrião: concentra um alto teor de proteínas com um tamanho de 3 a 5  $\mu\text{m}$ . Pode também conter fibras, lipídeos e minerais como cobre e ferro. Os anéis vasculares, que estão junto ao feixe vascular na ponta do embrião, são tecidos condutores de água e se apresentam como nervuras, e;
- d) perisperma: encontrado na região central da semente e é formado basicamente por amido.

Além da ausência de glúten, sua composição nutricional atrai a atenção industrial (WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017). Na Tabela 1.1 é possível comparar alguns nutrientes entre o trigo (cereal) e pseudocereais (trigo mourisco, amaranto e quinoa).

Tabela 1.1 – Comparação da composição nutricional de grãos

	Trigo	Trigo mourisco	Amaranto	Quinoa
Amido (g 100g <sup>-1</sup> )	52,20	77,37	58,38	57,18
Lipídeos (g 100g <sup>-1</sup> )	1,68	2,19	6,33	7,73
Proteínas (g 100g <sup>-1</sup> )	13,04	11,45	14,74	12,18
Cinzas (g 100g <sup>-1</sup> )	1,76	2,34	2,95	2,72
Fibra dietética total (g 100g <sup>-1</sup> )	11,99	6,65	12,67	12,75

Fonte: Wrigley; Batley, Miskelly (2017).

Conforme apresentado na Tabela 1.1, o amaranto apresenta maior teor de proteínas e cinzas, em relação aos outros grãos, e quase se iguala na quantidade de fibra dietética à quinoa. Podem ser observadas variações na composição do amaranto de acordo com a sua espécie, como visualizado na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 – Comparação da composição nutricional de grãos de diferentes espécies de amaranto

	<i>A. caudatus</i>	<i>A. cruentus</i>	<i>A. hypochondriacus</i>
Carboidratos (g 100 g <sup>-1</sup> )	59,6-62,8	60,7-62,6	57,0
Proteínas (g 100 g <sup>-1</sup> )	17,6-18,4	13,2-18,2	17,9
Lipídeos (g 100 g <sup>-1</sup> )	6,9-8,1	6,3-8,1	7,7
Fibra bruta (g 100 g <sup>-1</sup> )	3,5-5,8	3,6-4,4	2,2
Cinzas (g 100 g <sup>-1</sup> )	3,1-4,4	2,8-3,9	4,1
Umidade (g 100 g <sup>-1</sup> )	9,5-11,6	6,2-8,8	11,1

Fonte: Wrigley; Batley, Miskelly (2017).

De acordo com Drzewiecki *et al.* (2003) a qualidade da proteína (globulinas e albuminas) de pseudocereais, quando comparada à cereais, é geralmente superior e comparável à proteína das leguminosas. Tem uma elevada quantidade de aminoácidos essenciais como lisina (até 6% da proteína), arginina, triptofano e aminoácidos sulfurados (GORINSTEIN *et al.*, 2002). Esta composição balanceada de aminoácidos do amaranto e também da quinoa está próxima ao padrão proteico de referência para dieta humana (MONTROYA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2015).

A fração lipídica de amaranto é composta de ácido linoléico, palmítico e esteárico. Ele tem também uma quantidade significativa de esqualeno (WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017).

Além da composição de aminoácidos essenciais, o amaranto apresenta altos teores de micronutrientes como ferro, cálcio, magnésio, potássio e zinco. Vitaminas, riboflavinas e tocoferol são abundantes, mas o destaque maior é para o ácido fólico, na qual a população apresenta certa carência (XIA *et al.*, 2015).

O conteúdo amiláceo dos grãos de amaranto compreende entre 55-64% (base seca) (VILLAREAL; RIBOTTA; ITURRIAGA, 2013; PEREZ-REA; ANTEZANA-GOMEZ, 2018), sendo que os grãos de coloração mais clara têm maior quantidade de amido (69%) em relação às sementes mais escuras (CORKE; CAI; WU, 2016). Características como pequeno tamanho dos grânulos (0,5-3  $\mu\text{m}$ ), estabilidade frente ao congelamento e descongelamento, baixa temperatura de gelatinização, resistência à retrogradação e à agitação mecânica, aliadas ao alto teor de amido encontrado no amaranto, tornam este grão uma importante fonte deste polissacarídeo para produção comercial e utilização na indústria alimentícia (SINGH *et al.*, 2014; LOUBES *et al.*, 2012; KONG; BAO; CORKE, 2009; RESIO; AGUERRE; SUAREZ, 2006).

O amido de amaranto apresenta um teor de amilose entre 4,7-12,5% apenas, sendo considerado um amido ceroso. Assim, a amilopectina está em maior proporção no grânulo (no mínimo 90%) e apresenta maior efeito nas propriedades deste (KONG; CORKE; BERTOFT, 2009; SINGH *et al.*, 2014), como a alta viscosidade, boa estabilidade ao congelamento e descongelamento, alta capacidade de ligação com a água, alto poder de inchamento e baixa tendência à retrogradação (WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017).

Em relação à sua digestibilidade, tanto na forma granular como gelatinizada, o amido de amaranto revela uma elevada susceptibilidade enzimática em comparação

com amidos de cereais, leguminosas, tubérculos e raízes. Ele é digerido por glucoamilase cerca de 7-10 vezes mais rápido na primeira hora do que o amido de milho regular. Esse comportamento se deve ao menor tamanho do grânulo, bem como ao menor teor de amilose, já que o elevado teor desta fração está associado a uma maior resistência à hidrólise enzimática (ZHU, 2015a). Coelho *et al.* (2018) complementa que conteúdos reduzidos de amido resistente, fibras solúveis e baixa temperatura de gelatinização também contribuem para maior digestibilidade.

Pesquisas têm sido realizadas a fim de viabilizar o uso de amido de amaranto como espessante, agente gelificante e estabilizante na indústria alimentícia (SINGH *et al.*, 2014).

### 1.3.5 Extração de Amido

Diferentes métodos podem ser empregados para isolamento do amido, variando de acordo com a fonte botânica e finalidade. O melhor processo e rendimento são obtidos quando são mantidas as características físico-químicas e mecânicas de sua forma nativa. Além disso, a ausência de toxicidades ou resíduos gerados e menor custo também direcionam a escolha do método (CORREIA; BEIRÃO-DA-COSTA, 2012; VILLARREAL; RIBOTTA; ITURRIAGA, 2013). Até mesmo o método de secagem do amido, tradicionalmente utilizado para viabilizar sua comercialização, transporte e conservação, pode induzir mudanças nas propriedades deste polissacarídeo (WANG; LIU; WANG, 2016).

Segundo Pérez e Bertoft (2010), o amido pode ser isolado por meio de gravidade, sedimentação, centrifugação e filtração. A lavagem da farinha com água deionizada ou destilada permite a separação do amido e demais componentes solúveis dos insolúveis, como as proteínas de armazenamento, presentes naturalmente no grão. Assim, sucessivas etapas de lavagem e peneiramento podem melhorar o rendimento do amido puro. Etapas adicionais como centrifugação e raspagem também permitem uma melhora na pureza do produto final, quando não se utilizam reagentes químicos durante a extração (BALDWIN, 2001).

Peneiramento é utilizado para separar a fração de fibras, seguido de decantação e centrifugação (SIT; MISRA; DEKA, 2014). O processo de centrifugação, para isolamento do amido, pode favorecer a quebra de carboidratos solúveis e até

mesmo a separação de proteínas em diferentes partes da suspensão do amido (FU *et al.*, 2004).

Entre os métodos usados para isolar o amido de amaranto, encontra-se na literatura o uso de solução de metabissulfito de sódio e água destilada em diferentes tempos e temperaturas, seguido de moagem, lavagem com dióxido de enxofre e etapas de filtração e centrifugação (LOUBES *et al.*, 2012); extração aquosa, sem uso de produtos químicos, apenas utilizando moagem, peneiramento e centrifugação (BET *et al.*, 2018a); e extração alcalina com NaOH e hidrólise proteica (VILLARREAL; RIBOTTA; ITURRIAGA, 2013).

Em geral, o rendimento da extração para o amido de amaranto gira em torno de 60% quando se usa o método alcalino com NaOH ou metabissulfito de sódio (PEREZ-REA; ANTEZANA-GOMEZ, 2018).

Como a completa desintegração das células vegetais para liberação do amido durante a moagem é um processo difícil, a utilização de enzimas pode ser interessante a fim de aumentar o rendimento da extração. Porém o custo também se eleva pelo tempo de incubação e pureza necessária da enzima. Assim, o ultrassom parece ser uma alternativa viável para melhorar a eficiência do processo, por meio do rompimento da membrana celular e consequente liberação deste polissacarídeo (SIT; MISRA; DEKA, 2014).

### 1.3.6 Irradiação Ultrassônica

O ultrassom (US) compreende ondas com frequência acima da gama auditiva (> 15-20 kHz) e que necessita de um meio de propagação (KIM; PARK; LIM, 2015). Pode ser dividido em três faixas de frequência, incluindo ultrassom de potência (16 - 100 kHz), ultrassom de alta frequência (100 kHz - 1 MHz) e ultrassom de diagnóstico (1 – 10 MHz) (ZHU *et al.*, 2015b).

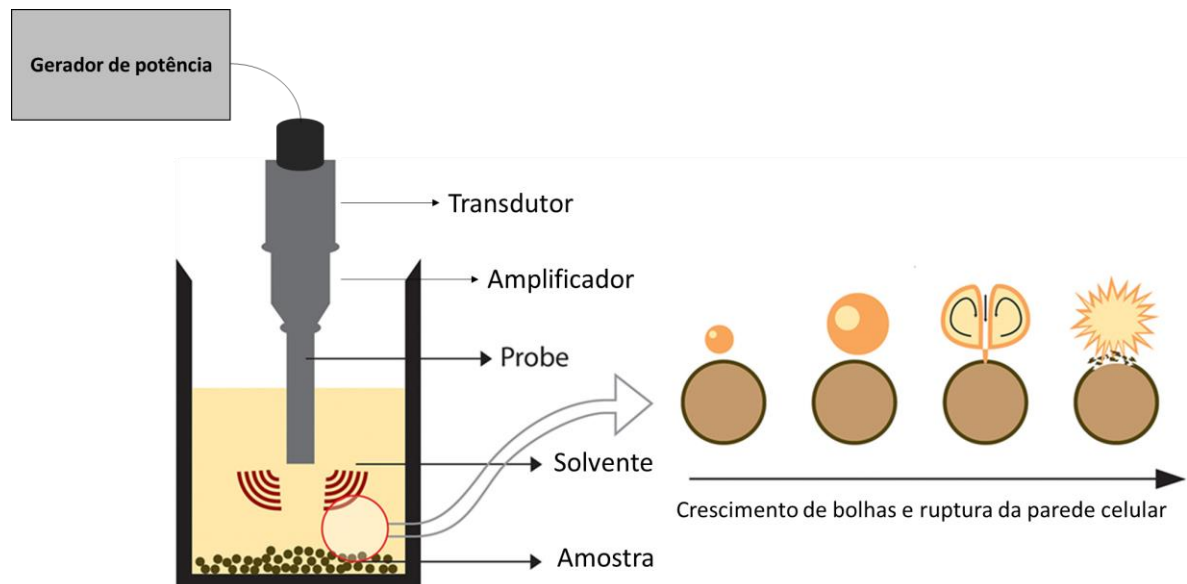
A potência do ultrassom (W) é entendida como o nível de energia propagada para o meio, também denominada de intensidade de ultrassom ( $W\text{ cm}^{-2}$ ) ou densidade de energia acústica ( $W\text{ cm}^{-3}$  ou  $W\text{ ml}^{-1}$ ), sendo esta última expressão estabelecida como mais apropriada para este parâmetro (ESCLAPEZ *et al.*, 2011).

De acordo com a região ultrassônica do espectro, diferenciam-se dois grupos. O primeiro, denominado ultrassom de baixa intensidade, que utiliza sonicação de baixa potência ( $< 1\text{ W cm}^{-2}$ ) e alta frequência (100 kHz – 10 MHz), para controles de

processo e testes não destrutivos. O segundo grupo (US de alta intensidade ou de potência) engloba sonicação de alta potência ( $10\text{-}1000\text{ W cm}^{-2}$ ) e baixa frequência ( $16\text{ -- }100\text{ kHz}$ ), utilizada para causar alterações no produto em que é aplicado. Portanto este é recomendado para a extração de compostos (KIM; PARK; LIM, 2015), já que pode promover o rompimento de ligações intermoleculares devido ao forte cisalhamento e força mecânica gerados (ASHOKKUMAR, 2015).

O dispositivo ultrassônico é bastante simples e fácil de manusear, funcionando por meio da emissão de ondas ultrassônicas geradas por transdutores. Basicamente, ele é constituído de três partes principais: gerador, transdutor e um sistema de entrega, como mostra a Figura 1.5 (JAMBRAK *et al.*, 2010).

Figura 1.5 – Componentes principais de ultrassom de probe



Fonte: adaptado de Senrayan; Venkatachalam (2018).

O gerador é responsável pela conversão da energia elétrica em corrente alternada que se direciona ao conjunto de transdutor (JAMBRAK *et al.*, 2010).

Há dois tipos de transdutores que geram vibrações de alta energia (CÁRCEL *et al.*, 2012; BORGES; KORN, 2002):

- a) Transdutores piezoelétricos: dispositivos de alta eficiência (95%), mas de baixa durabilidade e intensidade de energia, ou;
- b) magnetoestrictivos: construídos com ligas metálicas de alta resistência e estabilidade, atingindo níveis elevados de potência,  $>150\text{ W cm}^{-2}$ , porém, de baixa eficiência, 50%.

O efeito piezoelétrico (do grego: *piezein* = comprimir) foi descoberto por Pierre e Jacques Curie em 1880 (PÉCORA; GUERISOLI, 2004). Ele está relacionado à expansão e contração do cristal que compõem o transdutor, diante da mudança de polaridade estimulada pela tensão aplicada (SONICS, 2015).

O cristal, para ser usado como transdutor, deve ser cortado de forma que um campo elétrico alternado, quando nele aplicado, produza variações em sua espessura. Dessa variação resulta um movimento nas faces do cristal, originando as ondas sonoras. Cada transdutor possui uma frequência de ressonância natural, tal que quanto menor a espessura do cristal, maior será a sua frequência de vibração (PÉCORA; GUERISOLI, 2004).

Ao se colocar um material piezoelétrico (quartzo e turmalina, como exemplo) num campo elétrico, as cargas elétricas da rede cristalina interagem com o mesmo e produzem tensões mecânicas. Já, o efeito magnetoestrutivo se baseia na passagem de eletricidade sobre metais especiais. Isto gera vibrações e produz um calor intenso durante o uso (PÉCORA; GUERISOLI, 2004).

Portanto, o transdutor transforma a corrente em vibrações mecânicas, as quais são enviadas até a sonda, onde são amplificadas e transmitidas como ondas de alta e baixa pressão alternadas ao líquido (material) ao qual ela está em contato (JAMBRAK *et al.*, 2010). Isso ocasiona uma movimentação contínua que contribui para a mistura dentro do líquido (CÁRCEL *et al.*, 2012; BORGES; KORN, 2002).

Existem dois tipos de aparelhos US diferenciando-se pelo meio da propagação das ondas, a qual pode ocorrer com auxílio de uma sonda, ou pela imersão do alimento em banhos ultrassônicos (ADEKUNTE *et al.*, 2010). Resultados diferentes podem ser registrados por meio dos dois equipamentos, sendo que há maior probabilidade de aglomeração quando maiores potências são utilizadas (JAMBRAK *et al.*, 2010).

Banhos de US consistem de um recipiente de aço inoxidável e um conjunto de transdutores colocados no fundo de uma base de metal, vibrando em fase, transmitindo a energia ultrassônica para o líquido. Eles operam a uma frequência de 35 kHz. Enquanto que no US com sistemas tipo sonda, o transdutor se encontra acoplado à sonda, a qual transmite a vibração para o meio. Eles operam a uma frequência de 20 kHz, sendo que estas baixas frequências são capazes de criar bolhas com diâmetros maiores e picos de pressão mais intensos do que as frequências de cerca de 35 kHz (OZUNA *et al.*, 2015).

A duração da fase de rarefação (durante a qual as bolhas de cavitação crescem) é inversamente proporcional à frequência ultrassônica; portanto, em altas frequências, amplitudes e intensidades maiores são necessárias para gerar cavitação. Isto significa que esta frequência vibracional influencia diretamente o efeito acústico. Quando a frequência de vibração é mais baixa, as bolhas geradas têm mais tempo para atingir seu pico, resultando em maior energia liberada durante a implosão e num ciclo de rarefação mais alto. Porém, sob altas frequências, há menor tempo para crescimento de bolhas e com isso, onda de choque e ciclos de rarefação menores. Temperatura e viscosidade também são fatores que influenciam este fenômeno (BIOPOL, 2021).

Com isso, em baixas frequências (20-100 kHz), as bolhas de cavitação transitória são relativamente menos numerosas, embora com alto diâmetro, o que privilegia os efeitos físicos. E são eles que predominam em processo de extração de compostos ao invés dos químicos, que ocorrem em frequências mais elevadas (200-500 kHz) (CHEMAT *et al.*, 2017; ASHOKKUMAR, 2015).

Durante a sonicação de compostos os seguintes fenômenos físicos e químicos podem estar envolvidos no efeito ultrassônico: agitação, vibração, pressão, cavitação, ondas de choque, cisalhamento, fluxo acústico e formação de radicais devido à sonólise das moléculas de H<sub>2</sub>O sob altas temperaturas, gerando radicais OH ou H dentro das bolhas de cavitação (ASHOKKUMAR, 2015). Os radicais livres também podem afetar os processos químicos e aumentar a taxa de extração (ZHU, 2015b). Acima de 1 MHz prevalecem os efeitos de transmissão acústica (TIWARI, 2015).

O efeito da frequência também exerce influência na resistência à transferência de massa, o que pode prejudicar a extração (CHEMAT *et al.*, 2017).

Analisando estes fatores, o uso do US de sonda é mais eficiente porque a intensidade ultrassônica é fornecida em uma superfície pequena (pela ponta da sonda) quando comparada ao banho. Além disso, ela é imersa diretamente no frasco de reação para que haja menor atenuação do campo ultrassônico, principalmente para pequenos volumes de amostra, não descuidando do aumento da temperatura (CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011). Assim, é extremamente importante atentar à distância entre a ponta da sonda e a amostra tratada (CÁRCEL *et al.*, 2012).



Cuidados devem ser tomados quanto à ponta da sonda para evitar corrosões, e uma consequente erosão gradual de detritos para o meio processado, o que resultaria em baixa eficiência (O'SULLIVAN *et al.*, 2017).

Para manter a frequência de vibração constante (geralmente 20 kHz), os sonificadores convencionais apresentam um autoajuste do seu consumo de energia a partir do sistema elétrico. Dessa maneira, à medida que a sonda oscila, ela pode enfrentar uma resistência do meio (de acordo com sua viscosidade) que será transmitida de volta ao elemento vibrador (transdutor) e detectada pela unidade de controle interno do instrumento. Esta unidade por sua vez, irá ajustar o consumo de energia do instrumento para manter uma frequência de vibração constante. Os meios altamente viscosos irão exercer uma maior resistência à sonda oscilante e, por conseguinte, exigirá maior consumo de energia para manter esta oscilação constante (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2010).

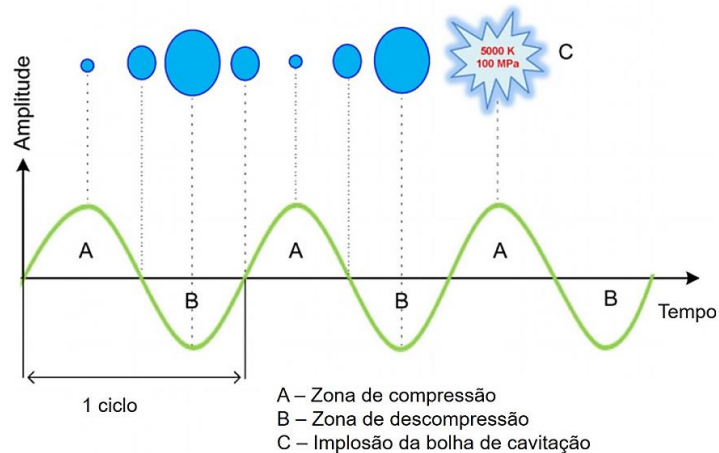
A potência do equipamento indica o máximo de energia capaz de ser fornecida para manter a vibração constante. O fato de ter selecionado a maior amplitude, não resulta na entrega máxima de potência nominal do instrumento à suspensão. Para meios de baixa viscosidade, mesmo com o valor de regulação mais alto, a potência fornecida será uma fração significativamente mais baixa da potência máxima do instrumento (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

#### 1.3.6.1 Mecanismo de Ação do US

A energia acústica não pode ser absorvida pelas moléculas, sendo necessário ser convertida em uma forma utilizável que se dá pelo fenômeno da cavitação, onde ocorre a nucleação, crescimento e colapso de bolhas (ZHU, 2015b).

Quando a onda sonora atravessa o fluido, ela provoca um deslocamento longitudinal das partículas e é gerado um gradiente de pressão no meio, entre a pressão da onda acústica produzida e a pressão de vapor do solvente utilizado, conforme ilustrado na Figura 1.6 (CÁRCEL *et al.*, 2012; BORGES; KORN, 2002).

Figura 1.6 – Esquema de cavitação durante a aplicação do US.



Fonte: Ozuna *et al.* (2015).

Todo meio apresenta uma distância molecular crítica. Quando se está abaixo desse valor, o líquido permanece intacto, mas acima dessa distância, o líquido se quebra e vazios podem ser gerados no líquido. No caso do US, se o ciclo de rarefação for forte o suficiente, a distância entre as moléculas contíguas pode atingir ou mesmo ultrapassar a distância molecular crítica do líquido. Os vazios criados no meio são as bolhas de cavitação que correspondem ao efeito ultrassônico (CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011).

Portanto, durante o ciclo de pressão reduzida, a intensidade da onda acústica é suficientemente alta e pode vencer as forças intermoleculares (tensão superficial) do líquido, gerando cavidades de vácuo nas quais os gases e vapores presentes no líquido podem se difundir, ocasionando a expansão das bolhas. Quando a pressão é positiva, o fluxo se inverte, portanto, os gases fluem da bolha para o líquido, embora menor quantidade seja perdida, fazendo com que a cada ciclo, a bolha aumente de tamanho. Quando estas bolhas atingem certo volume no qual não podem mais absorver energia, elas implodem de forma abrupta (ciclo de alta pressão/compressão), liberando grande quantidade de energia, aumentando a temperatura do sistema (OZUNA *et al.*, 2015; BORGES; KORN, 2002).

De acordo com Haaj *et al.* (2013), as bolhas de cavitação podem alcançar um diâmetro entre 10-20  $\mu\text{m}$  em uma frequência de 24 kHz, sendo formadas com a diminuição na pressão e colapsam com o aumento da pressão.

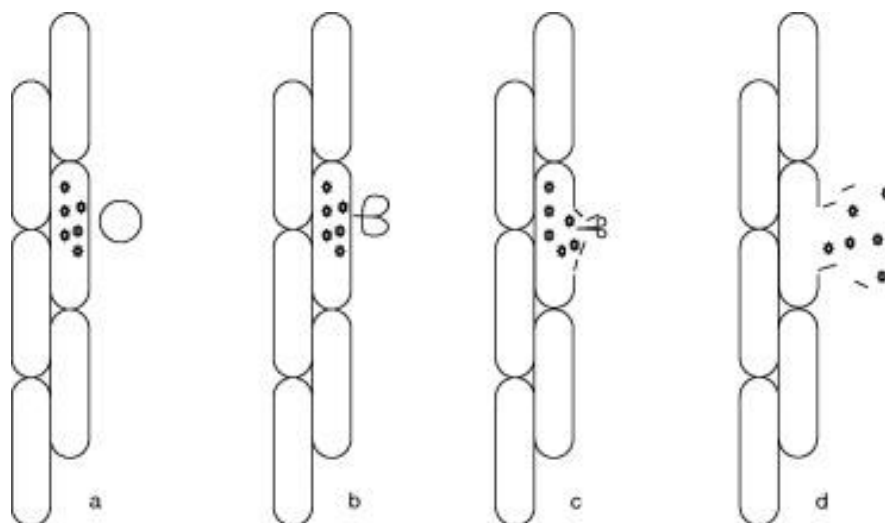
Estas bolhas podem ser classificadas em dois tipos: cavitação estável e transitória. Na cavitação estável há maior durabilidade de ciclos de compressão e a

variação de tamanho das bolhas é constante, gerando apenas microagitações no líquido (OZUNA *et al.*, 2015).

Já, a cavitação transitória ou inercial, pode durar menos de um ciclo e as bolhas se colapsam violentamente. O tamanho da bolha é instável, uma vez que o ciclo de expansão é maior que o ciclo de compressão, provocando rápido crescimento, e, conseqüentemente, colapso violento da bolha, gerando forças de cisalhamento e turbulência no meio (JAMBRAK *et al.*, 2010; TIWARI, 2015; OZUNA *et al.*, 2015). Nesta cavitação, as bolhas preenchidas com gás ou vapor, sofrem oscilações irregulares e finalmente implodem. Isso produz altas temperaturas e pressões locais que desintegram as células biológicas e desnaturam as enzimas. A bolha implodida também produz altas forças de cisalhamento e jatos de líquido no solvente que podem ter energia suficiente para danificar fisicamente a parede celular ou a membrana celular (CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011).

Portanto, ocorre o aumento da velocidade das camadas de líquido e são formadas ondas com energia de cisalhamento elevada (KADAM *et al.*, 2015; PINGRET, *et al.*, 2012; JAMBRAK *et al.*, 2010). E ainda, quando as bolhas colapsam na superfície de um material sólido, a alta pressão e temperatura geram microjatos direcionados à superfície sólida podem destruir as paredes celulares da matriz da planta e favorecer a liberação do conteúdo para o meio (Figura 1.7) (CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011).

Figura 1.7 – Colapso das bolhas de cavitação para extração de materiais da matriz celular



Fonte: Chemat, Huma e Khan (2011).

As moléculas de água apresentam alta pressão de vapor, podendo penetrar nas cavidades do amido, e ao sofrerem o colapso pode ocorrer a cisão homolítica de ligações O-H (sonólise), resultando na formação de radicais H e OH, que podem se combinar produzindo água ou sofrem arranjos produzindo H<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (BORGES; KORN, 2002).

Esta combinação de fatores é capaz de perturbar a estrutura vegetal pelas implosões, turbulência a nível microscópico, colisões entre partículas e cisalhamento, em paralelo à difusão da água que rompe a estrutura cristalina, no caso de amidos. Esse conjunto de efeitos promovidos pelo ultrassom e responsáveis pelas alterações provocadas é denominado cavitação acústica. É possível promover alterações na viscosidade, redução do peso molecular e a inativação de enzimas e bactérias pela intensidade da cavitação e o aparecimento dos radicais livres, os quais estão relacionados à altas frequências (KADAM *et al.*, 2015; PINGRET, *et al.*, 2012; JAMBRAK *et al.*, 2010).

Embora a cavitação dure apenas alguns microssegundos, e a quantidade de energia libertada por cada bolha individual é mínima, a quantidade acumulada de energia gerada pelas cavidades implodidas é extremamente elevada e muitas vezes comparada àquela gerada num banho ultrassônico (SONICS, 2015).

A maior dificuldade em realizar a extração de moléculas via ultrassom é a complexidade da matriz em que elas estão inseridas. Quando materiais sólidos são submetidos a irradiação ultrassônica, pode-se fazer uma analogia a uma esponja sendo comprimida e liberada inúmeras vezes (TIWARI, 2015).

Na literatura é possível encontrar estudos a respeito do emprego de US na extração de alguns compostos como: ácido tartárico, antocianinas e aromas (VILKHU *et al.*, 2008), proteína de arroz (YANG *et al.*, 2018), hemicelulose de farelo de milho (EBRINGEROVÁ; HROMÁDKOVÁ, 2004), óleo de soja (LI; PORDESIMO; WEISS, 2004).

Salisova; Toma e Mason (1997) constataram que ultrassom com sonda permitiu melhor extração de componentes da sálvia, com maior rendimento em menor tempo e temperatura, quando comparado ao banho ultrassônico.

Além de possibilitar a extração, esta técnica também pode ser empregada pela indústria alimentícia em produtos no estado líquido ou semissólido, alimentos pouco estáveis termicamente, para homogeneização, emulsificação e até mesmo na conservação de alimentos (TIWARI, 2015). A ação bactericida se baseia na ruptura

da membrana celular com conseqüente liberaçãõ do material celular (ENTEZARI, *et al.* 2004).

Destaca-se pelo alto rendimento, qualidade, menor tempo, custos operacionais e de manutençãõ reduzidos (ZUO *et al.*, 2009; PATIST; BATES, 2008), além de dispensar a utilizaçãõ de produtos químicos (tecnologia verde, gerando menos resíduos) ou aplicaçãõ de calor (CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011). Não foram encontrados até o momento estudos da aplicaçãõ de ultrassom para extraçãõ de amido a partir da farinha de amaranto.

#### 1.3.6.2 Extraçãõ de amido assistida por irradiaçãõ ultrassônica

A extraçãõ de amido assistida por US é um método físico, que emprega tecnologia limpa e tem se mostrado efetivo para o isolamento e modificaçãõ de polissacarídeos (KIM *et al.*, 2013). Trata-se de um método vantajoso em relaçãõ a outras técnicas convencionais, que apresentam alto consumo de energia e de solventes, investimento e tempo, bem como a geraçãõ de resíduos no extrato obtido, os quais deverão passar por posterior sistema de tratamento (CHEMAT *et al.*, 2017).

Em amidos, esta técnica geralmente é aplicada desde 1933 como processo de modificaçãõ física (HU *et al.*, 2013, ZHENG *et al.*, 2013; KARDOS; LUCHE, 2001).

As modificações de amido têm sido amplamente valorizadas no mercado. Registrou-se um crescimento de 4,1% no mercado de amidos modificados em 2017, e até 2022, estima-se US\$ 12,14 bi, o que incentiva pesquisas com base na modificaçãõ de estruturas, principalmente a partir de métodos físicos (MONROY; RIVERO; GARCÍA, 2018).

A modificaçãõ por US promove alterações nas características nativas do amido, como o aparecimento de danos (poros, canais, fissuras) na superfície do grânulo e até mesmo reduçãõ do peso molecular (YU *et al.* 2013). Diminuiçãõ na viscosidade, aumento na solubilidade e claridade devido ao aumento de macromoléculas livres, ao invés da quebra de moléculas de amido foram relatadas por alguns autores (ZUO *et al.*, 2009). Embora estes efeitos estejam associados à modificaçãõ, eles também podem ocorrer durante a extraçãõ do amido por US.

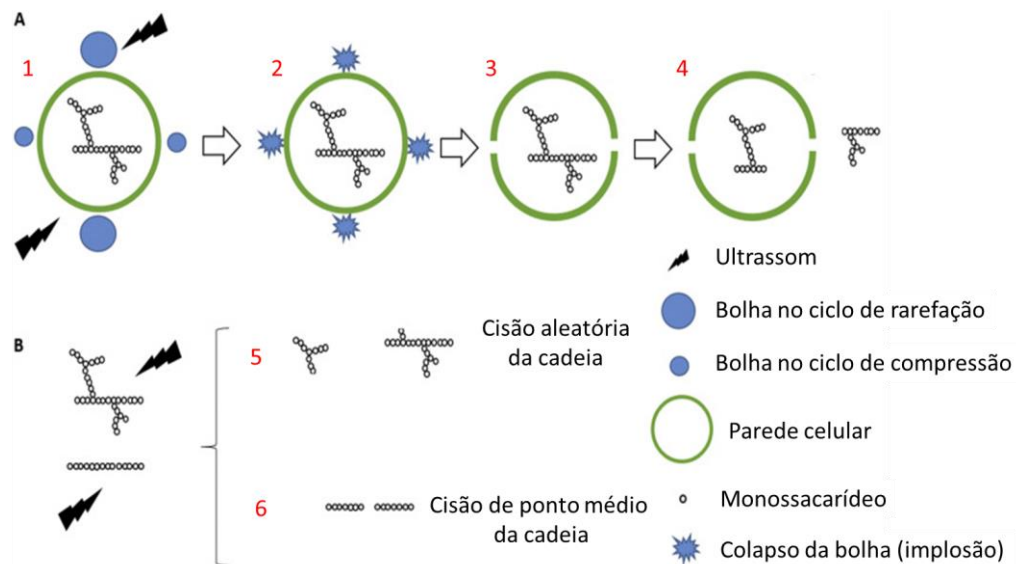
Cui e Zhu (2021) discutem que o princípio básico para realizar a extraçãõ de um polissacarídeo consiste na trituraçãõ da matéria-prima para romper as paredes

celulares e liberar o amido. Isso pode ser alcançado em diferentes condições de extração pela exposição ao efeito ultrassônico.

Quando a extração é feita a partir de materiais secos, como a farinha, duas etapas são destacadas: a maceração do vegetal em um solvente a fim de facilitar sua hidratação, inchamento e a fragmentação da matéria-prima; e a transferência de massa do componente desejável por difusão ou pressão osmótica. Nesta segunda etapa é possível aumentar a velocidade de liberação do conteúdo por meio de agitação, aumento da temperatura ou vibração (TOMA *et al.*, 2001).

Essas etapas são facilitadas pelo uso do US, uma vez que as forças mecânicas e de cisalhamento geradas pelas bolhas de cavitação promovem o rompimento das paredes celulares, possibilitando a difusão do solvente no material que está sendo sonicado e, portanto, uma maior transferência de massa, permitindo a liberação de componentes da matriz (ASHOKKUMAR, 2015). Cui e Zhu (2021) ilustram este processo de desintegração das paredes celulares e liberação de amido, bem como sua despolimerização quando a fonte botânica é submetida ao ultrassom (Figura 1.8).

Figura 1.8 – Desintegração das paredes celulares e liberação do amido por US



Fonte: Cui e Zhu (2021).

(A) 1: compressão e rarefação de bolhas de cavitação induzidas por ultrassom perto das paredes celulares; 2: bolhas de cavitação colapsam após atingir o tamanho crítico; 3: o colapso da bolha causa grande força de cisalhamento destruindo as paredes celulares; 4: difusão de polissacarídeos para fora das paredes celulares.

(B) Ilustração da degradação de ultrassom de moléculas de polissacarídeo. (Nota: 5: cisão de cadeia aleatória ocorre em polissacarídeo ramificado; 6: cisão de cadeia de ponto médio ocorre em polissacarídeo linear).

A tensão forte e a energia de cisalhamento provocados pela cavitação (efeitos mecânicos) resultam em cisões de cadeia irreversíveis. A degradação do US pode ser uma cisão de cadeia aleatória ou de cadeia de ponto médio, o que dependerá da composição e configuração estrutural do polissacarídeo. A cisão aleatória diminui em comprimentos de cadeia menores. Já, a cisão de ponto médio, assume que a degradação ocorre no centro do polissacarídeo, e, portanto, polissacarídeos de maior peso molecular sofrem uma quebra mais rápida (VILKHU *et al.*, 2010).

A região amorfa é mais suscetível ao US em relação à região cristalina. E as alterações são relacionadas aos parâmetros utilizados durante a exposição dos grânulos ao US. Sistemas bifásicos utilizados (água-amido) favorecem a formação de microjatos, que juntamente com as forças de cisalhamento e aquecimento local promovem danos granulares e moleculares ao amido. Além disso, os radicais hidroxila e hidrogênio gerados pelo colapso das bolhas de cavitação também aumentam o ataque aos grânulos contribuindo para causar modificações e até mesmo a liberação dos polímeros (YANG *et al.*, 2019).

Isso parece corroborar com a discussão abordada por Li *et al.* (2019) em que o US além de causar a quebra da ligação química nas moléculas de amido, pode favorecer a degradação das moléculas de água em radicais OH, as quais atacam as moléculas de amido, em última análise, resultando na degradação da amilopectina e formação de nova amilose.

Isso pode ser avaliado a partir dos complexos de inclusão com iodo que as cadeias de amilose e amilopectina podem formar, os quais exibem diferentes cores, refletindo o comprimento e o padrão de ramificações do amido. Com a amilose, o iodo forma um complexo helicoidal com suas longas cadeias, resultando numa cor azul intensa. No caso da amilopectina, a cor do complexo é vermelho fraco a azul-roxo devido aos segmentos mais curtos (BERTOFT *et al.*, 2016).

Quando aplicado US, alguns estudos encontraram uma mudança da coloração do complexo amilose-iodo de azul para vermelho. Assim, afirmaram que o tratamento ultrassônico induz a cisão da cadeia, enfraquecendo a capacidade do amido de formar complexo com iodo (SUI; KONG, 2018).

Sugere-se, portanto, que o tratamento com ultrassom facilita a desintegração dos grânulos de amido e a formação de uma suspensão mais homogênea (CHENG *et al.*, 2010) quando comparado aos métodos convencionais de dispersão. Estas

diferenças estão diretamente relacionadas às condições de trabalho, como potência, frequência, tempo, temperatura, fonte botânica, concentração da suspensão e estrutura do amido (ZUO *et al.*, 2009).

A temperatura do meio pode sofrer consideráveis aumentos durante a sonicação (KADAM *et al.*, 2015). Isso ocorre devido ao acúmulo de energia originado pela implosão de bolhas de cavitação, resultando em pontos quentes que contribuem para o aumento da temperatura, bem como da pressão, o que provoca turbulência e ondas de energia de cisalhamento muito grandes na zona de cavitação. E essa combinação de pressão, temperatura e turbulência promovem uma série de efeitos na matriz que está sendo submetida ao ultrassom (KARAMAN; TUNCEL; YILMAZ TUNCEL, 2017).

Entre essas alterações, destaca-se a quebra de ligações intermoleculares (C-C) devido à cavitação (BERNARDO *et al.*, 2018; SUJKA, 2017). Os microjatos também podem facilitar a injeção de fluido dentro do sólido (CÁRCEL *et al.*, 2012).

Os efeitos também dependem da distância entre a bolha de cavitação e a superfície do grânulo (ZHU, 2015b). Wang e Wang (2004b) relataram que a amplitude está diretamente relacionada ao conteúdo energético no US, isto é, quanto maior a amplitude, maior será a distância percorrida pelas ondas acústicas geradas na ponta da sonda. Os radicais livres formados durante a sonicação também podem favorecer a quebra das cadeias, conforme discutido por Czechowska-Biskup *et al.* (2005).

No entanto, alguns autores apontam que sob determinadas condições, o US pode ter pequena influência na estrutura molecular do amido (ZHENG *et al.*, 2013, CHUNG *et al.*, 2002). No caso de moléculas pequenas, as cavitações e forças de cisalhamento podem ter pouco efeito, sendo responsáveis apenas pela ruptura de polímeros maiores (PORTENLAENGER; HEUSINGER, 1997).

A exemplo disto, Sujka e Jamroz (2013) relataram aparecimento de depressões mais intensas para amido de batata e trigo, comparado ao amido de milho e arroz, sob as mesmas condições experimentais.

O tempo de exposição ao US também influencia diretamente as características finais obtidas, sabendo-se que um longo tempo de tratamento pode comprometer a integridade dos grânulos (ZUO *et al.*, 2009).

Dessa forma, otimizar as condições de trabalho é fundamental para obtenção de bons resultados (ZHU *et al.*, 2015b). No Quadro 1.1 é possível observar os estudos já publicados e desenvolvidos acerca do emprego de US para isolamento de amidos.



Trata-se de um processo recente, que tem despertado o interesse como alternativa para substituir processos químicos.

Além disso, resultados promissores quanto ao rendimento também atraem a atenção para sua investigação em diferentes fontes botânicas. Pesquisas já relataram um aumento no rendimento e pureza na extração de amido de milho, arroz e taro quando assistida por ultrassom (ZHANG *et al.*, 2005b; WANG; WANG, 2004a; SIT; MISRA; DEKA, 2014).

Estudos também relatam a formação de poros ou canais na superfície do amido sonicado (XING *et al.*, 2014), embora eles também possam estar presentes naturalmente ou serem oriundos de modificação biológica (enzimática) (ZHU, 2017).

Os poros podem ser considerados como canais de ligação entre a superfície e o interior do grânulo (HUBER; BeMILLER, 2000). Podem ser percebidos como favos de mel, que aumentam a propriedade adesiva e a capacidade de absorção dos materiais, auxiliando em incorporações, protegendo o composto pela formação de redes (XING *et al.*, 2014).

Com a formação ou presença de poros, fissuras ou canais na superfície do amido, cria-se a possibilidade de aplicação deste carboidrato como veículo de outros ingredientes, já que ele pode carrear um ativo inserido nestes orifícios. Ou ainda, possibilita interações entre os grupos químicos, formando até mesmo um sistema de liberação controlada. A catequina, por exemplo, permaneceu aderida à superfície porosa dos grânulos de amido de milho nativo, devido às interações entre os grupos benzeno-tetrahidrofurano (HAN *et al.*, 2015).

Portanto, biopolímeros de grau alimentício como o amido têm sido apontados como alternativa viável e de baixo custo para formar complexos de inclusão molecular com ingredientes que possam oferecer benefícios à saúde (LESMES; BARCHECHATH; SHIMONI, 2008).

Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(continua)

<b>Autores (ano)</b>	<b>Título traduzido</b>	<b>Fonte botânica</b>	<b>Parâmetros</b>	<b>Parâmetros para melhor rendimento</b>	<b>Observações</b>	<b>Revista de publicação</b>
Wang; Wang (2004a)	Isolamento de amido de arroz por protease neutra e ultrassom de alta intensidade.	Arroz	US (750W, 20 kHz) combinado com 0,03% de protease, T: 40 °C, A.V.: 25, 50, 75%, t: 15, 30, 60 min. Aplicação do US antes, durante e após tratamento com protease.	Digestão inicial pela protease por 2 h + sonicação 75 ou 50% de A.V. e tempo de 15-30 min – Rendimento de 83,4-86,0%.	Menor interação amido-proteína. Não houve danos na superfície dos grânulos. Viscosidade de pasta aumentou.	<i>Journal of Cereal Science</i>
Wang; Wang (2004b)	Aplicação de ultrassom de alta intensidade e surfactantes em isolamento de amido de arroz.	Arroz	US (750W, 20 kHz) + dodecil sulfato de sódio (SDS), estearoil lactil lactato de sódio (SSL) e Tween 80 a 0,1, 0,3, ou 0,5%, t: 5, 30, 60 min, A.V.: 25, 50, 75%, T: 40-50 °C.	Combinação de US 20 min + 0,5% SDS aumentou rendimento para 84,9%.	Temperatura não afetou o rendimento. Baixo teor de proteína residual. A associação com protease é mais efetiva que o uso de surfactantes.	<i>Cereal Chemistry</i>
Zhang <i>et al.</i> (2005a)	Recuperação de amido de farinha de milho degerminada e ração de canjica usando ultrassom.	Milho	US; US + moagem fina; moagem fina + US; moagem fina. Comparação com imersão em água, agitação e lavagem. Suspensão 10%, t: 30 min de sonicação, A.V.: 100%, 20 kHz, 120 W.	Aumento do rendimento de 76% para amido de milho e 54% para a canjica.	Menor teor de proteína (US ou US+moagem fina). Remoção de óleo das amostras.	<i>Cereal Chemistry</i>

Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(continuação)

<b>Autores (ano)</b>	<b>Título traduzido</b>	<b>Fonte botânica</b>	<b>Parâmetros</b>	<b>Parâmetros para melhor rendimento</b>	<b>Observações</b>	<b>Revista de publicação</b>
Zhang <i>et al.</i> (2005b)	Separação de amido de milho aprimorada por sonicação.	Milho amarelo dentado	Aplicação do US entre a etapa de moagem aquosa e decantação. US (120W), A.V.: 100%, T: 40 °C, t: 30 min	Rendimento similar (66,93-68,72%), sem diferença significativa para moagem com SO <sub>2</sub> (68,92%). Melhor rendimento com US após 2ª moagem (68,72%). Sem US e sem SO <sub>2</sub> , rendimento 61,70%.	Diminuição do teor proteico.	Starch/Stärke
Park <i>et al.</i> (2006)	Rápido isolamento de amido de sorgo e outros cereais usando sonicação.	Sorgo, trigo, arroz, cevada e milho	Probe 25,4 mm, imersão 5 mm, A.V.: 75%, t: 1, 2, 4, 6, 8 e 10 min, + agentes redutores (metabissulfito de sódio, ditiotreitól e β-mercaptoetanol), velocidades de centrifugação (1000, 1500, 2000 rpm)	2 min de sonicação + solução tampão borato de sódio (12,5 mM) + 0,5% SDS + 0,5% metabissulfito de sódio, pH 10, centrifugação 1500 rpm.	Menor teor proteico. Menor tendência ao amarelo.	<i>Cereal Chemistry.</i>
Cameron; Wang (2006)	Aplicação de protease e ultrasonicação de alta intensidade em isolamento de amido de milho de farinha de milho degerminada.	Milho	US + protease 200 g água deionizada (30-42 °C), 100 g farinha, agitação 5 min, A.V.: 25, 50 e 75%, pulso 5 s on, 5 s off, t: 15, 30, 60 min, T: 40-50 °C, imersão do probe: 3 cm.	Protease 2h seguida de US (A.V.: 75%); 30 min aumentou rendimento 61,2-76,1% em comparação ao US isolado (55,2-67,8%)	Redução do teor proteico e de grânulos danificados.	<i>Cereal Chemistry</i>

Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(continuação)

<b>Autores (ano)</b>	<b>Título traduzido</b>	<b>Fonte botânica</b>	<b>Parâmetros</b>	<b>Parâmetros para melhor rendimento</b>	<b>Observações</b>	<b>Revista de publicação</b>
Benmoussa; Hamaker (2011)	Isolamento rápido de amido em pequena escala usando uma combinação de sonicação ultrassônica e separação por densidade de sacarose.	Milho e sorgo	100 mg farinha + 1 mL NaCl (0,05 M) + 2% metabissulfito de sódio. Sonicação antes e após filtração (250 mesh), pulso 1 s, A.V.: 20%, t: 15 s.	Rendimento: 81% para sorgo e 82% para milho em comparação à extração com solução aquosa com bissulfito de sódio, cloreto de mercúrio e adição de água-tolueno (69% sorgo; 70% milho).	Aumento da entalpia de gelatinização. Maior teor proteico quando só sonicação foi utilizada. Maiores danos ao amido.	<i>Starch/Stärke</i> .
Sit, Misra e Deka (2014)	Rendimento e propriedades funcionais de amido de taro afetado por US	Taro	Suspensão: 100 g taro moído + 100 mL água; probe 7 mm, imersão 30 mm da superfície. US (30 kHz, A.V.: 50-100%, t: 50 e 10 min, pulsos: 30 e 60 s, T: 20 °C. Filtração e centrifugação (3000xg, 10 min, 20 °C). Secagem 45 °C, 24 h).	18,97%: US, t: 10 min, pulso 30 s e A.V.: 50% em relação à extração aquosa.	Redução na clareza da pasta. Aumento do intumescimento, solubilidade, propriedades de pasta, textura, estabilidade ao congelamento-descongelamento.	<i>Food and Bioprocess Technology</i> .

Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(continuação)

Autores (ano)	Título traduzido	Fonte botânica	Parâmetros	Parâmetros para melhor rendimento	Observações	Revista de publicação
Sit, Deka e Misra (2014)	Efeito combinado de ultra-som e pré-tratamento enzimático no rendimento e propriedades funcionais do amido taro ( <i>Colocasia esculenta</i> )	Taro	Suspensão: 100 g taro + 100 mL água destilada submetida ao US (30 kHz, 100 W, A.V.: 80%) + enzimas (celulase e xilanase) (T: 40 °C, t: 2 h, agitação 150 rpm).	Usando apenas o US (10 min (16,16%), e 20 min (20,81%) – maior rendimento) em comparação à US + celulase (18,89%) e US + xilanase (18,68%) e US + celulase + xilanase (20,31%).	Degradação da mucilagem do taro, reduzindo a viscosidade, facilitando a extração. Redução da claridade de pasta. Melhoria na estabilidade de congelamento e descongelamento.	<i>Starch/Stärke.</i>
Karaman, Tuncel e Tuncel (2017)	O efeito da extração assistida por US no rendimento e propriedades de alguns amidos de leguminosas	Lentilha (verde e vermelha), fava e ervilha	50 g + solução (1:3 de 0,05% bissulfito de sódio). US (750 W, 22 kHz, probe 25 mm, imersão: 8,5 cm, A.V.: 40% (100 W), 70% (200-250 W), 100% (400-460 W), t: 1,5, 2,5, 3,5 h, pulsos 5s on e 25 s off, T: 45 °C). Ajuste de pH com NaOH (1 M), e HCl (1 M).	Rendimento menor principalmente quando maiores amplitudes foram empregadas devido a maior interação entre endosperma e farelo.	Aumento da entalpia (exceto para feijão) e da estabilidade ao congelamento e descongelamento. Aumento do teor de amilose.	<i>Starch/Stärke.</i>

Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(continuação)

Autores (ano)	Título traduzido	Fonte botânica	Parâmetros	Parâmetros para melhor rendimento	Observações	Revista de publicação
Krishnakumar e Sajeev (2017)	Otimização da superfície de resposta da extração assistida por ultrassom tipo banho (UAE) de amido nativo de tubérculos de mandioca frescos	Mandioca	US (50, 75, 100 W), t: 10, 20, 30 min, relação sólido:solvente (10, 20, 30 g mL <sup>-1</sup> )	83,20% (8,11% superior à extração úmida) - US 63,32 W, t: 15,59 min, 19,19 g mL <sup>-1</sup> (de acordo com planejamento <i>Box Benkhen</i> ).		<i>Advances in Research.</i>
Pinyo <i>et al.</i> (2017)	Melhoria do processo de extração do amido de sagu usando várias técnicas de pré-tratamento e sua combinação de pré-tratamento	Amido de sagu	US (100, 130 e 160 W), t: 4 min. Para determinar o melhor tempo, foram testados 1, 4, 7 e 10 min. Para determinar a melhor concentração, foram testados: 5, 10 e 15%.	Rendimento de 71,5% US (suspensão 10%, 160 W, t: 7 min) x 61% extração aquosa. Com maior potência, o tempo é reduzido e maior concentração pode ser usada.	Aumento DA luminosidade, redução da tendência ao amarelo, não alterou temperatura de pasta.	<i>Starch/Stärke.</i>
Bernardo <i>et al.</i> (2018)	Extração assistida por US de amido de cará-do-ar ( <i>Disocorea bulbifera</i> ): efeito na morfologia e propriedades funcionais	Cará-do-ar ou inhame	Tubérculos previamente triturados em água (1:1, 18000 rpm, 2 min) – US (450 W, 25 kHz, t: 3, 6, 9, 15 min, A. V.: 12, 40, 68 e 70%), peneiramento (106 µm), e 10 lavagens com água.	32,09%, A.V.: 70%, 15 min): aumento de 2,64% no rendimento, sem diferença entre as condições. A.V.: 12% e 3 min redução de 1,91% no rendimento.	Danos na superfície, região amorfa reduzida. Aumento da viscosidade e redução na T <sub>p</sub> . Aumento da luminosidade e da tendência ao amarelo.	<i>Starch/Stärke.</i>

Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(continuação)

Autores (ano)	Título traduzido	Fonte botânica	Parâmetros	Parâmetros para melhor rendimento	Observações	Revista de publicação
González-Lemos <i>et al.</i> (2018)	Extração assistida por US de raízes congeladas de jicama ( <i>P. erosus</i> ): Efeito no rendimento, características estruturais e propriedades térmicas	Jicama	Raízes em solução de bissulfito de sódio (1500 ppm, 1:3, m/v, t: 0, 15, 30 min) + banho de gelo seco e acetona por 10 min, armazenamento a -24 °C, 24-48 h. Descongelamento (25 °C, 15 h) + moagem aquosa (1:3 m/v) + US (banho), t: 0, 30, 60 min, T: 4 °C. Secagem: 50 °C, 24 h. Teste 2: US (t: 0, 10, 20, 30, 45, 60 e 90 min)	Imersão 15 min, sem congelamento + US 60 min – rendimento 29,98%. Maior rendimento (35,60%) sem sonicação, 15 min imersão, 48h congelamento. Teste 2: 10 min iniciais, maior rendimento (24,76%, em relação à amostra controle (16,86%).	Congelamento + US reduziu o rendimento devido ao aumento da viscosidade da jicama devido aos danos mecânicos do congelamento (extravasamento do conteúdo mucilaginoso). Primeiros minutos de extração são suficientes para romper estrutura sem danificar os grânulos. Aumento da entalpia de gelatinização.	<i>Cyta – Journal of Food.</i>

Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(continuação)

Autores (ano)	Título traduzido	Fonte botânica	Parâmetros	Parâmetros para melhor rendimento	Observações	Revista de publicação
Li <i>et al.</i> (2019)	Extração de amido de alta amilose de <i>Radix puerariae</i> usando ultrassom de alta intensidade e baixa frequência	Amido de alto teor de amilose	US (25,48 kW m <sup>-2</sup> , sonda 50 mm). Suspensão: 50 g + 400 mL água destilada, 15,29-25,48 kW a 20 kHz e 300 W a 45 kHz.	44,5%, sem diferença significativa para os tratamentos.	Amido fracamente ligado a outros componentes e tecidos da planta, sendo facilmente extraído, sem diferença para condições do US. Aumento do teor de amilose em maiores intensidades e do teor de amido com digestibilidade lenta. Menor cristalinidade.	<i>Ultrasonics Sonochemistry</i> .
Ramírez-Balboa <i>et al.</i> (2021)	Extração assistida por ultrassom e caracterização das propriedades funcionais do amido de frutos de graviola ( <i>Annona muricata</i> L.)	Frutos de graviola	US (750 W, 20 kHz), t: 10, 15 e 20 min; A.V.: 20, 30 e 40%, T: 25 °C.	6,34% com US 10 min, A.V.: 40%	Aumento da temperatura de gelatinização. Teor reduzido de amilose. Maior solubilidade em água.	<i>Acta Scientiarum</i> .



Quadro 1.1 – Publicações científicas relacionadas à extração de amidos por ultrassom

(conclusão)

<b>Autores (ano)</b>	<b>Título traduzido</b>	<b>Fonte botânica</b>	<b>Parâmetros</b>	<b>Parâmetros para melhor rendimento</b>	<b>Observações</b>	<b>Revista de publicação</b>
Setyaningsih <i>et al.</i> (2021)	Processo de otimização de produção de amido de mandioca ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) assistido por US usando metodologia de superfície de resposta	Mandioca	Teste 1: 15 g farinha + água (relação solvente-amostra: 10:1; 20:1 e 30:1) + US (200 W, 26 kHz, t: 10 min), intensidade: 30,60 e 90%, pulso 0,3; 0,6; 0,9 s <sup>-1</sup> ; filtração e secagem (50 °C, 24 h). Teste 2: otimização do tempo 3-25 min nas condições ideais.	Teste 1: US - 90%, ciclo 1 s <sup>-1</sup> , proporção 30:1 Teste 2: nestas condições acima, melhor rendimento em 10 min.	Maior proporção do solvente melhora o rendimento. Aumento da temperatura reduz rendimento inibindo a propagação de ondas ultrassônicas e reduzindo o número de bolhas de cavitação.	<i>Agronomy.</i>

\*A.V.: amplitude de vibração; T: temperatura; t: tempo, T<sub>p</sub>: temperatura de pasta.

Fonte: A autora.

É interessante destacar que a extração assistida por ultrassom favorece o isolamento de amidos que se apresentam emaranhados em uma matriz proteica, como o amaranto, devido às ações físicas desencadeadas pela sonicação, as quais auxiliam na quebra ou afrouxamento das proteínas e liberação do amido (ZHANG *et al.*, 2005a). Yang e Liu (2002) observaram que o ultrassom diminuiu a afinidade entre o pericarpo e o endosperma dependendo da frequência e amplitude utilizadas. Isso também permite uma melhor liberação do conteúdo amiláceo.

Características como diminuição da viscosidade e entalpia de gelatinização, formação de moléculas de cadeia curta e açúcares redutores podem ser observadas em amidos tratados por US. Um aumento no poder de inchamento e na solubilidade podem ocorrer devido aos danos provocados ao amido, os quais facilitam a penetração de água, conforme discutido por Zhu (2015b). A região cristalina tende a ser fortemente afetada por este tratamento (KIM; PARK; LIM, 2015; GONÇALES *et al.*, 2014; JAMBRAK *et al.*, 2010).

Não foram encontrados na literatura, estudos a respeito da extração de amido de amaranto assistida por ultrassom, tampouco sua comparação com a extração aquosa, objetivo deste trabalho.

### 1.3.7 Tendências para Formulação de Novos Produtos

Os consumidores têm mudado gradativamente seus hábitos alimentares e que tem estado pautado na saúde e no consumo sustentável. Assim, a dieta exerce um papel fundamental no desenvolvimento do organismo com o fornecimento de nutrientes essenciais, na prevenção de doenças e no bem-estar (COELHO, *et al.*, 2018).

A indústria de alimentos tem interesse em melhorar o valor nutricional de alimentos, sem comprometer as propriedades tecnológicas desejadas. Uma das linhas de estudo está voltada para o uso de fibras alimentares a fim de fortificar ou enriquecer formulações (CASTRO *et al.*, 2013).

Portanto, o enriquecimento de ingredientes que vão compor diferentes alimentos é uma estratégia nutricional importante para a oferta de novos produtos ou como insumos para a elaboração de alimentos de forma caseira ou industrial, diversificando a dieta das pessoas. E quando este enriquecimento é realizado com componentes que além de contribuir com os nutrientes necessários, também

apresenta funções fisiológicas e benefícios à saúde do consumidor, reduzindo o risco de doenças, como nos alimentos funcionais, a proposta é ainda mais relevante (KARELAKIS *et al.*, 2019).

### 1.3.8 Alimentos Funcionais

Além de saciar a fome e ser fonte de nutrientes, os alimentos passaram a receber novas exigências quanto às funções desempenhadas no organismo, as quais devem se correlacionar diretamente com a saúde e redução do risco de doenças. Com isso, alimentos funcionais estão ocupando maior espaço no mercado, já que as pessoas estão mais conscientes da importância da manutenção da saúde promovendo qualidade de vida e bem-estar (CORRADINI; LANTANO, CAVAZZA, 2013).

Mas o conceito de alimentos funcionais já vem sendo discutido há algum tempo, datando de 1980 no Japão, como tentativa de oferecer alimentos mais saudáveis à população que apresentava maior expectativa de vida, e paralelamente a isso, reduzir custos futuros com saúde pública (OZUNA *et al.*, 2015).

No Brasil, a Resolução nº. 18 de 30 de abril de 1999 trata das Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Este regulamento relaciona a alegação de propriedade funcional ao “*papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano*”. Quando estes nutrientes já possuírem comprovação científica de sua eficácia, não será necessário a análise para alegação funcional na embalagem (BRASIL, 1999).

Portanto, para apresentar alegações de propriedade funcional, o alimento deve conter ingredientes ou compostos bioativos que auxiliem na manutenção da saúde e contribuam para redução do risco de certas doenças (BIGLIARDI; GALATI, 2013).

Dentre os alimentos funcionais, destaca-se a presença de compostos bioativos, que são fitoquímicos encontrados em alimentos com a capacidade de modular processos metabólicos resultando em benefícios para saúde (GALANAKIS, 2017). Entre estes compostos podem ser listados: os carotenoides, ácidos graxos poli-insaturados (ômega-3, ácido graxo eicosapentaenoico (EPA) e ácido

docosahexaenoico (DHA)), os prebióticos, probióticos, as fibras alimentares e os compostos fenólicos (CHAVES, 2015).

Existem quatro tipos principais de alimentos funcionais (LONGORIA-GARCIA *et al.*, 2018):

- a) produtos fortificados: gêneros alimentícios que têm nutrientes adicionais na sua composição;
- b) produtos enriquecidos: desenvolvidos através da inserção de nutrientes adicionais ou componentes que não são normalmente encontrados nessa fonte alimentar;
- c) produtos alterados: aquele em que componentes não-benéficos foram removidos, reduzidos, ou substituídos por outro componente com efeitos benéficos, e;
- d) mercadorias melhoradas: produtos em que um dos componentes foi naturalmente melhorado através de condições especiais.

Neste estudo, frutooligossacarídeos (FOS) (considerados como fibras e prebióticos) foram utilizados para enriquecer o amido e a farinha de amaranto.

Mas para que as pessoas possam usufruir destes benefícios ao organismo, é necessário um consumo regular, associado a hábitos saudáveis (VIDAL *et al.*, 2012; ROBERFROID, 2002). Isso reforça a ideia de enriquecer a farinha ou o amido com compostos bioativos, especialmente FOS, pois são ingredientes amplamente utilizados na indústria alimentícia. Assim, podem ser carreadores de prebióticos, melhorando ou incentivando o consumo pela população.

O desenvolvimento de alimentos funcionais é um interesse crescente nas indústrias de alimentos, enfatizando sua importância na dieta de indivíduos que buscam qualidade de vida. No entanto, isso não é um processo fácil e demanda pesquisas de cunho científico para viabilizar a produção (ROBERFROID, 2002).

#### 1.3.8.1 Prebióticos

No intestino grosso podem ser encontradas mais de 400 tipos de bactérias, divididas em três grupos com base em seus possíveis efeitos: *Lactobacillus* e *Bifidobacterias*; bactérias possivelmente patogênicas (espécie *Clostridia*) e outras bactérias comensais (*Bacteroides*). A presença de *Lactobacillus* e *Bifidobacterias* sugerem maior saudabilidade intestinal, podendo-se referir a eles como probióticos,

ou seja, microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas têm efeitos positivos à saúde (SHOAIB *et al.*, 2016).

Um desequilíbrio da microflora intestinal pode desencadear doenças. Portanto, para manutenção do estado sadio e crescimento destes microrganismos benéficos ao organismo, é necessário fornecer a eles alimentos passíveis de metabolização, possibilitando seu desenvolvimento. Estes componentes alimentares indigestíveis são conhecidos como prebióticos. Eles são definidos como ingredientes que podem ser fermentados seletivamente por microrganismos, produzindo ácidos graxos de cadeia curta que permitem a modulação da composição e/ou da atividade na microflora gastrointestinal (ROBERFROID, 2002).

Para tanto, o prebiótico deve alcançar o cólon de forma intacta, resistindo ao processo de digestão, absorção e adsorção, ser fermentado pela microbiota do trato gastrointestinal, estimulando seletivamente o crescimento de bactérias benéficas (KOLIDA; GIBSON, 2007).

São considerados como carboidratos não digeríveis que geralmente apresentam propriedades sensoriais favoráveis, temperatura e estabilidade ácida, e são considerados ingredientes alimentares interessantes e promissores (CARDOSO *et al.*, 2021).

Os prebióticos podem ser divididos em várias categorias de acordo com seu desenvolvimento e *status* regulatório. Eles são considerados como fibras dietéticas, porém nem toda fibra é um prebiótico. Neste sentido, as fibras consideradas prebióticas são: inulina, oligofrutose/frutooligossacarídeos (FOS), glucooligossacarídeos, galacto-oligossacarídeos, xilo-oligossacarídeos, malto-oligossacarídeos, isomaltose, lactulose, lactosacarose, rafinose, estaquiose, lactulosucrose, frutanos, amido resistente, entre outros (PORWAL *et al.*, 2020; CARDOSO *et al.*, 2021).

#### 1.3.8.2 Fibras alimentares

As fibras são componentes capazes de resistir à digestão e absorção intestinal e que apresentam fermentação completa ou parcial no intestino grosso. Uma vez que conseguem driblar o sistema digestivo, podem ser utilizadas pela microbiota intestinal resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) como o acetato, butirato e propionato. Estes AGCC estão diretamente relacionados ao bom

funcionamento do organismo e prevenção de doenças (KASUBUCHI *et al.*, 2015). Vários estudos epidemiológicos mostram uma correlação negativa entre o consumo de fibras e a incidência de doenças crônicas.

Entre elas, tem-se a celulose, pectina, hemicelulose, gomas, beta-glucanas, amido resistente, oligossacarídeos, e frutanos como frutooligossacarídeos (FOS) e inulina. Eles podem ser encontrados principalmente em frutas, vegetais e cereais integrais (CUMMINGS *et al.*, 2004).

Os frutanos são classificados como carboidratos altamente solúveis em água, contendo uma molécula de sacarose unida a inúmeras moléculas de frutose por ligações  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1) e  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 6) de forma linear ou ramificada. Possuem características tecnológicas e funcionais, sendo essas moléculas amplamente utilizadas como fibra alimentar e prebióticos na indústria de alimentos, devido à ligação ( $\beta$ ) (2  $\rightarrow$  1) (ligações do carbono anomérico (C2) da unidade de frutose). Essas moléculas podem resistir à ação de enzimas hidrolíticas como sacarase, maltase e isomaltase, chegando assim intactas ao cólon e atuando como substratos seletivos para bactérias benéficas (MARIANO *et al.*, 2020).

Quando o grau de polimerização fica em torno de 2 a 60 são denominados como inulina, enquanto o baixo grau de polimerização (1 a 10) corresponde a oligofrutose ou frutooligossacarídeos (FOS). Classificados como não-redutores, não participam das reações de *Maillard* (LASSEUR *et al.*, 2006; DIAS-TAGLIACOZZO; DIETRICH; MELLO-AIRES, 1996).

As moléculas de cadeia curta, que correspondem ao FOS, são muito mais solúveis e mais doces que a inulina nativa e de cadeia longa e podem contribuir para melhorar a sensação na boca porque suas propriedades são semelhantes à glucose, frutose e sacarose (TÁRREGA; ROCAFULL; COSTELL, 2010).

Neste sentido, o presente estudo utilizou os FOS para serem incorporados ao amido e à farinha de amaranto, sendo então conceituados a seguir.

#### 1.3.8.3 Frutooligossacarídeos (FOS)

Os frutooligossacarídeos são oligômeros de frutose compostos de 1-kestose, nistose e frutofuraoil nistose. As unidades de frutosil são ligadas na posição  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1) da sacarose, distinguindo-os de outros oligômeros, enquanto que a ligação com a glucose é do tipo  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2), como ocorre na sacarose. Eles podem ser produzidos

comercialmente por hidrólise enzimática da inulina ou por reação enzimática de transfrutosilação em resíduos de sacarose (MACEDO; VIMERCATI; ARAÚJO, 2020; PASSOS; PARK, 2003).

São encontrados na cebola, chicória, aspargos, trigo, banana, tomate e mel em pequenas quantidades (MABEL *et al.*, 2008). Suas concentrações variam de acordo com a espécie e com o suprimento de carboidratos na forma de sacarose, pois estes desempenham papel fundamental na habilidade da planta em sintetizar frutanos (JAIME *et al.*, 2001).

São carboidratos não digeríveis, não-redutores, com propriedades funcionais e fisiológicas como: baixa doçura e valor calórico ( $1,5 - 2,0 \text{ kcal g}^{-1}$ ), não cariogênicos, prebióticos, hipolipemiante e hipocolesterolêmico (MABEL *et al.*, 2008).

Os FOS apresentam gosto doce similar à sacarose (doçura de aproximadamente 30% do açúcar de mesa), com a vantagem de possuir solubilidade maior que ela. Sendo assim, não cristalizam, não precipitam e não deixam a sensação de secura ou areia na boca. Outro fator importante, é que não se degradam tão facilmente com o aquecimento, embora possam ser hidrolisados em frutose em condições muito ácidas ou sob exposição prolongada (tempo/temperatura) (PASSOS; PARK, 2003).

O conhecimento da estabilidade dos FOS é de extrema importância para que sua adição em alimentos não seja comprometida pelo processamento, perdendo seu efeito prebiótico. Eles são estáveis a pH entre 3 a 7, a temperatura de até  $140 \text{ }^\circ\text{C}$  e como não são redutores, não são suscetíveis à reação de *Maillard* e caramelização (MACEDO; VIMERCATI; ARAÚJO, 2020).

Passam a despertar grande interesse de uso pela indústria pelo seu apelo à promoção da saúde, uso como adoçante de baixa caloria, alta solubilidade, resistência ao calor e a baixas temperaturas, melhora textura e vida de prateleira de alimentos (SÁNCHEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2020). Inclusive, FOS adicionados como pó em biscoitos proporcionaram maior estabilidade e qualidade ao produto (ISHWARYA; PRABHASANKAR, 2013).

Assim, produtos como sorvetes, sobremesas lácteas, iogurtes, biscoitos e produtos de panificação, barras de cereais, suco e néctar, produtos de confeitaria e molhos podem ser adicionados de FOS para redução de açúcar ou aumento do teor de fibras (PASSOS; PARK, 2003).

Os FOS estimulam o crescimento intestinal de bifidobactérias. Essa fermentação colônica de FOS produz ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que são rapidamente absorvidos pelo intestino, influenciando o metabolismo e o sistema imunológico intestinal do hospedeiro. Acredita-se que muitos benefícios dos prebióticos, incluindo o FOS, estejam ligados a esse mecanismo (PORWAL *et al.*, 2020).

Como consequência da fermentação, ocorre a redução do pH estimulando um efeito antagonista, isto é, suprimindo a atividade de outras bactérias putrefativas (*Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*) (PASSOS; PARK, 2003). Esta diminuição do pH também melhorou a absorção de cálcio e magnésio em animais e em estudos clínicos. Com isso, é melhorada a densidade mineral óssea conforme apontado por Scholz-Ahrens e Schrezenmeir (2007).

Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis. Para que haja a alegação funcional, a recomendação de ingestão diária do produto pronto para o consumo ou cápsulas, comprimidos e similares, deverá ser no mínimo 5 g deste polissacarídeo e não exceder 30 g. E a porção deverá fornecer no mínimo 2,5 g de FOS. A quantidade que o produto contém também deverá constar na tabela nutricional abaixo das fibras alimentares (BRASIL, 2019).

Doses diárias de 10-15 g de FOS não causam desconforto significativo, porém quando em doses mais altas, a flatulência pode gerar incômodos (RODRIGUEZ-SANDOVAL; FRANCO; MANJARRES-PINZON, 2014).

Outros benefícios podem estar relacionados à homeostase da glucose, sendo que a suplementação dietética reduziu a glicemia no sangue em jejum e reduziu os níveis de insulina no sangue em jejum de forma significativa (LE BOURGOT *et al.*, 2018). Pode também reduzir níveis séricos de lipídeos e colesterol, reduzindo risco de diabetes e obesidade (MOLINA *et al.*, 2009).

Testes já foram realizados para adição de FOS em:

- a) Mousse: conferindo melhoria da aceitação sensorial e perfil de textura (XAVIER-SANTOS *et al.*, 2019);
- b) iogurte: redução de sinérese (GONZALEZ *et al.*, 2011);
- c) chocolate: poder adoçante (FOLLY *et al.*, 2013);
- d) pão doce: melhoria da doçura e do valor nutricional (FOLLY *et al.*, 2013);
- e) biscoito: redução do índice glicêmico (PADMA ISHWARYA; PRABHASANKAR, 2013), e;



- f) pão de massa congelada: melhoria da qualidade da massa (PARK; JANG; LIM, 2016).

Os produtos à base de cereais são geralmente escolhidos para inserção de prebióticos devido à longa vida útil, estabilidade no armazenamento, boa aceitação e consumo mundial (SÁNCHEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2020). Dentro dessa classe de produtos, destaca-se o pão, principal alimento consumido como fonte diária de carboidratos. Os panificados geralmente apresentam baixo teor de fibras uma vez que a farinha de trigo é geralmente substituída por amidos comerciais que não contribuem no fornecimento deste macronutriente (RODRIGUEZ-SANDOVAL; FRANCO; MANJARRES-PINZON, 2014).

Assim, a farinha de amaranto ou o próprio amido podem ser enriquecidos com FOS para adição nas formulações de pães, atendendo também ao público celíaco, pela ausência de glúten. Em geral, o principal constituinte de pães sem glúten é o amido. Estes produtos geralmente apresentam baixo conteúdo proteico, lipídico, de fibras e vitaminas, além de outros componentes nutricionais importantes, reforçando a ideia de enriquecimento da farinha/amido de amaranto para contribuir na melhoria do valor nutricional (KORUS *et al.*, 2006). A adição de FOS possibilita o desenvolvimento de produtos ricos em fibras (MACEDO; VIMERCATI; ARAÚJO, 2020).

Os FOS são altamente higroscópicos, podendo contribuir com o aumento da umectância e diminuição da atividade de água de alimentos, melhorando a estabilidade microbiológica (MACEDO; VIMERCATI; ARAÚJO, 2020).

De fato, a adição de 8-10% de frutooligossacarídeos no pão aumentou a umidade do miolo (PRAZNIK *et al.*, 2002). Por outro lado, a dureza do miolo e uma estrutura mais compacta foi observada quando utilizado farinha de trigo rica em FOS (MUJOO; NG, 2003). A adição de prebióticos como inulina e frutooligossacarídeos pode reduzir o volume do pão, devido à interação das fibras com a rede de glúten. Ou ainda, pode ser que haja um retardamento no início de gelatinização reduzindo a retenção de bolhas de gás à medida que se formam (MORRIS; MORRIS, 2012).

Nas formulações de pães produzidos por Mujoo e Ng (2003), houve uma perda de FOS possivelmente devido à hidrólise durante o processo de fabricação do pão. O pH de forma isolado não impacta na atividade prebiótica, embora com o aquecimento possa ter uma diminuição (MORRIS; MORRIS, 2012).

### 1.3.9 Enriquecimento de Farinha e Amido com Compostos Bioativos

O enriquecimento de farinhas é uma estratégia importante pela sua utilização em diferentes formulações. No caso da farinha de amaranto, ela tem despertado interesse crescente devido à melhoria da qualidade de cozimento de massas ou até mesmo para melhorar o teor de minerais essenciais em produtos sem glúten (CÁRDENAS-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

A farinha de amaranto é utilizada para fazer pães, bolos, *muffins*, panquecas, biscoitos, bolinhos, crepes, macarrão, massas e biscoitos. Devido ao seu alto teor de proteínas e composição equilibrada de aminoácidos essenciais (principalmente lisina), a qualidade nutricional da semente de amaranto é superior à da maioria dos grãos de cereais (CÁRDENAS-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016). Portanto, trata-se de uma farinha de valor agregado que pode contribuir com o enriquecimento de alimentos.

Farinhas já foram alvo de enriquecimento na literatura, como:

- a) Farinha de soja desengordurada enriquecida com proteína de soja por moagem fina e separação eletrostática (XING *et al.*, 2018);
- b) farinha e produtos de panificação enriquecidos de inulina (SALINAS *et al.*, 2016).

Além do enriquecimento da farinha, o amido também se mostra como uma alternativa viável de incorporar componentes que possam agregar o valor nutricional dos alimentos, pois está presente em uma diversidade de produtos. Além disso, apresenta boa biocompatibilidade, biodegradabilidade, tem alta versatilidade química e é altamente disponível na natureza. Este polissacarídeo, apresentando ligações do tipo alfa, induz a uma organização molecular que promove ligações entre grupos hidroxila e moléculas de água, aumentando a solubilidade do material em água (SILVA, 2018).

Devido à superfície porosa, disponibilidade, baixo custo e por ser um carboidrato inerte, biodegradável e comestível, o amido tem sido investigado como veículo de substâncias bioativas como curcumina (YU; HUANG, 2010),  $\beta$ -caroteno (SPADA *et al.*, 2011), probióticos (XING *et al.*, 2014); catequina (HAN *et al.*, 2015); extrato de erva-mate (DELADINO *et al.*, 2015).

Em comparação aos lipídeos e proteínas, o amido se sobressai, pois é mais estável, capaz de suportar elevadas temperaturas sem se decompor ou desnaturar (ZHU, 2017).

A incorporação de substâncias também ocorre por meio dos poros e canais presentes na superfície dos grânulos de amido, que permitem a entrada do composto em canais internos conectados à cavidade central, isto é, acessam diretamente o interior do grânulo (BLASZCZAK *et al.*, 2013; HUBER; BeMILLER, 2000).

Rodriguez-Sandoval, Franco e Manjarres-Pinzon (2014) investigaram o efeito da adição de frutooligossacarídeos nas propriedades físico químicas de amido de mandioca (polvilho azedo) a fim de avaliar a qualidade de pães de queijo sem glúten, substituindo parcialmente o amido. O pão de queijo foi enriquecido com 9%, 17% e 29% de FOS, sendo a melhor formulação foi a que substitui 9% do povilho azedo por FOS. O amido de mandioca teve suas propriedades modificadas pela adição de FOS.

Zeng *et al.* (2016) observaram as propriedades de hidratação e retrogradação de amido de trigo na presença de frutooligossacarídeos. A adição de FOS melhorou o poder de inchamento dos grânulos, não conferiu grandes diferenças nas temperaturas de gelatinização, porém propiciou um aumento da entalpia.

Lai *et al.* (2011) também observaram as características físico-químicas de amido de arroz suplementado com fibra alimentar, observando maior poder de intumescimento e viscosidade.

O amido de amaranto já foi investigado para adição de compostos com fins de proteger contra instabilidade, para retenção de esporos de microrganismos ou compostos de aroma, como pode ser visualizado no Quadro 1.2.

Quadro 1.2 – Pesquisa relacionada a utilização do amido de amaranto em encapsulação ou incorporação de compostos

(continua)

<b>Autores (ano)</b>	<b>Matriz + Recheio</b>	<b>Técnica</b>	<b>Objetivo</b>
Chattopadhyay, Singhal e Kulkarni (1998)	Amido de amaranto oxidado + vanilina	<i>Spray-drying</i>	Encapsulação
Tari e Singhal (2002a)	Amido de amaranto, amilose + vanilina + goma	<i>Spray-drying</i>	Encapsulação
Tari e Singhal (2002b)	Amido de amaranto, quinoa, arroz e taro + vanilina + gomas (CMC, arábica e carragena)	<i>Spray-drying</i>	Encapsulamento

Quadro 1.2 – Pesquisa relacionada a utilização do amido de amaranto em encapsulação ou incorporação de compostos (conclusão)

<b>Autores (ano)</b>	<b>Matriz + Recheio</b>	<b>Técnica</b>	<b>Objetivo</b>
Kshirsagar e Singhal (2008)	Amido hidroxipropilado (milho e amaranto) + óleo de laranja e limão	<i>Spray-drying</i>	Encapsulação
Blaszczak <i>et al.</i> (2013)	Amido de milho, sorgo e amaranto + compostos de aroma	Mistura e agitação	Incorporação
Rodríguez <i>et al.</i> (2014)	Amido de amaranto + <i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Spray-drying</i>	Encapsulação
Blaszczak, Adam e Górecki (2015)	Amido de milho, milho ceroso, sorgo, amaranto, Hylon VII (68% amilose) + teofilina	Alta pressão hidrostática	Encapsulação
Roa-Acosta, John-Edison e Lina-Marcela (2021)	Amido de amaranto e Fração enriquecida de amido + Beta-caroteno	Congelamento com nitrogênio e liofilização	Encapsulação

Fonte: A autora

Como se pode perceber, poucos estudos avaliaram a utilização de amido de amaranto como um agente incorporador para enriquecimento de alimentos. Isso pode ser ainda melhor explorado. A maioria dos estudos envolvem produção de biofilmes deste amido incorporados com compostos antioxidantes.

O amido de amaranto já foi utilizado para encapsular beta-caroteno por Roa-Costa; John-Edison e Lina-Marcela (2021), por meio de congelamento com nitrogênio e liofilização. Eles obtiveram frações enriquecidas de amido por moagem seca e amido nativo por moagem úmida, sendo que a presença de proteína na fração enriquecida apresentou uma retenção 3 vezes maior do beta-caroteno em relação ao amido nativo. Portanto a presença de proteínas permitiu uma melhor ação emulsificante durante o processo de encapsulação.

Blaszczak, Adam e Górecki (2015) realizaram a encapsulação via alta pressão hidrostática de teofilina para liberação controlada por meio de matrizes produzidas com amido de milho, milho ceroso, sorgo, amaranto e Hyllon VII (68% amilose). Constataram que o alto teor de amilopectina favoreceu a liberação controlada do fármaco.

Rodríguez *et al.* (2015) desenvolveram e caracterizaram grânulos de amido de amaranto nativo e modificado (fosforilação e succinilação) para avaliar a sua aplicação como materiais de parede na microencapsulação de *B. thuringiensis* por *spray-drying*. Os tamanhos das microcápsulas formadas foram eficazes para proteger os esporos contra radiação UV, e apresentaram atividade anti-inseticida contra larvas.

Kshirsagar e Singhal (2008) estudaram a preparação de amido de milho e amaranto (*A. paniculatus*) hidroxipropilados (com óxido de propileno em meio alcalino-orgânico (isopropanol)) para utilização como materiais encapsulantes especialmente para óleo de limão. A técnica utilizada foi o *spray-drying*.

Chattopadhyay, Singhal e Kulkarni (1998) investigaram a utilização de amido de amaranto (*A. paniculatus*) oxidado para desenvolver um substituto de goma arábica para encapsular vanilina (composto aromático) por *spray-dryer*. Eles obtiveram bom rendimento de recuperação do composto e similaridade à goma arábica. Eles demonstraram que a goma arábica com 1,0% de amido amaranto deu melhor encapsulação de vanilina do que a carboximetilcelulose e a carragenina.

Um estudo similar desenvolvido por Tari e Singhal (2002a), foi realizado para avaliar o papel da amilose na estabilidade da vanilina. Para isso, eles formaram agregados com uma suspensão de amido (20%) de *A. paniculatus* L., 1% de goma arábica e 5% (com base no amido) de vanilina encapsulados por *spray-drying* em temperaturas de entrada e saída de 120 e 76 °C, respectivamente. Também fizeram o teste adicionando de 0-40% de amilose aos agregados. E eles constataram que ao adicionar amilose ao amido de amaranto houve uma redução na estabilidade do agregado e da retenção da vanilina. A adição de 1% de goma arábica auxiliou na estabilidade da vanilina.

Tari e Singham (2002) também compararam as cápsulas formadas com amido de amaranto (*A. paniculatus*), quinoa, arroz e taro para aprisionar vanilina por meio de *spray-drying* utilizando também gomas (carboximetilcelulose, arábica e carragena). Perceberam que o tempo de armazenamento foi maior quanto utilizando amaranto, taro, quinoa e arroz (nesta ordem), e a goma que apresentou melhor resultado foi a goma arábica, seguida da CMC e carragena. O maior teor de amilose reduziu o tempo de armazenamento.

O amido de amaranto já foi avaliado para incorporação de compostos como no estudo de Blaszczyk *et al.* (2013). Estes autores realizaram uma pesquisa para reter compostos de aroma com amido de milho, sorgo e amaranto utilizando apenas

mistura física e agitação. O amido de amaranto foi o mais promissor para retenção de odor durante armazenamento por 3 meses, enquanto que o sorgo e o milho puderam ser recomendados para período mais prolongado.

Porém, não foram encontrados estudos da incorporação de FOS em amido ou farinha de amaranto, tampouco utilizando o ultrassom e liofilização, justificando a relevância do presente estudo. As tecnologias verdes estão sendo preferencialmente escolhidas diante das novas tendências e conscientização ambiental (SANTIAGO; CASTRO, 2016). Neste estudo, o enfoque será dado para as técnicas de ultrassom e liofilização.

### 1.3.10 Ultrassom para Incorporação de Compostos

O ultrassom permite a transformação de uma suspensão de amido em uma emulsão estável, mesmo sem a adição de um surfactante, conforme discutido por Mongenot, Charrier e Chalier (2000). Comparando-se a outros métodos de emulsificação, no US a distribuição de tamanho médio das gotículas das suspensões é menor, apresentando maior uniformidade. Além disso, como resultado das cavitações ultrassônicas, as alterações estruturais produzidas no sólido sonificado permitem o aumento da área superficial em sistemas de emulsão (O'SULLIVAN *et al.*, 2017). Nesse sentido, poderia aumentar significativamente a eficiência de incorporação.

O ultrassom é entendido como um método não convencional de obtenção de complexos de inclusão. Como uma técnica de incorporação ou de encapsulação é ainda pouco explorado, acabando por ser empregado como uma etapa prévia antes da liofilização. E quando utiliza o amido, este é gelatinizado primeiro para depois encapsular o material de interesse. A adição de bioativos com US se baseia em seu processo termomecânico que ocorre devido à turbulência, cisalhamento, aquecimento e cavitação acústica. Com isso, no caso da exposição de amidos, pode alterar também a viscosidade, solubilidade e temperatura de pasta (LIMA; ANDRADE, 2010).

Como grandes quantidades de energia são liberadas durante o processo de sonicação, devido à implosão de bolhas, pode alterar a temperatura e pressão do meio, ocasionando a ruptura de ligações intermoleculares. Isso permite novas conexões com o polímero, conforme discutido por Hasanvand *et al.* (2015).

Somado a isso, os microjatos formados podem atingir a superfície da matriz sólida e favorecer a interação entre os materiais. Isso favorece a ocorrência de novas ligações e melhor dispersão do meio reacional, facilitando a incorporação. Compare-se este fato ao discutido por Cárcel *et al.* (2012) em que o processo de salga da carne foi facilitado pela cavitação acústica, permitindo a incorporação de NaCl e água na amostra.

O processo de mistura por ultrassom é relativamente simples. Uma solução aquosa contendo um polímero adequado (proteína, polissacarídeo, etc.) e o material a ser incorporado são expostos ao US, que favorece a homogeneização do tamanho de partículas (ASHOKKUMAR, 2015; LE; LE, 2015). A propagação das ondas acústicas somadas aos elevados níveis de cisalhamento hidrodinâmico desagrupam as partículas conferindo melhores taxas de solubilização em comparação a misturadores convencionais (O'SULLIVAN *et al.*, 2017; CHANDRAPALA *et al.*, 2014). Porém é possível ocorrer re-coalescência sob alto poder de sonicação, formando agregados de maiores tamanhos (LE; LE, 2015).

Tian *et al.* (2013) obtiveram um complexo de inclusão com amido de milho de alto teor de amilose e cinamaldeído a partir da aplicação do ultrassom. Maior taxa (42%) foi alcançada quando utilizado sonicação a 250 W, durante 10 min e temperatura de 35 °C. Estes autores destacam a metodologia por ultrassom como sendo mais vantajosa para a indústria de alimentos.

Portanto, investigar o ultrassom como método de homogeneização ou para incorporação se torna uma metodologia interessante, destacando-se por ser uma técnica física que vem apresentando resultados promissores, como redução do tempo de processo e de custos de energia, bem como, aumento da eficiência.

#### 1.3.11 Liofilização para Incorporação de Compostos

Em geral, a incorporação utilizando US se dá de forma combinada, em que o US confere a homogeneização do sistema, emulsificando-o, seguido da evaporação do solvente por liofilização (MILIÁNA *et al.*, 2017).

A liofilização é um método de desidratação em que o solvente (geralmente a água) é cristalizado a baixa temperatura e depois sublimado diretamente do estado congelado para o vapor, o que reduz a pressão em torno do produto. Pode ser utilizado para conservar alimentos instáveis termicamente, já que menores danos são

causados às estruturas sensíveis a temperaturas altas (MAREFATI *et al.*, 2013; LIU; ZHAO; FENG, 2008).

Duas operações são necessárias para remoção da umidade da amostra, inicialmente o congelamento do produto, geralmente abaixo de -20 °C, seguido da exposição à pressão reduzida (vácuo), onde ocorre a sublimação da água. Como resultado, obtém-se um produto com estrutura porosa, em pó, com características sensoriais e nutricionais conservadas. Aumenta-se também a estabilidade durante o transporte e estocagem, que podem ser realizados a temperatura ambiente (FELLOWS, 1988).

O uso da liofilização para incorporações com amido minimiza as alterações associadas a altas temperaturas, impedindo a gelatinização. Por outro lado, pode causar alterações, as quais são mais pronunciadas em grânulos com padrão de difração do tipo B, com a redução da ordem molecular devido à maior rigidez da cadeia promovida pelas baixas temperaturas (ZHANG *et al.*, 2014). A liofilização induziu o rompimento das duplas hélices em amido de castanha (WANG; LIM; WANG, 2016) devido à perda das moléculas de água presas nesta conformação, reduzindo a entalpia de gelatinização.

Ranhuras e poros podem ser favorecidos por este método de secagem, provavelmente causados pela distorção forçada dos grânulos de amido devido à liberação local rápida de vapor de água. Este processo ocorre devido à pressão interna acumulada dentro dos grânulos rígidos, à medida que as moléculas de água tentam escapar através da estrutura interna sólida e da estrutura superficial lisa sob as condições de vácuo (ZHANG *et al.*, 2014a).

Assim como no ultrassom, os rompimentos de ligações, expondo os grupos para novas interações, bem como o aparecimento de poros durante o processo de liofilização favorece a interação de substâncias. Ao contrário do *spray dryer* em que as temperaturas são mais altas, a liofilização emprega temperaturas muito baixas para causar a desidratação da amostra. O material resultante deste processo se apresenta como um pó, o qual pode ser moído, apresentando partículas irregulares (SEPELEVS; STEPANOVA; GALO BURDA, 2018).

Deladino *et al.* (2015) observaram que após liofilização o extrato de erva-mate tornou-se um material pegajoso, necessitando de uma proteção contra as condições ambientais, a fim de minimizar a higroscopicidade e principalmente, proteger os compostos antioxidantes, priorizando alternativas naturais aos sintéticos. O



encapsulamento com amido de milho manteve o poder antioxidante e melhorou a conservação do extrato.

Diante de tudo o que foi explorado, o estudo da incorporação de FOS no amido ou na farinha de amaranto com US e liofilização, para formulações de alimentos funcionais ou enriquecidos de fibras, torna-se um potencial ramo de pesquisa.

#### 1.4 CONCLUSÃO

O amido desempenha grande importância para indústria de alimentos pela diversidade de aplicabilidade e propriedades tecnológicas. O método de extração pode auxiliar nas propriedades obtidas e no rendimento do produto. Dessa forma, as condições de operação do US precisam ser investigadas a fim de possibilitar melhores resultados e de compreender o impacto causado nos grânulos. A partir do delineamento da operação, é possível isolar este polissacarídeo e encorajar novos usos de acordo com as demandas de mercado.

O amaranto desponta como fonte promissora de amido que pode contribuir em formulações de alimentos congelados devido à baixa tendência à retrogradação, como substituto de gordura ou na incorporação de compostos funcionais como os frutooligosacarídeos.

O amido ou farinha enriquecidos podem ser fonte alternativa de fibras na alimentação, agregando valor nutricional e sabor na dieta inclusive de pessoas com restrições alimentares, em especial os celíacos pela ausência de glúten. Além disso, o uso do ultrassom pode ser uma etapa fundamental para auxiliar na incorporação em amidos, melhorando a solubilização e distribuição mais homogênea. A liofilização permite uma secagem eficiente, minimizando perdas devido à solubilidade em água dos FOS que poderiam ser lixiviados durante centrifugação e ainda, evitam a gelatinização do amido.

## CAPÍTULO 2 – ASPECTOS MORFOLÓGICOS DAS SEMENTES ORGÂNICAS DE *Amaranthus caudatus* E IMPACTO DA IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA

### RESUMO

O ultrassom é uma tecnologia emergente que se destaca pela sua eficiência, alta reprodutibilidade e economia. Entre suas diferentes possibilidades de aplicação, podem ser destacadas a conservação, melhoria das características de germinação ou até mesmo de cozimento e hidratação de sementes. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto do ultrassom na morfologia das sementes de *Amaranthus caudatus*. Para tanto, uma suspensão foi produzida e submetida a diferentes condições de sonicação variando-se o tempo e a amplitude de vibração por meio de delineamento experimental central rotacionado. Foi possível identificar as diferentes partes de composição dos grãos de amaranto, destacando-se a fração de perisperma que concentra o conteúdo amiláceo da semente. Após a sonicação dos grãos, constatou-se que os grãos foram afetados principalmente quando maior tempo e amplitude foram aplicados. Perda do formato, extravasamento do conteúdo, fragmentação e desprendimento da casca e cotilédones foram evidenciados. Uma pequena fração amilácea que permaneceu em suspensão na água durante o tratamento foi analisada por calorimetria exploratória diferencial. Houve um aumento nas temperaturas de transição e uma redução na energia necessária para gelatinização dos grânulos.

Palavras-chave: Amaranto, perisperma, ultrassom.

### ABSTRACT

Ultrasound is an emerging technology that stands out for its efficiency, high reproducibility and economy. Among its different application possibilities, it can be highlighted the conservation, improvement of germination characteristics or even cooking and hydration of seeds. Thus, the objective of the present study was to evaluate the impact of ultrasound on the morphology of *Amaranthus caudatus* seeds. To this end, a suspension was produced and submitted to different conditions of sonication by varying the time and amplitude of vibration through a central rotated experimental design. It was possible to identify the different parts of composition of the amaranth grains, highlighting the perisperm fraction that concentrates the starchy content of the seed. After the sonication of the grains, it was found that the grains were affected mainly when greater time and amplitude were applied. Loss of shape, extravasation of the content, fragmentation and detachment of the husk and cotyledons were evidenced. A small starchy fraction that remained suspended in the water during treatment was analysed by differential scanning calorimetry. There was an increase in the transition temperatures and a reduction in the energy required for gelatinization of the granules.

**Keywords:** Amaranth, perisperm, ultrasound.

## 2.1 INTRODUÇÃO

O amaranto é uma cultura antiga (6000 anos), cultivada e consumida durante muito tempo como alimento básico pelos astecas. São conhecidas mais de 60 espécies, e entre as principais está o *Amaranthus caudatus*, encontrado principalmente no Peru e em países andinos. A partir de 1980, países como China, Índia, Nepal, Etiópia e Quênia reconheceram o potencial desta cultura e passaram a cultivá-la também. Sua planta destaca-se pela beleza, boa resistência ao estresse hídrico, calor e pragas, e se adapta facilmente a novos ambientes. Pode conter até mais de 50 mil sementes por planta, as quais têm colorações que variam conforme a espécie (creme, dourada e rosa/avermelhado) (CORKE; CAI; WU, 2016).

Aos poucos, o amaranto tem sido incorporado como ingrediente em panificação, salgadinhos, formulação de bebidas, mas também é consumido como cereal matinal. Isso se deve ao seu atrativo valor nutricional. É classificado como pseudocereal, contém proteína de alta qualidade, fonte de vitamina C, E, ácido fólico e riboflavina, não contém glúten e está associado à redução dos níveis de colesterol. Seus grãos devem ser secos e limpos após colheita, alcançando uma umidade ideal entre 10-12% para seu armazenamento, evitando sua deterioração (SANTRA; SCHOENLECHNER, 2017).

Para melhorar a conservação, tecnologias emergentes podem ser aplicadas, entre elas o ultrassom, que por se tratar de um processo físico também pode ser direcionada às matérias-primas orgânicas. Esta técnica pode inativar enzimas e bactérias ao quebrar as membranas celulares devido à cavitação acústica e à formação de radicais livres (JAMBRAK *et al.*, 2010). Assim, a irradiação ultrassônica tem se destacado na indústria de alimentos pela sua versatilidade, segurança, aumento da eficiência, e principalmente, por não gerar resíduos que comprometam o meio ambiente (WANG *et al.*, 2015).

Além disso, o tratamento ultrassônico é aplicado em sementes como forma de melhorar sua germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas, aumentando a absorção de energia e água (RAO *et al.*, 2018). E também pode favorecer a extração de componentes da matriz vegetal (óleo, proteínas, carotenoides, compostos fenólicos) devido às forças de cisalhamento provocadas pelos gradientes de pressão devido à passagem da onda acústica no meio. Com isso, a matriz vegetal é afetada, liberando seu conteúdo celular (CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011).

No entanto, não há estudos em literatura que apontem as mudanças morfológicas nas sementes de amaranto após o tratamento ultrassônico. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações provocadas pelo ultrassom em diferentes tempos e amplitudes de vibração nas sementes de amaranto orgânico.

## 2.2 OBJETIVOS

### 2.2.1 Objetivo Geral

Avaliar as alterações provocadas pelo ultrassom na morfologia de sementes de amaranto orgânico em diferentes tempos e amplitudes de vibração.

### 2.2.2 Objetivos Específicos

- Analisar as características morfológicas do grão de amaranto nativo;
- realizar o tratamento por ultrassom no grão de amaranto;
- identificar alterações na semente após tratamento por US;
- analisar a gelatinização e morfologia do amido liberado durante o tratamento do grão.

## 2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.3.1 Materiais

As sementes de amaranto da variedade *Amaranthus caudatus*, foram cedidas por uma fazenda localizada em San Salvador, Cusco (Peru) (13°30'11.7"S 71°46'10.6"W). Os produtores deste local fazem parte de uma cooperativa agrária (*Señor de Huanca – San Salvador – Caposh*) de produção orgânica.

As análises foram realizadas nos Laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos e do Complexo de Laboratórios Multiusuários da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

### 2.3.2 Irradiação Ultrassônica em Grãos de Amarantho

As condições do tratamento foram definidas por planejamento composto central (PCC), que corresponde a um planejamento fatorial de primeira ordem aumentado por pontos axiais e centrais a fim de permitir a estimação dos parâmetros de uma superfície de resposta de segunda ordem. É largamente utilizado devido à sua relativa eficiência em relação ao número de experimentos necessários. Em geral, um PCC com  $k$  fatores (variáveis independentes) requer  $2^k$  pontos fatoriais ou de vértice;  $2k$  pontos axiais ou estrela e de 3 a 5 pontos centrais ( $n_0$ ).

A distância dos pontos axiais em relação ao centro é denominada  $\alpha$ . E para que um PCC seja considerado rotacionável (em que os desvios padrão das predições são constantes em todos os pontos que estão a mesma distância do ponto central) o valor de  $\alpha$  é obtido pela  $\sqrt{(2^k)^{1/4}}$ , resultando em 1,414 para  $k = 2$ .

Assim, neste estudo o PCC  $2^k$  com 2 fatores (variáveis independentes): tempo de extração (min) e amplitude de vibração (%) foi aplicado, conforme mostrado na Tabela 2.1. O experimento totalizou 11 ensaios, sendo 4 pontos fatoriais (-1, +1), 4 pontos axiais (-1,414, +1,414) e triplicata do ponto central (0).

Tabela 2.1 – Planejamento composto central  $2^k$  para sonicação de grãos de amarantho

Ensaio	Tempo (min)	Amplitude de vibração (%)	$x_1$	$x_2$
1	15	40	-1	-1
2	45	40	+1	-1
3	15	80	-1	+1
4	45	80	+1	+1
5	30	60	0	0
6	30	60	0	0
7	30	60	0	0
8	8,8	60	-1,414	0
9	30	88,3	0	+1,414
10	51,2	60	+1,414	0
11	30	31,7	0	-1,414

Notas:  $x_1$ , tempo;  $x_2$ , amplitude de vibração (valores codificados)

Os tempos 8,8 min (8 min e 48 s) e 51,2 min (51 min e 12 s) foram arredondados para 9 min e 51 min, respectivamente. As amplitudes de 88,3% e 31,7% foram ajustadas para 88% e 32%.

Inicialmente, os grãos foram imersos em água deionizada (5 g em 100 mL) em bquer de 250 mL e expostos ao US, centralizando-se o probe e inserindo-o numa profundidade de 2 cm, distância entre a ponta do probe e a superfície da suspensão (Figura 2.1).

Figura 2.1 – Posicionamento do probe durante tratamento por US



Fonte: adaptado de Ittechnology (2018).

O tratamento por US ocorreu em equipamento Vibra-Cell (SONICS), modelo USC 1400, frequência constante de 20 kHz e potência de saída do gerador de 750 W. A potência dissipada no meio foi registrada conforme o tratamento realizado. Para controle da temperatura, utilizou-se banho de gelo e o equipamento foi configurado para não exceder 45 °C (evitando a gelatinização do amido) após a qual a irradiação cessa, voltando automaticamente quando a temperatura da suspensão é reduzida. Para tanto, um sensor de temperatura, próprio do equipamento foi disposto dentro da suspensão. Em seguida, iniciou-se o tratamento de acordo com as condições em estudo. O isolamento acústico foi feito por caixa de contenção de som.

O probe é de titânio com um diâmetro de 2,5 cm. Sendo assim, conforme instruções do fabricante esta sonda sólida aceita suspensões com um volume por batelada entre 50 - 1000 mL, sendo a intensidade considerada baixa.

Após o término do tempo estabelecido, os grãos foram separados da fração líquida em peneira (150 *mesh*). O filtrado, que compreende o material extravasado da matriz, foi recuperado e centrifugado em uma centrífuga de bancada (CETELM), descartando-se o sobrenadante e recuperando a fração sólida, a qual foi seca em estufa com circulação de ar a 40 °C durante 24 h, assim como os grãos sonicados.

Após isso, as amostras foram mantidas em dessecador contendo cloreto de cálcio anidro até o momento das análises.

O rendimento de fração sólida de amido foi calculado conforme Equação 1, em base úmida.

$$R (\%) = \frac{A}{M} \times 100 \quad (1)$$

Onde: R representa o rendimento da extração (%), A, massa de amido (g) e M, massa de grãos (g).

O amido sonicado foi comparado com amido nativo extraído de maneira aquosa, conforme procedimento descrito por Bet *et al.* (2018). Da mesma forma, os grãos sonicados foram comparados ao grão nativo, isto é, sem passar pelo tratamento ultrassônico.

### 2.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) e Microscopia Óptica

O diâmetro e a forma dos grãos de amaranto foram observados por microscópio eletrônico de emissão de campo (FEG-SEM) MIRA 3 (Tescan, República Tcheca) com uma corrente do feixe de elétrons de 15 kV no canhão de emissão de campo, gerada por uma lâmpada com filamento de tungstênio. Os grãos foram previamente dispostos sobre uma fita de carbono, onde foram metalizados com plasma de ouro a 20 mA, durante 150 s, para promover a passagem de elétrons (BET *et al.*, 2016). Realizou-se também o corte longitudinal e transversal das sementes para que fosse possível observar o perisperma amiláceo e demais frações existentes no amaranto nativo.

Após a exposição do grão ao ultrassom foi recuperado uma quantidade de amido a qual também foi analisada por microscopia com estes parâmetros.

A microscopia óptica para os grãos de amaranto foi realizada em microscópio Nikon Eclipse E200 de luz comum com uma lente objetiva planocromática de 4x/0.10 (poder de ampliação 4x e abertura numérica da iluminação de 0,10), e distância da mesa de 30 mm. O equipamento era dotado de acessórios para fotomicrografia, sendo uma câmera Full HD de smartphone utilizada para registro das imagens, a qual foi

acoplada à lente ocular. Os grãos foram tomados de forma aleatória, após quarteamento da amostra. Uma lâmina de vidro foi preparada com uma gota de glicerina para fixação dos grãos.

#### 2.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O equipamento DSC-Q200 (*TA-Instruments, EUA*), foi previamente calibrado conforme orientações do fabricante. As condições utilizadas foram: fluxo de ar de 50 mL min<sup>-1</sup>, faixa de aquecimento de 20 a 100 °C e razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>. Uma massa de aproximadamente 2,5 mg de cada amostra foi pesada e homogeneizada em 10 µL de água deionizada (1:4) em cadinhos de alumínio posteriormente selados, e mantidos em repouso por 60 minutos, visando-se equilibrar o teor de umidade e inchamento do grânulo (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

#### 2.3.5 Análise Estatística

Os resultados experimentais de calorimetria exploratória diferencial foram apresentados como média±desvio padrão amostral (n=3). A normalidade foi avaliada com o teste de Shapiro Wilk (p>0,05) e a homoscedasticidades das variâncias foi pelo teste de Levene (p>0,05). Para amostras homoscedásticas, aplicou-se o teste de análise de variâncias unifatorial a fim de identificar diferenças entre as médias. Estes testes foram realizados com o software IBM SPSS *Statistics 22*.

O teste *post-hoc* de Tukey foi utilizado com 95% de confiança (p<0,05) com o auxílio do software *SasmAgri* versão 8.2.

## 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

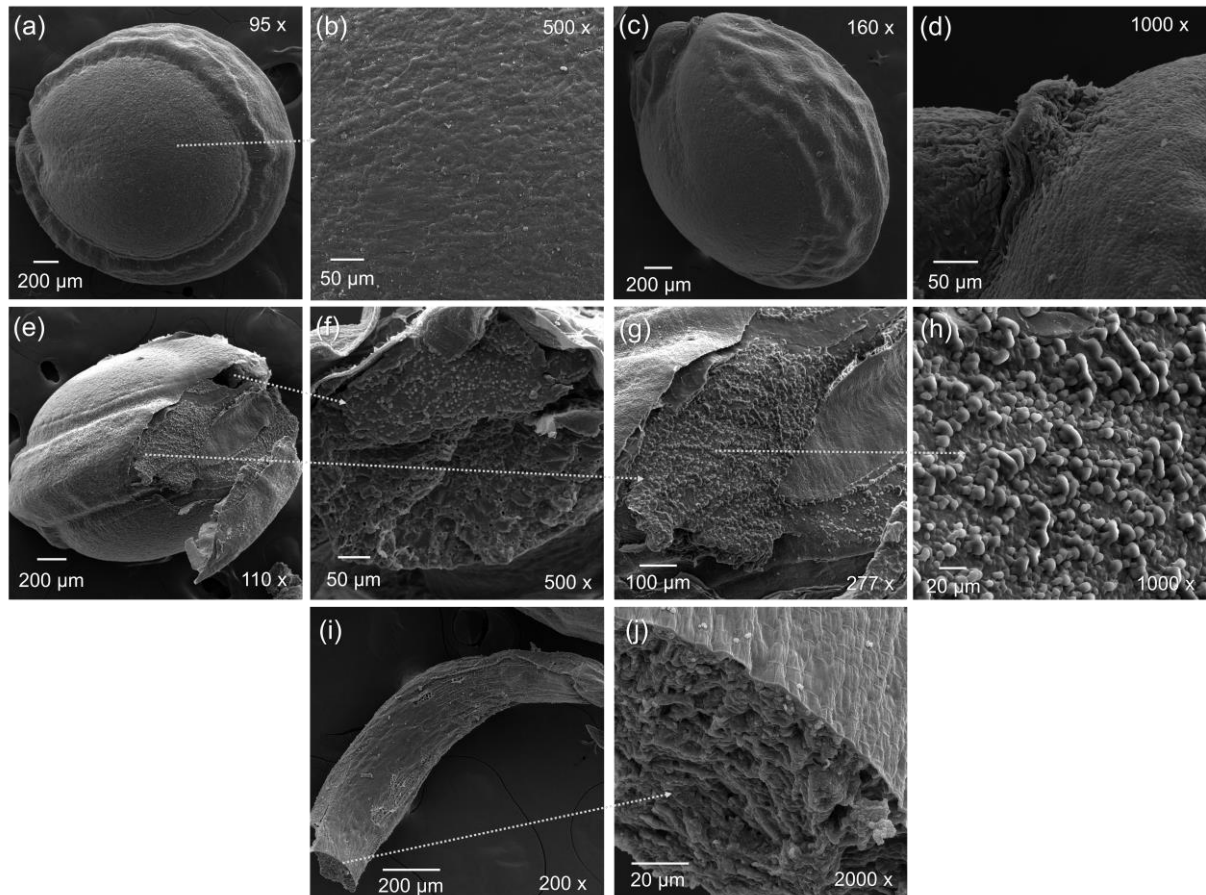
### 2.4.1 Morfologia da Semente de *Amaranthus caudatus*

Antes da exposição das sementes de amaranto ao ultrassom, realizou-se a análise morfológica dos grãos, a fim de facilitar a visualização de possíveis alterações após o tratamento físico.



A partir de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução observou-se a organização estrutural da semente de amaranto, conforme ilustrado na Figura 2.2:

Figura 2.2 - Microimagens do grão de *Amaranthus caudatus*



Notas: (a, c) Semente de amaranto; (b) superfície da semente; (d) feixe vascular; (e) corte transversal no grão; (f) corpúsculos protéicos; (f, g, h) endosperma; (i, j) raiz.

Como visualizado nas imagens (a; c), a semente de amaranto apresentou formato lenticular, igualmente discutido por Silva *et al.* (2009). O diâmetro longitudinal corresponde a  $1,38 \pm 0,15$  mm e o diâmetro transversal de  $1,28 \pm 0,18$  mm, enquanto apenas a região no centro do grão tem um diâmetro de  $0,96 \pm 0,14$  mm. A semente é recoberta pela casca (tegumento), um endosperma pouco desenvolvido, embrião anelar e uma zona central correspondente ao perisperma amiláceo. O pró-cambio (futura vasculatura) se apresenta como grupos celulares de pequeno diâmetro dispostos em um único ramo no centro da raiz e como ramos próximos à base do cotilédone no hipocótilo. Se for seccionado transversalmente, cada cotilédone exibe uma variedade de ramos pró-cambiais (IRVING; BETSCHART; SAUNDERS, 1981).

A casca, ou também denominada testa, refere-se à camada protetora da semente. Sua superfície não é lisa, apresentando rugosidades, como pode ser visualizado nas imagens (b, c). Além disso, a casca compreende uma camada de células muito finas, porém mais espessas que a quinoa (NINFALI *et al.*, 2020), evidenciado nas figuras (e, f, g), que correspondem ao episperma do grão (camada mais externa) como apontado por Becker (1994) e Segura-Nieto *et al.* (1994).

A imagem (d) mostra o feixe vascular que se apresenta como nervuras que possibilitam a condução de água para a semente e ele aparece quando esta é aderida à planta a partir do funículo, e se estende até a porção interna do perisperma. Além disso, é possível visualizar a depressão superficial da semente (BETSCHART *et al.*, 1981).

A partir do corte transversal, e logo abaixo do episperma, encontra-se o endosperma (imagem e), melhor visualizado com aumento de 277x (g) e 1000x (h). As células do endosperma contêm muitos corpos pequenos e esféricos incrustados numa matriz esponjosa. Esta camada é responsável pelo revestimento e proteção do embrião, que por sua vez envolve o perisperma como um anel como visualizado na imagem (a). A maior parte do endosperma está presente como uma camada única de células presas à casca da semente em torno da radícula e em torno das pontas dos cotilédones e adjacente às porções do embrião. Uma secção transversal da ponta da raiz revela grandes células de endosperma com paredes celulares espessas (como pode ser visualizado nas imagens i e j).

Nesta fração estão localizados macronutrientes como proteínas, lipídeos e fibras, além de micronutrientes como cobre e ferro (NINFALI *et al.*, 2020; IRVING; BETSCHART; SAUNDERS, 1981).

Aproximando-se em 500x (imagem f) um pequeno orifício encontrado na imagem (e) em que o corte transversal foi realizado, foi possível adentrar à camada de endosperma, visualizando-se os corpúsculos protéicos, similares aos observados por Gorinstein *et al.* (2004) e Tapia-Blácido; Sobral e Menegalli (2010), os quais também apontaram presença de grânulos de amido aderidos à proteína.

O embrião (que contém os cotilédones e a radícula) rodeia o perisperma amiláceo, similarmente a um anel, portanto é classificado como campilótropo, isto é, encurvado (IRVING; BETSCHART; SAUNDERS, 1981). De acordo com Arendt e Zannini (2013) o embrião representa 25% do peso de grão. No meio do embrião pode ser encontrado o meristema apical conforme apontado por Ninfali *et al.* (2020). Este

meristema contém linhas celulares que crescem na direção da raiz e dos cotilédones. As células do próprio embrião são orientadas longitudinalmente e distinguem-se das camadas exteriores da raiz, que são perpendiculares ao embrião propriamente dito. As células do embrião também contêm tipicamente corpos esféricos incrustados numa matriz esponjosa.

Konish *et al.* (1991) discute que a maior fração de proteínas em sementes de amaranto correspondem às globulinas e albuminas, localizadas em corpos protéicos (2,5-3,5  $\mu\text{m}$ ) nas células parenquimatosas do embrião de paredes finas, não ocupando o perisperma.

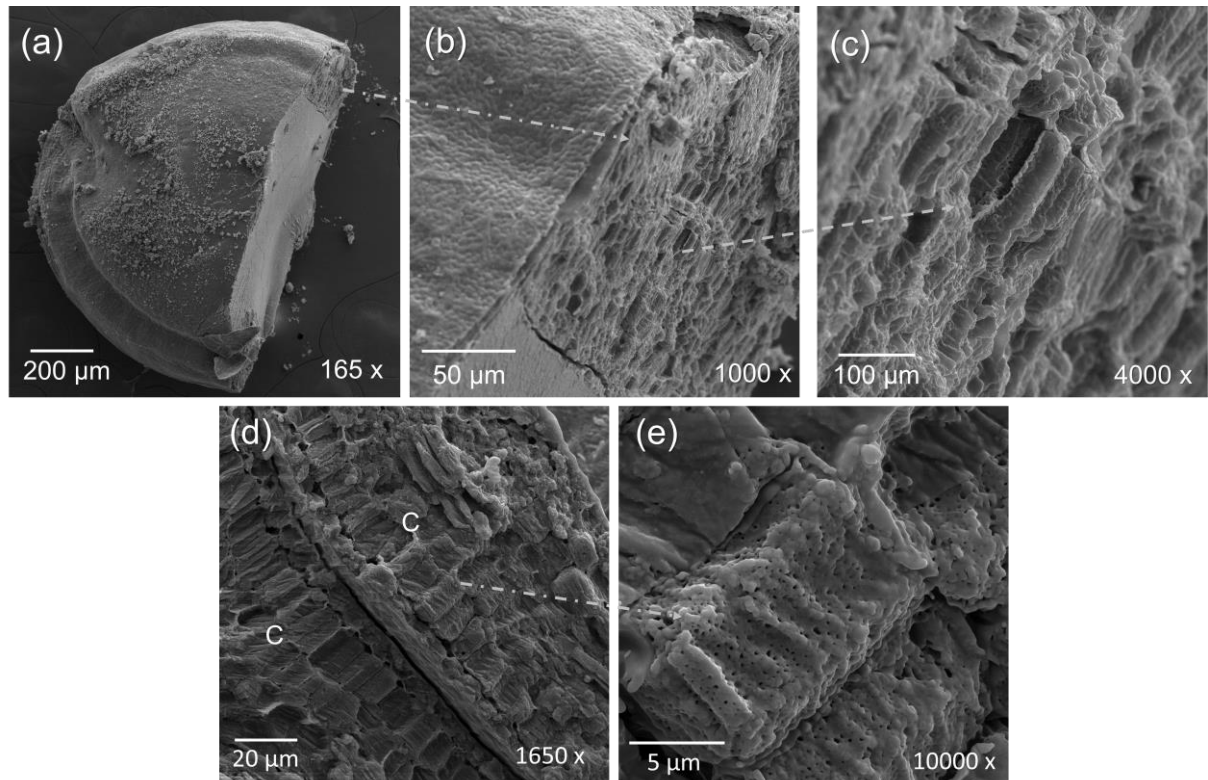
Nas imagens i e j sugere-se visualizar a radícula revestida pelo endosperma. Na raiz, muitos feixes vasculares são claramente visíveis em torno das células ricas em globóides. Os feixes vasculares são elementos funcionais importantes, uma vez que fornecem um fluxo de água, oxigênio e nutrientes para a germinação da semente (NINFALI *et al.*, 2020).

Na Figura 2.3 visualiza-se a porção dos cotilédones ou da radícula (IRVING; BECKLER, 1985) a partir de um corte transversal (a, b, c) e longitudinal do grão (ampliação de 1650 x e 10000 x). De acordo com Ninfali *et al.* (2020), nos cotilédones e na radícula, as células estão cheias de globóides, que são vacúolos de armazenamento preenchidos de proteínas. Corroborando a isso, García-Salcedo, Torres-Vargas e Ariza-Calderón (2018) também relataram que as proteínas se concentram no embrião e à volta dos cotilédones em grande proporção.

Entre os cotilédones há uma camada denominada bainha protetora, que pode ser visualizada na ampliação de 1650 x (Fig. 2.3-d), como um espaço entre um cotilédone e outro. As bainhas protetoras dos cotilédones são finas e lisas, separando os dois cotilédones do endosperma periférico, além de permitir que eles troquem rapidamente nutrientes com outros compartimentos de sementes (NINFALI *et al.*, 2020).

García-Salcedo, Torres-Vargas e Ariza-Calderón (2018) ressaltam que os esferossomas se alojam na fração de farelo (cotilédones e revestimento) das sementes de quinoa e amaranto. E nesta fração há o maior conteúdo lipídico, justificando seu maior teor em relação a outros cereais como trigo e milho.

Figura 2.3 – Cotilédones do grão de amaranto



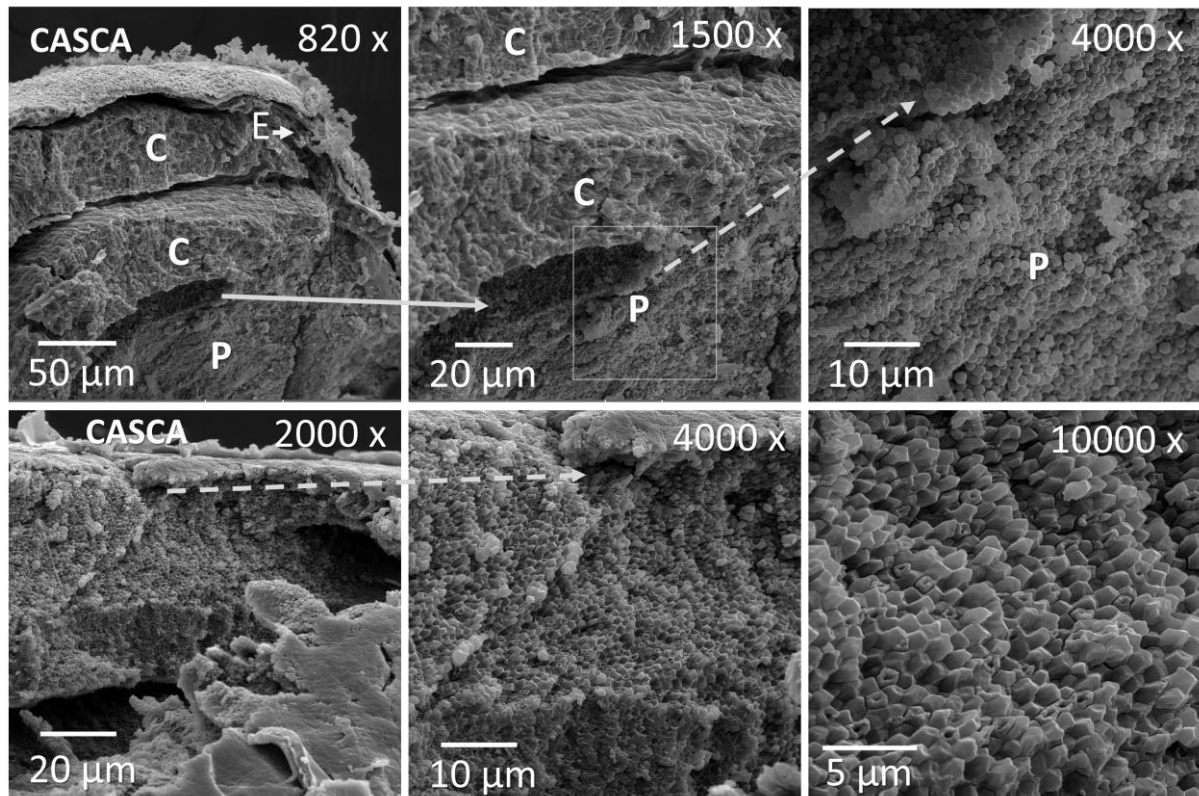
Nota: C, cotilédones

O perisperma (Figura 2.4), porção central da semente apresenta níveis elevados de hidratos de carbono uma vez que contém os grânulos de amido, conforme apontado por García-Salcedo, Torres-Vargas e Ariza-Calderón (2018). Ele corresponde ao tecido de armazenamento da semente de amaranto e apresenta células poliédricas relativamente finas, aderindo grânulos de amido nas paredes celulares. O amaranto contém de 48-69% de amido (peso seco da semente), sendo considerado uma fonte de amido ceroso (CORKE; CAI; WU, 2016).

O diâmetro da região do perisperma tem aproximadamente  $0,96 \pm 0,14$  mm. Quando o perisperma (P) e a casca estão adjacentes, eles se apresentam fortemente unidos (ampliação 2000x), mas podem ser separados por moagem (IRVING; BETSCHART; SAUNDERS, 1981).

Ninfali *et al.* (2020) identificaram que o perisperma contém oxalato de cálcio na borda e é revestido por uma bainha protetora. Além disso, também foram detectados outros elementos químicos, compatíveis com a presença de fitatos, tanto sob a forma de sais de Mg e K, como em parte menor sob a forma de sais de Ca.

Figura 2.4 – Perisperma amiláceo da semente de amaranto



Nota: C, cotilédones, P, perisperma, E, endosperma.

Na ampliação a 820x distinguiu-se os cotilédones (C) localizados no embrião da semente, revestidos pelo endosperma (E), adjacente à casca. O endosperma envolve principalmente as pontas dos cotilédones e a raiz (IRVING; BETSCHART; SAUNDERS, 1981).

As ampliações do lado inferior da Fig. 2.4 (2000, 4000 e 10000x) se referem ao corte transversal do perisperma. Assim os grânulos de amido aglomerados, com um formato poligonal, podem ser visualizados.

Como o embrião compreende as frações proteica e lipídica do grão, e envolve o perisperma, isto dificulta a remoção do amido (CHOI; KIM; SCHIN, 2004). Portanto a extração por ultrassom pode ser uma alternativa para facilitar este processo de isolamento.

#### 2.4.2 Tratamento dos Grãos de Amaranto com Irradiação Ultrassônica

Na Tabela 2.2, pode-se visualizar as condições em que os tratamentos ocorreram, bem como o rendimento obtido na extração de amido a partir do grão de amaranto submetido ao ultrassom.

Tabela 2.2 – Condições experimentais do tratamento ultrassônico dos grãos de amaranto e rendimento da extração de amido

Ensaio	t (min)	Amp. (%)	m <sub>amostra</sub> (g)	T (°C)	Potência (W)	Energia (J)	m <sub>grãos sonicados</sub> (g)	m <sub>amido</sub> (g)	Rend. (%)
1	15	40	5,00	35-38	29	26.506	4,70	0,0071	0,14
2	45	40	5,00	41	31	80.491	4,76	0,0092	0,18
3	15	80	5,00	45	68	64.132	2,14	0,2142	4,28
4	45	80	5,00	45	69	187.576	2,93	0,3393	6,78
5	30	60	5,00	45	48	83.559	3,83	0,0229	0,46
6	30	60	5,00	41-44	48	86.930	3,75	0,2398	4,80
7	30	60	5,00	44	49	86.629	4,50	0,2247	4,49
8	8,8	60	5,00	44	48	26.709	4,82	0,0018	0,04
9	30	88,3	5,00	45	77-79	137.848	3,40	0,1822	3,65
10	51,2	60	5,00	45	48-50	150.635	3,18	0,3987	7,97
11	30	31,7	5,00	30-32	22-23	42.261	4,51	0,1791	3,58

Notas: t, tempo; Amp., amplitude; m, massa; T, temperatura; Rend., rendimento.

A adição de água deionizada à massa de grãos de amaranto promoveu de imediato o aparecimento de aglomerados, devido à forte atração eletrostática na superfície dos grãos. Com a aplicação do US, rapidamente estes aglomerados foram desagrupados, permitindo sua exposição mais uniforme e homogênea às ondas ultrassônicas, conforme explica Gedanken (2007).

Durante a realização dos tratamentos, um aumento de temperatura foi observado, acentuando-se com o aumento da amplitude de vibração. Por esta razão, o equipamento foi configurado para não ultrapassar a temperatura de 45 °C no meio.

Este fato, também relatado por Monroy; Rivero; García (2018) durante a modificação de amido de mandioca, foi justificado pela geração de energia térmica e mecânica, associados à transmissão da onda acústica no meio, ocasionando a cavitação. No experimento deles, quando o tratamento foi realizado sem banho de

gelo ocorreu a gelatinização do amido e com banho de gelo, percebeu-se a gelatinização parcial.

Isso pode ter também ocorrido no presente estudo, pois embora a temperatura foi programada para não ultrapassar 45 °C, não é possível aferir este parâmetro exatamente abaixo da área do probe que emite as ondas ao meio. Nesta posição, a temperatura é mais elevada devido à área de espalhamento acústico.

Em relação a isso, o ápice da cavitação ocorre em uma área próxima (2 cm) à ponta do sonotrodo (sonda). Nesta região, denominada espalhamento acústico, maiores níveis de intensidade acústica são dissipados no meio, gerando maior cavitação e elevando a temperatura. Uma diminuição exponencial vai sendo percebida com o distanciamento da ponta do sonotrodo, fenômeno conhecido como atenuação (diminuição do número de cavitações ultrassônicas), sendo dissipado quase por completo em distâncias superiores a 2 cm (O'SULLIVAN *et al.*, 2017).

Corroborando a isso, foi percebido em tratamentos onde maior amplitude de vibração foi aplicada, a formação de uma substância mais viscosa. Esta pode estar associada à gelatinização do amido de amarantho que foi liberado para o meio.

Para facilitar a uniformidade da temperatura durante o tratamento, observou-se que ao agitar a suspensão, a temperatura interna diminuía, o que promove a dispersão das ondas de calor, possibilitando o controle da elevação de temperatura no meio.

Em contrapartida, a interação entre agitação mecânica e a cavitação acústica ocasiona uma redução na turbulência do meio, diminuindo a pressão acústica e a diferença entre as zonas de pressão máxima e mínima. Portanto, as condições de tratamento e o material interferem diretamente na magnitude dos efeitos produzido pelo US (CÁRCEL *et al.*, 2012).

Ao agitar a suspensão, a superfície do probe que não estava imersa na água era umedecida, e isso fez com que os grãos aderissem ao probe e subissem, permanecendo fora da suspensão. Analisando-se estes grãos por microscopia, percebeu-se que não foram afetados pela irradiação, uma vez que não foram expostos à cavitação conforme o tratamento realizado.

Portanto, é imprescindível manter os grãos em contato com o líquido para receber o efeito do campo ultrassônico durante todo o procedimento, e atentar para o posicionamento do probe na suspensão. Estes fatores contribuem para eficácia da propagação das ondas durante o tratamento por ultrassom.

### 2.4.3 Efeito do Ultrassom na Morfologia de Sementes de Amarantho

Os grãos tratados com ultrassom foram observados em microscópio de varredura de alta resolução e as microimagens obtidas podem ser visualizadas na Figura 2.5. O grão nativo apresentou uma casca de superfície rugosa, como já discutido anteriormente, sem a presença de amido superficial.

Com a exposição dos grãos ao tratamento ultrassônico, alterações e fragmentações foram identificadas, assim como Toma *et al.* (2001) haviam relatado sobre a alteração da estrutura vegetal. Bonto *et al.* (2020) também relatam que a aplicação de US nos grãos de arroz promoveu a formação de microporos, erosão superficial, destruição da casca, exposição da parede celular, bem como o afrouxamento da matriz do arroz e consequente fragmentação.

A exposição ao ultrassom de uma matéria-prima em um meio líquido promove sua rápida fragmentação, devido às colisões entre partículas e os choques das bolhas em colapso (CHEMAT *et al.*, 2017). Isso é consequência das oscilações da sonda no meio, proporcionadas pela sua vibração, de acordo com a amplitude configurada no equipamento, podendo chegar a uma pressão de 1000 bars. Como isso ocorre próximo à superfície do material sonicado, favorece as deformações da amostra (DING *et al.*, 2018).

As alterações e deformações das sementes foram mais intensas quando maiores tempos e amplitudes de vibração foram utilizados. Nestes casos, foram registrados maiores valores da energia dissipada no meio (Tabela 2.2), consequentemente, maiores são as alterações no sólido que é inserido no campo ultrassônico. Quando maiores amplitudes foram aplicadas, porém em curto tempo, a energia dissipada também foi menor, pois é proporcional ao tempo de exposição dos grãos. A geração de bolhas aumenta com o aumento da potência acústica (LEIGHTON, 1995).

Chemat *et al.* (2004) observaram que após 30 min de tratamento ultrassônico algumas sementes de cominho permaneceram intactas, enquanto outras foram danificadas.



Figura 2.5 - Microimagens de grãos de amaranto orgânico nativo e exposto ao tratamento por US

(continua)

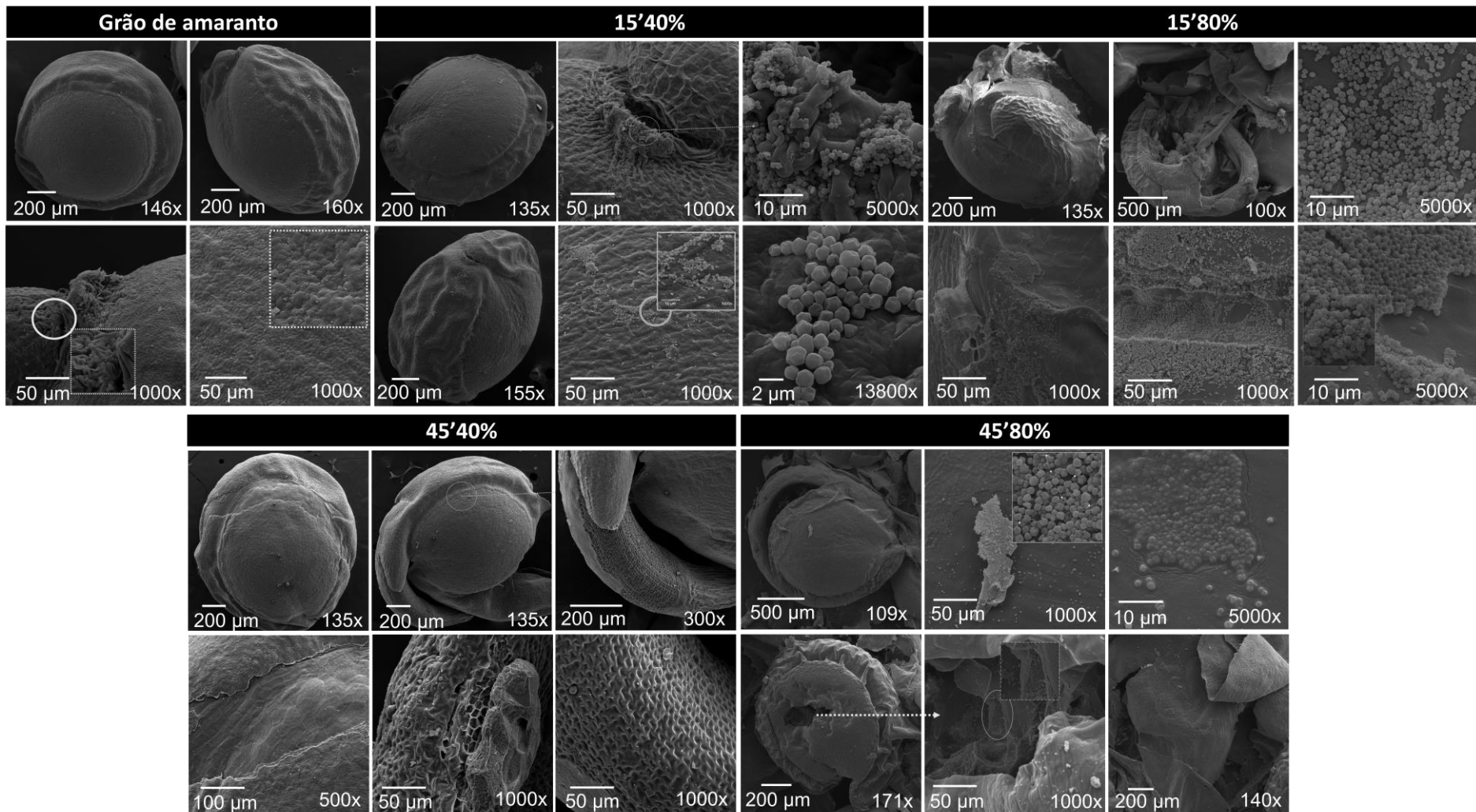


Figura 2.5 - Microimagens de grãos de amaranto orgânico nativo e exposto ao tratamento por US

(continuação)

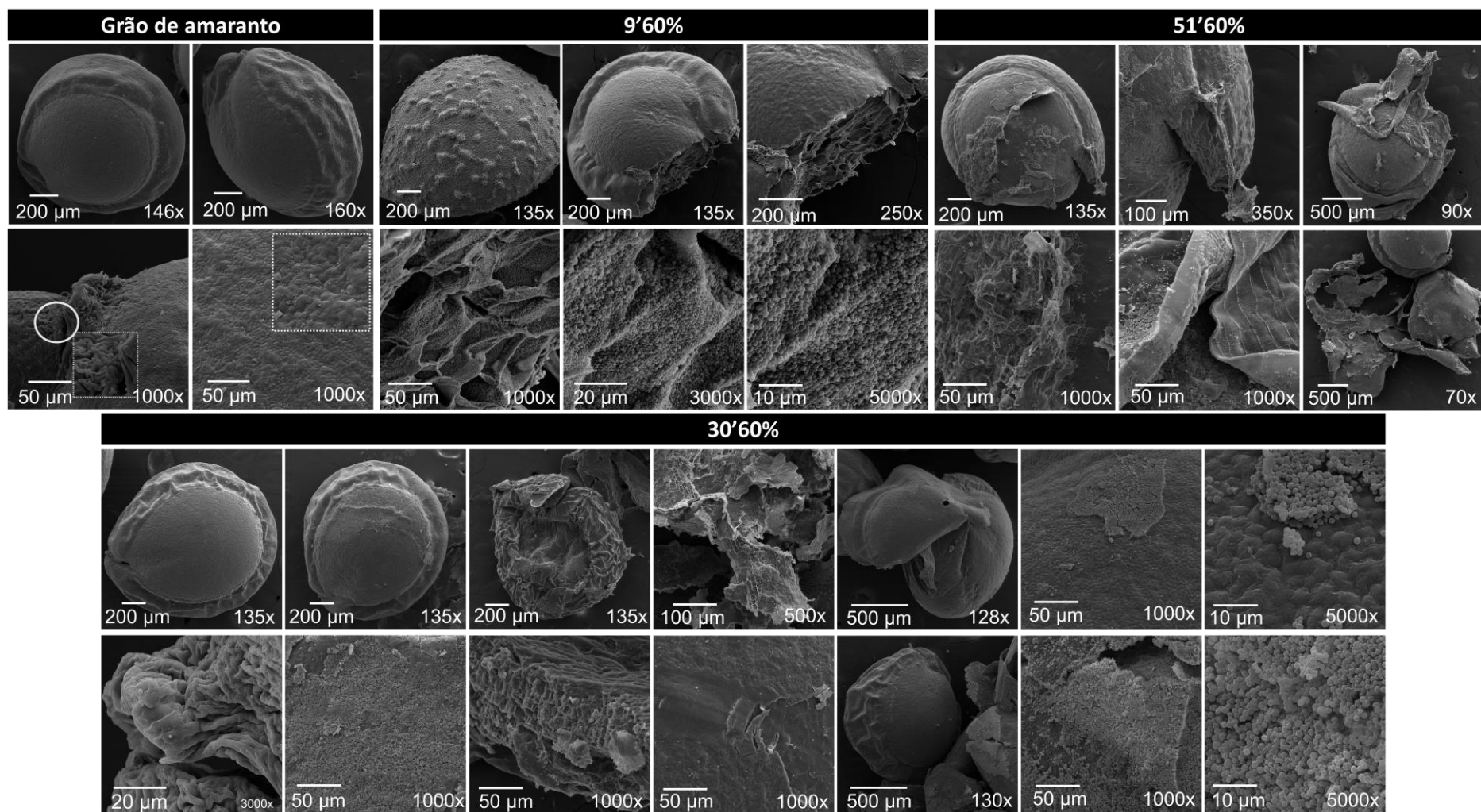
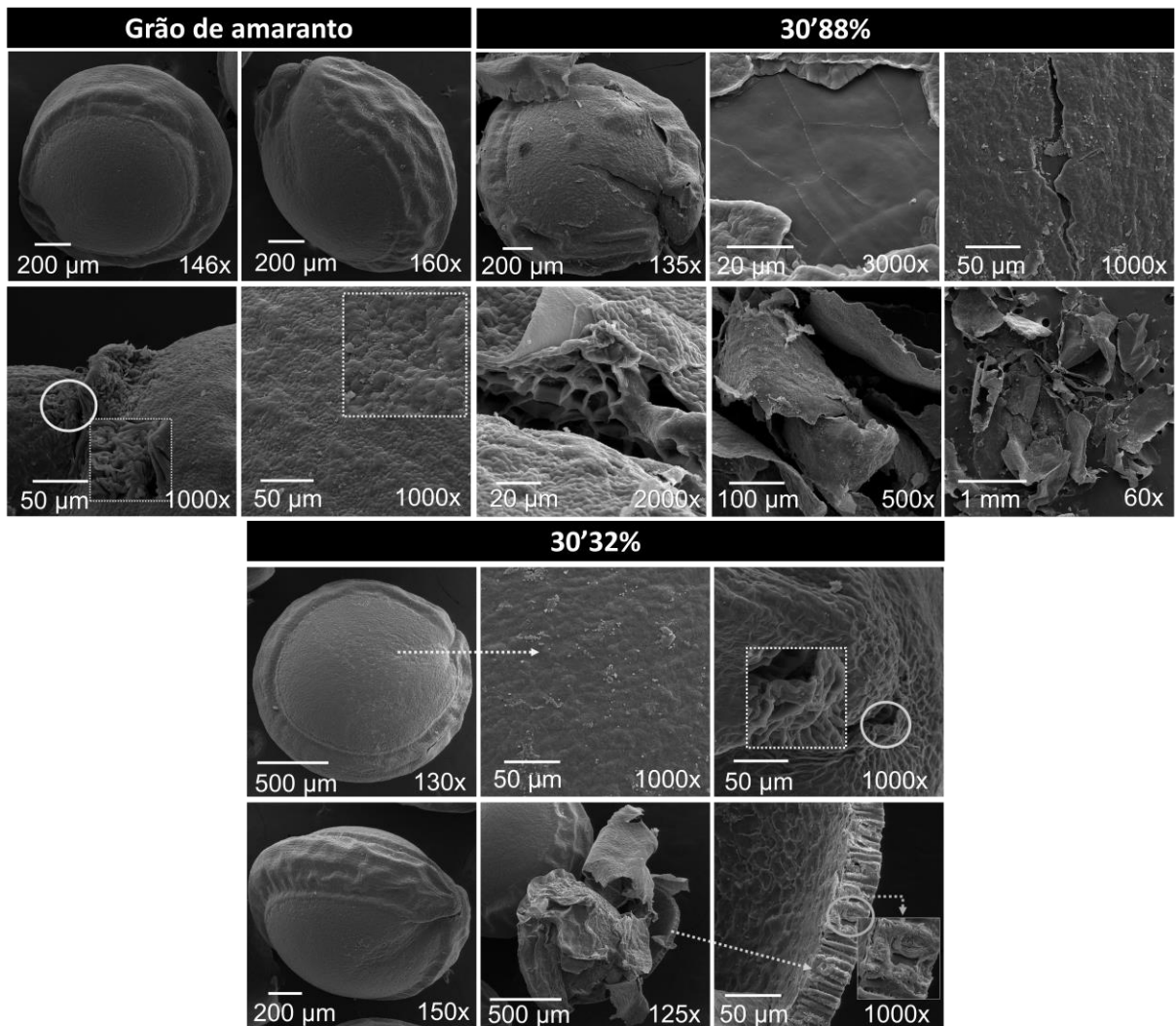


Figura 2.5 - Microimagens de grãos de amaranto orgânico nativo e exposto ao tratamento por US (conclusão)



Quando maior amplitude de vibração foi aplicada, uma fragmentação e deformação mais intensa ocorreu, chegando a romper o anel do endosperma que envolve o perisperma. A casca do grão também se desprende, se apresentando como camadas finas agrupadas. Isso também pode ser visualizado por microscopia óptica (Figura 2.6), em que as cascas e cotilédones parecem formar uma rede envolvendo também alguns grãos de amaranto. Este material que se mantém agrupado se refere à fração mais viscosa que se forma após a sonicação, a qual pode estar relacionada a uma pré-gelatinização do amido lixiviado das sementes. Este comportamento ocorreu somente sob amplitudes de acima de 60%.

Bonto *et al.* (2020) também discutiram que os grãos de arroz que foram expostos em maior tempo (30-60 min) no US sofreram maiores danos.

Uma quebra no grão foi identificada no tratamento a 45 min 80% com um tamanho de 0,369 mm, e quando aproximada em 1000 x sugere-se o alcance da camada de perisperma amiláceo. Um orifício também pode ser visualizado, embora de menor tamanho, no tratamento a 30 min 60%.

Miller (1983) relatou que o US promoveu um craqueamento do revestimento da semente, o que auxilia na absorção da água. Gordon (1971) também discutiu que o US permite um umedecimento inicial mais rápido na superfície da semente, e após 10 min de exposição ao US, a água passa a ser absorvida, aumentando, portanto, a taxa de difusão da água.

Ding *et al.* (2018) sonicaram (5 min, 25 kHz, 16 W) farinhas de arroz vermelho e integral para avaliação de suas propriedades funcionais. O US alterou a superfície do arroz com aparecimento de orifícios e rachaduras melhorando a transferência de umidade durante cozimento a vapor, reduzindo o tempo para cocção. Estas alterações foram atribuídas à cavitação acústica que conduz a modificações físicas em microescala, como as ondas de choque e microjatos que impactam na superfície sólido-líquido.

As menores alterações na casca foram obtidas quando a sonicação ocorreu em condições mais brandas (15 min 40% e 30 min 32%). No tratamento durante 30 min 32% foi possível identificar a estrutura interna rugosa da casca da semente de amaranto. A ampliação de 1000 x parece mostrar o endosperma, como ilustrado por Irving; Betschart e Saunders (1981), que contém paredes celulares espessas, com a função de proteger o embrião.

O ensaio a 9 min 60% não apresentou tantas alterações como confirmado na microscopia óptica (Figura 2.6). Isso pode estar também relacionado ao menor rendimento de extração, sugerindo que o curto intervalo de tempo não foi suficiente para provocar maior liberação do conteúdo da matriz.

Durante a realização dos ensaios, a água pode se tornar turva ou acinzentada. Com o uso de ultrassom, pode haver a liberação de minúsculas partículas de titânio na amostra. Assim, as amostras que ficam mais escuras, com menor valor de luminosidade, podem apresentar este composto devido a maior amplitude de vibração utilizada (BIOSYSTEMS, 2021).

Sendo assim, os parâmetros escolhidos para o tratamento por US exercem grande influência nos danos ocasionados às sementes sonicadas.

Figura 2.6 – Imagens obtidas por microscopia óptica de grãos de amaranto sonicados

(continua)

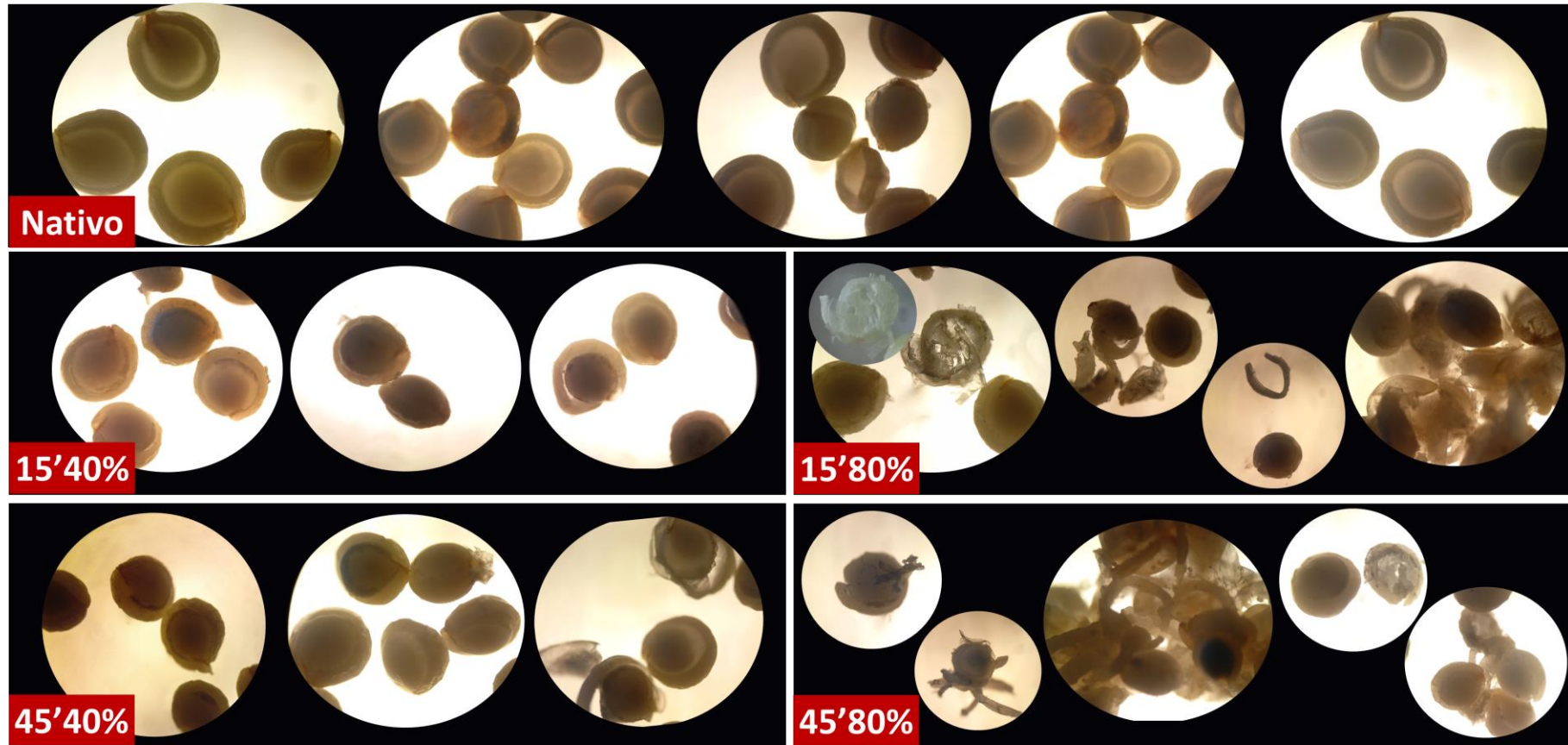
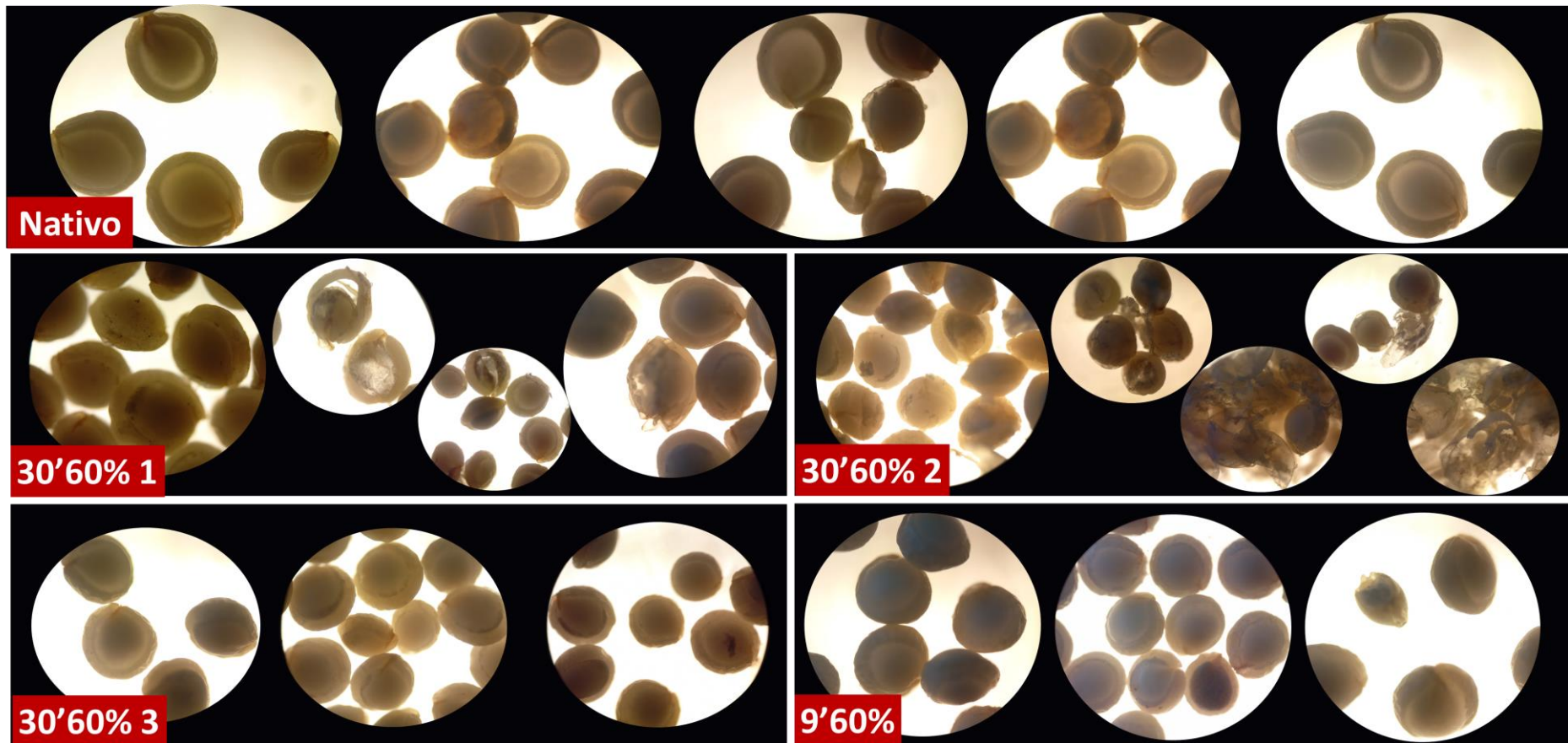


Figura 2.6 – Imagens obtidas por microscopia óptica de grãos de amaranto sonicados

(continuação)

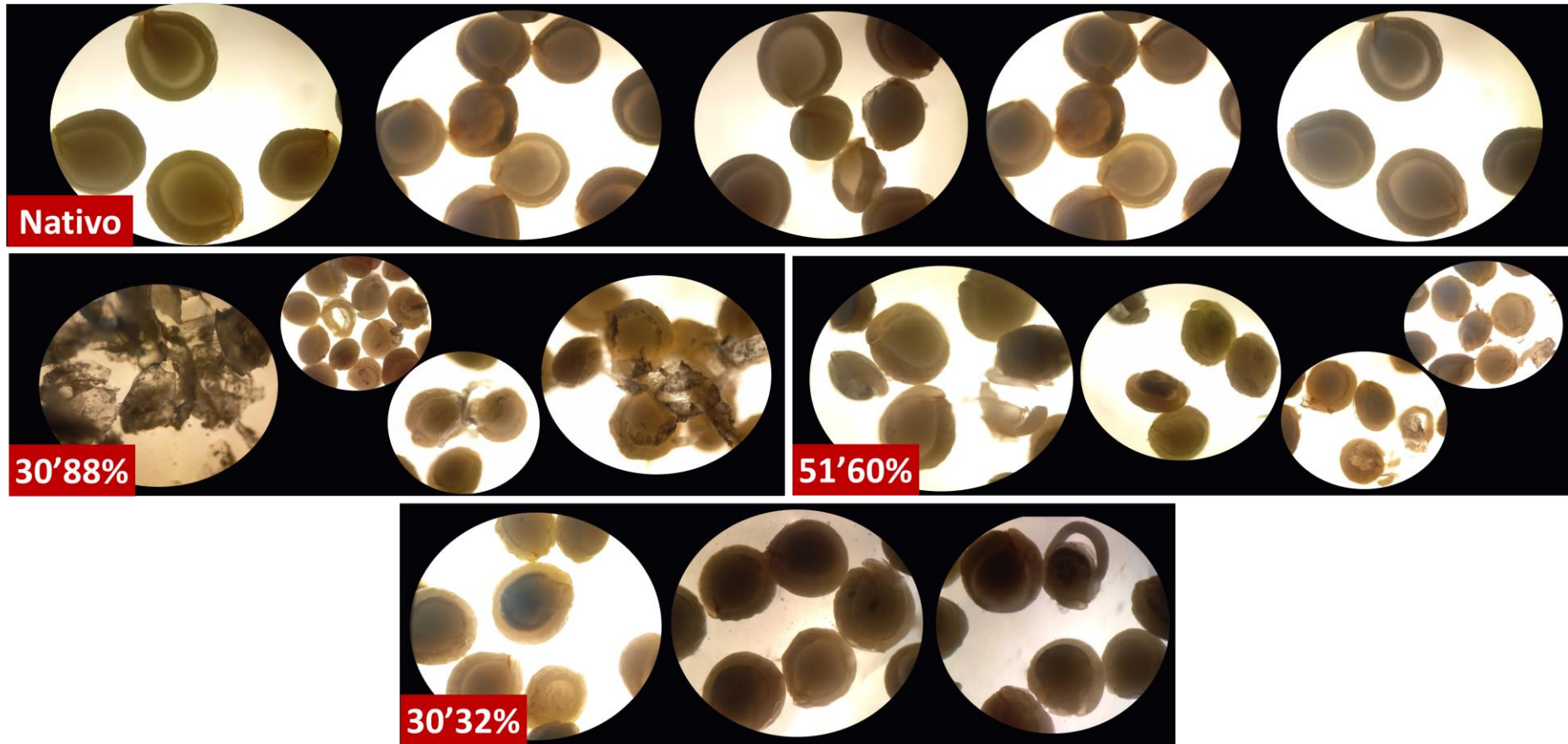


\* O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

\*

Figura 2.6 – Imagens obtidas por microscopia óptica de grãos de amaranto sonicados

(conclusão)



#### 2.4.4 Amido Isolado após Tratamento Ultrassônico dos Grãos

Como visto na Figura 2.5, no tratamento realizado por 45 min a 80%, há um fragmento da casca (aumento de 1000x) que recobre o perisperma expondo inúmeros grânulos de amido. Ampliando-se a 5000x consegue-se identificar os grânulos de amido recobertos por uma fina camada de casca a qual sofreu impacto do colapso das bolhas e dos microjatos, exibindo uma rachadura em volta da região onde estão grânulos. Sugere-se que esta fração estaria se desprendendo do grão e facilitando a saída do amido.

Além disso, com a exposição dos grãos ao campo ultrassônico, foi identificado uma fragmentação do feixe vascular (nervuras), que possibilitou o extravasamento dos grânulos de amido para fora do perisperma, chegando à casca. Isso ocorreu para todos os tratamentos ilustrados na Figura 2.5, onde foi possível observar os grânulos de amido aderidos à superfície do grão, sob a forma de agregados ou até mesmo isolados.

Bonto *et al.* (2020) comentaram que os jatos mecânicos das ondas sonoras fizeram com que o empacotamento dos grânulos de amido no arroz fosse liberado da matriz da parede celular, e a porosidade da matriz sonicada facilitou a transferência de massa e o processo de hidratação.

Como a cavitação acústica facilita a liberação de compostos da matriz onde estão inseridos, a mudança de coloração da água (esbranquiçada) foi um indicativo da presença de amido no líquido e até mesmo proteínas. O amarantho contém aproximadamente 55-64% (base seca) de amido (VILLAREAL; RIBOTTA; ITURRIAGA, 2013; PEREZ-REA; ANTEZANA-GOMEZ, 2018).

Chemat *et al.* (2017) relataram que a extração de compostos via ultrassom ocasiona a degradação das paredes celulares, sendo que a intensidade dessa alteração é dependente das condições do tratamento. Os microjatos gerados após a implosão das bolhas de cavitação provocam a erosão, descamação superficial e quebra das partículas, como foi visualizado nos tratamentos realizados neste estudo com a deformação dos grãos (Figuras 2.5 e 2.6).

Com o colapso das bolhas, promovendo gradientes de pressão e acelerando a camada líquida presente em torno da amostra, há energia suficiente para liberação e despolimerização do amido, exibindo fissuras e depressões na superfície (CHEN *et al.*, 2017; SUJKA *et al.*, 2013; JAMBRAK *et al.*, 2010).



As microimagens de amido (Figura 2.7) permitem a visualização de ranhuras, rupturas e deformação dos grânulos, principalmente na amostra tratada sob maiores amplitudes (>80%). Em menores amplitudes algumas depressões e deformações também podem ser identificadas. Estas deformações estão apontadas pelas setas nas imagens. O tratamento 30 min 60% realizado na segunda vez evidenciou ranhuras na superfície, com deformação do grânulo de amido.

O tratamento a 15 min 40% proporcionou ligeiras deformações. Em amido de mandioca não houveram mudanças na forma do grânulo após aplicação de US por 5, 10 e 15 min (40%), no entanto um aumento na rugosidade e na formação de poros e canais foi relatado com o aumento do tempo de tratamento (MONROY; RIVERO; GARCÍA, 2018).

Fatores como a intensidade da cavitação e o material que está sendo submetido ao US afetam diretamente o sinal acústico, e, conseqüentemente a magnitude dos efeitos promovidos neste equipamento (CÁRCEL *et al.*, 2012).

Cárcel *et al.* (2012) explicaram que os materiais sólidos imersos em um fluido tratados por US são submetidos a um efeito esponja, o que significa um processo similar à compressão e liberação da esponja repetidamente. Com isso, há liberação de líquido da porção interna da partícula no sentido do fluido, e o contrário também ocorre, ou seja, há a entrada de fluido na partícula.

A tensão superficial que mantém as moléculas de água dentro dos capilares do material pode ser vencida pelas forças envolvidas durante o tratamento por US, causando o aparecimento dos canais microscópicos. Com isso, a resistência a fenômenos envolvendo o transporte de calor ou massa diminui, facilitando a entrada/saída de fluidos na matriz sólida com a aceleração do transporte interno, e maiores trocas ocorrem entre a superfície sólida e o fluido circundante (CÁRCEL *et al.* (2012)

Com estes gradientes consecutivos de compressão e expansão durante o US, pode favorecer a formação de um material altamente poroso, o que facilita a movimentação de água no meio (CÁRCEL *et al.*, 2012).

Grânulos pequenos, como de amido de amaranto, podem se apresentar como aglomerados, já que apresentam maior área superficial, favorecendo a aproximação por forças eletrostáticas, principalmente na presença de umidade (BET *et al.*, 2018a; ARENDT; ZANNINI, 2013).

Figura 2.7 – Microimagens de amido obtidos após sonicação de grãos de amaranto

(continua)

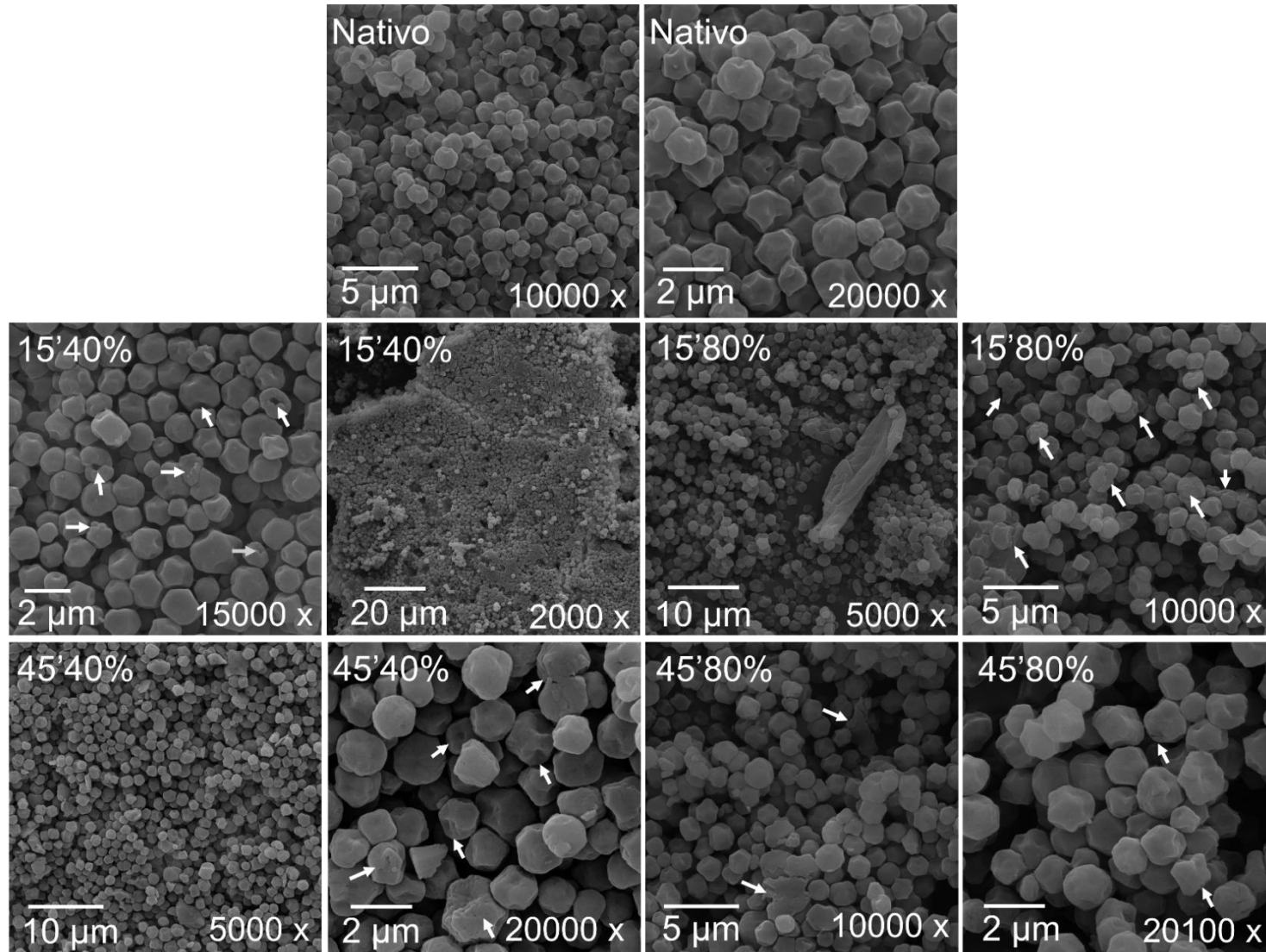
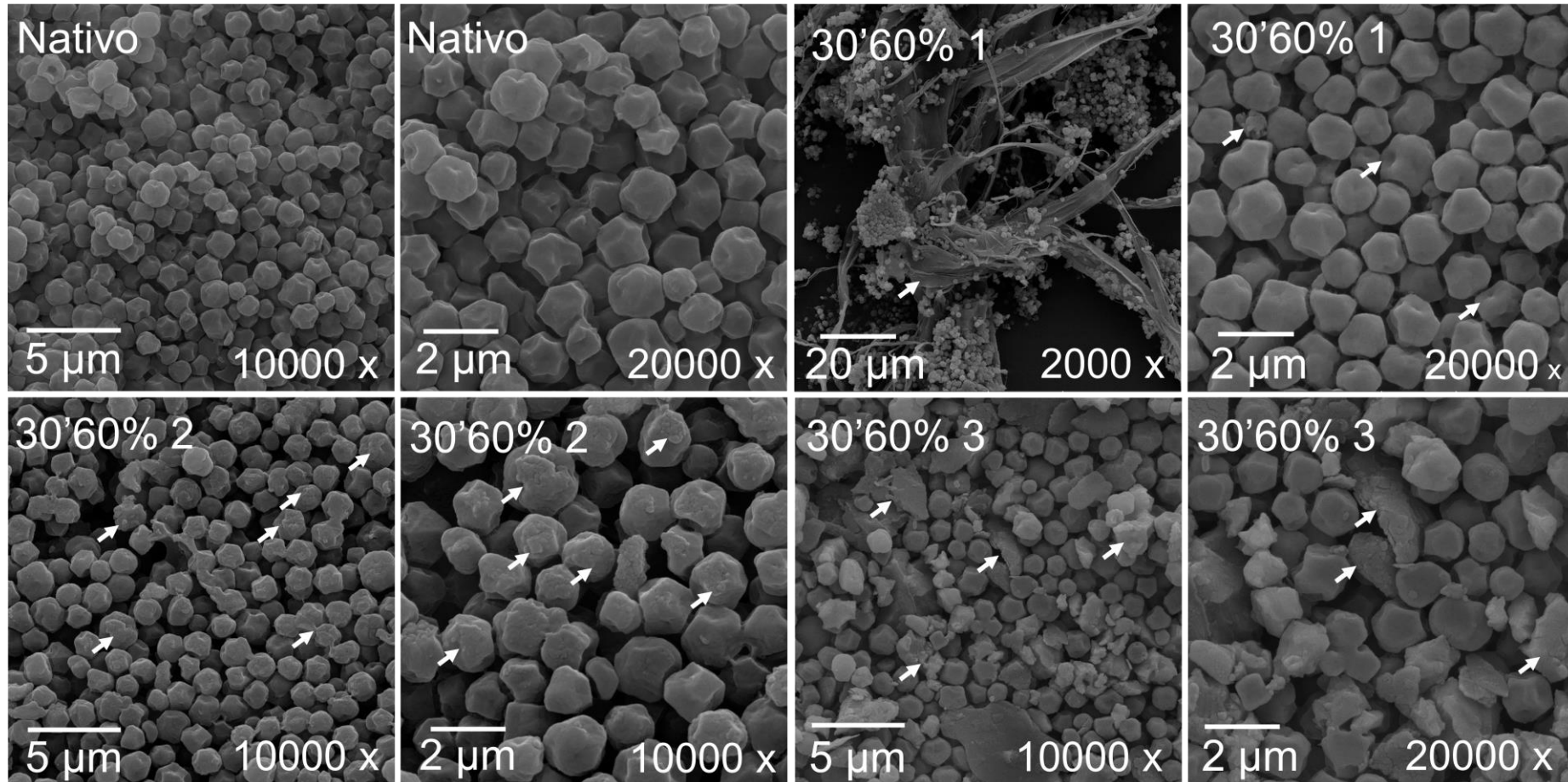


Figura 2.7 – Microimagens de amido obtidos após sonicação de grãos de amaranto

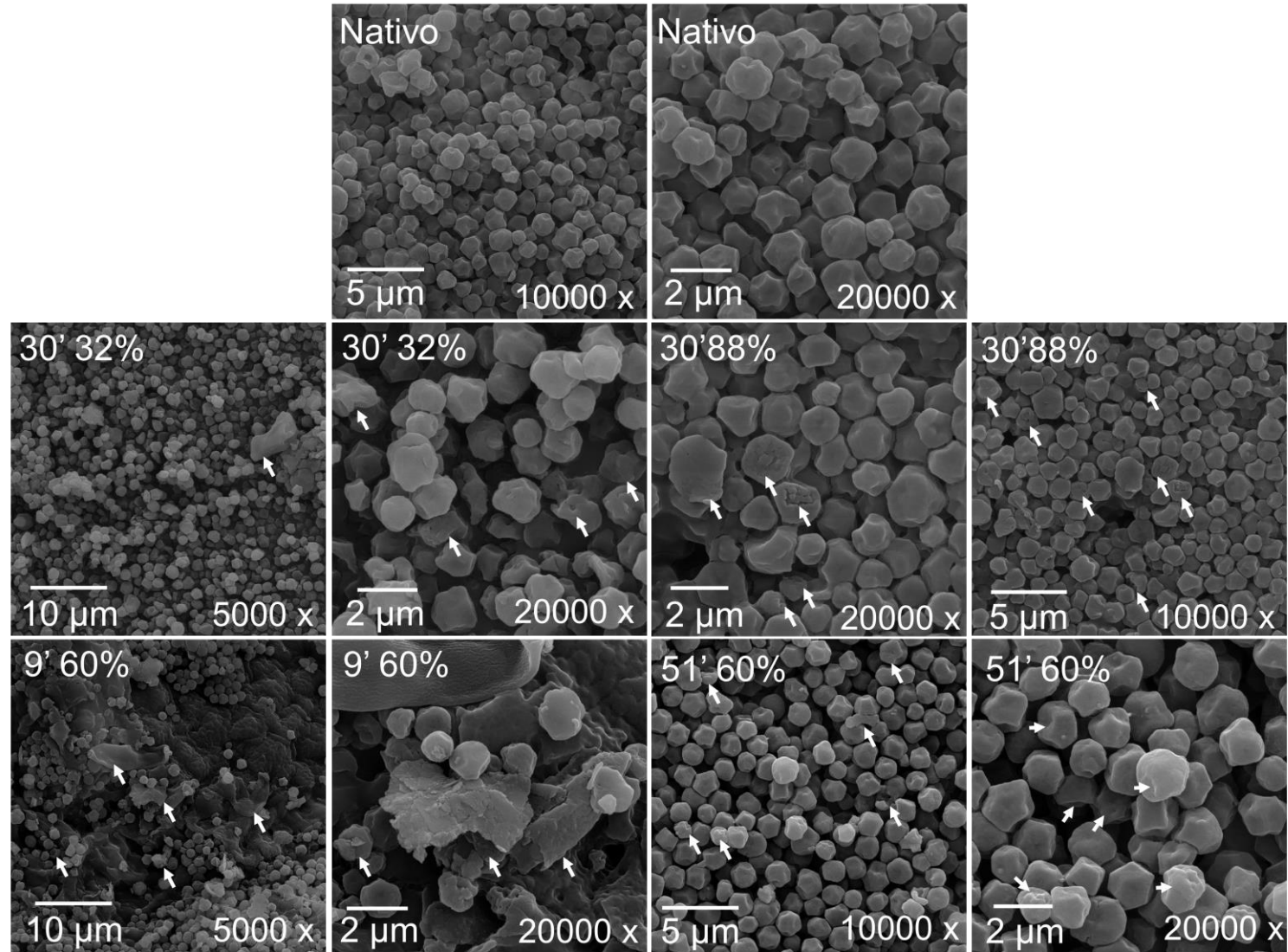
(continuação)



\* O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

Figura 2.7 – Microimagens de amido obtidos após sonicação de grãos de amaranto

(conclusão)



O tempo que o sólido permanece dentro do campo acústico pode induzir à re-coalescência acústica, aglomerando as partículas. Quanto mais próximo o material esteja da sonda, também maiores forças de cisalhamento poderão afetá-lo, com o efeito acústico localizado (O'SULLIVAN *et al.*, 2017; KUMARESAN *et al.*, 2006).

Durante a sonicação, os grânulos de amido retêm a energia sonora, a qual produz vibrações de alta frequência, que podem promover a ruptura do grânulo. Regiões próximas ao hilo parecem ser mais afetadas, devido à fragilidade de sua estrutura (HU *et al.*, 2013).

Placas de proteína, similares às observadas por Gorinstein *et al.* (2004) e Tapia-Blácido; Sobral e Menegalli (2010) em amaranto, foram visualizadas mantendo unidos os blocos de amido sonicado, visualizadas no tratamento de 30 min a 32%. Cascas desprendidas e rompidas do grão também podem ser visualizadas com inúmeros grânulos aderidos, como observado no tratamento a 30 min 60%. As vibrações de alta energia transmitidas pelo probe podem favorecer o desligamento de componentes da estrutura vegetal difundindo-os no meio, devido à turbulência, microjatos e implosões causadas (KADAM *et al.*, 2015; JAMBRAK *et al.*, 2010; TOMA *et al.*, 2001).

De acordo com O'Sullivan *et al.* (2017), o ultrassom pode desaglomerar e reduzir o tamanho de proteínas (< 100nm) pela ruptura de ligações não covalentes (ligações de H, hidrofóbicas ou interações eletrostáticas), diminuindo a viscosidade do meio. Pode-se chegar até a desnaturação dependendo da temperatura alcançada. Não ocorre a cisão da estrutura primária, ou seja, das ligações peptídicas, mantendo-se a estrutura da proteína associada. Estas mudanças podem favorecer a exposição dos grupos hidrofóbicos das proteínas, conferindo maior estabilidade quando da aplicação em emulsões.

As proteínas podem ter suas propriedades funcionais alteradas frente aos rompimentos das interações inter e intramoleculares (FOEGEDIND; DAVIS, 2011) e o US pode ocasionar estas mudanças estruturais (CHANDRAPALA *et al.*, 2011), embora dependa da natureza das proteínas, grau de desnaturação e agregação (ARZENI *et al.*, 2012).

O diâmetro médio dos grânulos de amido observados ainda aderidos à superfície do grão de amaranto sonicado apresentou valores entre 0,8 a 2,3 µm. Já, o amido separado no filtrado exibiram diâmetro médio entre 1,17-1,44 µm, sem diferença significativa entre as condições de exposição ao US.

Os grânulos de amido nativo (extraído por metodologia aquosa, a partir da farinha) apresentaram forma poligonal com diâmetro médio de 1,10-1,35  $\mu\text{m}$ , como também encontrado em estudos prévios (BET *et al.*, 2018). Toma *et al.* (2001) registrou diâmetros de 0,5 até 2,5  $\mu\text{m}$ . Xia *et al.* (2015) relataram uma faixa de diâmetro entre 0,65 a 1,92  $\mu\text{m}$  (média de 1,38  $\mu\text{m}$ ) para variedade *A. cruentus*, que também exibiu forma poligonal, com superfície lisa e sem fissuras.

Quanto ao rendimento de extração, os tratamentos 15 min a 80% e 30 min a 60% resultaram em valores próximos. Destaca-se o tratamento 30 min a 32%, o qual obteve rendimento similar, utilizando amplitude de vibração baixa, o que também favorece manter o procedimento a menores temperaturas, minimizando custos de energia e principalmente preservando compostos termicamente instáveis.

Quando foi mantido 30 min e aumentou-se a amplitude para 88% (comparado a amplitude de 60%) houve uma diminuição no rendimento, sugerindo-se que o tratamento pode ter favorecido maior associação das proteínas e fibras com o amido na estrutura vegetal, diminuindo sua liberação para o líquido, assim como observado por Karaman, Tuncel e Yilmaz Tuncel (2017).

Li *et al.* (2019) ainda relatam que o aumento na intensidade pode causar uma cavitação deficiente devido ao aumento anormal do volume da bolha e a quantidade pode impedir a propagação das ondas de US, comprometendo assim a eficiência da extração.

Porém, sob amplitude de vibração de 80%, o rendimento também foi maior principalmente quando maior tempo de exposição foi usado, consistente com os maiores rendimentos obtidos para extração de amido de milho e canjica (ZHANG *et al.*, 2004), bem como, de mandioca (SETYANINGSIH *et al.*, 2021).

Isso pode estar associado às forças de cisalhamento, microjatos, turbulência para rompimento dos tecidos, além da maior penetração do solvente no tecido vegetal para transferência dos compostos a água circundante (LI *et al.*, 2019).

Baixas amplitudes (40%) e menor tempo (8,8 min) não foram suficientes para liberação de grande quantidade de amido, mesmo aplicando-se maior tempo (45 min 40%). Maior rendimento foi observado para o tratamento com maior tempo de exposição (51 min) a 60% de amplitude, seguido do tratamento a 45 min 80%. Portanto, sugere-se que o tempo e a amplitude exercem forte influência no rendimento da liberação dos compostos da estrutura vegetal quando o grão inteiro é utilizado.

Diante do exposto, o processo de extração por ultrassom a partir de uma matriz seca envolve duas etapas: primeiro ocorre a maceração da matriz no solvente, facilitando o inchamento e hidratação, e na sequência os constituintes solúveis são difundidos para o solvente por difusão e processo osmótico, etapa em que a energia adicional, como agitação ou aumento de temperatura, podem acelerar o processo de difusão (TOMA *et al.*, 2001).

Como o US ocasiona a formação de poros na superfície, sob maiores amplitudes, facilita a penetração de água, permitindo maior difusividade e aumento do coeficiente de transferência de massa. Assim, maior rendimento pode ser alcançado (GARCIA-PEREZ *et al.*, 2009).

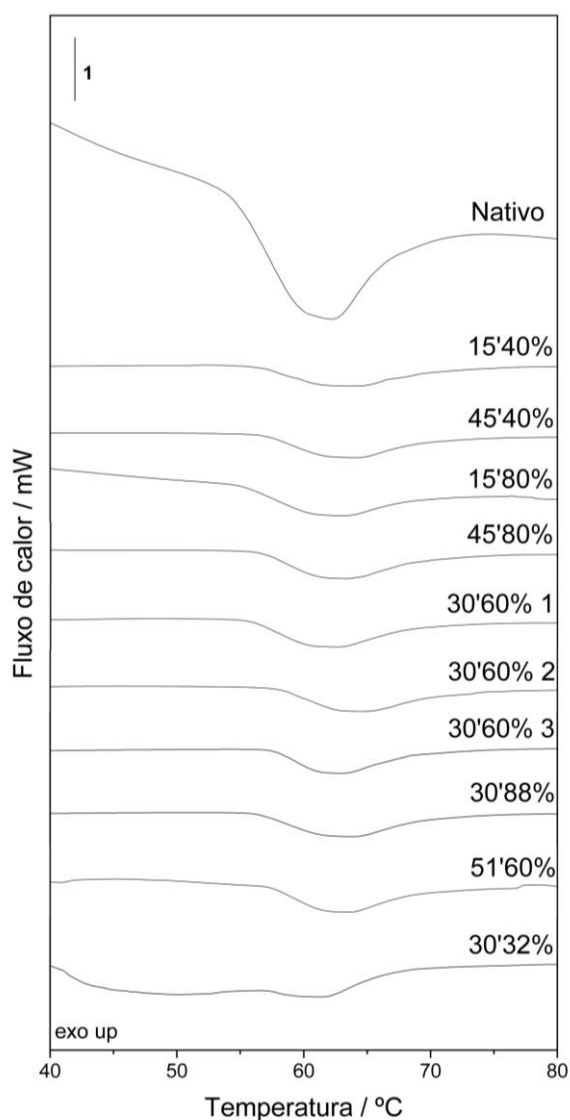
Portanto, a extração assistida por US permite a liberação de compostos com o uso de baixas temperaturas e menor tempo de processo, além de permitir seletividade, conforme discutido por Toma *et al.* (2001).

#### 2.4.5 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas obtidas para o estudo da gelatinização do amido estão representadas na Figura 2.8. O ensaio 9 min 60% obteve um rendimento muito baixo de amido não sendo possível a determinação de seus parâmetros de gelatinização.

As amostras apresentaram comportamento característico para gelatinização, exibindo uma curva com eventos endotérmicos registrada quando o amido é aquecido em excesso de água. Este fenômeno resulta em quebra das ligações de hidrogênio intermoleculares e destruição do arranjo da micela estrutural dos grânulos (XU *et al.*, 2021). Comparando-se a extração aquosa com o isolamento assistido por US é possível observar um deslocamento do início da gelatinização para temperaturas mais elevadas quando a sonicação foi utilizada.

Figura 2.8 – Curvas DSC para amido de amaranto extraído de grãos de amaranto.



\* O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

Os resultados extraídos das curvas DSC estão apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Resultados para parâmetros de gelatinização do amido extraído do grão de amaranto por US. (continua)

Tratamento	$T_o$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_c$ (°C)	$T_c - T_o$ (°C)	$\Delta H_{gel}$ (J g <sup>-1</sup> )
Nativo	54,30±0,05 <sup>i</sup>	60,18±0,01 <sup>e</sup>	66,50±0,17 <sup>e</sup>	12,20±0,12 <sup>ef</sup>	7,17±0,14 <sup>a</sup>
15 min 40%	56,54±0,05 <sup>e</sup>	63,33±0,02 <sup>a</sup>	71,29±0,32 <sup>a</sup>	14,75±0,37 <sup>a</sup>	5,92±0,15 <sup>bc</sup>
45 min 40%	56,86±0,12 <sup>d</sup>	62,75±0,01 <sup>b</sup>	70,27±0,10 <sup>b</sup>	13,41±0,22 <sup>cd</sup>	5,94±0,10 <sup>bc</sup>
15 min 80%	55,25±0,01 <sup>h</sup>	61,32±0,08 <sup>d</sup>	68,30±0,22 <sup>d</sup>	13,05±0,22 <sup>cde</sup>	6,29±0,16 <sup>b</sup>
45 min 80%	56,51±0,03 <sup>e</sup>	62,72±0,02 <sup>b</sup>	70,39±0,04 <sup>b</sup>	13,88±0,07 <sup>abc</sup>	7,32±0,03 <sup>a</sup>



Tabela 2.3 - Resultados para parâmetros de gelatinização do amido extraído do grão de amaranto por US. (conclusão)

Tratamento	T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	T <sub>c</sub> - T <sub>o</sub> (°C)	ΔH <sub>gel</sub> (J g <sup>-1</sup> )
30 min 60% 1	55,64±0,06 <sup>g</sup>	61,65±0,17 <sup>cd</sup>	69,25±0,03 <sup>c</sup>	13,62±0,07 <sup>bcd</sup>	7,13±0,04 <sup>a</sup>
30 min 60% 2	57,91±0,04 <sup>a</sup>	63,49±0,39 <sup>a</sup>	70,83±0,39 <sup>ab</sup>	12,92±0,39 <sup>de</sup>	5,93±0,21 <sup>bc</sup>
30 min 60% 3	57,60±0,01 <sup>b</sup>	62,71±0,01 <sup>b</sup>	69,16±0,16 <sup>cd</sup>	11,56±0,16 <sup>f</sup>	5,51±0,06 <sup>c</sup>
30 min 88%	56,29±0,05 <sup>f</sup>	63,49±0,10 <sup>a</sup>	70,66±0,54 <sup>ab</sup>	14,37±0,59 <sup>ab</sup>	6,95±0,28 <sup>a</sup>
51 min 60%	57,02±0,09 <sup>d</sup>	62,39±0,09 <sup>b</sup>	68,98±0,20 <sup>cd</sup>	11,82±0,52 <sup>f</sup>	5,57±0,29 <sup>c</sup>
30 min 32%	57,29±0,03 <sup>c</sup>	61,76±0,01 <sup>c</sup>	66,90±0,51 <sup>e</sup>	9,61±0,54 <sup>g</sup>	3,37±0,12 <sup>d</sup>

Notas: Resultados expressos como média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey (p<0,05).

T<sub>o</sub>, temperatura onset (°C); T<sub>p</sub>, temperatura de pico (°C); T<sub>c</sub> temperatura de conclusão (°C), ΔH<sub>gel</sub>, entalpia de gelatinização.

O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

Os valores obtidos para o amido nativo de *A. caudatus* foram inferiores aos identificados para *A. cruentus* por Resio e Suarez (2001) e por Tápia-Blácido, Sobral e Menegalli (2010) que extraíram o amido de amaranto por moagem alcalina. Temperaturas mais altas, porém entalpia menor foi relatada para amido de *A. hypochondriacus* isolado por maceração alcalina (SINDHU; KHATKAR, 2018).

Após a exposição por US percebeu-se que houve um aumento significativo nas temperaturas de transição para todos os tratamentos, principalmente para as condições onde foram visualizadas maiores alterações (ranhuras e deformações) por meio da microscopia (30 min 60%).

Sabe-se que o US altera as temperaturas de transição e entalpia de gelatinização do amido. Em geral, ocorre um aumento na T<sub>o</sub> associado à erosão inicial e ruptura da região amorfa nos grânulos, que é mais vulnerável à sonicação possivelmente pela sua maior linearidade (ZHU, 2015). Jambrak *et al.* (2010) concordam com isso, afirmando que o aumento dos parâmetros de gelatinização pode estar relacionado à ruptura promovida pelo US com a cavitação acústica.

O US vai quebrando as cadeias de amido até um limite máximo de comprimento de cadeia no qual a modificação por US apresenta o menor efeito degradativo, ou pouco é sentido pela amostra (ZHU, 2015, JAMBRAK *et al.*, 2010). Em virtude de o amido de *A. caudatus* apresentar proporção maior de cadeias curtas de amilopectina (SRICHUWONG *et al.*, 2017), e sabendo-se que o US tem efeito dependente do comprimento das cadeias, pode-se encontrar diferenças nas

alterações causadas nos grânulos entre os diferentes tratamentos. Além disso, Luo *et al.* (2008) reportaram que amidos de milho com maior conteúdo de amilose foram mais suscetíveis às alterações ocasionadas por US.

De acordo com Singh *et al.* (2006), a temperatura inicial reflete a estrutura interna do grânulo de amido durante sua desintegração e, conseqüentemente, a liberação de polissacarídeo no meio circundante. Temperaturas de transição mais altas para o amido podem ser atribuídas à natureza compacta e ao nível mais alto de ordem molecular dos grânulos de amido (SINDHU; KHATKAR, 2018).

Singh *et al.* (2014) observaram correlação positiva entre as temperaturas de transição e cadeias mais longas e médias de amilopectina em amido de amaranto. Com isso, pode-se sugerir que com a extração por US, um menor número de cadeias curtas de amilopectina pode ser encontrado. E assim, a amilopectina com cadeias mais longas formou uma estrutura helicoidal dupla estável e exigiu mais energia para a ruptura, enquanto as cadeias mais curtas de amilopectina foram interrompidas em temperatura mais baixa devido à ausência de uma rede cristalina forte.

Ressalta-se que o tipo de amido e as condições de ultrassom, tanto de operação quanto do equipamento, apresentam grande influência nas propriedades térmicas do amido, não sendo possível generalizar as alterações que ocorrerão para outros tipos de amido.

A entalpia de gelatinização sofreu uma redução com a extração assistida por US. Porém, quando utilizada a amplitude de vibração de 80% e 88% em tempos mais longos, não foi observada diferença significativa para entalpia, mantendo-se com valor mais alto.

Alterações na energia de gelatinização podem estar relacionadas às diferenças entre as forças de ligação da dupla hélice, que resultam em diferentes alinhamentos de ligações de hidrogênio dentro das moléculas de amido. Quando a dupla hélice se quebra, a energia de gelatinização é reduzida (BENTO *et al.*, 2021). E como a exposição ao US pode promover estas alterações na estrutura do amido, esta nova conformação adquirida exigiu uma menor energia para ocorrência da gelatinização.

A extração realizada com 30 min 60% no ponto 1 apresentou um alto valor de entalpia, diferindo dos outros pontos centrais. Isso se deve possivelmente ao material fibroso e demais componentes do grão, que foram visualizados por microscopia. Com

isso, seus parâmetros de gelatinização foram influenciados com um comportamento diferente.

A entalpia de gelatinização reflete a perda da dupla hélice ao invés da ordem cristalina. Quando se observa um alto valor de  $\Delta H_{gel}$  implica que as interações entre as hélices duplas (que estão agrupadas) nas regiões cristalinas são talvez mais difundidas devido a cadeias mais longas na amilopectina, conforme discutido por Zhou *et al.* (2004).

## 2.5 CONCLUSÃO

Foi possível avaliar a morfologia do grão de amaranto, que apresenta formato lenticular, com superfície lisa permitindo-se identificar as diferentes partes que o compõem, em especial, o perisperma que acomoda os grânulos de amido com um formato poligonal.

Com a aplicação do ultrassom, constataram-se as alterações induzidas pelos efeitos da cavitação acústica confirmando que as ondas sinusoidais podem provocar rompimento da estrutura e exposição do conteúdo celular. As alterações e deformações foram mais acentuadas em maiores tempos e amplitudes de vibração, com maior energia dissipada no meio.

Os grânulos de amido isolados a partir da exposição dos grãos ao ultrassom exibiram deformações, ranhuras e rachaduras principalmente quando maior tempo e amplitude de vibração foram aplicados. A partir da análise de calorimetria exploratória diferencial observou-se uma redução na entalpia de gelatinização e um incremento nas temperaturas de transição em comparação ao amido nativo, extraído por metodologia aquosa, a partir da farinha. Esse comportamento reflete as modificações na estrutura da amilopectina durante a cavitação.

## CAPÍTULO 3 – EXTRAÇÃO DE AMIDO DE AMARANTO ORGÂNICO ASSISTIDA POR ULTRASSOM A PARTIR DA FARINHA

### RESUMO

A técnica utilizada para extração do amido pode impactar diretamente em suas propriedades, como a viscosidade, temperatura e entalpia de gelatinização e até mesmo em sua coloração. Além disso, influencia no rendimento da extração devendo, portanto, ser estrategicamente planejada para ser escalonada ou atender a diferentes mercados. Nos últimos anos, a utilização de tecnologias limpas tem atraído a atenção, como o ultrassom, que permite melhorar o rendimento, reduzir custo e tempo de isolamento e reduzir os impactos ambientais. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi extrair o amido de amaranto orgânico (*Amaranthus caudatus*) por irradiação ultrassônica a partir de um delineamento composto central rotacionado e avaliar a influência do tempo e amplitude de vibração no rendimento e propriedades do amido obtido. Constatou-se ligeiros danos aos grânulos de amido, embora o tamanho médio não tenha sido alterado de forma significativa. Maior luminosidade índice de brancura e menor tendência ao amarelo foram encontradas para o amido extraído por US. Além disso, maiores temperaturas de estabilidade térmica e de transição para gelatinização do amido extraído por sonicação foram observadas. Menor entalpia foi identificada para o isolamento a 15 min e 40% de amplitude de vibração, determinado como melhor ponto do experimento, somado a maior estabilidade térmica, alto rendimento e viscosidade de pico. O ultrassom induziu a um menor grau de cristalinidade relativa para as amostras, sem alterar o padrão de difração do tipo A. Foi possível aumentar o rendimento com a aplicação de US destacando-se menores tempos de exposição (9 e 15 min). A extração assistida por US é uma alternativa promissora para facilitar o desprendimento do material amiláceo da matriz vegetal nos primeiros minutos de sonicação, podendo aumentar o rendimento e conferir novas características nos grânulos isolados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Amido orgânico. Irradiação ultrassônica. Análise térmica.

### ABSTRACT

The technique used for starch extraction can directly impact its properties, such as viscosity, gelatinization temperature and enthalpy, and even its coloration. In addition, it influences the extraction yield and should therefore be strategically planned to be scaled or to serve different markets. In recent years, the use of clean technologies has attracted attention, such as ultrasound, which allows to improve yield, reduce cost and isolation time, and reduce environmental impacts. In view of this, the objective of the present study was to extract starch from organic amaranth (*Amaranthus caudatus*) by ultrasonic irradiation from a rotated central composite design and to evaluate the influence of vibration time and amplitude on the yield and properties of the obtained starch. Slight damage to the starch granules was found, although the average size was not significantly altered. Higher brightness index whiteness and lower tendency to yellow were found for the starch extracted by US. In addition, higher thermal stability and gelatinisation transition temperatures of the starch extracted by sonication were observed. Lower enthalpy was identified for isolation at 15 min and 40% vibration amplitude, determined as the best point of the experiment, added to higher thermal

stability, high yield and peak viscosity. Ultrasound induced a lower degree of relative crystallinity for the samples, without changing the A-type diffraction pattern. It was possible to increase the yield with the application of US highlighting shorter exposure times (9 and 15 min). The extraction assisted by US is a promising alternative to facilitate the detachment of the starchy material from the vegetal matrix in the first minutes of sonication, increasing the yield and conferring new characteristics to the isolated granules.

**KEYWORDS:** Organic starch. Ultrasonic irradiation. Thermal analysis.

### 3.1 INTRODUÇÃO

O amido é amplamente empregado em diferentes processamentos industriais, conferindo propriedades desejáveis, como aumento de viscosidade e retenção de umidade. O amaranto contém de 48-69% de amido (peso seco da semente), sendo considerado uma fonte de amido ceroso (CORKE; CAI; WU, 2016). Com isso, apresenta características interessantes como menor tendência à retrogradação e estabilidade frente ao congelamento e descongelamento. Além disso, os grânulos de amido deste pseudocereal apresentam diâmetro entre 1 – 3  $\mu\text{m}$  e são encontrados no perisperma, ao invés do endosperma. Eles podem ser isolados a partir de uma suspensão em água, sendo que a sua área superficial aumenta quando não se apresentam como aglomerados (ARENDE; ZANNINI, 2013). Conforme Wilhelm *et al.* (2002) a área superficial de amido de amaranto corresponde a 5194  $\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$ .

Diferentes métodos podem ser utilizados para extrair o amido adaptados à fonte botânica e sua aplicação. O melhor rendimento é obtido quando não são causadas modificações significativas nas propriedades físico-químicas do grânulo. Porém, sabe-se que a extração pode afetar essas características devido à estrutura do amido (CORREIA; BEIRÃO-DA-COSTA, 2012). O método mais viável deve propiciar redução dos custos, aumento do rendimento, obtenção de um produto mais puro e geração mínima de resíduos. Além disso, não deve afetar as propriedades físico-químicas e mecânicas do amido (VILLARREAL; RIBOTTA; ITURRIAGA, 2013).

Com o aumento do custo da energia e da preocupação com o meio ambiente, as tecnologias sustentáveis, com bom rendimento, qualidade, economia são priorizadas para extração do amido, bem como de outros compostos alimentares. A utilização do ultrassom destaca-se por se tratar de uma tecnologia limpa, a qual não exige sucessivas lavagens após o tratamento devido à ausência de solventes

químicos, não necessita calor, evita a formação de aglomerados, sendo uma técnica rápida, de fácil realização e alto rendimento (KIM; PARK; LIM, 2015; TIWARI, 2015).

Somado a essa demanda ambiental, extrair amido de cereais é um processo mais complexo quando comparado às raízes e tubérculos. Isso devido ao maior teor de proteínas e lipídeos presentes nos cereais, o que dificulta a separação (HOOVER, 2001).

O ultrassom simplifica e facilita a liberação do amido, diminuindo a necessidade de manipulação da amostra, contribuindo com a pureza do produto. A extração se baseia na sonicação do material vegetal, que é gerada pela energia mecânica vibratória produzida no conversor do equipamento e amplificada pela sonda. Como consequência, ocorre um fenômeno denominado cavitação, devido ao gradiente de pressão gerado pela passagem de ondas acústicas no meio. Assim, bolhas microscópicas são formadas, que aumentam e diminuem sucessivamente até um ponto em que não conseguem mais absorver energia e implodem, liberando a energia. Portanto, micro-jatos são formados, ocasionando a turbulência no meio, e com o colapso das bolhas próximo às paredes vegetais, ocorre a sua descamação superficial, erosão e rompimento da estrutura interna, liberando seus componentes intracelulares. Isso porque as ondas sonoras acima da faixa audível têm a capacidade de penetrar dentro do material biológico (CHEMAT *et al.*, 2017; SIT; DEKA; MISRA, 2014).

Este efeito mecânico-químico aumenta a área superficial, o efeito capilar ultrassônico, facilitando a transferência de massa e a penetração do solvente. Portanto, um rendimento maior na extração é alcançado (CUI; ZHU, 2021; GONZÁLEZ-LEMONS *et al.*, 2018; CHEMAT *et al.*, 2017; HROMÁDKOVÁ; EBRINGERL VÁ; VALACHOVIC, 2002).

O efeito capilar ultrassônico (fenômeno que ocorre em paralelo) promove o aumento da profundidade e velocidade de penetração do líquido em canais e poros (MASON, 2015).

Chemat *et al.* (2004) complementam que a energia de ativação é mais baixa no processo ultrassônico, permitindo a melhor extração de compostos solúveis do material vegetal.

Portanto, a extração por US possibilita maior rendimento, menor tempo, seletividade, uso de temperaturas mais baixas, intensificação da transferência de massa, melhor penetração da água à célula vegetal devido às bolhas de cavitação

formadas próximas à parede, ruptura celular e efeitos capilares. Tudo isso ocorre, pois, a aplicação do US para extração de compostos usando um meio aquoso resulta em um processo de hidratação avançado, melhorando a difusão (TOMA *et al.*, 2001).

Assim, esta técnica tem sido recomendada para extração de polissacarídeos a partir de materiais vegetais (CHEMAT *et al.*, 2004). Além disso, pode ser aplicada também para extração de amido em matérias-primas orgânicas, altamente valorizadas no mercado. Quando utilizado para modificação física de amidos, o US pode afetar as suas propriedades físico-químicas e, conseqüentemente, as propriedades de pasta (ZUO *et al.*, 2009). Na extração assistida por US, Karaman, Tuncel e Tuncel (2017) também relataram que pode haver algumas modificações na estrutura do amido gerando novas propriedades, ampliando suas aplicações, além do aumento de rendimento.

Como não foram encontradas pesquisas acerca da extração de amido do amaranto orgânico por US, este estudo tem por objetivo realizar este isolamento a partir de um planejamento fatorial, investigando suas propriedades térmicas, morfológicas, estruturais e de pasta, comparando-as às obtidas por extração aquosa.

## 3.2 OBJETIVOS

### 3.2.1 Objetivo Geral

Extrair o amido de amaranto orgânico (*Amaranthus caudatus*) por irradiação ultrassônica.

### 3.2.2 Objetivos específicos

- Obter e caracterizar a farinha de amaranto por análise proximal, térmica, morfológica, estrutural, colorimétrica e viscoamilográfica;
- Extrair amido de farinha de amaranto a partir de metodologia aquosa e comparar ao processo assistido por irradiação ultrassônica;
- Avaliar a influência das condições de tempo e amplitude de vibração (planejamento composto central) na extração de amido e nas propriedades térmicas, estruturais, morfológicas, colorimétricas e viscoamilográficas;

### 3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.3.1 Materiais

As sementes de amaranto da variedade *Amaranthus caudatus*, foram cedidas por uma fazenda localizada em San Salvador, Cusco (Peru) (13°30'11.7"S 71°46'10.6"W).

As análises foram realizadas nos Laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos e do Complexo de Laboratórios Multiusuários da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

#### 3.3.2 Composição Proximal da Farinha de Amaranto

Antes de realizar a extração de amido, a farinha de amaranto foi produzida pela moagem dos grãos em moinho de facas (Ika-Werke M-20, Wilmington, Carolina do Norte, EUA). Posteriormente, foi passada em peneira (60 mesh) para homogeneização da amostra e a fim de permitir uma pequena granulometria, e aumentar a área superficial para exposição ao tratamento.

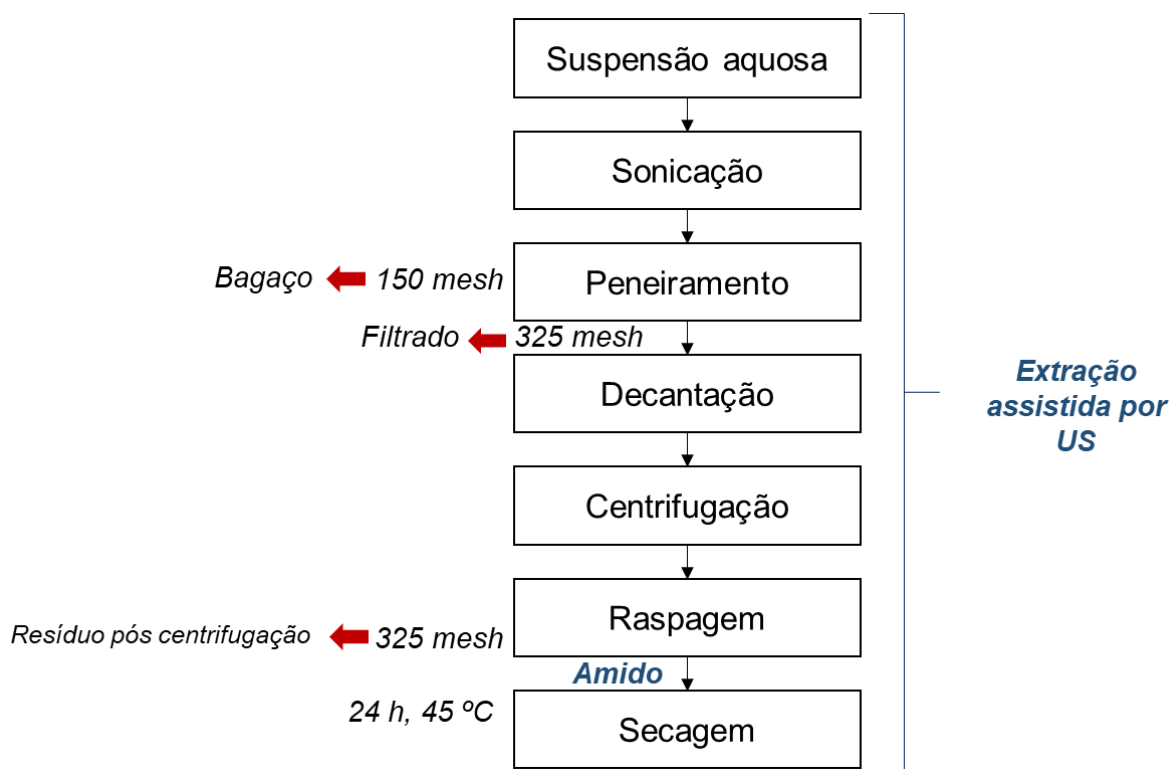
As análises realizadas para composição proximal da farinha foram baseadas nas metodologias da AOAC (2000): proteínas (960.52), lipídeos (968.20) e fibra alimentar pelo método enzimático-gravimétrico (991.43). Umidade e cinzas foram obtidos por termogravimetria (subseção 2.5.1) e carboidratos por diferença.

#### 3.3.3 Extração de Amido de Amaranto Assistida por Ultrassom

A metodologia de extração do amido por ultrassom foi adaptada de Wang e Wang (2004). O Fluxograma 3.1 ilustra as etapas necessárias.



Fluxograma 3.1 – Processo de extração de amido assistido por ultrassom



Fonte: A autora.

Inicialmente uma suspensão aquosa de farinha de amaranto (1:7, farinha:água, m/v) foi homogeneizada em um béquer de 250 mL.

A extração ocorreu em equipamento Vibra-Cell (SONICS), modelo USC 1400 a uma frequência constante de 20 kHz e potência de saída do gerador de 750 W. A potência dissipada no meio foi registrada para cada tratamento realizado. O transdutor é composto por cristais piezoelétricos de zirconato de chumbo. O probe é de titânio com um diâmetro de 2,5 cm, e, conforme instruções do fabricante, esta sonda sólida pode ser utilizada em suspensões com um volume por batelada entre 50 - 1000 mL, sendo a intensidade considerada baixa.

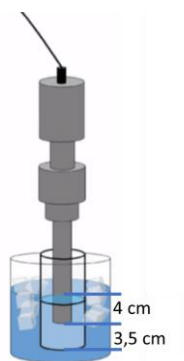
A temperatura dos tratamentos foi configurada no equipamento para não exceder 45 °C, sendo controlada pelo sensor imerso na suspensão. Quando este valor é atingido, devido à amplitude de vibração e tempo utilizado, o sonicador pára automaticamente até que a temperatura regresse abaixo do valor programado. Foi utilizado um banho de gelo para ajudar a manter a temperatura.

O isolamento acústico é alcançado pela caixa de contenção de som.

Cada amostra foi submetida ao processo de sonicação posicionando-se o probe no centro do recipiente, estando a uma profundidade de 4 cm da superfície. A

altura livre entre a sonda e o fundo do béquer foi de 3,5 cm, conforme mostra a Figura 3.1.

Figura 3.1 - Desenho esquemático da posi o do probe na amostra



Fonte: Adaptado de Biovera (2020).

Para avaliar as diferentes condi es de extra o por US e compará-las   extra o por processo aquoso, utilizou-se do método de superfície de resposta (MSR) com planejamento composto central (PCC). As condi es de tratamento ultrassônico foram estabelecidas pelo planejamento experimental apresentado na Tabela 3.1. Utilizou-se um planejamento composto central  $2^K$  com 2 fatores (variáveis independentes): tempo de extra o (min) e amplitude de vibra o (%).

O desenho experimental compreendeu onze experimentos, sendo 4 pontos axiais com distância de 1,414 e o ponto central foi avaliado em três réplicas para determina o do erro.

Tabela 3.1 – Planejamento composto central  $2^K$  para extra o de amido da farinha de amaranto

Ensaio	Tempo (min)	Amplitude de vibra�o (%)	$x_1$	$x_2$
1	15	40	-1	-1
2	45	40	+1	-1
3	15	80	-1	+1
4	45	80	+1	+1
5	30	60	0	0
6	30	60	0	0
7	30	60	0	0
8	8,8	60	-1,414	0
9	30	88,3	0	+1,414
10	51,2	60	+1,414	0
11	30	31,7	0	-1,414

Os tempos 8,8 min (8 min e 48 s) e 51,2 min (51 min e 12 s) foram arredondados para 9 min e 51 min, respectivamente. As amplitudes de 88,3% e 31,7% foram ajustadas para 88% e 32%.

Terminando-se o tempo estabelecido, a suspensão sonicada foi passada por peneiras consecutivas de 150 mesh (em que a fração retida foi denominada bagaço) e 325 mesh (filtrado – líquido de coloração esbranquiçada). O material filtrado foi mantido em repouso em refrigerador a 4-7 °C para decantação do amido e posterior centrifugação em ultra-centrífuga refrigerada (Hitachi, HIMAC CR21GII) por 10 min a 8000 rpm, a temperatura de 4 °C.

O material precipitado foi raspado para remoção da camada de coloração mais escura (marrom/acinzentado) aderida à camada de coloração branca, referente ao amido. Todos os materiais recuperados foram secos em estufa a 40 °C durante 24 h e mantidos em dessecador com cloreto de cálcio anidro até o momento das análises.

As fotos da extração podem ser visualizadas na Figura 3.2.

Figura 3.2 – Extração de amido de amaranto assistida por US



O rendimento da extração foi calculado conforme Equação 1.

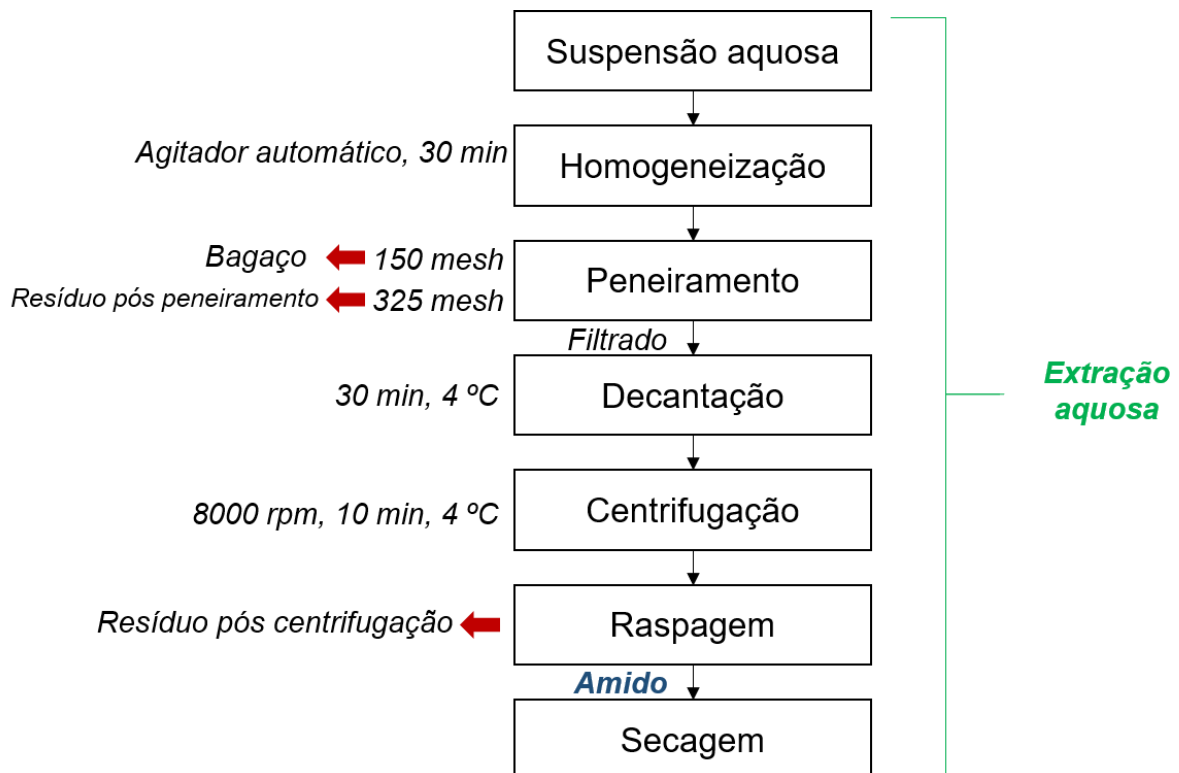
$$R (\%) = \frac{A}{M} \times 100 \quad (1)$$

Onde: R representa o rendimento da extração (%), A, massa de amido (g) e M, massa de farinha (g).

### 3.3.4 Extração de Amido de Amaranto por Processo Aquoso a Temperatura Ambiente e a Quente

As amostras extraídas por sonicação foram comparadas ao amido extraído em processo aquoso (BET *et al.*, 2018), como ilustrado no Fluxograma 3.2.

Fluxograma 3.2 – Extração de amido por processo aquoso



Fonte: O autor

Realizou-se duas extrações aquosas, variando-se a temperatura da suspensão durante o processo de agitação: uma ocorreu a temperatura ambiente (27-28 °C) e a outra a 45 °C (similar à temperatura alcançada na extração por US), mantida em banho maria laboratorial Stern 6 (Sieger, 600 W, 60 Hz). A suspensão foi mantida

sob agitação durante 30 min com auxílio de agitador mecânico Fisatom (25 W, mod. 710).

Após decorrido o tempo, a suspensão seguiu as mesmas etapas realizadas também para extração por sonicação, isto é, peneiramento em peneira de 150 e 325 mesh. O filtrado foi mantido sob refrigeração (4-7 °C) para decantação do amido. A centrifugação foi realizada, prosseguindo-se com a raspagem da camada de coloração marrom adjacente a de amido (coloração branca). O amido foi seco em estufa a 45 °C durante 24 h. O rendimento também foi calculado conforme Equação 1, em base úmida e em base seca.

### 3.3.5 Caracterização da Farinha e do Amido

#### 3.3.5.1 Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas foram obtidas por meio do sistema de análise térmica TGA-50 (*Shimadzu, Japão*). O equipamento foi previamente calibrado com peso padrão conforme instruções do fabricante, e a verificação realizada com oxalato de cálcio.

Uma massa de 7-10 mg de cada amostra foi pesada em cadinhos de alumina abertos e aquecida de 30-650 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, sob um fluxo de ar comprimido com vazão de 130 mL min<sup>-1</sup>. As percentagens de perda de massa e a obtenção da primeira derivada (DTG) foram obtidas com auxílio do software de análise de dados TA-60 WS (*BET et al., 2018b*).

#### 3.3.5.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O equipamento DSC-Q200 (*TA-Instruments, EUA*) foi previamente calibrado conforme as instruções do fabricante, para obtenção das curvas DSC. Utilizou-se fluxo de ar de 50 mL min<sup>-1</sup>, faixa de aquecimento de 20 a 100 °C e razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>. Pesou-se uma massa de aproximadamente 2,5 mg de cada amostra, as quais foram homogeneizadas em 10 µL de água deionizada (proporção de 1:4) em cadinhos de alumínio posteriormente selados (*OLIVEIRA et al., 2014*).

### 3.3.5.3 Colorimetria

A cor foi analisada com um colorímetro *MiniScan EZ* (*Hunter Lab, Reston, Virginia, USA*), obtendo-se os valores das coordenadas colorimétricas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  em triplicata, trabalhando com  $D_{65}$  (luz do dia). A amostra foi iluminada por um feixe em um ângulo normal à amostra (geometria  $0^\circ:45^\circ$ ) para medida por reflexão, isto é, foi observada em um ângulo de  $45^\circ$  da normal.

Com estes resultados, calculou-se a diferença global de cor ( $\Delta E$ ) (Equação 2), que corresponde à diferença na percepção de tonalidade de cor, incluindo brilho e saturação (CAMPOS *et al.*, 2016).

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2)$$

Onde:  $\Delta L^* = (L^* \text{ da amostra controle}) - (L^* \text{ da amostra sonicada})$ ;  $\Delta a^* = (a^* \text{ da amostra controle}) - (a^* \text{ da amostra sonicada})$ ;  $\Delta b^* = (b^* \text{ da amostra controle}) - (b^* \text{ da amostra sonicada})$ . Maiores valores de  $\Delta E^*$  indicam maiores diferenças entre duas cores: imperceptível ( $\Delta E^* < 1$ ); mínima ( $1 \leq \Delta E^* < 2$ ); apenas perceptível ( $2 \leq \Delta E^* < 3$ ); perceptível ( $3 \leq \Delta E^* < 5$ ); forte diferença ( $5 \leq \Delta E^* < 12$ ) e cor diferente ( $\Delta E^* \geq 12$ ).

Também foi calculado a cromaticidade ( $C^*$ ), isto é, a saturação das amostras, para identificar a intensidade de cor. Ela pode ser calculada por meio da Equação 3 a partir dos valores obtidos de  $a^*$  e  $b^*$ :

$$\Delta C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3)$$

E ainda, o ângulo de tonalidade (ângulo *Hue*), atributo qualitativo da cor, foi obtido por meio da Equação 4. Este ângulo de tonalidade é fixado no eixo horizontal como vermelho ( $0^\circ$ ,  $a^+$ ), a  $90^\circ$  tem-se o amarelo, a  $180^\circ$  remete à coloração verde e a  $270^\circ$  evidencia-se o azul.

$$h^\circ = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (4)$$

O índice de brancura (WI) foi calculado de acordo com a Equação 5. Quanto maior for o valor deste índice, mais branca é a cor da superfície (LUCCAS; BONOMI; KIECKBUSCH, 2014).

$$WI = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{1/2} \quad (5)$$

As cores foram mostradas usando-se um conversor de cores online denominado *Nix Color Sensor* com sistema de entrada CIELAB, iluminante D65 e ângulo de referência 10°.

#### 3.3.5.4 Propriedades de pasta (RVA)

Equipamento RVA-4 (*Newport Scientific, Australia*) foi utilizado para avaliação das propriedades de pasta do amido, bem como da farinha. Para isso, uma dispersão em água a 8% (m/m) de amido em base seca em 28 g de massa total foi preparada e submetida a um ciclo de aquecimento até 95 °C e resfriamento controlado sob agitação circular constante. Os parâmetros utilizados estão descritos a seguir: temperatura mantida a 50 °C por 2 min, seguido de aquecimento até 95 °C a uma razão de aquecimento de 6 °C min<sup>-1</sup>, temperatura mantida a 95 °C durante 5 min, seguido de arrefecimento a 50 °C a 6 °C min<sup>-1</sup>. Ao fim do ciclo a temperatura foi mantida por 2 min a 50 °C (LACERDA *et al.*, 2014).

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

O diâmetro e a forma dos grânulos de amido foram observados por microscópio eletrônico de emissão de campo (FEG-SEM) MIRA 3 (*Tescan, República Tcheca*) com uma corrente do feixe de elétrons de 15 kV no canhão de emissão de campo, gerada por uma lâmpada com filamento de tungstênio. As amostras foram previamente preparadas, sendo pulverizadas sobre uma fita de carbono. Como o amido não é condutor de elétrons, todas as amostras foram submetidas à metalização com plasma de ouro a 20 mA, durante 150 s, para promover a passagem de elétrons (BET *et al.*, 2016). Utilizou-se o AZtec software para determinar as medidas dos grânulos.

### 3.3.5.6 Difractometria de raios X pelo método de pó

Os difratogramas foram obtidos por meio da técnica de difratometria de raios X pelo método de pó, utilizando-se um difratômetro de raios X Ultima IV (*Rigaku, Japão*). Empregou-se radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,541 \text{ \AA}$ ) configurada a uma tensão de 40 kV e corrente de 20 mA. A radiação dispersa foi detectada em um intervalo angular de  $3^\circ$  a  $50^\circ$  ( $2\theta$ ), com velocidade de escaneamento de  $2^\circ \text{ min}^{-1}$ , e um passo de  $0,02^\circ$  (KUBIAKI *et al.*, 2016).

A delimitação da área do difratograma foi feita conforme Nara e Komiya (1983). A cristalinidade relativa (CR) foi calculada de acordo com a Equação 6:

$$CR (\%) = \frac{A_c}{(A_c + A_a)} \times 100 \quad (6)$$

Onde:

CR = Cristalinidade relativa

$A_c$  = Área cristalina

$A_a$  = Área amorfa no difratograma

### 3.3.5.7 Análise estatística

Os resultados experimentais foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão amostral ( $n=3$ ). A normalidade dos dados foi verificada empregando-se o Teste de Shapiro Wilk ( $p > 0,05$ ) para as variáveis dependentes (diâmetro, propriedades de pasta, temperaturas de gelatinização, entalpia de gelatinização, parâmetros de cor, e cristalinidade relativa). A homoscedasticidades das variâncias foi analisada com teste de Levene ( $p > 0,05$ ). Com a homogeneidade das variâncias, aplicou-se o teste de Análise de Variâncias *One-Way Anova* (análise de variâncias unifatorial) para identificar diferenças entre as médias. Estes testes foram realizados com o software *Statistica 13.2* e *IBM SPSS Statistics 22*. O teste *post-hoc* de Tukey foi utilizado com 95% de confiança ( $p < 0,05$ ) com o auxílio do software *SasmAgri* versão 8.2.

O efeito das variáveis independentes foi avaliado por meio do Método de Superfície de Resposta, seguindo o Delineamento Composto Central Rotacional  $2^k$ , usando o software *Statistica 13.2*. O intuito da superfície de resposta é modelar e



analisar problemas nos quais a resposta de interesse é influenciada por variáveis independentes, permitindo alcançar parâmetros em que a variável dependente deva alcançar um valor ótimo. Assim, se tal superfície for adequada, sua análise será aproximadamente equivalente à análise da superfície real.

Os dados experimentais foram ajustados utilizando o polinômio de segunda ordem completo conforme Equação 7, considerando-se os termos quadráticos e a interação, além dos termos lineares. O modelo foi ajustado (após remoção de fatores não significativos) apenas para: viscosidade mínima, tempo de pico, temperatura onset e temperatura de pico.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (7)$$

Onde Y é a resposta estimada;  $\beta_0$  é uma constante; e  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$ ,  $\beta_{ij}$  são os coeficientes linear, quadrático e interativo do modelo, respectivamente. Os níveis das variáveis independentes, tempo e amplitude de vibração correspondem ao  $x_i$  e  $x_j$ , e  $\varepsilon$  o termo de erro associado.

Para as outras variáveis dependentes o modelo não pode ser ajustado, mesmo removendo-se fatores não significativos, indicando que outras variáveis independentes podem influenciar nas respostas.

Os modelos matemáticos que foram propostos incluíram somente os coeficientes de regressão que apresentaram significância ( $p \leq 0,05$ ). A qualidade dos modelos foi determinada pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ),  $R^2$  ajustado através da Análise de variâncias (Anova) utilizando o teste F para o planejamento estudado. O intervalo de  $\pm 95\%$  confiança foi calculado para cada coeficiente de regressão. A análise de regressão linear múltipla (MLR) foi utilizada a fim de compreender de forma quantitativa como o tempo e amplitude impactam nas propriedades do amido. A curva de contorno no plano bidimensional foi gerada a fim de identificar a influência das variáveis independentes nas respostas.

As variáveis de resposta (dependentes) consideradas para análise de modelo de superfície de resposta foram rendimento do processo, propriedades de pasta e parâmetros de gelatinização e de cor.

### 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.4.1 Composição Proximal da Farinha de Amarantho

Na indústria de alimentos, a farinha é definida como um particulado finamente dividido ou produto em pó processado a partir da moagem de grãos de cereais, pseudocereais, leguminosas, raízes e tubérculos. Esta operação quando realizada adequadamente, favorece a distribuição granulométrica, menor quantidade de grânulos de amido danificados, propriedades funcionais interessantes e diferenças na composição química direcionando-a para diferentes aplicações industriais (YUAN *et al.*, 2021).

A farinha de amarantho apresentou a seguinte composição (Tabela 3.2):

Tabela 3.2 – Composição proximal da farinha de *Amaranthus caudatus*

	Umidade (%)	Carboidratos (%)	Lipídeos (%)	Proteínas (%)	Fibra Alimentar (%)	Cinzas (%)
Farinha base úmida	7,51±0,08	49,46	9,58±0,49	14,53±0,03	15,84±0,13	3,11±0,01
Farinha base seca	-	53,44	10,35±0,54	15,69±0,02	17,12±0,16	3,36±0,01

Nota: Resultados apresentados como média±desvio-padrão.

Suksomboon e Naivikul (2006) demonstraram que a farinha moída a seco retém componentes como proteínas, lipídios e cinzas em níveis mais elevados do que a farinha moída úmida. Assim, quando são adicionadas às formulações de alimentos, podem oferecer um produto mais nutritivo.

Os valores obtidos no presente estudo diferem do encontrado por Corke, Cai e Wu (2016). Para eles, a farinha de *Amaranthus caudatus* apresentou um teor entre 59-63% de carboidratos, 17-18% de proteínas, 7-8% de lipídeos, 3-6% de fibra bruta, 3-4% de cinzas e 9-12% de umidade. O valor superior de carboidratos detectado por estes autores pode ser devido à contabilização da fração da fibra alimentar, já que eles quantificaram apenas a fibra bruta (fração insolúvel). Entre o material inorgânico, destacam-se minerais como fósforo, cálcio, potássio e magnésio.

Os dados foram mais similares ao estudo de Kaur, Singh e Rana (2010), em que o teor de proteína variou de 14,8-16,7%, cinzas de 2,2-3,0%, lipídeos entre 5,4-8,2%. Eles também relataram que o teor de fibra bruta ficou entre 0,99-1,6%.

Também houve semelhança para resultados encontrados por García-Salcedo, Torres-Vargas e Ariza-Calderón (2018). Eles obtiveram para *A. caudatus* 8,62% de umidade, 14% de proteínas, 12,14% de fibras solúveis e 59,85% de carboidratos. Resultados diferentes estão relacionados ao teor de cinzas (0,018 %) e lipídeos (5,37%).

Com 61% de amido contido na farinha de amaranto, Yuan *et al.* (2021) encontraram 16,3% de proteínas, 7,1% de lipídeos, 8,9% de fibra alimentar e 3,9% de amilose.

Diferenças podem ser encontradas na composição química da farinha de amaranto devido à espécie, sazonalidade, condições climáticas e agronômicas (SPEHAR *et al.*, 2003).

O teor de lipídeos, proteínas, fibra alimentar foi superior à farinha de banana verde (0,44%, 4,54%, 16,46% respectivamente) e à farinha de mandioca (0,34%, 1,41%, 10,99%, respectivamente) (RACHMAN *et al.*, 2021).

Nas farinhas de amaranto, a sacarose é o principal açúcar seguido da rafinose (ACANSKI; VUJIC, 2014).

Quanto aos lipídeos, a composição é similar a outros cereais, com a presença de ácidos graxos insaturados, predominando o ácido linoléico. Pode conter também tocotrienóis, que afetam os níveis de colesterol nos sistemas de mamíferos (KAUR; SINGH; RANA, 2010). Tapia-Blácido, Sobral e Menegali (2010) encontraram altas concentrações de ácido esteárico e linoléico na farinha de *A. caudatus*.

O amaranto apresenta maior teor proteico (12-18%) quando comparado à maioria dos outros grãos de cereais, com um teor significativamente maior de lisina e níveis aceitáveis de triptofano e metionina, cuja concentração é baixa em cereais e grãos leguminosos de uso comum (KAUR; SINGH; RANA, 2010; RODAS; BRESSANI, 2009).

Kaur, Singh e Rana (2010), bem como Coelho (2018) destacam que os grãos de amaranto são uma boa fonte de fibra alimentar (insolúveis como lignina e celulose) e de minerais, como magnésio, fósforo, cobre e principalmente manganês.

### 3.4.2 Microimagens da Farinha de Amaranato

Na indústria alimentícia, os grãos passam por um processo de moagem para serem empregados nas mais diferentes formulações. Na preparação de farinha ocorre o cisalhamento das sementes, gerando calor, o que pode influenciar as suas propriedades (SANTRA; SCHOENLECHNER, 2017).

Quando o grão de amaranto é moído sendo transformado em farinha, as proteínas, gorduras, fibras, vitaminas e minerais são concentradas na porção correspondente ao farelo (NATIONAL ACADEMY PRESS, 1981). Conforme apontado por Arendt e Zannini (2013) o teor de umidade afeta a moagem do grão, sendo ideal trabalhar com teores abaixo de 13,8%, que permitem melhor separação do farelo e perisperma (porção com maior quantidade de amido).

Relacionando ao processo de extração de amido, a moagem da farinha seguida de peneiramento como etapas prévias, permite a obtenção de partículas mais homogêneas, que segundo Mason, Paniwnyk e Lorimer (1996) favorece a cavitação facilitando a separação do amido da proteína. Somado a isso, a área superficial entre as fases sólida e líquida é significativamente maior devido à ruptura celular e melhor dispersão de partículas, fazendo com que o US seja um método mais rápido e completo.

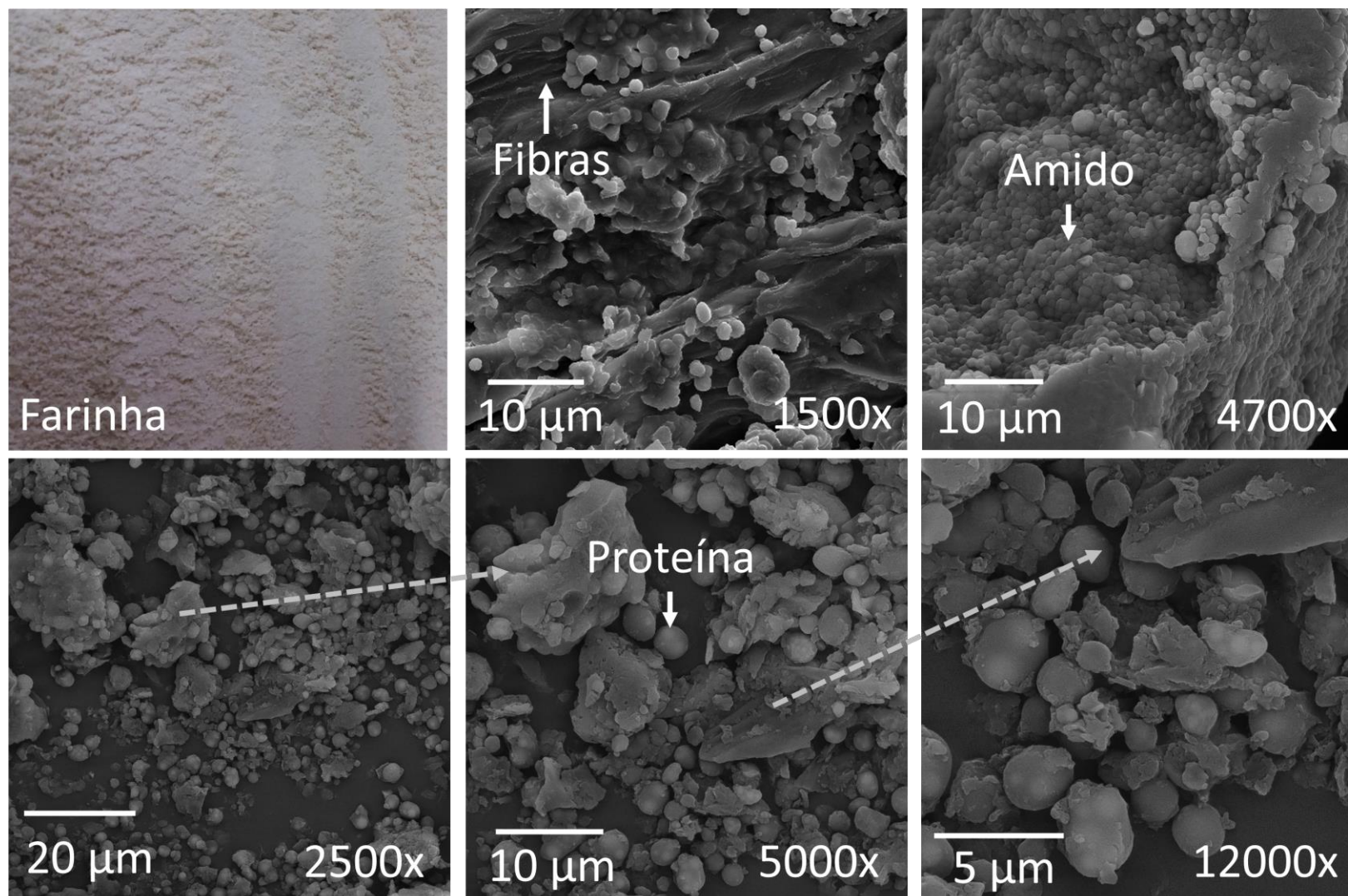
Portanto, os grãos de amaranto foram moídos para aumentar a área superficial de exposição ao tratamento por ultrassom, favorecendo a liberação do amido da matriz. A Figura 3.3 foi obtida por microscopia eletrônica de varredura de alta resolução e ilustra a farinha de amaranto obtida após moagem em moinho de facas.

As microimagens permitiram a visualização das proteínas de amaranto, as quais apresentaram um diâmetro médio de  $2,68 \pm 0,14 \mu\text{m}$ , com um formato mais esférico. Os grânulos de amido também foram identificados, os quais formam grandes aglomerados devido ao seu pequeno diâmetro. Assim como neste estudo, Mariotti *et al.* (2009) também observaram a farinha de amaranto por microscopia, observando muitas placas largas de tegumentos (largura: até  $\geq 600 \mu\text{m}$ ) além de pequenos grânulos de amido específicos (diâmetro entre  $0,5\text{--}2 \mu\text{m}$ ) ou aglomerados de grânulos de amido (largura  $\sim 80 \mu\text{m}$ ).

García-Salcedo, Torres-Vargas e Ariza-Calderón (2018) também analisaram a microimagem de farinha de *A. caudatus* observando os grânulos de amido envoltos de corpos esféricos de proteína.

Tapia-Blácido, Sobral e Menegalli (2010) acreditam que a formação destes aglomerados na farinha de amaranto pode estar relacionada à presença de proteínas e lipídeos que se complexam com o amido. Algumas fibras foram visualizadas também na imagem com aumento de 1500 vezes.

Figura 3.3 - Microimagens da farinha de amaranto



Fonte: A autora.

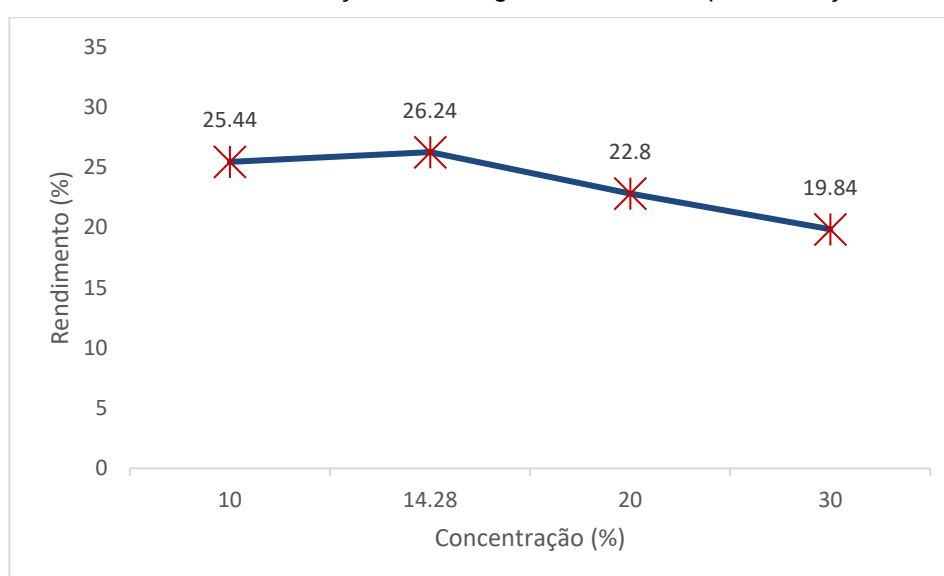
### 3.4.3 Extração Assistida por Ultrassom de Amido de Amaranto

Com a exposição da farinha ao US, para auxiliar a extração do amido, é interessante observar que ela apresenta uma certa viscosidade a qual pode oferecer resistência à passagem das ondas ultrassônicas pelo meio. E o aumento da viscosidade da solução pode reduzir a intensidade da cavitação (CZECHOWSKA-BISKUP *et al.*, 2005).

Porém, à medida que a sonda é imersa num líquido e a resistência ao seu movimento aumenta, uma rede detecta a alteração dos requisitos de potência e faz com que a energia elétrica retirada da fonte de alimentação aumente automática e proporcionalmente, de modo a manter constante a amplitude na ponta da sonda. Assim, quanto maior for a viscosidade e maior resistência ao movimento do probe, maior será a quantidade de energia que será entregue a ele (SONICS, 2015).

Partindo do pressuposto que a viscosidade pode afetar o rendimento de amido, pré-testes foram realizados para identificar a concentração de farinha que seria utilizada no planejamento. De fato, quanto maior a concentração da farinha utilizada, menor o rendimento de amido, conforme apontado no Gráfico 3.1. A extração para os pré-testes foi de 9 min e 60% de amplitude de vibração, uma vez que menores tempos de US estão associados a melhores rendimentos, conforme revisão de literatura.

Gráfico 3.1 – Pré-testes da concentração farinha:água e rendimento para extração de amido por US



\*A concentração de 14,28% foi testada em função da viscosidade do meio que ao considerar uma proporção de farinha:água de 1:7 (m/v) facilitou a homogeneização.

O uso de concentração mais alta em estudos de Amini, Razavi e Mortazavi (2015) mostraram menores danos ocasionados pelo US no amido de milho, devido à diminuição da energia acústica relacionada às mudanças na impedância média. Isso pode, portanto, influenciar na menor extração do amido.

Taurozzi, Hackley e Wiesner (2011) discutem que em maior concentração, considerando um meio mais viscoso, há maior resistência do meio, a qual é transmitida para o controle interno do equipamento, exigindo, portanto, maior consumo de energia para manter a frequência constante.

Setyaningsih *et al.* (2021) reforçam também que o aumento da proporção de solvente para amostra aumenta a atividade de transferência de massa devido ao maior gradiente de concentração (força motriz na extração por solvente), resultando em um maior rendimento.

Portanto, a proporção 1:7 (farinha:água, m/v, 32 g farinha em base seca com 224 mL de água) foi utilizada, facilitando a dispersão das partículas no meio, e deixando a suspensão mais fluida.

A farinha de amaranto apresentou uma umidade inicial de 5%, calculada após análise realizada por termogravimetria. Dessa forma, uma suspensão foi produzida, a qual apresentava coloração característica da farinha, e submetida à cavitação acústica de acordo com o planejamento estabelecido. Finalizado o tempo de tratamento, a suspensão apresentou coloração esbranquiçada, sugerindo a liberação do conteúdo amiláceo.

A fração retida na peneira de 150 mesh foi denominada bagaço e o material que passou pela peneira de 325 mesh foi centrifugado, para recuperação de duas frações: amido (coloração branca), lipídeo-proteínas (coloração marrom). A centrifugação permite a separação de componentes baseado em diferenças de tamanho e densidade entre as fases líquida e sólida (FU *et al.*, 2004).

Após a centrifugação, o precipitado apresenta uma camada sobreposta gelatinosa, que já foi caracterizada em estudos anteriores (BET *et al.*, 2019), com uma fração dominante de lipídeos-proteína que é raspada para separar da fração de coloração mais branca, referente ao amido. Junto ao amido, no meio desta camada, permanece uma outra fração com uma coloração mais castanha, a qual é difícil de ser removida pois está bastante aderida ao amido. Por microscopia, é possível observar que está composta basicamente de fibras e amido.



Fu *et al.* (2004) discutiram que a centrifugação pode quebrar os hidratos de carbono solúveis e separar as proteínas em diferentes partes da suspensão e mucilagem do amido. Segundo Zhu (2015a) a extração do amido de amaranto é dificultada pela camada castanha correspondente às fibras e proteínas que podem sedimentar com amido; e algumas espécies de amaranto contêm um nível proteico mais elevado do que a maioria dos cereais.

A Tabela 3.3 mostra os resultados para os ensaios realizados de acordo com o tempo e amplitude de vibração utilizados. A potência e a energia dissipada, monitoradas continuamente pelo equipamento, se referem à energia fornecida à sonda e quantidade dispensada, respectivamente.

A potência que o instrumento está a consumir a partir da fonte para produzir a amplitude de vibração desejada é exibida no visor do equipamento. Porém, ela não reflete, necessariamente, a potência que é efetivamente entregue à suspensão sonicada, que é afetada pela amplitude de oscilação da sonda no meio (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

Comparando-se as extrações aquosas para isolamento do amido, encontrou-se um maior rendimento na extração quando o processo foi mantido à temperatura ambiente. A manutenção da temperatura a 45 °C diminuiu em 1,51 vezes o rendimento da extração. Para aumentar esse rendimento por processo aquoso é necessário repetir a lavagem do bagaço retido na peneira de 150 *mesh* inúmeras vezes. Assim, otimiza-se a liberação do conteúdo amiláceo que se encontra aderido às camadas proteicas.

Porém esta etapa de lavagens sucessivas não foi realizada no presente estudo para que fosse possível comparar a extração aquosa sendo feita de forma similar à extração assistida por ultrassom. Como após o ultrassom não são feitas lavagens sucessivas ou não se repete o processo, foi realizada apenas uma lavagem com agitação para extração aquosa também. Dessa forma, o rendimento foi menor que o obtido em estudos anteriores, o qual alcançou 34% (BET *et al.*, 2019).

Verificou-se também que o bagaço retido na peneira de 150 *mesh* foi recuperado em maior quantidade na extração aquosa. Isso também contribui para que a extração seja menor. Uma grande quantidade de carboidratos permanece no bagaço conforme constatado anteriormente para amaranto (BET *et al.*, 2019). Com o US, maiores amplitudes de vibração resultaram em menor quantidade de bagaço.

Uma fração de amido é perdida durante o processo de extração na fase aquosa, e outra pode ficar aderida às proteínas, e também ao bagaço, a qual é mais difícil de ser recuperada (ADKINS; GREENWOOD, 1996).

Tabela 3.3 – Condições experimentais do ultrassom e rendimento da extração de amido assistida por US a partir de farinha de amaranto

Ensaio	t (min)	Amp. (%)	m <sub>farinha</sub> bu (g)	T (°C)	Potência (W)	Energia (J)	m <sub>bagaco</sub> (g)	Rend. (%)	m <sub>amido</sub> (g)	Rend. bu (%)	Rend. bs (%)	m <sub>prot-lip</sub> (g)	Rend. (%)	Rend. amido bu s/prot.	Rend. amido bs s/prot
Nativo 27 °C	30	-	33,68	27	-	-	17,59	52,23	6,11	18,14	21,61	14,10	41,88	17,38	20,58
Nativo 45 °C	30	-	33,68	45	-	-	17,92	53,20	4,04	12,00	13,96	5,79	17,19	11,36	13,13
1	15	40	33,68	38	34	29319	8,24	24,46	10,44	31,00	36,06	3,72	11,05	29,59	34,24
2	45	40	33,68	40	35	94487	8,15	24,20	7,51	22,30	26,43	6,07	18,02	21,51	25,37
3	15	80	33,68	45	78	67708	7,06	20,96	10,54	31,29	36,75	4,93	14,64	29,48	34,38
4	45	80	33,68	45	90	234259	4,91	14,59	7,81	23,20	27,02	10,28	30,52	22,27	25,83
5	30	60	33,68	45	59	104353	7,22	21,44	9,25	27,46	31,53	6,63	19,68	26,40	30,20
6	30	60	33,68	45	61	108260	7,81	23,18	8,65	25,68	28,89	7,88	23,39	24,90	28,88
7	30	60	33,68	35	60	105984	7,21	21,41	7,60	22,57	26,25	6,47	19,20	21,67	25,10
8	8,8	60	33,68	35	54	28951	9,47	28,12	8,84	26,24	30,50	4,76	14,13	25,07	28,99
9	30	88,3	33,68	45	94	169789	5,54	16,44	8,93	26,51	31,29	8,55	25,40	25,55	30,01
10	51,2	60	33,68	45	60	183624	6,61	19,62	8,74	25,96	30,45	9,37	27,83	24,93	29,11
11	30	31,7	33,68	40	30	49913	9,33	27,69	8,63	25,63	30,34	5,00	14,85	24,58	28,96

Nota: t, tempo; Amp., amplitude; m, massa; T, temperatura; Rend., rendimento, bu, base úmida; bs, base seca; prot-lip., proteína-lipídeo; conc. proteico, concentrado proteico; s/prot, sem proteínas.

Resultados na coloração verde apontam valores mais baixos em relação ao amido nativo (extraído em água a 27 °C). Resultados na coloração vermelha apontam valores superiores ao amido nativo (extraído em água a 27 °C).

#### 3.4.4 Avaliação da Extração por US

O uso da extração assistida por US melhorou o rendimento de extração de amido de amaranto. Os melhores resultados foram obtidos durante a sonicação de 15 min com amplitude de vibração de 40% e 80%. Ramírez-Balboa *et al.* (2021) utilizaram o US para extração de amido de graviola em US com frequência de 20 kHz e potência de 750 W. O melhor rendimento foi obtido com 10 min e 40% de amplitude (25 °C), alcançando 6,34%.

Leong, Yang e Chang (2021) e Chemat *et al.* (2011) relataram que as forças hidrodinâmicas resultantes da cavitação promovem a ruptura da parede celular, a transferência de massa entre fases imiscíveis, o aumento da penetração e dos efeitos capilares, bem como a redução do tamanho das partículas, aumentando assim, o rendimento e a eficiência da extração.

Bernardo *et al.* (2018) também discutem que ocorre um afrouxamento dos complexos estruturais entre o amido e a proteína durante a aplicação do US.

Cui e Zhu (2021) afirmam que o US acelera o processo de extração. Isso se deve à energia acústica gerada, a qual cria bolhas de cavitação, expandindo-se e eventualmente entrando em colapso quando a pressão dentro das bolhas se torna maior do que a tensão superficial do meio. Sob estas condições, forças de cisalhamento e a turbulência na zona de cavitação, somadas ao aumento drástico da temperatura (~ 5000 K) e pressão (~ 1000 bar) locais, favorecem a destruição da parede celular e aumenta a difusão de polissacarídeos para o solvente.

A dissociação das moléculas de água, que ocorrem com o colapso das bolhas, resultam na formação de radicais livres (hidróxido e hidrogênio) os quais também aumentam o rendimento da extração (ZHU, 2015b).

Chemat *et al.* (2017) reforçam que a extração por US é melhorada por diferentes mecanismos como:

- a) fragmentação (devido à colisão entre partículas e ondas de choque pelo colapso das bolhas de cavitação no líquido);
- b) erosão (facilita a penetração do solvente para extração);
- c) capilaridade (efeito capilar ultrassônico é o aumento da profundidade e velocidade de penetração do líquido em canais e poros);
- d) destexturação (destruição da estrutura da planta), e;
- e) sonoporação (formação de poros).

O rendimento de extração com US 15 min 40% em base seca e descontando-se o teor proteico foi 66,38% e 160,78% maior que as extrações a 27 °C e a 45 °C, respectivamente. Na condição de 15 min 80% foi 67,06% e 161,84% superior em comparação à extração aquosa a 27 °C e a 45 °C, respectivamente. Portanto, a extração por US é uma estratégia interessante para isolamento de amido de amaranto.

Zhang *et al.* (2005b) observaram que o rendimento obtido após a extração do amido de milho apenas com moagem úmida e decantação foi menor que após a utilização de ultrassom devido à perda de amido na fração fibrosa durante o peneiramento. Isso vai de encontro com o que foi observado em estudos prévios (BET *et al.*, 2019) após a extração aquosa de amido de amaranto e caracterização dos subprodutos formados durante este processo, em que foi encontrado ainda no bagaço um teor de 73,5% de carboidratos. Assim, o US permite melhor recuperação do amido liberando-o dos complexos proteína-amido e da fração fina da fibra (ZHANG *et al.*, 2005b).

Percebeu-se que quanto maior o tempo de exposição ao US, maior era o concentrado lipídico-proteico correspondente à fração raspada após centrifugação, que dificulta a separação e diminui o rendimento da extração.

Além disso, maiores temperaturas foram registradas quando do aumento do tempo utilizado e da amplitude de vibração, a qual favorecia mais rapidamente alcançar a temperatura limite do tratamento (45 °C). O aumento da amplitude de vibração ocasiona o aumento da temperatura, já que é maior a potência dissipada no meio (WANG; WANG, 2004).

Bento *et al.* (2021) relataram que sob amplitudes acima de 62% e tempo superior a 15 min propiciaram um aumento de temperatura alcançando entre 73-79 °C, gelatinizando o amido de lírio guirlanda-branca.

Este aumento de temperatura ocorre devido ao acúmulo de energia associado à implosão das bolhas, que simultaneamente promovem o aumento da turbulência e grandes ondas de energia de cisalhamento na zona de cavitação (KARAMAN; TUNCEL; TUNCEL, 2017).

A temperatura de sonicação afeta propriedades físicas como a pressão de vapor d'água, viscosidade e tensão superficial dos solventes. Temperaturas mais elevadas diminuem a energia transmitida, conseqüentemente, reduzindo a intensidade de cavitação (AMINI; RAZAVI; MORTAZAVI, 2015).

Assim, as bolhas são geradas mais facilmente, porém colapsam com menor intensidade de ondas de choque pelo efeito de amortecimento. Já quando menores temperaturas são utilizadas, pequenas bolhas são formadas na zona de cavitação, as quais colapsam com intensidade alta de ondas de choque, rompendo a parede celular e aumentando a transferência de massa (RAYO-MENDEZ *et al.*, 2021). Isso reforça a necessidade de manter banho de gelo durante a extração.

Corroborando a isso, Chemat *et al.* (2004) registraram maior rendimento na extração de carvona e limoneno no ultrassom com temperaturas entre 20-38 °C, quando comparadas à 60 °C. Isto foi justificado devido a maior dissipação das ondas supersônicas a baixas temperaturas, já que o aquecimento ocasiona o aumento da dilatação e expansão do solvente, diminuindo a eficiência do ultrassom.

Além de evitar que a temperatura reduza a intensidade de colapso das bolhas de cavitação e o impacto que ela terá na matriz vegetal, também é importante cuidar da temperatura durante o processo de extração por US a fim de não permitir a gelatinização durante o isolamento (LEONG; YANG. CHANG, 2021).

Somado a isso, Karaman, Tuncel e Tuncel (2017) relataram que o menor rendimento da extração por US foi verificado quando maiores amplitudes foram utilizadas, pois proporcionam maior interação dos compostos (endosperma-farelo), dificultando a saída do amido de leguminosas.

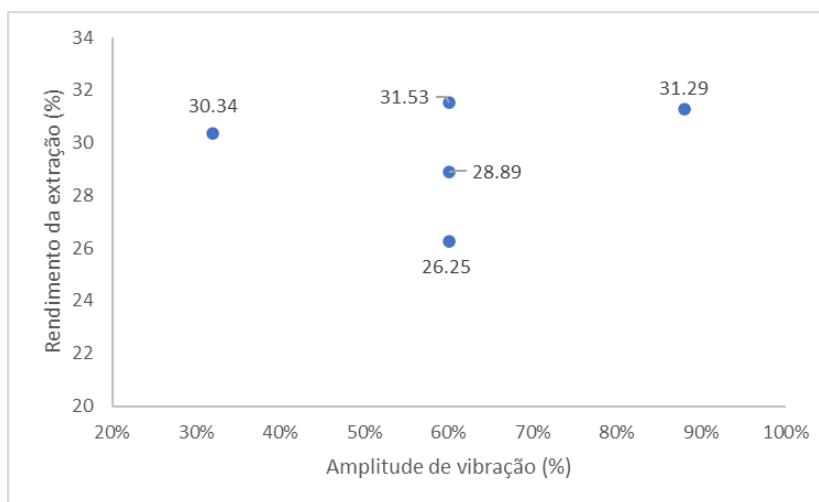
Por outro lado, o aumento da amplitude aumentou o rendimento de gomas de linhaça, devido ao tamanho das bolhas de cavitação proporcionais à amplitude da onda de ultrassom (AKHTAR *et al.*, 2019).

Quando se compara diferentes rendimentos entre outros estudos é importante ressaltar que as condições empregadas impactam nos resultados, como: potência, frequência, relação líquido-sólido, temperatura, tempo de extração e duração de intervalo dos pulsos (LEONG; YANG; CHANG, 2021).

Neste estudo, com a concentração da suspensão mantida constante, o tempo parece ter sido a variável mais influente no rendimento do amido, em que 15 min foram suficientes para ocasionar sua liberação, resultando nos maiores rendimentos, independente da amplitude de vibração. Isso porque, entre os tratamentos a 40% (36,06%, b.s.) e 80% (36,75%, b.s.), o rendimento foi muito próximo, ligeiramente superior quando maior amplitude foi configurada. No entanto, a temperatura aumentou 7 °C em relação ao tratamento a 40%. Além disso quando se compara o tempo de 30

min de extração, observa-se que com a variação da amplitude, os rendimentos não seguem uma tendência de aumento, ou seja, permanecem próximos (Gráfico 3.2).

Gráfico 3.2 – Comparação do rendimento de extração (b.s) para o tempo de 30 min e amplitudes de vibração de 32%, 60% e 88%



De acordo com Toma *et al.* (2001) uma vibração ultrassônica de 20 kHz tem efeito mecânico na lamela e nas estruturas celulares, auxiliando na moagem do material. Esse processo ocorre na primeira etapa de extração, por isso o tempo com ultrassom é reduzido. Com isso, as células vegetais ficam mais expostas e a fragmentação aumenta a área superficial, promovendo o aumento da taxa de transferência de massa para o solvente.

Chemat *et al.* (2004) concordam que a extração é aumentada nos primeiros estágios com o processo ultrassônico.

Park *et al.* (2006) também observaram melhor rendimento de extração de amido de sorgo em menores tempos de sonicação (2 min), com auxílio de metabissulfito de sódio.

Sit, Misra e Deka (2014) também relataram que o rendimento de amido de taro foi aumentado de 15,29% para 18,97% por um tratamento de US de 10 minutos a 50% de amplitude (30 kHz, 100W), quando comparado com o método convencional.

Pinyo *et al.* (2017) encontraram um maior rendimento (70,7% US) em relação à extração aquosa (61%) de amido de sagu quando utilizaram pré-tratamento ultrassônico numa suspensão de 10%, 160 W e tempo de 7 min. Depois o sagu foi moído em liquidificador, preparada uma suspensão de 10% com água destilada, e

filtrada com repetidas lavagens até que a água fosse clara. Centrifugação a 3000 rpm durante 5 min foi realizada e então o amido recuperado e seco a 45 °C por 12 h.

González-Lemos *et al.* (2018) também relataram que os primeiros 10 min de sonicação aumentaram o rendimento de amido de raízes de jicama (24,76%) em 46,9% quando comparados ao controle (16,86%). Ressalta-se que 30 e 60 min também obtiveram bons rendimentos, mas os autores não relataram a amplitude de vibração utilizada. Quando o tempo foi aumentado para 90 min eles sugeriram que pode ter havido perda de bolhas de cavitação ou maior concentração de materiais não amiláceos extraídos do tecido fibroso da matriz celular. Assim, os grânulos de amido podem ficar presos sem serem isolados.

Setyaningsih *et al.* (2021) constataram que 10 min foi o tempo ideal para extração de amido de mandioca (90% potência, pulso 1 s, 30:1 solvente:amostra). Um período mais longo favoreceu o aumento de temperatura possivelmente inibindo a propagação das ondas ultrassônicas e reduzindo o número de bolhas de cavitação.

Pingret *et al.* (2012) constataram melhor extração de compostos fenólicos totais de bagaço de maçã após 10 min, justificada pela maior absorção de água facilitando a difusão dos compostos de interesse. Isto ocorre nos primeiros estágios da extração por ultrassom, portanto, o rendimento é maior em curtos tempos.

Chemmat *et al.* (2017) sugeriram que isso ocorre devido a uma maior absorção de água favorecendo ainda mais o acesso ao solvente e a difusão do material para o meio. Com o objetivo de entender isso, fizeram um experimento, avaliando a capacidade de retenção de água (CRA) do bagaço de maçã. A CRA foi cerca de 70% maior para o bagaço tratado com ultrassom em comparação com a maceração. Esta observação confirma que a absorção de água é maior no início da extração e pode contribuir para explicar o aumento do rendimento durante a primeira parte da extração. Ao aumentar o inchaço e a reidratação de um tecido vegetal, o ultrassom impacta positivamente nos mecanismos básicos de extração: dessorção e difusão de um soluto para fora de uma estrutura vegetal, impactando diretamente na melhoria da transferência de massa.

O tempo é um importante parâmetro para a extração, pois depois de um certo limite, começa haver um desperdício de energia ultrassônica, pois nenhum aumento adicional pode ser visto devido às limitações de extração de equilíbrio. A consideração desses fatos é muito importante para tornar todo o processo de extração economicamente mais viável. Por isso, é importante caracterizar o processo de



extração em termos de cinética e, em seguida, o tempo de tratamento ideal usando ultrassom pode ser selecionado. Pode acontecer que a recuperação de produtos valiosos permaneça constante ou mesmo diminua com a aplicação excessiva de ultrassom (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012).

A partir destes resultados comparativos, a maior recuperação de amido em curtos tempos pode estar associada à rápida migração nos primeiros minutos do amido para o solvente (água). Compara-se a uma etapa de lavagem, em que o solvente penetra rapidamente na matriz, solubilizando o soluto e à etapa de difusão, em que o soluto remanescente é extraído por difusão de células, dependendo de um gradiente de concentração, o que pode resultar em baixa taxa de transferência de massa (RAYO-MENDEZ *et al.*, 2021).

De acordo com Hatami *et al.* (2012), quando a concentração do gradiente entre as fases sólida e líquida diminui, a transferência de massa torna-se constante. Portanto, mesmo que se continue o processo de extração, a concentração de soluto de fase sólida e a taxa de extração diminuem simultaneamente.

A rápida remoção dos compostos é atribuída ao seu arraste na superfície da matriz pela água. A agitação mecânica produz cortes de cisalhamento, facilitando a disponibilidade do soluto. De fato, o cisalhamento ou ondas de ultrassom podem danificar estruturas celulares permitindo a saída de soluto, resultando em uma transferência de massa rápida na fase inicial do processo de separação (RAYO-MENDEZ *et al.*, 2021).

Por outro lado, Bernardo *et al.* (2018) relataram que o rendimento de amido de inhame aumentou com o tempo prolongado da aplicação de US e amplitude elevada.

Portanto, a eficiência da extração pode diferir para outros estudos devido à fonte do polissacarídeo, solvente de extração, equipamento e condições de operação (frequência, potência, tempo e temperatura) (LEONG; YANG; CHANG, 2021).

Assim, Cui e Zhu (2021) destacam que o US pode ser utilizado para aumentar o rendimento da extração de amido e que alguns detalhes podem influenciar diretamente no rendimento e eficiência do processo, como:

- a) Condições de processamento: frequência, intensidade, temperatura e tempo;
- b) formato da sonda;
- c) tipo de recipiente em que a amostra será tratada, e;

d) posicionamento da sonda.

A frequência do US afeta diretamente o rendimento da cavitação em líquidos (YANG *et al.*, 2018). A frequência é o número de oscilações da onda em um determinado período de tempo. Quando a onda vibra a 20 Hz ela oscila 20 vezes por segundo. Assim, quanto menor a frequência, menor o número de oscilações e maiores são as bolhas de cavitação formadas, aumentando o impacto do US (ANALITICA, 2015).

Dessa forma, a vibração ultrassônica de 20 kHz tem um forte efeito mecânico na lamela do meio e em todas as estruturas celulares, levando a um processo de moagem aprimorado. Após a desintegração da lamela média, as células vegetais ficam mais expostas ao processo de extração. A fragmentação da célula aumenta drasticamente as áreas de superfície e a taxa de transferência de massa dos compostos alvo para o solvente de extração (TOMA *et al.*, 2001).

Com isso, as ondas sonoras emitidas pelo ultrassom têm a capacidade de penetrar profundamente no material biológico, perturbando a estrutura interna e facilitando a liberação dos componentes intracelulares. Para evitar danos ao amido, pode-se controlar o tempo de aplicação da sonicação (SIT; DEKA; MISRA, 2014).

Considerando o uso de US para a extração, quanto maior for a potência do equipamento, e maior o diâmetro da sonda, maior será o volume capaz de ser processado (SONICS, 2015).

Em se tratando do posicionamento que a sonda é inserida no meio, foi também avaliado para o tratamento de 15 min 40% se uma distância da sonda de apenas 1,5 cm da superfície da suspensão aumentava o rendimento, em comparação com a imersão a 4 cm. Quando se colocou o probe a 1,5 cm o rendimento do amido de amaranto foi de apenas 24,52% (base úmida), contra 31,00% (base úmida) na inserção a 4 cm. Assim, a maior profundidade da sonda possibilitou uma maior recuperação de amido.

A sonda é o elemento acústico que conduz a energia acústica a partir do transdutor na suspensão sonicada. A quantidade de energia transferida para a suspensão será fortemente dependente da forma da sonda e da sua profundidade de imersão. Assim, a posição do probe na suspensão altera a potência dissipada, sendo que quando a sonda é inserida em maior profundidade na suspensão, ocorre o aumento da potência. As profundidades de imersão da sonda entre 2 e 5 cm são geralmente recomendadas quando se trabalha com probe de superfície plana. As

sondas não devem ser colocadas mais perto do que a cerca de 1 cm do fundo do recipiente da amostra (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

Chemat *et al.* (2011) relatam que as bolhas de cavitação que implodem próximas à superfície das células vegetais são capazes de destruir as paredes celulares da planta durante o período de compressão, favorecendo a liberação do conteúdo celular para o meio. Por isso o posicionamento da sonda é um fator importante a ser considerado. Até porque uma rápida diminuição da intensidade é observada tanto radial quanto axialmente. Por este motivo, deve-se respeitar um espaço mínimo entre a sonda ultrassônica e a parede do recipiente, garantindo que a sonda não toque no recipiente para evitar danos no material (CHEMAT *et al.*, 2017).

Até mesmo a geometria do recipiente pode interferir na maneira em que a energia é distribuída na suspensão, onde frascos de fundo plano (como erlenmeyers) apresentam condições de sonicação semelhantes quando comparados a frascos de fundo redondo. Aconselha-se o uso de recipientes com o menor diâmetro possível em que não haja o contato entre a sonda e as paredes. Isso aumenta a altura do líquido e maximiza a área da superfície da sonda líquida exposta às ondas acústicas, bem como a relação superfície/volume da parede do recipiente para a dissipação de calor pelo banho de arrefecimento (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

#### 3.4.5 Caracterização do Amido Isolado por Ultrassom

Dada a importância da utilização do amido pela indústria alimentícia, bem como outros processos, sua caracterização após exposição ao US deve ser realizada, analisando possíveis alterações de suas propriedades.

##### 3.4.5.1 Microimagens do amido de amaranto

O amido de amaranto apresentou formato poliédrico/poligonal, assim como relatado por García-Salcedo, Torres-Vargas e Ariza-Calderón (2018); Perez-Rea e Antezana-Gomez (2018) e por Tapia-Blácido; Sobral e Menegalli (2010).

As microimagens estão apresentadas na Figura 3.4.

Figura 3.4 – Microimagens de amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e assistida por ultrassom (continua)

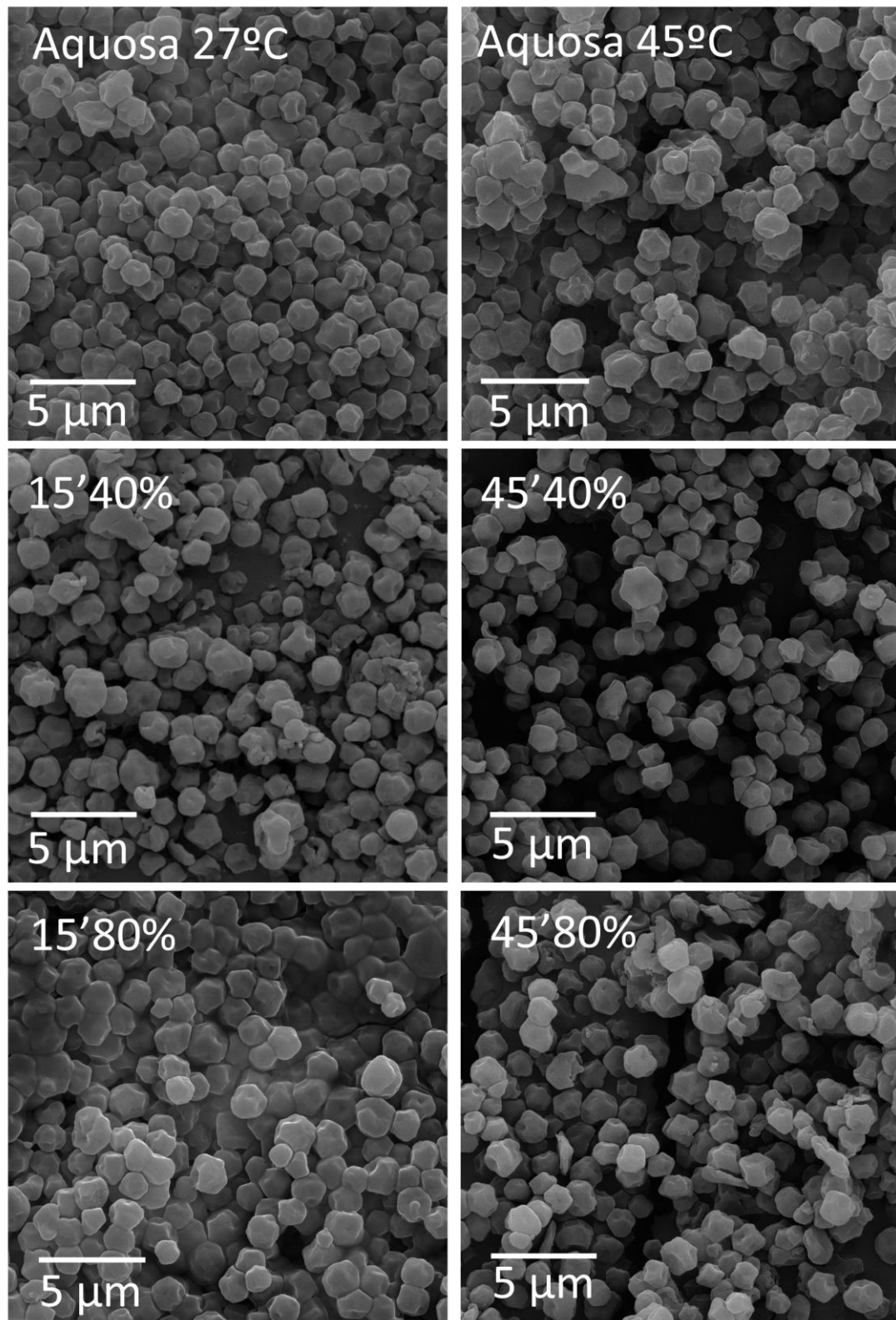
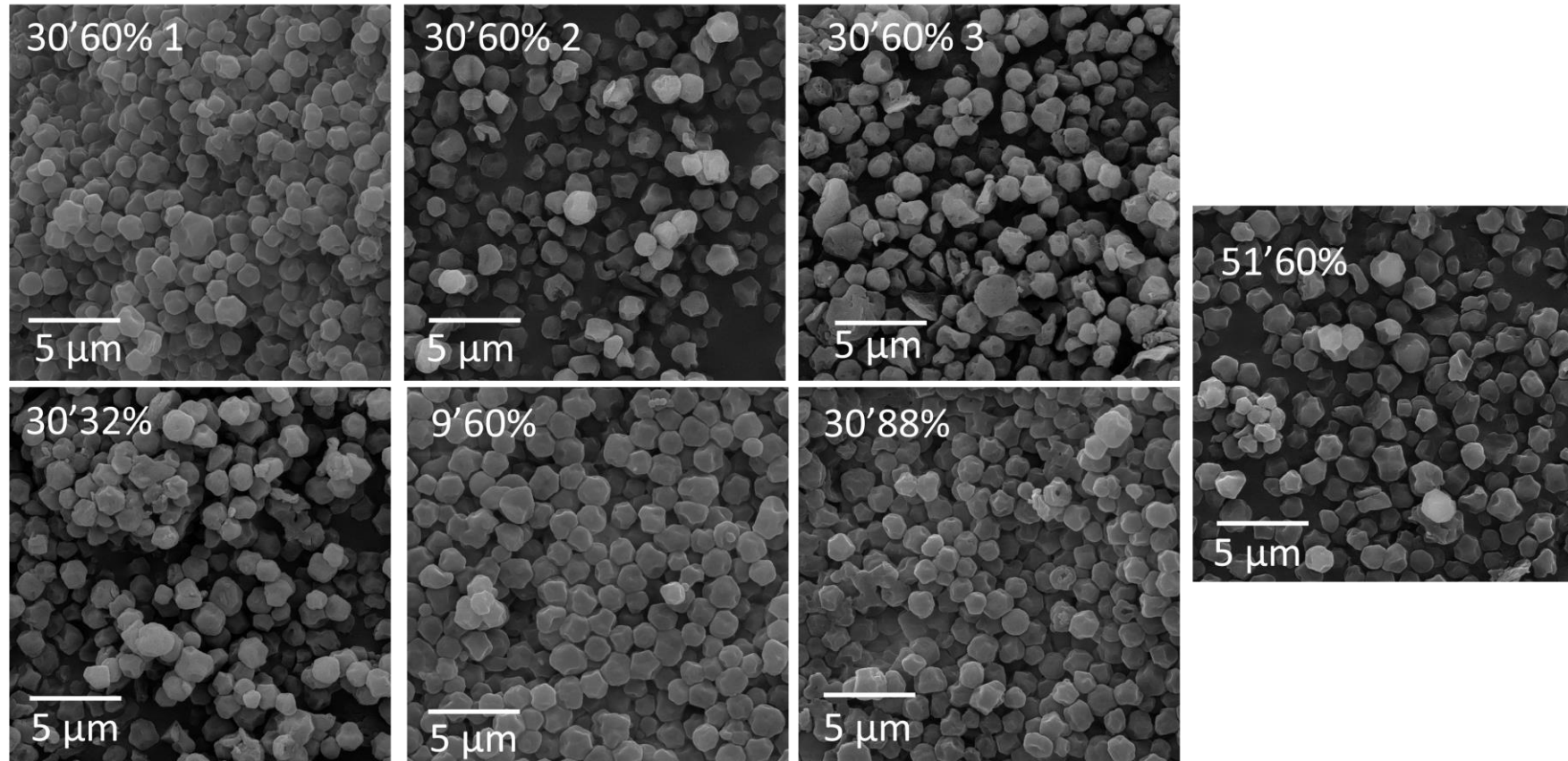


Figura 3.4 – Microimagens de amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e assistida por ultrassom

(conclusão)



\* O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

É possível verificar que o amido de amaranto apresenta uma superfície irregular e que alguns grânulos têm uma superfície mais lisa que outros. A existência de algumas superfícies irregulares podem ser consequência de indentações causadas pela compressão de grânulos pequenos de amido durante seu desenvolvimento ou na própria extração. A indentação pode surgir na redução do volume do endosperma/perisperma e do enrugamento durante a maturação da planta (ANDRADE *et al.*, 2020). Aliás, Denardin e Silva (2009) destacam que a superfície dos grânulos pode exibir naturalmente algumas estrias ou fissuras.

O amido de amaranto pode se apresentar como aglomerados devido ao seu pequeno diâmetro (Tabela 3.4), o que faz com que exiba uma maior área superficial. Isso promove a aproximação devido às forças eletrostáticas, em especial na presença de umidade (BET *et al.*, 2018a; ARENDT; ZANNINI, 2013). Esta característica foi observada em todas as amostras. González-Lemos *et al.* (2018) observaram aglomerados de amido de raízes de jicama após extração por US.

A aplicação do US em aglomerados de pós em suspensão pode resultar numa fragmentação que pode ser entendida como: erosão ou fratura. A erosão ou “lascagem” refere-se ao descolamento de partículas da superfície dos aglomerados de origem, enquanto que a fratura ou “fendilhação” ocorre quando os aglomerados se dividem em agregados menores devido à propagação de fissuras iniciadas em defeitos superficiais. O processo que acontecerá depende diretamente dos níveis de energia envolvidos (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

Porém, também é possível acontecer o processo inverso. Com a aplicação do US, os grânulos de amido podem se aglomerar, tornando-se maiores em forma e tamanho devido às ligações liberadas que oferecem a oportunidade de conectar ligações entre polímeros (JAMBRAK *et al.*, 2010). Taurozzi, Hackley e Wiesner (2011) complementam que a coagulação em campos ultrassônicos pode ocorrer a partir de interações reforçadas entre partículas devido ao aumento da frequência de colisão, bem como à redução favorável da energia livre na interface líquido-sólido.

Os aglomerados de amaranto (*A. cruentus*) podem apresentar 20–60 µm de largura, com uma forma irregular e compostos por centenas de grânulos. Sua superfície pode se mostrar rugosa com vários espaços de ar entre os grânulos aderentes. Já, os grânulos individuais de amido de amaranto exibem 0,8-1,2 µm de tamanho e forma poligonal e uma superfície lisa (BLASZCZAK *et al.*, 2013).

Nem toda energia cavitacional produzida é efetivamente usada para perturbar os aglomerados da partícula, pois parte dela é consumida por outros mecanismos (perda térmica, desgaseificação, reações químicas – formação de radicais). Assim, apenas uma parte da energia é empregada na quebra de ligações a fim de formar partículas menores. Quando em excesso, a energia pode até favorecer a formação de aglomerados que já haviam sido fragmentados inicialmente (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

Em alguns grânulos podem ser observadas deformações ou fissuras após a extração por sonicação, além de danos nas bordas dos grânulos (15 min 40%; 30 min 60%, 51 min 60%). Sit, Deka e Misra (2014) também detectaram alterações nas bordas dos grânulos de amido de taro após extração com US durante 20 min.

O tratamento 30 min 60% realizado pela terceira vez mostrou maiores danos, rachaduras após extração por US. Além da sonicação, o próprio processo de secagem também pode gerar algumas alterações no amido. He *et al.* (2021) identificaram que a secagem com ar quente a 55 °C durante 48 h promoveu a formação de rachaduras e detritos em amido de lúcumã. E a formação de aglomerados pode estar relacionada também ao teor de umidade.

Na maioria dos grânulos de amido extraídos por US 9 min 60% não foram observadas mudanças significativas em sua morfologia, assim como relatado por Zuo *et al.* (2009) para amido ceroso de arroz modificado por US e por Wang e Wang (2004). Estes últimos autores combinaram US e protease para extração de amido de arroz e sugerem que a extração possa ter afetado apenas a ligação não covalente entre o amido e a proteína, sem danificar as estruturas moleculares ou granulares do amido.

Em geral, espera-se que ocorra a formação de poros e rachaduras visíveis na superfície, como relatado para amido de trigo e milho modificados por US (KAUR; GILL, 2019). Estes autores sugeriram que o amido de milho é mais intensamente afetado, possivelmente devido à integridade estrutural granular relativamente mais fraca em comparação com os amidos de arroz, trigo e cevada, até porque podem possuir poros e cavidades naturais, tornando-os mais suscetíveis às deformações.

Estes danos ocorrem devido aos efeitos mecânicos em razão do colapso das bolhas que geram gradientes de alta pressão e aumentam a velocidade das camadas de líquido em sua vizinhança. Assim as forças de cisalhamento podem quebrar as cadeias do polímero e danificar os grânulos. Além disso, Kaur e Gill (2019) notaram

que a formação de depressões, poros e canais foi mais evidente para amidos modificados de trigo e milho (mais afetado, considerado de menor integridade estrutural), em relação ao de arroz e cevada.

No entanto, Sujka e Jamroz (2013) ressaltam que as mudanças morfológicas são peculiares a cada amido, podendo exibir ou não mudanças após testar as mesmas condições de ultrassom (20kHz, 170W, 30 min e 20 °C) para amido de batata e trigo (os quais exibiram fissuras e depressões) e para amidos de milho e arroz (sem mudanças).

Gallant *et al.* (1972) discutem que os danos aos grânulos aumentam com o tempo de sonicação e diminuem com a concentração da suspensão. Ou ainda, de acordo com a amplitude de vibração, conforme detectado por Karaman, Tuncel e Tuncel (2017), os quais realizaram a extração de amido de leguminosas por US e constataram danos (depressões e fissuras) na superfície dos grânulos especialmente em maiores amplitudes (70 e 100%). Bernardo *et al.* (2018) também visualizaram fissuras na superfície dos grânulos devido ao colapso das bolhas, principalmente utilizando amplitude de 70% e tempo de 15 min durante a extração.

Yang *et al.* (2019) discutem que a modificação por US pode provocar principalmente o aparecimento de poros e fissuras na superfície de amidos, como observaram para amido de arroz, sendo que os danos aumentam com o aumento da potência. Além disso, quanto maior a potência, maior será a dissociação das moléculas do solvente e, portanto, mais radicais que impactam na degradação do polissacarídeo. No entanto, o US pode não afetar o tamanho dos grânulos.

O tamanho médio dos grânulos de amido está apresentado na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Tamanho médio dos grânulos de amido de amaranto por extração aquosa ou assistida por ultrassom (continua)

Amostra	T (min)	Ampl. (%)	Diâmetro médio
Nativo 27 °C	-	-	1,36±0,24
Nativo 45°C	-	-	1,32±0,19
1	15	40	1,43±0,17
2	45	40	1,43±0,19
3	15	80	1,46±0,23
4	45	80	1,36±0,19
5	30	60	1,30±0,18
6	30	60	1,37±0,24



Tabela 3.4 - Tamanho médio dos grânulos de amido de amaranto por extração aquosa ou assistida por ultrassom (conclusão)

Amostra	T (min)	Ampl. (%)	Diâmetro médio
7	30	60	1,31±0,11
8	8,8	60	1,47±0,10
9	30	88,3	1,35±0,11
10	51,2	60	1,52±0,21
11	30	31,7	1,49±0,09

Notas: Resultados apresentados como média±desvio padrão. Não houve diferença significativa para o diâmetro médio entre as amostras pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os grânulos de amido nativo apresentaram diâmetro médio similar ao encontrado Bet *et al.* (2018a) de 1,25  $\mu\text{m}$  e superiores ao relatado por Blaszczyk *et al.* (2013), de 0,8-1,2  $\mu\text{m}$  e também por Kong, Bao e Corke (2009) que reportaram diâmetros entre 1,05-1,32  $\mu\text{m}$  para amido de diferentes cultivares de amaranto.

Toma *et al.* (2001) registrou diâmetros ainda menores de 0,5  $\mu\text{m}$ , mas que chegaram até 2,5  $\mu\text{m}$ . Xia *et al.* (2015) relataram uma faixa de diâmetro entre 0,65 a 1,92  $\mu\text{m}$  (média de 1,38  $\mu\text{m}$ ) para variedade *A. cruentus*, que também exibiu forma poligonal, com superfície lisa e sem fissuras.

Um diâmetro de 1,5  $\mu\text{m}$  foi relatado por Perez-Rea e Antezana-Gomez (2018), enquanto que o *A. cruentus* apresentou grânulo com 1,24  $\mu\text{m}$ , mas podendo variar de 0,75-2,00  $\mu\text{m}$ ; e o *A. hypochondriacus* exibiu diâmetro de 1,07  $\mu\text{m}$ .

Não foram detectadas diferenças significativas no diâmetro médio dos grânulos de amido de amaranto extraídos por US em comparação à extração aquosa.

Bernardo *et al.* (2018) extraíram amido de cará-do-ar por meio do US testando diferentes tempos (3, 6, 9 e 15 min) e amplitudes (12, 40, 68 e 70%). Pequenas variações no diâmetro foram encontradas, mas não parecem estar relacionadas à extração assistida por irradiação ultrassônica.

Amido de milho e milho ceroso foram submetidos ao US (sonda 13 mm, 170 W, 24 kHz, suspensão 1,5%, 8 °C, 80% amplitude, 75 min), e apresentaram uma redução no tamanho de partícula (HAAJ *et al.*, 2013).

Similar a este estudo, Monroy, Rivero e García (2018) também não constataram mudanças no grânulo de amido de mandioca modificado com US por 5, 10 e 15 min a amplitude de 40%, embora maior rugosidade e formação de poros ocorreram com o aumento do tempo de tratamento. Esta porosidade pode estar

relacionada aos gradientes de pressão, o que facilita também a movimentação de água pelo grânulo, conforme apontado por Cárcel *et al.* (2012).

Amini, Razavi e Mortazavi (2015) constataram que o tamanho dos grânulos de amido de milho não foi alterado em temperaturas abaixo de 65 °C, embora um ligeiro aumento no tamanho de amostras sonicadas pode ser percebido.

Carmona-García *et al.* (2016) modificaram amido de banana e de taro em US (suspensão 5%, 4 °C, sonda de 7 mm, 80 W, 20% de amplitude, 20-50 min) e não detectaram mudanças no tamanho do grânulo dos amidos. Concluíram que amidos com grânulos menores são menos afetados que aqueles maiores.

A erosão superficial com formação de entalhes e ranhuras foi notada após 30 min de US a 155 W (20-30°C) no amido de batata, mas nenhuma fragmentação dos grânulos de amido foi salientada, nem qualquer redução no tamanho das partículas (ZHU *et al.*, 2012). Assim, mesmo que o grânulo sofra alguns danos, não necessariamente tenha mudanças em seu diâmetro ou tamanho médio.

Portanto, fatores como: concentração da suspensão, temperatura do sistema, composição e tipo de amido, potência, frequência e tempo de processamento ultrassônico são fatores que impactam diretamente nas características do amido (KAUR; GILL, 2019).

#### 3.4.5.2 Teor de proteínas, umidade e cinzas para farinha e amido de amaranto

Os resultados para teor de proteínas, umidade e cinzas dos amidos e da farinha podem ser visualizada na Tabela 3.5:

Tabela 3.5 – Resultados de proteínas, cinzas e umidade para farinha de amaranto e amido obtido por extração aquosa e assistida por ultrassom. (continua)

Amostra	T (min)	Ampl. (%)	Umidade (g 100g <sup>-1</sup> )	Proteínas (base úmida) (g 100g <sup>-1</sup> )	Proteínas (base seca) (g 100g <sup>-1</sup> )	Cinzas (base úmida) (g 100g <sup>-1</sup> )	Cinzas (base seca) (g 100g <sup>-1</sup> )
Farinha	-	-	8,72	14,52±0,03	15,28±0,04	4,50	4,93
Nativo 27°C	-	-	11,65	4,19±0,06	4,75±0,05	2,50	2,83
Nativo 45°C	-	-	9,55	5,33±0,01	5,90±0,01	4,08	4,51
1	15	40	9,52	4,56±0,01	5,04±0,01	2,20	2,43
2	45	40	11,20	3,55±0,06	4,00±0,07	2,86	3,22
3	15	80	10,37	5,77±0,02	6,44±0,03	0,59	0,66

Tabela 3.5 – Resultados de proteínas, cinzas, umidade para farinha de amaranto e amido obtido por extração aquosa e assistida por ultrassom. (conclusão)

Amostra	T (min)	Ampl. (%)	Umidade (g 100g <sup>-1</sup> )	Proteínas (base úmida) (g 100g <sup>-1</sup> )	Proteínas (base seca) (g 100g <sup>-1</sup> )	Cinzas (base úmida) (g 100g <sup>-1</sup> )	Cinzas (base seca) (g 100g <sup>-1</sup> )
4	45	80	9,69	3,98±0,01	4,40±0,01	4,07	4,51
5	30	60	8,33	3,86±0,07	4,21±0,07	1,24	1,14
6	30	60	9,56	3,06±0,10	3,35±0,10	2,18	2,41
7	30	60	9,54	3,99±0,09	4,41±0,10	2,76	3,05
8	8,8	60	9,44	4,51±0,13	4,98±0,14	4,46	4,96
9	30	88,3	9,28	3,64±0,07	4,02±0,07	1,97	2,17
10	51,2	60	10,30	3,91±0,07	4,36±0,08	1,41	1,57
11	30	31,7	11,12	4,06±0,03	4,56±0,03	1,45	1,63

Nota: Valores expressos como média±desvio padrão. Não foi aplicado teste estatístico devido aos resultados para o teor proteico não seguirem uma distribuição normal.

A umidade da farinha de amaranto e cinzas foi analisada por termogravimetria e os valores foram maiores quando comparados ao método gravimétrico (estufa a 105 °C, 7,51%) e utilizando-se a mufla a 550 °C (3,11% b.u. e 3,36% b.s). Isso acontece devido à alta sensibilidade da termobalança, o que permite identificar com maior precisão a quantidade de água (inclusive adsorvida) e o teor de matéria inorgânica.

Leivas *et al.* (2013) também obtiveram resultados similares, e explicam que o TG é realizado numa atmosfera dinâmica enquanto o método oficial é em atmosfera estática. A análise termogravimétrica tem a vantagem de ser mais rápida e precisa do que o método gravimétrico, e requer menor quantidade de amostra.

A farinha de amaranto apresentou teor proteico superior ao trigo (12,3% de proteínas), milho (8,9% de proteínas), arroz (7,5% de proteínas) e inferior ao da aveia (16,1% de proteínas) (COELHO, 2018).

Tapia-Blácido, Sobral e Menegalli (2010) encontraram maior teor de proteínas para o amido de *A. caudatus* (1,32%) em relação ao *A. cruentus* (0,9%), ambos extraídos pelo método alcalino.

De acordo com Bernardo *et al.* (2018), o ultrassom auxilia no rompimento das associações amido-proteína, facilitando o isolamento e sua purificação. Morel *et al.* (2000) complementam que a utilização do ultrassom de alta intensidade também possibilita maior solubilidade das proteínas facilitando seu isolamento, embora também provoque uma diminuição no peso molecular.

Inclusive, um dos motivos apontados de o US melhorar o rendimento de extração do amido se trata do afrouxamento deste polissacarídeo em ligações com a proteína (BERNARDO *et al.*, 2018).

Porém o que foi percebido neste estudo foi que a extração assistida por US não permitiu uma purificação do amido, uma vez que o teor de proteína ainda foi elevado nas amostras, principalmente quando menor tempo foi utilizado.

No caso do amaranto, destaca-se que o tamanho da proteína dificulta esta separação e purificação do amido. De acordo com Becker (1994) e Segura-Nieto *et al.* (1994), o embrião de amaranto concentra um alto teor de proteínas com um tamanho de 3 a 5  $\mu\text{m}$ . Assim, estas proteínas são extraídas junto com o amido (1  $\mu\text{m}$ ) durante a sonicação e recuperadas no precipitado após a centrifugação.

A centrifugação é uma etapa importante durante a extração do amido, pois visa a sua separação de moléculas de proteína ou de gordura (CORREIA; BEIRÃO-DACOSTA, 2012). A sedimentação de proteínas e de fibras muito finas juntamente com o amido, além do tamanho pequeno dos grânulos dificulta a extração do amido, gerando perdas e baixo rendimento de conteúdo amiláceo.

Redução no teor de proteína após tratamento por US foi observado para Zhang *et al.* (2005a) e Zhang *et al.* (2005b). Em contrapartida, Li *et al.* (2019) não observaram diferenças estatísticas no teor de proteínas de amido de *Radix puerariae* extraído com US.

Gutiérrez-Cortez *et al.* (2021) obtiveram para farinha e amido de amaranto isolado com NaOH e separação mecânica, respectivamente, 9,22% e 9,34% de umidade, 13,3% e 0,12% de proteínas, 7,21% e 0,26% de lipídeos, 64,3 e 86,23% de carboidratos, 3,1 e 1,46% de fibra bruta e de cinzas totais igual a 2,95% e 2,53%.

Esta melhor separação de proteína é entendida como consequência do rompimento das ligações de proteína no endosperma do grão de milho, favorecendo a separação do amido (ZHANG *et al.*, 2005b).

E esse menor valor de residual proteico no amido geralmente é alcançado com o uso de produtos químicos, como o NaOH, ou ainda com a aplicação de enzimas, conforme apontado por Wang e Wang (2004). Estes autores realizaram tratamento com protease para extração de amido de arroz antes do US, o que auxiliou no afrouxamento da matriz proteica, separando-o mais facilmente desta fração, diminuindo o teor residual de proteínas no amido.

Durante a centrifugação foi observado que uma camada de coloração mais escura se intercalava à fração de amido. Fu *et al.* (2004) discutiram que a centrifugação pode ocasionar a quebra de carboidratos solúveis e separar proteínas em diferentes partes da suspensão de amido. Isso pode ter contribuído para manter as proteínas no precipitado de amido.

O alto teor de proteínas é um ponto positivo desde que não afete as demais propriedades tecnológicas do amido. Isso porque a proteína do amaranto tem qualidade superior à de cereais, destacando-se aminoácidos como: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, valina. A albumina (49-65%) corresponde a maior fração, seguida pela glutelina (22-42%), glubulina (14-18%) e prolaminas (1,0-3,2%) (CORKE; CAI; WU, 2016).

Bernardo *et al.* (2018) não observaram diferenças significativas no teor de proteínas entre as amostras sonicadas. Foi percebido que após o US houve um aumento do conteúdo de cinzas com o aumento da amplitude e tempo da sonicação. Eles explicaram que isto pode estar associado à quebra de estruturas com a cavitação, melhorando a etapa de filtração/peneiramento, com a menor viscosidade do material após sair do tratamento. E isso favorece a passagem de outros componentes, como minerais, e até mesmo de pigmentos, como observado na tonalidade mais amarela do amido de cará-do-ar.

O alto teor de cinzas no amido era esperado, uma vez que o *Amaranthus caudatus* tem um teor entre 3,1-4,4% (em base seca) como descrito por Wrigley; Batley e Miskelly (2017) e Corke; Cai e Wu (2016). Minerais como fósforo, cálcio, potássio, ferro, magnésio são encontrados majoritariamente no amaranto.

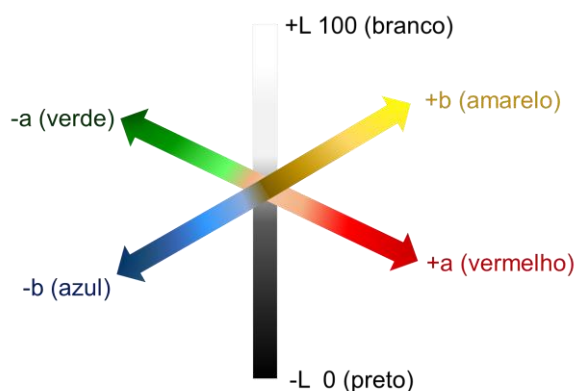
Gutiérrez-Cortez *et al.* (2021) relataram um teor de cinzas de 2,53% em amido de amaranto isolado com NaOH e separação mecânica e discutem que a razão molar Ca/P para amaranto é 1,4 e 0,63 para quinoa. E uma razão molar Ca/P acima de 1,4 é importante para a absorção de cálcio no nível intestinal, definindo este cereal como potencial fonte de cálcio na dieta humana. O conteúdo de magnésio também é importante para a formação óssea.

O *A. cruentus* BRS Alegria exibiu teores ( $100\text{ g}^{-1}$  b.s.) de minerais de 441 mg de fósforo, 434 mg de carbonato de potássio, 254 mg de magnésio, 206 mg de cálcio, 0,6 mg de sódio, 12 mg de ferro, 5,2 mg de zinco, 4 mg manganês, 4 mg de alumínio, 0,06 mg de cobalto e 0,02 mg de selênio (COELHO *et al.*, 2018).

### 3.4.5.3 Análise colorimétrica

O espaço de cor com a definição de cores pode ser dado pela Comissão Internacional de Iluminação (*Commission Internationale de l'Éclairage* – CIE). Neste sistema a sensação de cor é baseada em três elementos: luminosidade ou claridade; matiz ou tonalidade e; saturação ou cromaticidade. Parte-se do princípio que o ser humano possui três cores receptoras (vermelho, verde e azul) e que a partir da combinação destas, todas as outras cores são geradas. O espaço CIE está representado na Figura 3.5, com três eixos perpendiculares para  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

Figura 3.5 – Espaço de cor CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$



Fonte: A autora.

Os resultados obtidos para a análise colorimétrica das amostras de amido de amaranto estão apresentados na Tabela 3.6.

Os parâmetros de cor obtidos para farinha de amaranto, diferiram dos dados obtidos de Tapia-Blacido *et al.* (2010), pois os grãos foram tratados com NaOH.

De acordo com Sit, Misra e Deka (2014b) a cor é uma importante característica relacionada à qualidade do amido.

O parâmetro de luminosidade, tendência ao preto ou branco, após a sonicação foi superior para todos os amidos em relação ao controle. Sira e Amaiz (2004) entendem que um valor de  $L^*$  superior a 90 pode indicar uma relativa pureza ao amido.

Um aumento de  $L^*$  foi também encontrado para o amido de sagu extraído com pré-tratamento de 10 min no US seguido de extração aquosa (PINYO *et al.*, 2017); e amidos de cará-do-ar (BERNARDO *et al.*, 2018); milho (ZHANG *et al.*, 2005a) extraídos por US.

O US também promoveu um aumento da luminosidade e uma diminuição de  $b^*$  para o amido de milho (ZHANG *et al.*, 2005a; ZHANG *et al.*, 2005b).

O valor de  $a^*$  (verde ao vermelho) apresentou uma redução do seu valor para os amidos extraídos por US, bem como para extração a 45 °C, indicando uma menor tendência à coloração vermelha.

Para os valores de  $b^*$ , que se refere às colorações azul (-) e amarelo (+) também houve uma redução após sonicação, indicando uma menor tendência ao amarelo, assim como relatado por Pinyo *et al.* (2017) no amido de sagu. Essa diminuição não ocorreu para amostra extraída com amplitude de vibração de 80% durante 15 min.















Menor tendência ao amarelo foi relacionado ao menor teor de proteína, diminuindo o valor da cromaticidade  $b^*$  (ZHANG *et al.*, 2005b). Isso também pode ser observado no presente estudo em que a amostra 15 min 80% apresentou o maior valor de proteínas, e o maior valor para cromaticidade  $b^*$ .

Bernardo *et al.* (2018) notaram um aumento da tonalidade para o amarelo ( $b^*$ ) para amido de cará-do-ar que foi atribuído passagem de pigmentos quando da ruptura da matriz celular e que passaram pela peneira utilizada para isolamento do amido. Isso também foi sugerido por Sit, Misra e Deka (2014b) em amido de taro extraído por US.

O amido de amaranto pode apresentar uma coloração tendendo ao amarelo devido aos pigmentos presentes na farinha, da classe das betalaínas (betaxantinas amarelas; ou betacianinas: vermelhas) (MIGUEL, 2018).

É possível que tenha havido perda de pigmentos durante a extração, ou a partir da sonólise da água, a dissociação parcial em hidróxidos e hidrogênio podem ter favorecido a formação de peróxido de hidrogênio contribuindo para o aumento da tendência à coloração branca. Embora em baixa concentração de espécies altamente reativas, pode haver processos oxidativos e outras transformações químicas (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

Tabela 3.6 – Parâmetros de cor para amido de amaranto extraído por processo aquoso e por ultrassom

Amostra	Cor	L	a*	b*	$\Delta E^*$	Conclusão	C*	Hue	WI
Farinha		81,22 ± 0,24	2,75 ± 0,01	17,15 ± 0,03	11,14	Forte diferença	17,37±0,02	80,88±0,04	74,42±0,16
Nativo 27 °C		87,20 ± 0,84 <sup>d</sup>	1,22 ± 0,02 <sup>a</sup>	7,86 ± 0,06 <sup>ab</sup>	CONTROLE	-	7,96±0,05 <sup>a</sup>	81,16±0,24 <sup>e</sup>	84,92±0,73 <sup>e</sup>
Nativo 45°C		87,29 ± 0,53 <sup>d</sup>	0,93 ± 0,05 <sup>b</sup>	7,35 ± 0,12 <sup>bc</sup>	0,60	Imperceptível	7,41±0,10 <sup>b</sup>	82,79±0,29 <sup>d</sup>	85,28±0,52 <sup>e</sup>
15 min 40%		91,18 ± 0,50 <sup>a</sup>	0,68 ± 0,06 <sup>cd</sup>	6,83 ± 0,17 <sup>cde</sup>	4,16	Perceptível	6,86±0,14 <sup>cde</sup>	84,34±0,35 <sup>abc</sup>	88,82±0,33 <sup>ab</sup>
45 min 40%		91,21 ± 0,28 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,02 <sup>bc</sup>	7,05 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,12	Perceptível	7,09±0,02 <sup>bc</sup>	83,52±0,18 <sup>cd</sup>	88,71±0,23 <sup>ab</sup>
15 min 80%		89,51 ± 0,41 <sup>bc</sup>	0,72 ± 0,0 <sup>c</sup>	8,17 ± 0,24 <sup>a</sup>	2,39	A. Perceptível	8,21±0,19 <sup>a</sup>	84,94±0,25 <sup>ab</sup>	86,68±0,47 <sup>d</sup>
45 min 80%		90,75 ± 0,78 <sup>abc</sup>	0,55 ± 0,09 <sup>def</sup>	6,32 ± 0,48 <sup>ef</sup>	3,93	Perceptível	6,34±0,39 <sup>ef</sup>	85,00±0,66 <sup>a</sup>	88,77±0,50 <sup>ab</sup>
30 min 60% 1		91,01±0,21 <sup>ab</sup>	0,54 ± 0,04 <sup>def</sup>	5,94 ± 0,13 <sup>fg</sup>	4,32	Perceptível	5,97±0,10 <sup>fg</sup>	84,80±0,44 <sup>ab</sup>	89,21±0,24 <sup>ab</sup>
30 min 60% 2		91,61±0,42 <sup>a</sup>	0,67 ± 0,03 <sup>cd</sup>	6,48 ± 0,02 <sup>de</sup>	4,66	Perceptível	6,52±0,02 <sup>de</sup>	84,10±0,21 <sup>abc</sup>	89,37±0,32 <sup>ab</sup>
30 min 60% 3		90,66 ± 0,44 <sup>abc</sup>	0,77±0,07 <sup>c</sup>	7,02±0,02 <sup>c</sup>	3,60	Perceptível	7,07±0,02 <sup>bc</sup>	83,74±0,51 <sup>bcd</sup>	88,29±0,34 <sup>bc</sup>
9 min 60%		91,85 ± 0,83 <sup>a</sup>	0,65±0,11 <sup>cde</sup>	6,40 ± 0,18 <sup>def</sup>	4,91	Perceptível	6,44±0,15 <sup>def</sup>	84,19±0,82 <sup>abc</sup>	89,60±0,54 <sup>a</sup>
30 min 88%		89,39 ± 0,55 <sup>c</sup>	0,71 ± 0,03 <sup>c</sup>	6,93 ± 0,17 <sup>cd</sup>	2,44	A. Perceptível	6,97±0,14 <sup>bcd</sup>	84,12±0,07 <sup>abc</sup>	87,31±0,55 <sup>cd</sup>
51 min 60%		90,35 ± 0,22 <sup>abc</sup>	0,49 ± 0,02 <sup>f</sup>	5,89 ± 0,03 <sup>fg</sup>	3,79	Perceptível	5,91±0,02 <sup>fg</sup>	85,27±0,22 <sup>a</sup>	88,68±0,20 <sup>ab</sup>
30 min 32%		91,28 ± 0,49 <sup>a</sup>	0,51 ± 0,04 <sup>ef</sup>	5,70 ± 0,02 <sup>g</sup>	4,68	Perceptível	5,72±0,02 <sup>g</sup>	84,89±0,0,34 <sup>ab</sup>	89,57±0,40 <sup>ab</sup>

Notas: Valores que apresentam cor verde foram estatisticamente inferiores à amostra de amido nativo extraído com metodologia aquosa a 27 °C (controle).

Valores que apresentam cor vermelha foram estatisticamente superiores à amostra de amido nativo extraído com metodologia aquosa a 27 °C (controle).

$\Delta E$ , diferença de tonalidade; C\*, croma. A. Perceptível: apenas perceptível.

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Maiores valores de  $\Delta E^*$  indicam maiores diferenças entre duas cores: imperceptível ( $\Delta E^* < 1$ ); mínima ( $1 \leq \Delta E^* < 2$ ); apenas perceptível ( $2 \leq \Delta E^* < 3$ ); perceptível ( $3 \leq \Delta E^* < 5$ ); forte diferença ( $5 \leq \Delta E^* < 12$ ) e cor diferente ( $\Delta E^* \geq 12$ ).



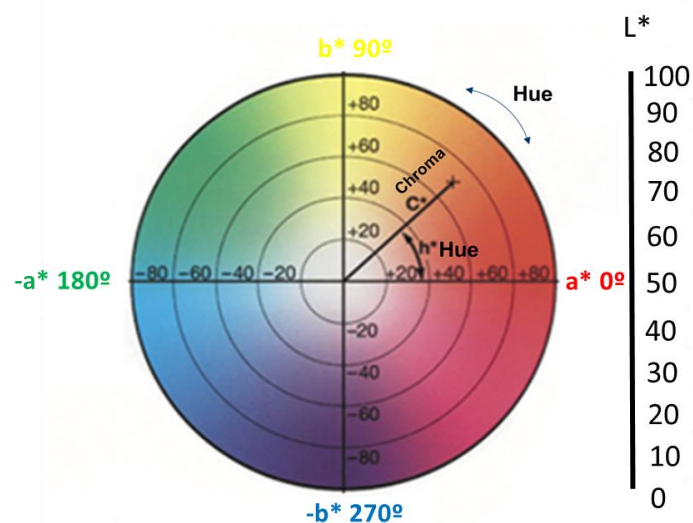
A diferença de cor ( $\Delta E$ ) pode facilitar comparações entre as amostras, pois trata-se de apenas um número que representa os três parâmetros do espaço de cor CIE  $L^*a^*b^*$

Conforme mostrado pela diferença global de cor, a coloração do amido extraído a temperatura de 45 °C foi imperceptível para a extração a 27 °C. Já os amidos extraídos com o processo de sonicação apresentaram alteração na percepção de cor, principalmente classificada como perceptível, provavelmente devido a maior claridade das amostras, índice de brancura, menores tendência ao amarelo e vermelho, além da diminuição na saturação de cor. As cores podem ser visualizadas na Tabela 3.6 geradas pelo sensor *Nix Color Sensor* de acordo com as coordenadas cromáticas do espaço CIE  $L^*a^*b^*$ .

O ultrassom promoveu um clareamento das amostras, aumentando a tendência ao branco (índice de brancura), parâmetros bastante importantes para o amido.

Em relação ao croma ( $C^*$ ), esta é uma medida da saturação, pureza ou intensidade da cor. Maiores valores indicam cores mais vivas, saturadas; enquanto valores menores indicam cores mais opacas, pálidas (CHIUMARELLI *et al.*, 2010). Ele se define em um outro espaço de coordenadas de cor denominado  $L^*C^*h^\circ$ , em que o  $L^*$  representa a luminosidade (como no sistema CIE  $L^*a^*b^*$ ), o  $C^*$  representa a cromaticidade (saturação) e o  $h^\circ$  representa o ângulo *hue*. Estes elementos estão representados na Figura 3.6.

Figura 3.6 – Espaço de cor  $L^*C^*h^\circ$



Fonte: adaptado de Ferreira e Spricigo (2017).

A saturação ( $C^*$ ) é definida como a distância radial do centro do espaço até o ponto da cor. Croma representa a hipotenusa de um triângulo retângulo criado pela união dos pontos  $(0, 0)$ ,  $(a^*, b^*)$ , e  $(a^*, 0)$ . Por isso é calculado como a raiz do somatório entre  $a^{*2}$  e  $b^{*2}$ . No centro do espaço  $L^*C^*h^0$ , estão os valores mínimos de saturação e, à medida que se caminha para as extremidades, aumenta-se este valor. Ela se refere à concentração de um pigmento ou corante que esteja presente no material. É, portanto, um atributo quantitativo para intensidade de cor. Quanto maior o valor do cromia, maior a saturação das cores e mais brilhantes elas são na percepção das pessoas, como as cores puras. Já, as cores neutras apresentam baixa saturação (FERREIRA; SPRICIGO, 2017).

Identificou-se uma redução no valor de cromia das amostras extraídas por US, exceto para a condição 15 min 80% no qual a tonalidade de cor também foi apenas perceptível, com uma ligeira redução da intensidade ao vermelho e na claridade.

O ângulo Hue é um atributo qualitativo da cor, sendo o ângulo  $0^\circ$  correspondente à cor vermelha,  $90^\circ$  se refere ao amarelo,  $180^\circ$  está para a cor verde, enquanto que  $270^\circ$  determina a cor azul (FERREIRA; SPRICIGO, 2017).

O amido de amaranto apresentou valores próximos ao amarelo devido à angulação apresentada. Esta tendência ao amarelo está relacionada à coloração da farinha possivelmente pela presença de betaxantinas, pigmentos de coloração amarela (MIGUEL, 2018) e carotenóides (KARAMÁC *et al.*, 2019).

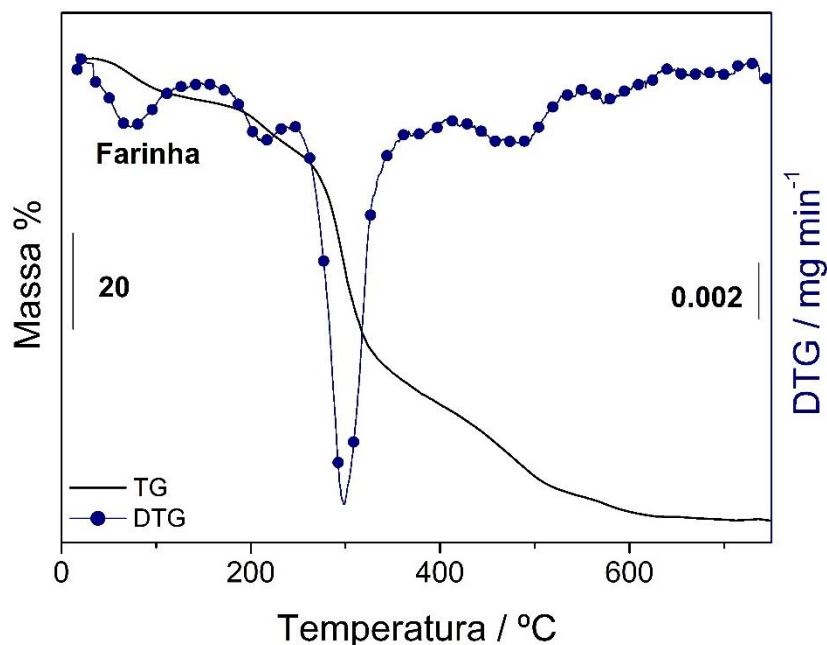
#### 3.4.5.4 Termogravimetria e Termogravimetria derivada

A curva termogravimétrica obtida para farinha de amaranto é exibida na Figura 3.7.

A farinha de amaranto apresentou quatro perdas de massa, assim como também foi observado para farinha de arroz negro (ITO *et al.*, 2018) e diferente da registrada para farinha de batata com apenas 3 perdas (LEIVAS *et al.*, 2013). A ausência de um período de estabilidade antes da decomposição térmica foi similar ao obtido em estudos prévios (BET *et al.*, 2019).

Isso deve à complexidade da matriz, que envolve diferentes macro e micronutrientes, os quais apresentam diferenças na temperatura de decomposição.

Figura 3.7 – Curva TG para farinha de amaranto



A farinha é uma mistura complexa de componentes como amido, polissacarídeos não amiláceos, lipídeos, açúcares, minerais, proteínas, que determinam seu uso (PUNCHA-ARNON; UTTAPAP, 2013).

Após a perda de umidade (tanto de água livre quanto de água adsorvida), iniciam-se as perdas dos macronutrientes da farinha. Assim, proteínas, lipídeos e fibras são decompostos não sendo possível identificar a temperatura exata na qual cada fração é perdida, pois podem ocorrer simultaneamente ou consecutivamente.

Eggleston, Trask-Morrel e Vercellotti *et al.* (1996) descobriram que a perda de massa de sacarose ocorreu a 237-285 °C, com taxa máxima de perda a 233-300 °C

As proteínas presentes nas amostras também sofrem decomposição durante o aquecimento. Primeiro ocorre sua desnaturação a temperaturas mais baixas, e na sequência, a sua decomposição possivelmente registrada na segunda inflexão da curva TG. Avanza e Añon (2007) estudaram a desnaturação de proteínas isoladas de *Amaranthus hypochondriacus* e constaram que isso ocorre em dois eventos endotérmicos a 69,9 °C (correspondendo à gluteninas e menores componente de globulinas) e 98,8 °C (referente à globulina-11S, globulina-P e gluteninas), com a formação de ácidos e polipeptídeos livres.

Corroborando com isso, Tápia-Blácido; Sobral e Menegalli (2010) identificaram a presença de globulinas, glutelinas e albuminas na farinha de *Amaranthus caudatus*.

Os lipídeos podem estar sendo decompostos também na segunda etapa, em temperaturas aproximadas de 180 °C, referente à termo-oxidação, conforme discutido por Zhang *et al.* (2014). De acordo com Narvaez *et al.* (2008), a vaporização de óleo de palma ocorreu a 369 °C. Gouveia de Souza *et al.* (2004) identificaram a decomposição de óleo de girassol a 230 °C, liberando compostos voláteis. Assim os óleos vegetais têm temperaturas de degradação superiores a 180 °C.

Em relação às fibras, Corradini *et al.* (2009), identificaram que a decomposição de fibras lignocelulósicas e lignina ocorrem entre 200-530 °C, a hemicelulose entre 240-310 °C e a celulose entre 310-360 °C. Podem, portanto, estar acontecendo entre a 2ª e 3ª perda registradas na curva termogravimétrica da farinha.

Na sequência ocorre a oxidação da amostra com a formação das cinzas, completando a 4ª etapa registrada.

As curvas termogravimétricas obtidas para as amostras de amido estão ilustradas na Figura 3.8.

Figura 3.8 - Curvas TG para amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e US. (continua)

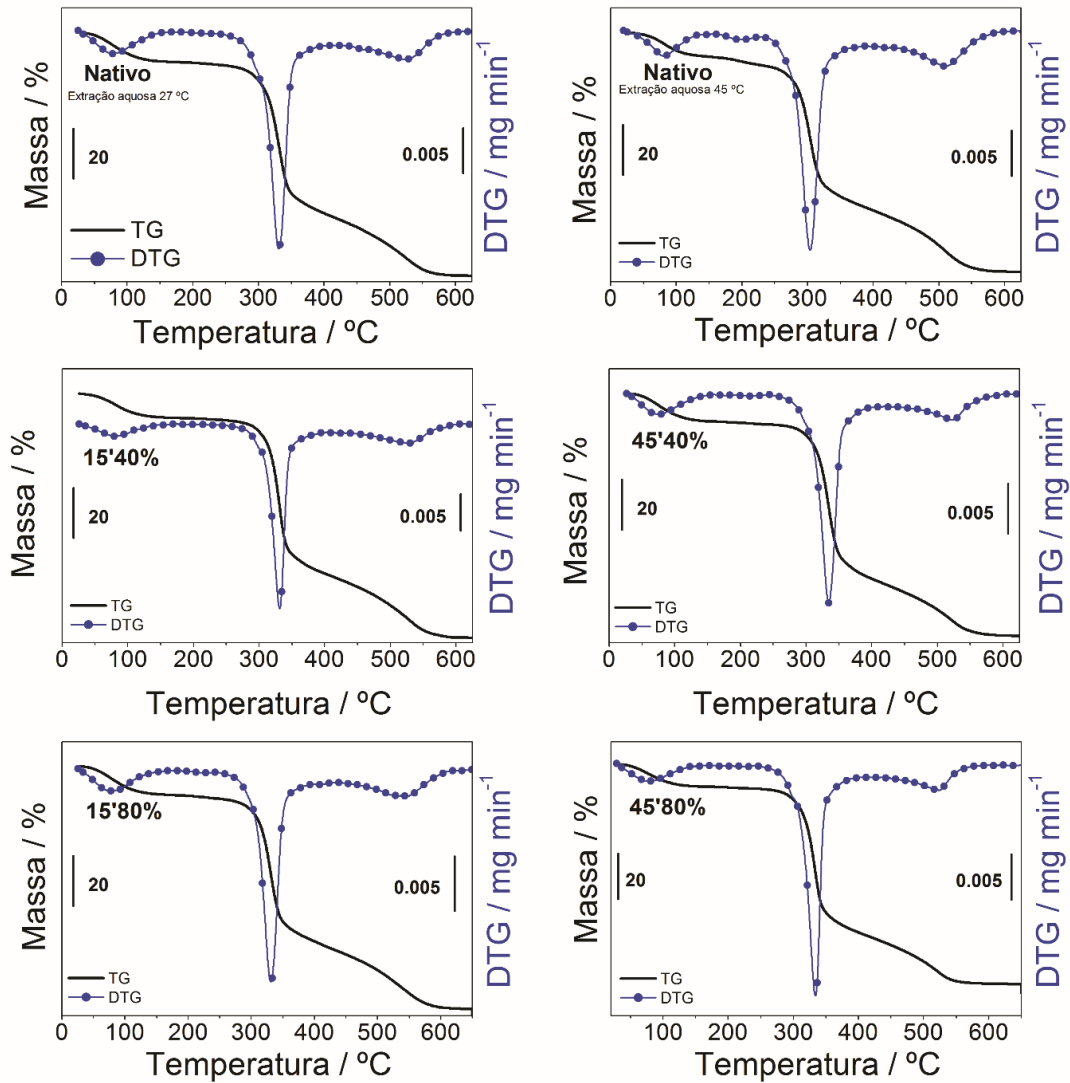
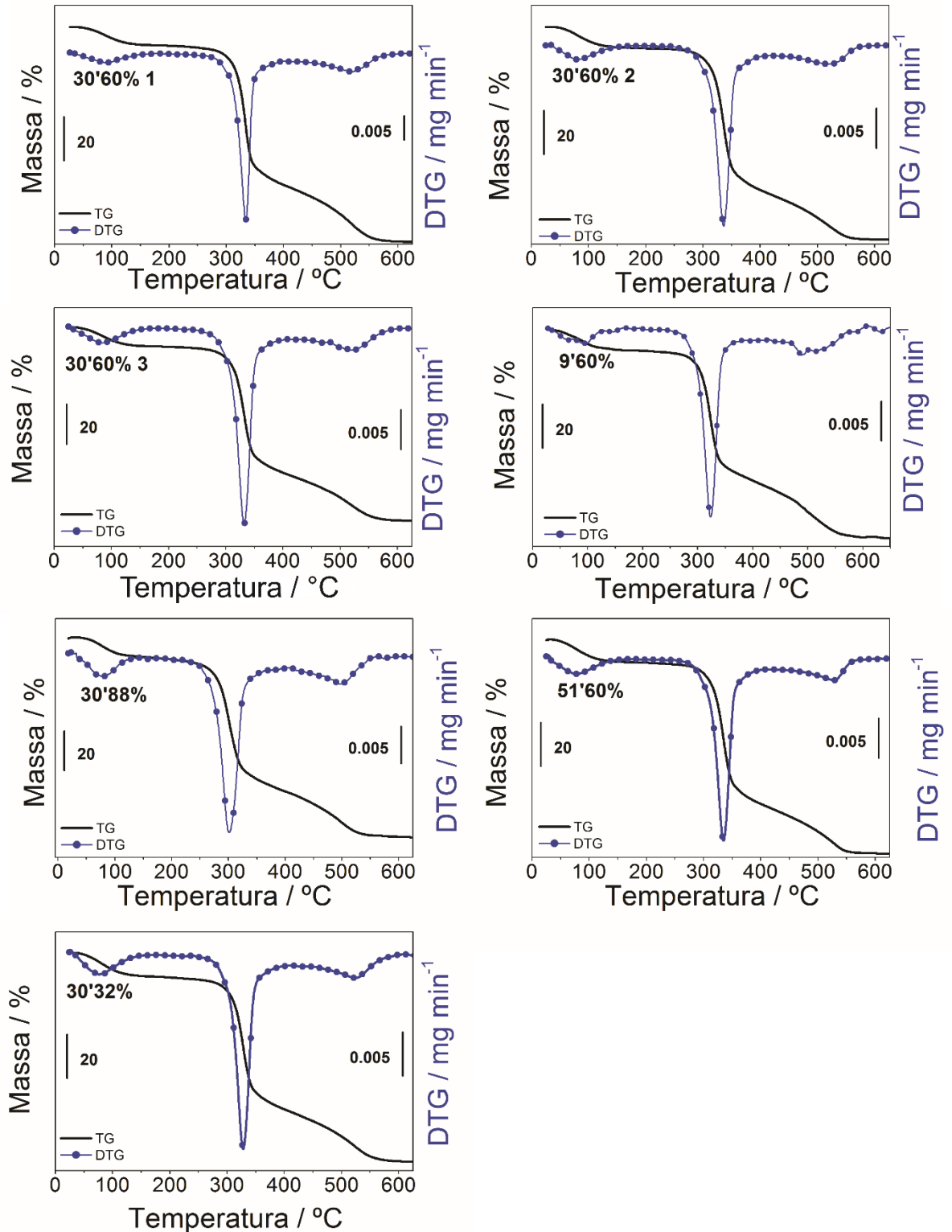


Figura 3.8 - Curvas TG para amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e US

(conclusão)



Nota: O ponto central 30'60 foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

Conforme visualizado nas curvas termogravimétricas, as amostras de amido de amaranto apresentaram três perdas de massa, sendo a primeira relacionada à perda de umidade variando entre 8,33-11,65% (conforme Tabela 3.7).

Umidade de amido de amaranto de 15 espécies investigadas por Kong *et al.* (2008) ficou em torno de 11,6-13,9%.

Para a farinha de amaranto o teor de 8,72% de umidade foi bastante próximo ao determinado pelo método gravimétrico (estufa a 105 °C) de 7,51%. O teor mais alto determinado por termogravimetria pode estar relacionado a maior precisão do método que permite quantificar além da água livre, também a água adsorvida.

Conforme discutido por Mamat e Hill (2018), a primeira etapa corresponde à água retida com menor energia pelas moléculas do açúcar, que se perde na faixa de temperatura de 30-110 °C. A segunda etapa (110-150 °C) corresponde à água adsorvida que está fortemente ligada às moléculas do açúcar e que requer mais energia para quebrar as ligações. Esta é a água adsorvida.

A quantidade de cinzas também foi superior ao determinado por mufla a 550 °C (3,11% b.s.). Isso se deve a maior acurácia do método, menores perdas analíticas e erros sistemáticos relacionados a manuseio da amostra e equipamentos de laboratório.

A segunda perda correspondeu à despolimerização da amilose e amilopectina e degradação do amido, seguido pela oxidação da amostra até formação das cinzas.

As curvas DTG auxiliam a distinção dos eventos de perda de massa por meio da taxa de decomposição em função da temperatura (ANDRADE *et al.*, 2020).

A Tabela 3.7 registra os dados extraídos das curvas TG para farinha e amido de amaranto.

Tabela 3.7 – Resultados de termogravimetria para amido de amaranto extraído por método aquoso e assistido por ultrassom

Amostra	1ª etapa			Estabilidade	2ª etapa			3ª etapa			4ª etapa		
	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$		$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
Farinha	8,72	30-153	73,11	-	10,34	153-248	214,39	53,71	248-410	298,79	22,73	410-692	461,86
Nativo 27 °C	11,65	30-163	77,06	163-232	61,66	232-405	331,02	24,52	405-612	523,62	-	-	-
Nativo 45 °C	9,55	30-150	80,72	150-166	60,43	166-388	303,92	25,94	388-609	507,72	-	-	-
15 min 40%	9,52	30-161	79,49	161-249	62,16	249-397	331,45	26,12	397-611	525,58	-	-	-
45 min 40%	11,20	30-158	72,71	158-227	64,24	227-410	334,43	21,70	410-596	521,96	-	-	-
15 min 80%	10,37	30-161	86,75	161-218	61,04	218-395	321,52	28,00	395-607	519,06	-	-	-
45 min 80%	9,69	30-157	78,03	157-245	65,00	245-410	333,89	21,24	410-580	523,63	-	-	-
30 min 60% 1	8,33	30-160	92,46	160-242	64,24	242-399	334,11	26,29	399-601	520,66	-	-	-
30 min 60% 2	9,56	30-164	79,72	164-262	66,94	262-412	336,03	21,32	412-584	518,94	-	-	-
30 min 60% 3	9,54	30-159	86,86	159-246	64,80	246-411	332,07	22,90	411-599	519,93	-	-	-
9 min 60%	9,44	30-161	93,64	161-244	58,76	244-389	323,51	27,34	389-595	488,54	-	-	-
30 min 88%	9,28	30-147	81,56	147-187	68,26	187-406	301,57	22,49	406-619	495,54	-	-	-
51 min 60%	10,30	30-152	78,27	152-239	65,59	239-400	334,77	22,70	400-576	528,07	-	-	-
30 min 32%	11,12	30-164	84,47	164-232	61,26	232-400	330,59	26,17	400-608	527,07	-	-	-

Notas:  $\Delta m$ , variação de massa (%);  $\Delta T$ , variação de temperatura ( $^\circ\text{C}$ ),  $T_p$ , temperatura de pico ( $^\circ\text{C}$ ).

Valores que apresentam cor verde foram inferiores à amostra de amido extraído com metodologia aquosa a 27 °C (controle). Valores que apresentam cor vermelha foram superiores à amostra de amido extraído com metodologia aquosa a 27 °C (controle).



A extração sob temperatura de 45 °C reduziu a estabilidade térmica do amido de amaranto quando comparado ao nativo. Com a extração assistida por US, observou-se um aumento na estabilidade dos amidos.

Xu *et al.* (2019) relataram um aumento na temperatura de degradação térmica de cogumelo *Ganoderma lucidum* após US, com redução da perda de massa do polissacarídeo para a decomposição pirolítica, em temperaturas elevadas (300–600 °C), quando comparado ao controle. Portanto um aumento da estabilidade térmica também foi encontrado.

Este incremento também pode ser relacionado ao aumento da porosidade devido aos efeitos ultrassônicos no amido. O aumento no número de poros pode favorecer a entrada de ar nos grânulos, que atua como isolante térmico, aumentando, portanto, a estabilidade ao aumento da temperatura. Por outro lado, pode também contribuir para oxidação da matéria orgânica.

Apenas as amostras extraídas a 15 min 80%, 45 min 40% e 30 min 88% apresentaram redução neste parâmetro, sendo mais expressivo este decréscimo para o tratamento mais intenso realizado (30 min 88%), que se assemelhou à extração aquosa 45 °C.

O ultrassom é capaz de degradar as cadeias de amido, sendo que as cadeias de comprimento mais longo e lineares são afetadas mais rapidamente que moléculas com peso molecular mais baixo. Moléculas maiores têm tempos de relaxamento mais longos, portanto mais facilmente rompidos por US. Assim, estas mudanças no comportamento térmico podem estar relacionadas ao colapso das bolhas com alta intensidade no meio líquido, liberando uma grande quantidade de energia, ocasionando o aparecimento de pontos quentes na suspensão. Esta energia auxilia na quebra da molécula de amido ou na desfragmentação estrutural, fazendo com que o alinhamento entre a amilose e amilopectina seja perdido. Assim, as moléculas de amido dispersas no meio líquido podem ser unidas com diferentes forças atrativas (CUI; ZHU, 2021).

A partir disso, podem ocorrer diferenças nas temperaturas de estabilidade do amido.

Conforme apontado por Bet *et al.* (2018a) a segunda perda envolve a despolimerização das cadeias de amilose e amilopectina. A amilose apresenta endoterma de fusão de 140°C a 180°C, e a presença de ácidos graxos livres ou lipídios

favorece a formação de complexos de inclusão. Por outro lado, a amilopectina retrograda numa taxa muito menor durante um longo período de tempo, e sua endoterma de fusão é menor, aproximadamente, 45°C a 60°C (DENARDIN; SILVA, 2009).

Lemos *et al.* (2019) realizaram a separação de frações de amilose e amilopectina e ao analisar as curvas termogravimétricas dessas moléculas identificaram que a temperatura de início de decomposição foi de aproximadamente 200 °C. Como consequência, houve a eliminação de grupos poli-hidroxila, despolimerização da cadeia e decomposição, produzindo compostos de carbonila (provavelmente aldeídos) além de CO (monóxido de carbono), CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono), CH<sub>4</sub> (metano), C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (etileno) e C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O (oxireno).

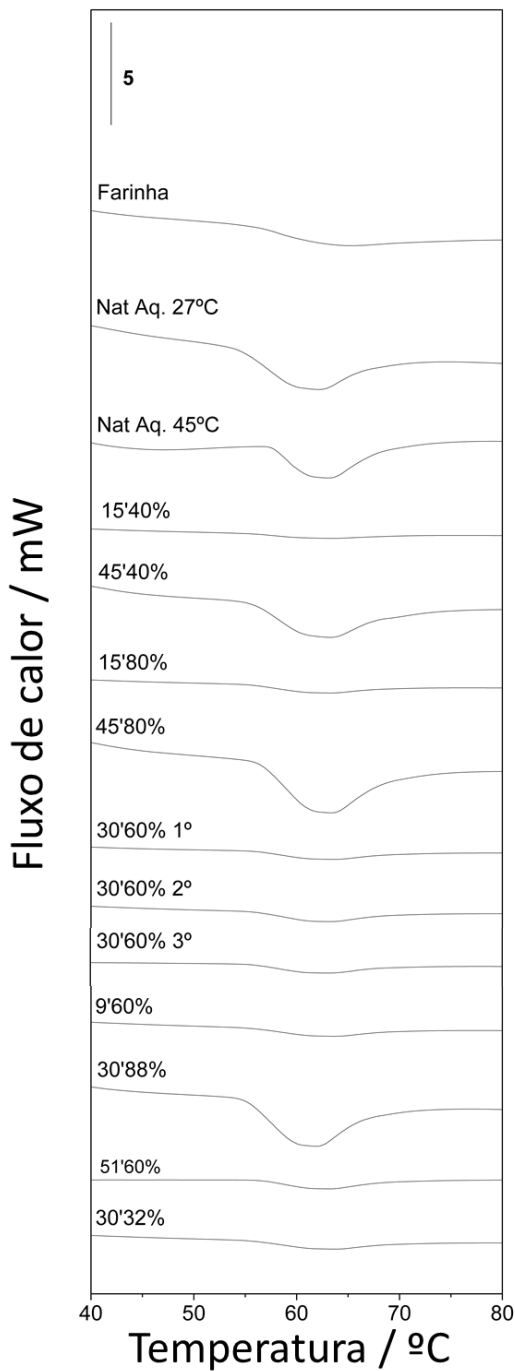
Acima de 300 °C, Zhang, Golding e Burgar (2002) relataram que ocorre a condensação térmica entre grupos OH e ligações cruzadas, uma vez que a eliminação da água favorece a formação de ligações éter. Após a quebra da glucose pode haver a formação de grupos aldeídos como terminais (-CHO) (PINEDA-GÓMEZ; ROSALES-ROVERA; RODRÍGUEZ-GARCÍA, 2012).

Continuando o aquecimento, anéis aromáticos são formados, a exemplo de fenol substituído e furano com -CH<sub>2</sub> ou -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>, como ligantes principais entre os anéis. Após 400 °C estrutura do amido se desintegra. E com a carbonização a temperaturas acima de 500 °C há um aumento da intensidade de carbonos aromáticos em relação aos alifáticos (ZHANG; GOLDING; BURGAR, 2002). Com isso finaliza-se a terceira etapa, devido à formação de das cinzas.

#### 3.4.5.5 Calorimetria exploratória diferencial

Aquecer os grânulos de amido na presença de água provoca o inchamento devido ao rompimento da estrutura cristalina e ligações de hidrogênio formadas entre a água e os grupos OH da amilose e amilopectina (SINGH *et al.*, 2003). Este fenômeno de gelatinização pode ser avaliado por DSC, representado pelo evento endotérmico exibido por todas as amostras, conforme mostrado na Figura 3.9.

Figura 3.9 – Curvas DSC para a amido de amaranto nativo extraído por metodologia aquosa e assistida por US.



\* O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

Observou-se um deslocamento para direita do início da curva de gelatinização do amido sugerindo um aumento da temperatura inicial. O estreitamento do pico relacionado ao tratamento de ultrassom pode sugerir que a sonicação distorceu as

partes amorfas e não organizadas do grânulo de amido e, em seguida, a homogeneidade do amido aumentou (AMINI; RAZAVI; MORTAZAVI, 2015).

Os resultados referentes ao estudo da gelatinização do amido de amaranto extraído de maneira aquosa e por ultrassom estão apresentados na Tabela 3.8.

Tabela 3.8 – Resultados DSC para amido extraído por US e processo aquoso

Ensaio	t (min)	Ampl. (%)	T <sub>o</sub> /°C	T <sub>p</sub> /°C	T <sub>c</sub> /°C	ΔT/°C	ΔH <sub>gel</sub> / Jg <sup>-1</sup>
	Farinha		55,82±0,21	62,12±0,29	69,77±0,13	13,95±0,32	2,43±0,34
1	Nativo 27 °C		54,30±0,05 <sup>g</sup>	60,18±0,01 <sup>f</sup>	66,50±0,17 <sup>ef</sup>	12,20±0,12 <sup>cde</sup>	7,17±0,14 <sup>cd</sup>
2	Nativo 45 °C		57,76±0,04 <sup>a</sup>	63,09±0,04 <sup>a</sup>	67,66±0,04 <sup>d</sup>	9,90±0,07 <sup>f</sup>	5,55±0,07 <sup>e</sup>
3	15	40	55,10±0,16 <sup>ef</sup>	61,69±0,08 <sup>cd</sup>	69,61±0,58 <sup>a</sup>	14,52±0,71 <sup>a</sup>	5,20±0,30 <sup>e</sup>
4	45	40	55,72±0,04 <sup>c</sup>	61,69±0,33 <sup>cd</sup>	67,58±0,20 <sup>de</sup>	11,87±0,23 <sup>de</sup>	6,74±0,18 <sup>d</sup>
5	15	80	55,30±0,06 <sup>de</sup>	61,24±0,10 <sup>e</sup>	67,64±0,15 <sup>d</sup>	12,34±0,11 <sup>bcd</sup>	7,26±0,14 <sup>cd</sup>
6	45	80	56,41±0,07 <sup>b</sup>	62,30±0,35 <sup>b</sup>	68,35±0,10 <sup>bcd</sup>	11,94±0,17 <sup>de</sup>	8,62±0,14 <sup>b</sup>
7	30	60	55,82±0,03 <sup>c</sup>	61,72±0,09 <sup>cd</sup>	69,28±0,71 <sup>ab</sup>	13,46±0,72 <sup>ab</sup>	8,78±0,25 <sup>b</sup>
8	30	60	55,82±0,04 <sup>c</sup>	61,70±0,05 <sup>cd</sup>	67,80±0,13 <sup>d</sup>	11,98±0,11 <sup>de</sup>	9,02±0,11 <sup>b</sup>
9	30	60	55,74±0,04 <sup>c</sup>	61,42±0,04 <sup>de</sup>	69,14±0,77 <sup>abc</sup>	13,40±0,73 <sup>ab</sup>	8,57±0,08 <sup>b</sup>
10	8,8	60	55,25±0,14 <sup>ef</sup>	61,64±0,06 <sup>cde</sup>	68,01±0,06 <sup>cd</sup>	12,76±0,16 <sup>bcd</sup>	7,52±0,20 <sup>c</sup>
11	30	88,3	55,05±0,05 <sup>f</sup>	60,44±0,02 <sup>f</sup>	66,14±0,18 <sup>f</sup>	11,09±0,23 <sup>ef</sup>	7,67±0,33 <sup>c</sup>
12	51,2	60	56,58±0,03 <sup>b</sup>	63,15±0,03 <sup>a</sup>	69,52±0,21 <sup>a</sup>	12,94±0,20 <sup>bcd</sup>	10,25±0,09 <sup>a</sup>
13	30	31,7	55,50±0,05 <sup>d</sup>	61,91±0,04 <sup>bc</sup>	68,71±0,52 <sup>abcd</sup>	13,21±0,54 <sup>bc</sup>	8,47±0,16 <sup>b</sup>

Notas: Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

Valores que apresentam cor verde foram estatisticamente inferiores à amostra de amido extraído com metodologia aquosa a 27 °C (controle). Valores que apresentam cor vermelha foram estatisticamente superiores à amostra de amido extraído com metodologia aquosa a 27 °C (controle).

\*t, tempo; Ampl, amplitude de vibração, T<sub>o</sub>, temperatura onset; T<sub>p</sub>, temperatura de pico; T<sub>c</sub>, temperatura de conclusão, ΔT, faixa de temperatura, ΔH<sub>gel</sub>, entalpia de gelatinização

A farinha de amaranto apresentou entalpia inferior à farinha de arroz negro (4,4 J g<sup>-1</sup>) (ITO *et al.*, 2018). O estudo da gelatinização de amido em farinhas é mais complexo, porque as interações entre o amido e outros componentes pode ocorrer. Os açúcares normalmente presentes na farinha podem atrasar a gelatinização. Este comportamento está relacionado com a diminuição da atividade de água por açúcares assim como interações entre açúcares e cadeias de amido (TORRES *et al.*, 2013). Por isso, quando se observa os resultados para farinha, visualiza-se uma baixa entalpia de gelatinização, devido à limitação do inchamento do grânulo pela presença de outros componentes e não só o amido.

Como visto pela composição proximal, a farinha de amaranto apresenta alto teor de fibras e proteínas, que interferem diretamente na gelatinização pela disputa da água. Esse fato pode estar relacionado às interações específicas que ocorrem entre os diferentes componentes da farinha. Nesse sentido, os lipídeos desempenham um papel importante, devido à natureza carregada dos monoésteres de fosfato. Isso aumenta a repulsão eletrostática entre as moléculas, o que resulta na promoção ou supressão das propriedades de gelatinização do amido dependendo da fonte botânica (LIU, 2005).

O amido de amaranto nativo exibiu temperatura e entalpia de gelatinização inferiores ao:

- a) Amido de aveia nativo:  $T_o$ : 57,35 °C,  $T_p$ : 64,45 °C e  $T_c$ : 69,31 °C, e  $\Delta H_{gel}$ : 9,00 J g<sup>-1</sup> (FALSAFI *et al.*, 2019);
- b) amido de milho:  $T_o$ : 69,80 °C;  $T_p$ : 74,48 °C e  $T_c$ : 79,52 °C, e  $\Delta H_{gel}$ : 11,215 J g<sup>-1</sup> (HUANG; LI; FU, 2007).

Amidos com maior teor de amilose apresentam maior região amorfa e menor fração cristalina, com isso, possuem menores temperaturas de gelatinização (SASAKI *et al.*, 2000). Temperaturas mais elevadas de transição têm sido associadas a amidos de maior cristalinidade, a qual confere maior estabilidade estrutural ao amido, exigindo maiores temperaturas para gelatinizar (SINGH *et al.*, 2003). Porém, no caso do amaranto, isso parece não ser uma regra, já que ele apresenta temperaturas mais baixas. Isso se deve a uma correlação significativa entre a estrutura fina de amilopectina e os parâmetros térmicos, conforme discutem Perez-Rea e Antezana-Gomez (2018).

Singh *et al.* (2014) obtiveram valores superiores para o amido de *Amaranthus hypochondriacus*, sendo:  $T_o$  60,5 – 63,3 °C,  $T_p$  65,1-67,1 °C,  $T_c$  70,9-74,4 °C,  $\Delta H_{gel}$  de 11,6-14,4 J g<sup>-1</sup>. Em relação às diferentes espécies de amaranto, Zhu (2015b) relata que isso pode impactar nas diferenças entre as propriedades térmicas.

O amido de *A. caudatus* apresentou (1:2 p/v; razão de aquecimento 5 °C min<sup>-1</sup>)  $T_o$  51-53 °C,  $T_p$  56-57 °C e  $T_c$  63-65 °C,  $\Delta H_{gel}$  de 1,2-1,6 cal g<sup>-1</sup> (TOMITA, 1981). Já, para uma razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> a  $T_o$  foi de 69,5 °C,  $T_p$  de 73,4 °C e  $T_c$  89 °C,  $\Delta H_{gel}$  de 13,5 J g<sup>-1</sup> (TAPIA-BLACIDO; SOBRAL; MENEGALLI, 2010), ressaltando que estes autores extraíram o amido pelo método alcalino (com adição de NaOH).

Gutiérrez-Cortez *et al.* (2021) encontraram  $T_o$  foi de 62,5 °C,  $T_p$  de 67,9 °C e  $T_c$  72,7 °C, não observando complexos amilose-lipídeos, e  $\Delta H_{gel}$  de 10,6 J g<sup>-1</sup>, sugerindo que o amido de amaranto tem estrutura cristalina altamente ordenada.

Kong, Bao e Corke (2009) encontraram para 15 espécies de amaranto valores de:  $T_o$  entre 63-72,5°C;  $T_p$  entre 68,8 -77,8 °C;  $T_c$  entre 78,8-83,7, enquanto a entalpia entre 15,0-18,4 J g<sup>-1</sup>. Quando identificaram amido com menor teor de amilose, menores temperaturas de transição e entalpia de gelatinização foram exibidas. O amido que apresentou os maiores valores foi associado aos maiores teores de amilose e também aos maiores comprimentos das cadeias de amilopectina (e estas amostras também apresentaram maior viscosidade de pico).

Han *et al.* (2021) identificaram que a modificação por US de amido de ervilha aumentou o teor de amilose de 34,08% para 37,82%. Este comportamento foi devido à despolimerização parcial de cadeias de amilopectina pelo tratamento de ultrassom, aumentando o número de fragmentos lineares, e conseqüentemente, o conteúdo de amilose nos grânulos de amido. Isso pode corroborar com a discussão abaixo sobre um aumento da  $T_o$  e da  $\Delta H_{gel}$  dos amidos extraídos por US, bem como nos resultados obtidos por DRX.

Tanto após a extração com água a 45 °C, quanto com o US percebeu-se um ligeiro aumento da temperatura de início de gelatinização ( $T_o$ ), assim como Huang, Li e Fu (2007) relataram para amido de milho sonicado.  $T_p$ ,  $T_c$  e faixa de temperatura também aumentaram.

Zhu (2015b) discute que a  $T_o$  está negativamente correlacionada com o número de blocos por *cluster* (modo de organização das ramificações localizadas na parte interna da amilopectina) e positivamente correlacionada com o comprimento da cadeia interbloco. O amaranto possui aproximadamente 6 blocos por *cluster* e a distância entre as ramificações dentro do *cluster* é de 6,8 resíduos de glucose.

Isso vai de encontro ao relatado por Vamadevan *et al.* (2013). Estes autores apontaram que os amidos que apresentam mais espaços curtos entre os clusters, aumentam a quantidade de duplas hélices não paralelas, e, portanto, não orientadas, as quais, embora estejam dentro das lamelas cristalinas, não contribuem com a formação dos cristalitos. Quanto maiores estes espaços, é possível permitir o realinhamento das duplas hélices. Assim, o aumento da entalpia poderia estar relacionado ao alongamento e alinhamento das duplas hélices dentro do cluster.

Conclui-se, portanto que: quanto maior o espaço interblocos, menor a quantidade de blocos por cluster, permitindo o realinhamento de duplas hélices e maior alongamento. Conseqüentemente, haverá um aumento na  $T_o$  e  $\Delta H_{gel}$ .

Analisando estas situações:

- a) Quanto maior a  $T_o$ , menor o número de blocos por cluster: Um menor número de blocos por *cluster* pode ter sido induzido durante a extração por US (devido às alterações promovidas nas cadeias, já que houve mudança na cristalinidade relativa);
- b) quanto maior o comprimento de cadeia, maior a  $T_o$ : A irradiação ultrassônica mais intensa pode levar a uma distorção adicional das regiões cristalinas, o que requer mais energia do que o rompimento de regiões amorfas, em última análise, desenrolando as hélices duplas e reduzindo a porcentagem da cadeia A (que tem menor grau de polimerização), mantendo cadeias mais longas (YANG *et al.*, 2019).

As cadeias longas de amilopectina (peso molecular entre 69-100) também foram positivamente correlacionadas com maior energia para serem gelatinizadas, influenciando as temperaturas de pico e de conclusão por Zhang *et al.* (2020).

Assim, quanto maior a cadeia, maiores  $T_p$  e  $T_c$ . Além disso, as maiores cadeias têm impacto negativo na cristalinidade (VAMADEVAN *et al.*, 2013) (o que pode estar relacionado com a análise de DRX, em que menor cristalinidade foi observada após extração por US).

Vamadevan *et al.* (2013) discutem que amidos com temperaturas de gelatinização mais altas se devem à estrutura interna da amilopectina, que determina e influencia o empacotamento ideal das hélices duplas dentro das lamelas cristalinas. Para eles, existe uma correlação positiva entre o comprimento dos segmentos da cadeia interna entre as menores unidades ramificadas (os blocos de construção) na amilopectina e a temperatura inicial de gelatinização dos grânulos. Eles também descobriram que a  $\Delta H_{gel}$  se correlaciona com o comprimento das cadeias externas.

Assim,  $T_o$  alta pode ser demandada por maiores quantidades de cadeias de amilopectina longas ( $69 < DP < 100$ ), que podem formar mais hélices duplas que requerem uma temperatura mais alta para se dissociar (YUAN; THOMPSON; BOYER, 1993).

Kong *et al.* (2008) também encontraram correlação positiva entre cadeias mais longas de amilopectina e  $T_o$ ,  $T_p$ ,  $T_c$  e entalpia de gelatinização para diferentes

espécies de amaranto. Baixo grau de polimerização (DP 6-12) apresentam menores temperaturas de gelatinização e entalpia.

Isso se consolida também para amido de amaranto, já que Singh *et al.* (2014) comprovaram que quanto maior o número de cadeias curtas de amilopectina menores as temperaturas de transição do amido deste grão. Quanto maior o número de cadeias médias e longas, maiores as temperaturas de transição. Com isso, a amilopectina com cadeias mais longas formou uma estrutura helicoidal dupla mais estável e exigiu mais energia para a ruptura, enquanto as cadeias mais curtas de amilopectina foram interrompidas em temperatura mais baixa devido à ausência de uma rede cristalina forte.

Zhu (2015b) também relata que o aumento da  $T_o$  pode estar relacionado à erosão inicial e ruptura da região amorfa nos grânulos, exigindo maior temperatura para início da gelatinização.

Bernardo *et al.* (2018) identificaram um aumento para  $T_o$  de amido de cará-do-ar extraído por US. Eles justificaram o comportamento pelo derretimento dos cristais mais fracos, influenciados pelo ultrassom, deixando apenas os cristais mais fortes com longas cadeias de amilopectina.

Isso corrobora com a diminuição da cristalinidade relativa por DRX observada no amido de amaranto, sendo os cristais mais fracos impactados, sobrando cristais de maior resistência, exigindo maior entalpia de gelatinização, como também observado na Tabela 3.8. O aumento destes parâmetros pode evidenciar uma reordenação mais perfeita da região cristalina, proporcionando maior estabilidade (LIU *et al.*, 2009).

As temperaturas de gelatinização refletem a proporção de cristalitos associados à ordem molecular. A  $T_o$  está associada ao início da gelatinização, quando os cristalitos mais fracos vão sendo desestabilizados, enquanto a  $T_c$  está relacionada aos cristalitos mais estáveis termicamente. O amido de amaranto apresentou  $T_o$  e  $T_c$  mais altas que o amido nativo (exceto  $T_c$  para 30 min 88 que também teve maior CR), sugerindo cristalitos mais estáveis (TAO *et al.*, 2019). Já, a  $T_p$  é sugerida como um indicador da qualidade do cristalito relacionado ao comprimento da dupla hélice (ZHU, 2005b).

Karaman, Tuncel e Tuncel (2017) obtiveram  $T_o$  entre 54-60 °C para amido de leguminosas (feijão mungo, ervilha e lentilha) e que não sofreram grandes impactos da extração com US. Eles sugeriram que os parâmetros usados não foram suficientes



para ocasionar grandes alterações da estrutura cristalina, por conseguinte, na gelatinização também não.

Não foram detectadas mudanças nas temperaturas de transição de amido de arroz extraído por US e protease, que foram associadas à ausência de alterações na região cristalina (WANG; WANG, 2004). Yu *et al.* (2013) indicam que ao utilizar potências abaixo de 500 W, pouca ou nenhuma influência foi ocasionada em amido de arroz. Porém, ao empregar potência de 1000 W as alterações se tornam evidentes.

Yang *et al.* (2019) também não encontraram alterações nas temperaturas de transição para amido de arroz modificado com US em diferentes potências.

O impacto do US nos amidos pode diferir pela fonte botânica, concentração do meio, temperatura, composição do amido, tipo de equipamento utilizado. Estes fatores dificultam a comparação direta de dados experimentais entre diferentes autores (ZHU, 2015b).

A aplicação do US ocasionou alterações na entalpia de gelatinização do amido de amarantho, exceto para os tratamentos 45 min 40%, 15 min 80%, 30 min 88% e 9 min 60%.

Para estas amostras em que houve um ligeiro aumento da  $T_o$ , porém sem diferença significativa para  $\Delta H_{gel}$ , Vamadevan *et al.* (2013) discutem que pode ter ocorrido a otimização do empacotamento das hélices duplas que foram desorientadas (desempacotadas) e ordenação de extremidade das hélices duplas que foram descompactadas em cristalitos. Por isso, não houve alteração da entalpia.

González-Lemos *et al.* (2018) constataram alterações na  $\Delta H_{gel}$  de amido de raízes de jicama extraído por US e sugeriram a presença de fibras solúveis (pectinas ou frutano) ou insolúveis (resíduo de parede celular ou parênquima) que podem interferir na gelatinização e aumentar a entalpia, mesmo em pequenas proporções.

A energia necessária para gelatinização se refere a perda da ordem molecular do grânulo de amido e pode estar correlacionada à cristalinidade dos aglomerados de amido (TAO *et al.*, 2019). Segundo Garcia *et al.* (2016), a  $\Delta H_{gel}$  é definida como a energia necessária para romper as ligações de hidrogênio nas regiões cristalinas do grânulo, e, sendo assim, uma maior fração de região cristalina induz uma maior entalpia.

Porém, neste estudo, esta relação não foi encontrada, uma vez que mesmo com a diminuição da cristalinidade relativa, nem sempre a entalpia mostrou uma redução.

O aumento da entalpia parece estar associado à presença de cristais mais fortes, enquanto que a redução da entalpia (extração aquosa 45 ° e por US 15 min 40%) pode estar relacionada ao enfraquecimento da região amorfa e cristalina, ou ruptura da cristalinidade do amido (ZHU, 2015b), como o encurtamento do comprimento da cadeia de amilopectina (YANG *et al.*, 2019). Vale lembrar que o tipo de amido e as condições de ultrassom podem influenciar nas propriedades térmicas.

Park *et al.* (2016) e Jambrak *et al.* (2010) relatam que a redução observada na  $\Delta H_{gel}$  se deve à quebra das interações entre hélices das regiões cristalinas formadas por amilopectina de dupla hélice causada pela intensidade do ultrassom. Isso pode ser facilitado pela reatividade da água que é aumentada durante a cavitação e pressões elevadas. Com isso, há um aumento do processo de difusão da água nos grânulos, principalmente na fase amorfa; favorecendo a quebra da estrutura cristalina.

Distorção das regiões cristalinas por íons  $H^+$  liberados durante ionização sonoquímica das moléculas de água também podem contribuir para diminuição da  $\Delta H_{gel}$ , conforme discutido para amido de aveia tratado por US (FALSAFI *et al.*, 2019).

Sandhu e Singh (2007) reiteram que a variação da energia de gelatinização obtida pode ser explicada por diferenças entre as forças de ligação da dupla hélice formando a cristalografia de amilopectina, que após a exposição ao US, resultou em diferentes alinhamentos das ligações de hidrogênio dentro das moléculas de amido. E é justamente esta perda da ordem helicoidal responsável pelas variações na entalpia de gelatinização.

Zhou *et al.* (2004) complementam esta discussão, apontando que a entalpia de gelatinização reflete a perda da dupla hélice ao invés da ordem cristalina. Quando se observa um alto valor de  $\Delta H_{gel}$  implica que as interações entre as hélices duplas (que estão agrupadas) nas regiões cristalinas são talvez mais difundidas devido a cadeias mais longas na amilopectina, conforme discutido por Zhou *et al.* (2004).

Vamadevan *et al.* (2013) afirmam que quando não ocorre nenhuma diferença na entalpia de gelatinização, é indício que nenhuma mudança ocorreu na ordem da dupla hélice ou no número de ligações de hidrogênio. Porém, um aumento pode ser explicado por maior número de duplas hélices ou mais ligações de hidrogênio estabilizadoras ou interações intermoleculares entre as duplas hélices, além de um possível alongamento das duplas hélices pela otimização das ligações intra-hélices.

Isso corrobora com Yang *et al.* (2019) que afirmam que há correlação positiva entre o comprimento da cadeia de amilopectina e a entalpia, já que se demanda maior energia para dissociação das duplas hélices mais longas em relação às curtas.

Já Huang, Li e Fu (2007) entendem que este aumento pode ser devido ao comprometimento da amilose, e a desestabilização da amilopectina.

Yu *et al.* (2013) também discutem que o aumento da entalpia pode estar associado a uma pré-gelatinização do amido devido ao aquecimento durante a exposição ao US, principalmente em amplitudes de vibração maiores. Neste caso, o dano estrutural causado pelo ultrassom de alta potência facilita a penetração das moléculas de água nos grânulos de amido, forçando a lixiviação da amilose do interior do amido. A amilose, portanto, pode gelatinizar parcialmente na superfície do amido sob alta temperatura local, o que impede a penetração de água subsequente e causa o aumento da entalpia. Yang *et al.* (2019) também relataram gelatinização parcial da superfície de amido de arroz.

Monroy; Rivero; García (2018) identificaram que durante a modificação de amido de mandioca por US sem o uso de banho de gelo, ocorreu a gelatinização do amido. E, mesmo com o uso de banho de gelo ainda assim, ocorreu a gelatinização parcial do amido, devido à geração de energia calórica e mecânica.

A presença de proteínas no amido de amaranto pode afetar a gelatinização regulando o inchamento e a lixiviação da amilose podendo resultar em um gel fraco. Caso a proteína esteja hidrolisada, pode ocasionar efeitos em menor extensão (CORKE; CAI; WU, 2016).

No caso das amostras que tiveram uma redução da entalpia, Bernardo *et al.* (2018) também relatou este comportamento para o amido de cará-do-ar extraído por US. Bento *et al.* (2021) perceberam que a redução da entalpia de amido de lírio guirlanda-branco foi menor em tratamentos que duraram de 15 a 21 min de exposição ao US. Eles associaram os resultados às diferenças entre as forças de ligação da dupla hélice, as quais quando apresentam alinhamentos de ligações de hidrogênio diferentes dentro das moléculas de amido, resultam nas alterações da entalpia. Quando a dupla hélice é rompida, a energia também é reduzida, mesmo que a estrutura cristalina seja pouco afetada.

Portanto, as propriedades de inchamento e gelatinização são controladas, em parte, pela estrutura molecular da amilopectina (comprimento de cadeia, extensão de ramificação, peso molecular), composição do amido (proporção amilose:amilopectina

e teor de fósforo) e arquitetura granular (proporção de regiões cristalinas e amorfas). (SINGH *et al.*, 2003).

A faixa de temperatura de gelatinização ( $T_c - T_o$ ) reflete a estabilidade e homogeneidade dos cristais de amido. Quando ocorre a ruptura das frações cristalinas fracas e menos organizadas do amido, isso pode melhorar a homogeneidade da estrutura granular do amido em direção a remanescentes cristalinos bem ordenados. Assim, a faixa de gelatinização será mais estreita, indicando menor heterogeneidade dos cristais, permitindo gelatinizar em faixas inferiores, exigindo menor energia térmica. Caso a faixa de gelatinização seja maior, indica maior heterogeneidade dos cristais, exigindo maior faixa de energia térmica para ocasionar a gelatinização. Bernardo *et al.* (2018) encontraram uma redução da faixa de temperatura de gelatinização para amido de cará-do-ar extraído por US.

As condições de extração podem afetar o rendimento de amido, mas também as características estruturais e funcionais. Assim, a análise de regressão múltipla usando o polinômio quadrático foi realizada a fim de verificar e prever propriedades do amido com base nas condições de operação do US. Foi possível gerar uma superfície de resposta para temperatura *onset* e temperatura de pico. O objetivo desta é determinar as condições de operação ótimas ou determinar a região do espaço em que as necessidades operacionais sejam satisfeitas. Por exemplo, é possível avaliar, desde que o modelo seja significativo ( $p < 0,05$  e alto coeficiente de determinação ajustado  $> 0,6$ ) o quanto as variáveis independentes (tempo e amplitude de vibração) podem impactar nas propriedades do amido.

Após eliminar os fatores não significativos considerando um nível de significância de 5% ( $p$ -valor  $< 0,05$ ), chegou-se a um modelo reduzido para  $T_o$  e  $T_p$ . O tempo e a amplitude de vibração não exerceram influência estatística significativa, para a  $T_c$ , faixa de temperatura e entalpia de gelatinização dentro do delineamento experimental, não considerando os controles. Portanto a comparação é dentro do delineamento composto central, avaliando se os fatores podem direcionar as características avaliadas.

No caso da  $T_{onset}$ , o efeito linear do tempo, quadrático da amplitude de vibração e a interação linear entre tempo e amplitude foram significativos. Para a  $T_p$ , os termos lineares e quadráticos do tempo e amplitude e o coeficiente de interação tempo e amplitude foram significativos, impactando este parâmetro, conforme apresentado na Tabela 3.9.

Tabela 3.9 – Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p) para cada fator em relação à  $T_{onset}$  e  $T_{pico}$  utilizando delineamento composto central rotacional

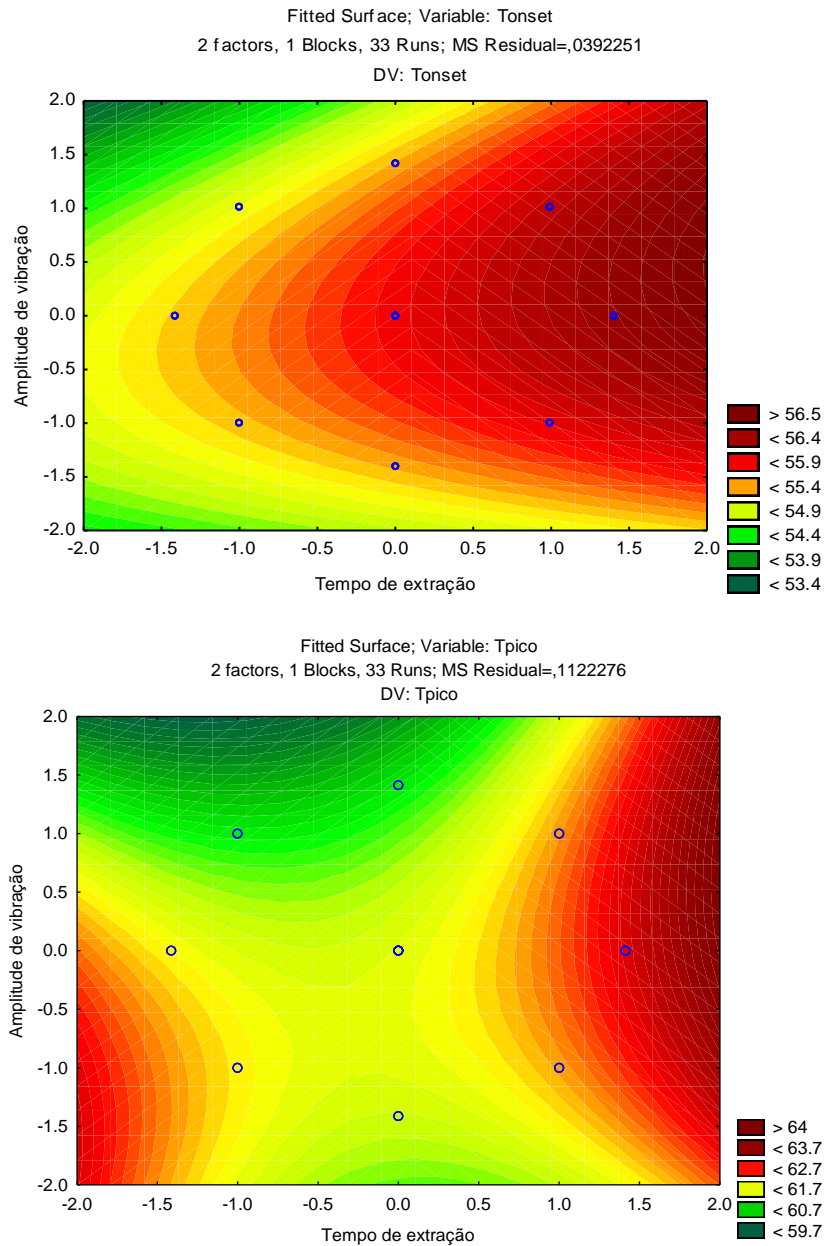
Fatores	Coefficientes de regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	-95% Confiança	+95% Confiança
$T_{onset}$						
Tempo (L)	0,45036	0,040427	11,140	<0,001	0,36767	0,53304
Amplitude (Q)	-0,27088	0,045990	-5,890	<0,001	-0,36494	-0,17682
Tempo x Amplitude	0,12167	0,057173	2,128	0,04	0,00473	0,23860
R <sup>2</sup>	0,84921					
R <sup>2</sup> ajustado	0,83361					
$y = 55,85882 + 0,45036x_1 - 0,27088x_2^2 + 0,12167x_1x_2$						
$T_{pico}$						
Tempo (L)	0,40103	0,068382	5,8645	<0,001	0,26072	0,54134
Tempo (Q)	0,37722	0,081391	4,6347	<0,001	0,21022	0,54422
Amplitude (L)	-0,24087	0,068382	-3,5224	0,002	-0,38118	-0,10056
Amplitude (Q)	-0,23361	0,081391	-2,8702	0,008	-0,40061	-0,06661
Tempo x Amplitude	0,26417	0,096707	2,7316	0,011	0,06574	0,46259
R <sup>1</sup>	0,77934					
R <sup>2</sup> ajustado	0,73848					
$y = 61,61222 + 0,40103x_1 + 0,37722x_1^2 - 0,24087x_2 - 0,23361x_2^2 + 0,26417x_1x_2$						

Notas: L = Linear; Q = Quadrático;  $x_1$  = tempo;  $x_2$  = amplitude de vibração; y = variável dependente

Para que um modelo de metodologia de superfície de resposta seja proposto deve-se levar em consideração a equação, o valor de  $R^2$  e  $R^2$  ajustado (calcula a proporção da variação na variável dependente influenciada pelas variáveis predictoras). A partir desta análise, percebe-se que a regressão explica 84,92% das variações na  $T_{onset}$  e de 77,93% para a  $T_{pico}$ . O  $R^2$  ajustado está próximo ao valor de  $R^2$  indicando que os modelos gerados com a MSR têm boa qualidade estatística, isto é, apontam um bom grau de correlação entre os valores reais e os valores previstos para as temperaturas em questão. Isso permite inferir que o modelo é preditivo nestes parâmetros. Assim, estabeleceu-se uma relação matemática entre os fatores e as respostas.

Os gráficos de contorno no plano bidimensional gerados pelo modelo estão apresentados abaixo (3.3), os quais auxiliam na interpretação do efeito das interações entre as variáveis no comportamento térmico dos amidos ( $T_o$  e  $T_p$ ).

Gráfico 3.3 – Efeito do tempo e amplitude de vibração na  $T_{onset}$  e  $T_p$  representados por gráfico de contorno.



Conforme identificado no Gráfico 3.3, o maior tempo de sonicação, somado à amplitudes de vibração intermediárias (60%) resultaram nas maiores temperaturas *onset*. O tempo foi a variável que impactou diretamente nas propriedades de gelatinização. Na temperatura de pico o comportamento foi similar, aumentando com o tempo de extração. A amplitude de vibração pode aumentar a  $T_p$  com o aumento gradativo. Ainda operando sob baixa amplitudes e curto intervalo de tempo, observa-se um aumento na  $T_p$ .

#### 3.4.5.6 Propriedades de pasta

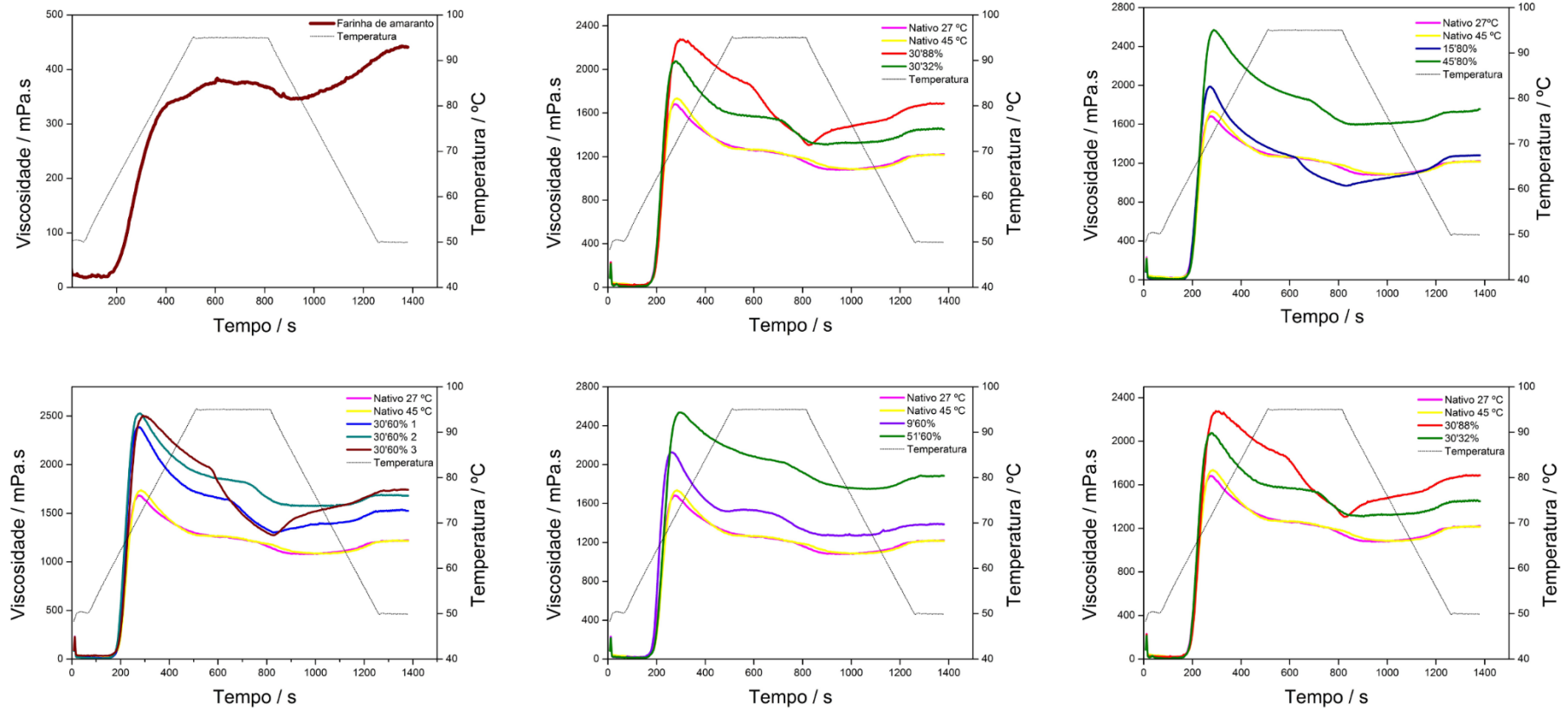
A temperatura de pasta se refere à mínima temperatura para cozimento do amido; a viscosidade de pico está relacionada à capacidade de retenção de água; *breakdown* é a quebra do amido frente ao cisalhamento. Retrogradação indica o reordenamento das cadeias do amido durante o resfriamento, propriedade diretamente relacionada com a textura. E a viscosidade final é a capacidade de se formar uma pasta após o cozimento ou resfriamento (COZZOLINO, 2016).

Conforme a Figura 3.10, ao analisar as propriedades de pasta da farinha e do amido de amaranto, percebe-se as alterações na viscosidade durante o aquecimento em excesso de água sob agitação constante. A viscosidade aumenta inicialmente pelo inchamento dos grânulos, várias vezes seu tamanho original, uma vez que o amido vai absorvendo a água e perde a ordem cristalina. Depois de atingir o pico de viscosidade, a ruptura e fragmentação dos grânulos de amido (*breakdown*) ocasiona a redução na viscosidade (KAUR; SINGH; RANA, 2010).

Finalizando, ocorre uma reorganização das cadeias, principalmente da amilose, favorecendo à retrogradação, reassociação ou reordenamento de moléculas de amido. Com a diminuição da temperatura, as moléculas de amilose e amilopectina lixiviadas tendem a se reassociar e alcançam a viscosidade final (HASHIMOTO; SCHNIELE; NABESHIMA, 2020).

A análise da farinha foi realizada, uma vez que sua utilização na indústria consiste basicamente em sua hidratação, seguida de tratamento térmico, que induz uma série de alterações, como gelatinização do amido, desnaturação proteica, interação entre componentes, entre outros. Estas transformações podem direcionar sua aplicação como espessante, gelificante, aglutinante ou estabilizante (YUAN *et al.*, 2021).

Figura 3.10 – Curvas RVA para amido de amaranto nativo e extraído por ultrassom



\* O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.



Observou-se que a farinha de amaranto apresentou menor viscosidade e maior tendência à retrogradação quando comparada ao amido. Isso já era esperado devido à complexidade da matriz. O alto teor de fibras, bem como, proteínas e lipídeos encontrados na farinha (como visto na composição centesimal) contribuem para este resultado.

Isso vai de encontro com o explicado por Yuan *et al.* (2021). Ao aquecer a farinha em suspensão pode-se desenvolver gradativamente viscosidade, a qual é totalmente dependente do amido. No entanto, este parâmetro é influenciado diretamente pela presença de proteínas, fibras, lipídeos, interações com o amido, distribuição do tamanho de partícula e presença de amido danificado. Há uma correlação negativa entre viscosidade e teor de fibra alimentar e proteínas.

A presença de lipídeos complexados a amilose por exemplo, pode favorecer o aumento da temperatura de pasta. Porém, Yuan *et al.* (2021) não verificou este comportamento para amaranto, devido ao baixo teor de amilose. Além disso, estes autores identificaram que altas temperaturas de cozimento enfraquecem a associação entre amido, proteína e fibra, permitindo que os grânulos de amido inchem em um grau mais alto para exibir viscosidades máximas.

Chung *et al.* (2008) complementam que as interações físicas descritas entre proteína/fibra e amido são susceptíveis de reduzir a quebra dos grânulos de amido.

Dessa forma, é possível visualizar que a quebra na viscosidade da farinha é muito inferior à quebra do amido isolado. Por outro lado, estas interações também limitam o aumento da viscosidade.

Com relação ao amido nativo de *A. caudatus*, os valores resultantes da análise de propriedades de pasta estão mostrados na Tabela 3.10, para a comparação com outros amidos.

Tabela 3.10 – Comparação de propriedades de pasta de amido de amaranto, arroz, milho normal e ceroso

Amido	T <sub>p</sub> (°C)	Viscosidade de pico (mPa.s)	Breakdown (mPa.s)	Viscosidade final (mPa.s)	Tendência à retrogradação (mPa.s)	Tempo de pico (s)	Referências
Nativo (27 °C)	<b>61,47±0,33</b>	<b>1683,33±65,06</b>	711,67±102,00	<b>1234,00±110,49</b>	<b>142,00±70,00</b>	<b>273,27±4,20</b>	
Arroz	75,1	-	1371	3461	1484	355,80	Benmoussa <i>et al.</i> , 2007
Arroz	90,05±0,07	1968,50±2,12	996,50±0,71	2372,03±0,04	1401,30±0,42	607,85±0,07	Gomes <i>et al.</i> , 2018
Milho ceroso	70,25±0,05	3005,5±0,50	1852,5±16,50	1545,0±7,00	412,0±3,00	360,5±0,50	Malucelli <i>et al.</i> , 2015
Milho	82,90	1766	<b>677</b>	1849	760	532,2	Siqueira <i>et al.</i> , 2017
Trigo	71,3±0,30	4563±3,00	2126±4,00	5856±28	3292±3	-	Pourmohammadi <i>et al.</i> , 2018
Mandioca	67,0±0,20	7355±38,00	4736±12,00	5038±15	1419±4	-	
Mandioca orgânica	62,65±0,49	4445±0,71	3227±2,12	2213±1,41	993±3,54	317±0,71	Andrade <i>et al.</i> , 2014

O amido de amaranto quando comparado aos cereais, leguminosas, raízes e tubérculos apresentou valores inferiores para as propriedades de pasta. Isso pode estar associado ao seu menor tamanho e ao conteúdo inferior de amilose, a qual tem correlação positiva com a viscosidade de pasta. Além disso, cadeias curtas de amilopectina (DP 6-22) foram relacionadas à baixas viscosidades, enquanto longas cadeias propiciam maior viscosidade (ZHU, 2015b). Apenas o valor da quebra ficou maior ao amido de milho (menor valor).

Destaca-se sua menor tendência à retrogradação, devido ao maior teor de amilopectina, tratando-se de um amido ceroso. Logo após a gelatinização do amido, a estrutura linear da amilose dá lugar à formação de uma hélice. Com a retrogradação há uma tendência de reorganização das cadeias de amilose, que voltam a se associar com a amilopectina. Quando o amido tem maior teor de amilopectina, e sendo esta, mais ramificada, a retrogradação ocorre mais vagarosamente (FU *et al.*, 2015).

Uma reorganização mais rápida promove grandes mudanças na textura da pasta, aumentando a firmeza, o que é indesejado na indústria, principalmente em produtos mantidos sob refrigeração ou congelamento (SANTACRUZ; RUALES; ELIASSON, 2003). A intensidade desta etapa dependerá do tempo e da temperatura de armazenamento do produto alimentício (MOHAMED *et al.*, 2006). Dessa maneira, avaliar o uso de amido de amaranto em produtos congelados ou refrigerados é interessante.

Singh *et al.* (2014) relataram  $T_p$  entre 69-71 °C, e alta viscosidade de pasta (3693-5184 cP), com *breakdown* de 64% (mesma proporção de quebra identificada neste estudo).

É importante ressaltar que diferentes espécies podem apresentar comportamentos diferentes (CORKE; CAI; WU, 2016). Kong, Bao e Corke (2009) observaram que amidos de algumas espécies de amaranto que possuíam menores teores de amilose, apresentaram menores valores de viscosidade de pico (103 RVU), e da pasta quente (73 RVU) e fria (96 RVU). Amidos com alto teor de amilose foram relacionados a géis rígidos e elásticos, enquanto o baixo teor resulta em géis fracos e não elásticos (CHEETAM; TAO, 1998).

Os resultados encontrados para amido de amaranto obtido por extração aquosa e assistida pelo ultrassom estão apresentados na Tabela 3.11. A extração por US de amido de amaranto resultou em diferença significativas das propriedades de pasta.

Tabela 3.11: Resultados de propriedades de pasta para o amido extraído por processo aquoso e assistido por ultrassom

Tratamento	T <sub>p</sub> (°C)	Viscosidade de pico (mPa.s)	Viscosidade mínima (mPa.s)	Breakdown (mPa.s)	Viscosidade final (mPa.s)	Tendência à retrogradação (mPa.s)	Tempo de pico (s)
Farinha	-	345,67±34,53	314,33±28,71	31,33±5,86	411,67±28,54	97,33±4,93	630,60±20,64
Nativo 27 °C	61,47±0,33 <sup>bc</sup>	1683,33±65,06 <sup>d</sup>	1079,67±80,50 <sup>de</sup>	711,67±102,00 <sup>c</sup>	1234,00±110,49 <sup>c</sup>	142,00±70,00 <sup>cd</sup>	273,27±4,20 <sup>de</sup>
Nativo 45 °C	<b>63,37±0,23<sup>a*</sup></b>	1834,67±153,41 <sup>cd</sup>	1123,67±51,73 <sup>cde</sup>	727,33±104,85 <sup>bc</sup>	1459,67±84,91 <sup>bc</sup>	323,33±38,28 <sup>abc*</sup>	<b>363,79±2,53<sup>a</sup></b>
15 min 40%	61,91±0,34 <sup>bc</sup>	<b>2587,33±279,50<sup>a</sup></b>	1195,33±89,51 <sup>cde</sup>	<b>1388,67±172,00<sup>a</sup></b>	1574,64±164,00 <sup>abc</sup>	<b>377,67±71,00<sup>ab</sup></b>	275,05±6,02 <sup>de</sup>
45 min 40%	61,93±0,31 <sup>bc</sup>	2289,33±254,00 <sup>abcd</sup>	<b>1347,00±83,02<sup>bc</sup></b>	940,67±182,51 <sup>abc</sup>	1605,67±154,50 <sup>abc</sup>	257,27±70,40 <sup>abcd</sup>	288,33±6,51 <sup>bcd</sup>
15 min 80%	62,05±0,28 <sup>ab</sup>	1861,67±125,51 <sup>bcd</sup>	1016,33±59,91 <sup>e</sup>	825,00±184,77 <sup>bc</sup>	1243,67±332,84 <sup>c</sup>	232,00±92,33 <sup>bcd</sup>	276,97±6,17 <sup>cde</sup>
45 min 80%	62,25±0,35 <sup>ab*</sup>	<b>2574,20±255,22<sup>a</sup></b>	<b>1595,33±81,00<sup>a</sup></b>	977,67±196,01 <sup>abc</sup>	<b>1754,37±152,46<sup>ab</sup></b>	159,87±70,20 <sup>cd</sup>	<b>290,52±4,75<sup>bc</sup></b>
30 min 60%	61,88±0,38 <sup>bc</sup>	<b>2389,87±260,20<sup>abc</sup></b>	1302,00±100,00 <sup>cd*</sup>	1089,67±177,51 <sup>abc</sup>	1523,30±152,96 <sup>abc</sup>	223,07±70,50 <sup>bcd</sup>	276,25±8,10 <sup>cde</sup>
30 min 60%	61,15±0,35 <sup>c</sup>	<b>2525,33±266,00<sup>ab</sup></b>	<b>1572,33±97,50<sup>ab</sup></b>	955,67±182,51 <sup>abc</sup>	<b>1682,33±163,00<sup>ab</sup></b>	109,67±47,00 <sup>d</sup>	283,64±5,51 <sup>bcd</sup>
30 min 60%	61,60±0,28 <sup>bc</sup>	<b>2504,67±130,00<sup>abc</sup></b>	1273,67±41,02 <sup>cd</sup>	<b>1266,33±75,04<sup>ab</sup></b>	<b>1740,67±60,51<sup>ab</sup></b>	<b>432,33±33,56<sup>a</sup></b>	275,93±4,10 <sup>cde</sup>
8,8 min 60%	61,12±0,45 <sup>c</sup>	2122,67±260,02 <sup>abcd</sup>	1265,00±84,07 <sup>cd</sup>	865,33±187,64 <sup>bc</sup>	1387,00±155,00 <sup>bc</sup>	119,00±69,51 <sup>d</sup>	263,08±5,99 <sup>e</sup>
30 min 88%	61,84±0,36 <sup>bc</sup>	2276,46±249,25 <sup>abcd</sup>	1307,13±80,40 <sup>cd</sup>	970,67±196,00 <sup>abc</sup>	<b>1689,50±159,66<sup>ab</sup></b>	<b>378,45±72,71<sup>ab</sup></b>	<b>294,57±1,89<sup>b</sup></b>
51 min 60%	61,91±0,32 <sup>bc</sup>	<b>2536,13±265,20<sup>ab</sup></b>	<b>1747,13±90,13<sup>a</sup></b>	788,00±188,01 <sup>bc</sup>	<b>1884,80±154,70<sup>a</sup></b>	135,17±70,55 <sup>cd</sup>	<b>294,96±4,37<sup>b*</sup></b>
30 min 32%	61,86±0,34 <sup>bc</sup>	2079,47±255,52 <sup>abcd</sup>	1309,83±80,65 <sup>cd</sup>	767,82±197,73 <sup>bc</sup>	1448,30±152,93 <sup>bc</sup>	140,13±70,20 <sup>cd</sup>	281,23±3,37 <sup>bcd</sup>

Notas: T<sub>p</sub>, temperatura de pasta (°C). Resultados expressos como média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística significativa (p<0,05) pelo Teste de Tukey.

Valores que apresentam cor vermelha foram estatisticamente superiores à amostra de amido nativo extraído com metodologia aquosa a 27 °C (controle).

A farinha de amaranto apresentou resultados de propriedades de pasta inferiores à farinha de banana (1107 mPa.s) e de mandioca (2692 mPa.s), embora o perfil da curva RVA tenha sido bastante similar à farinha de banana verde (RACHMAN *et al.*, 2021). Não foi possível detectar a temperatura de pasta durante a análise.

Kaur, Singh e Rana (2010) obtiveram para farinha de *A. caudatus* viscosidade de pico 1020 a 1906 cP, uma quebra de 352-855 cP, viscosidade final de 832-1360 cP, tendência à retrogradação entre 160-337 cP e temperatura de pasta de 69,4 a 71,5 °C. Estes valores foram superiores ao obtido no presente estudo, conforme mostrado na Tabela 3.11.

Rachman *et al.* (2021) discutiram que a proteína (correlação negativa com  $V_p$  e  $V_f$ ) é o parâmetro que mais influencia as propriedades de pasta da farinha, seguido pelos lipídeos, amilose e teor de carboidratos (correlação positiva com  $V_p$  e  $V_f$ ). Isso pode justificar a baixa viscosidade apresentada pela farinha de amaranto, já que estes componentes (proteínas e lipídeos) estão em quantidade superior quando comparado à farinha de banana verde e mandioca. O próprio conteúdo proteico pode reduzir a retrogradação da molécula de amilose durante o resfriamento, resultando em  $V_f$  mais baixas.

Quando comparadas às amostras de amido ao controle (extraído a 27 °C), pode-se observar que o US alterou algumas das propriedades de pasta do amido de amaranto. Estas alterações foram bem consistentes com o obtido por Han *et al.* (2021) em amido de ervilha modificado por US.

Somente os ensaios 5 (15 min 80%) e 10 (9 min 60%) não ocasionaram diferenças significativas nestes parâmetros. A principal alteração com a aplicação do US parece ocorrer na viscosidade do amido.

A temperatura de pasta dos amidos extraídos por US não apresentou diferença significativa em comparação à extração aquosa a 27 °C, embora nos ensaios 30 min 60% e 9 min 60% tenha havido uma redução. Bernardo *et al.* (2018) também observaram uma ligeira diminuição na temperatura de pasta de amido de cará-do-ar extraído por US.

A  $T_p$ , referida como a temperatura de pasta, está relacionada às forças que mantêm a integridade do amido, e corresponde ao ponto que há a maior presença de grânulos inchados. É um forte indicativo da temperatura necessária para o cozimento do amido e também relacionada ao início do processo de quebra, uma vez que há cisalhamento (KAUR; SINGH; RANA, 2010). No entanto, ela não reflete a verdadeira

temperatura inicial de gelatinização ( $T_{onset}$ ), tal como a medida por DSC (sem cisalhamento e com maior sensibilidade de resposta térmica), e também depende da concentração de amido. Antes de inchar o suficiente para ocasionar uma alteração na viscosidade há uma extensão significativa do processo de gelatinização que é detectada por DSC, mas não por RVA (NOISUWAN *et al.*, 2008; BAO, 2008).

Quando ocorre um aumento na temperatura de pasta, sugere-se uma maior força de interação entre a amilose e amilopectina, com formação de uma estrutura mais estável, o que dificulta a lixiviação da amilose (GOMES; SILVA; RICARDO, 2005).

A viscosidade de pasta não variou para a extração aquosa a 27°C ou a 45 °C. No entanto, quando o US foi utilizado, a viscosidade aumentou, exceto para os tratamentos 45 min 40%; 15 min 80%; 9 min 60%; 30 min 88% e 30 min 32%, em que não houve diferença significativa, embora os valores tenham sido mais elevados.

Quando os amidos são modificados por US, geralmente é observada uma redução na viscosidade, como relatado por Bernardo *et al.* (2018) na extração de amido de cará-do-ar por US; bem como para amido de arroz ceroso (ZUO *et al.*, 2009) e amido de batata doce (WANG *et al.*, 2020), modificados por US.

Este comportamento pode ser atribuído aos grânulos rompidos com menor capacidade de intumescimento. No entanto, dependendo das condições empregadas no US, a quebra de cadeias de amido em nível molecular pode não acontecer (conforme revelado por técnicas cromatográficas) (ZHU, 2015b), ou acontecer em diferentes proporções.

Contradizendo a redução na viscosidade, os próprios danos nos grânulos também podem facilitar a penetração da água para hidratação e retenção dela por ligação de hidrogênio com amilose e amilopectina, melhorando as propriedades de pasta, em especial a viscosidade (SANDHU; SINGH, 2007). Wang *et al.* (2017) explicam que o tratamento com US pode aumentar a solubilidade em água de polissacarídeos devido à destruição/perturbação de ligações intra e inter-moleculares não covalentes, resultando em grupos mais hidrofílicos expostos a moléculas de água para hidratação. Dessa forma, ao aquecer os grânulos de amido em água, as ligações de hidrogênio se rompem e há maior acessibilidade e interação com a água, promovendo o inchamento do amido.

Pinto *et al.* (2015) ainda complementam que o aumento da viscosidade obtido para amido de modificado por US pode estar relacionado ao afrouxamento da interação entre cadeias de amilose e amilopectina, causado pela cavitação.

Bento *et al.* (2021) apontam que o aumento da viscosidade também está relacionado a maior absorção de água pelo amido que foi sonicado. Isso se deve às modificações causadas em um nível estrutural, como ruptura de ligações intermoleculares, alterações morfológicas e de permeabilidade nos grânulos de amido. Essas mudanças podem aumentar a acessibilidade das moléculas de água aos grupos hidroxila livres de amilose e amilopectina, que aumentam a capacidade de absorção de água.

Zhu (2015b) ressalta que estes resultados são fortemente influenciados pelas condições de US, resultando em diferenças na alteração da estrutura das partes amorfas e cristalinas dos grânulos, os quais têm suscetibilidade diferente à ultrassonicação.

Han *et al.* (2021) observaram aumento na viscosidade de amido de ervilha modificado por US, e também associaram este incremento ao maior teor de amilose induzido pela sonicação. Hong *et al.* (2019) descobriram que amidos com maior teor de amilose conferem maior viscosidade.

Correlacionando com a difração de raios X, parece ter havido uma predominância de cadeias de maior grau de polimerização nos amidos extraídos por US, uma vez que houve redução da cristalinidade relativa. Lu, Chen e Li (1997) apontaram que em amido de arroz, as cadeias mais longas de amilopectina conferiram maior viscosidade. Isso poderia estar associado também ao amido de amaranto e parece ir de encontro com o que Zuo *et al.* (2009) relataram, em que houve uma redução das viscosidades de pico e final para amido de arroz ceroso sonicado devido à quebra de ligações C-C, e conseqüente redução do peso molecular da amilose e amilopectina.

Aumento de  $V_p$  também foi relado para amido de taro (SIT; MISRA; DEKA, 2014) e na viscosidade a frio para amido de milho (ZHANG *et al.*, 2005b), extraídos por US. Amido de batata, milho e sagu apresentaram um aumento na viscosidade após modificação por US, como relatado por Chan *et al.* (2010).

As diferenças nas propriedades de pasta podem também estar relacionadas à presença de proteínas (Tabela 3.5) conforme apontaram Wang e Wang (2001). E de fato, as amostras de amido nativo extraído a 45 °C e por US 15 min 80%, ambas

com o maior teor de proteínas, apresentaram os menores valores de viscosidade de pico.

Após o intumescimento, percebeu-se que a quebra de viscosidade foi maior para o amido extraído por 15 min 40% uma vez que a viscosidade de pico também foi maior. Wang e Wang (2004) também relataram este comportamento para amido de arroz extraído com protease 2 h antes da aplicação de US (15 min e 30 min; 50 e 75%), onde o tempo e a amplitude de vibração não causaram diferenças nos resultados.

Em geral, foi possível manter a quebra após extração por US similar à extração aquosa, sem diferença significativa. Esta quebra indica a estabilidade de pasta ao aquecimento e cisalhamento e aponta uma tendência da redução de viscosidade do amido com a desorganização de sua estrutura e até mesmo, a formação de complexos amilose-lipídeo. Assim, conforme indicam Han *et al.* (2021), a manutenção deste parâmetro pode estar relacionada principalmente devido ao fortalecimento da região amorfa dos grânulos de amido durante a sonicação.

Para os tratamentos 15 min 40% e 30 min 60% (3) em que foi observado um aumento do *breakdown*, isso pode estar associado a uma distorção nas cadeias ou rompimento das cadeias longas mais facilmente, favorecendo a quebra de viscosidade.

O tratamento a 15 min 40% também apresentou redução da entalpia de gelatinização, sugerindo-se enfraquecimento das regiões amorfas. Assim, parece consistente com o que comentaram Chan *et al.* (2010). Eles observaram um aumento da quebra após sonicação, o que relacionaram à estrutura enfraquecida dos grânulos, facilitando assim a ruptura da estrutura granular.

Bernardo *et al.* (2018) relataram um aumento de *breakdown* e viscosidade final para amido de cará-do-ar extraído por US em altas amplitudes e tempo maiores.

Han e Hamaker (2000) relataram que há uma correlação negativa entre a proporção de cadeias longas de amilopectina e o *breakdown* (isto é, quanto maior o número de cadeias longas, menor a quebra), parecendo conferir uma certa estabilidade térmica durante o cisalhamento.

Antes de iniciar o processo de resfriamento, é possível visualizar a mínima viscosidade que a pasta atinge. E o menor valor para este parâmetro foi exibido para a extração a 15 min 80%, o qual não diferiu da amostra controle (extração aquosa a 27 °C). A manutenção de maiores valores para viscosidade após a quebra foi



observada para as amostras com tratamento 45 min 80%, 30 min 60% e 51 min 60%. A extração por US manteve os valores de viscosidade mínima similares ou superiores à amostra controle (aquosa a 27 °C).

Quando se tem uma viscosidade de pico mais elevada (capacidade máxima de expansão dos grânulos de amido) e valores maiores de viscosidade mínima, remete-se à ideia de que amidos expostos ao US apresentam maior resistência ao cisalhamento e ao calor. É possível que a despolimerização da amilopectina induzida pelo US otimize o rearranjo entre as cadeias de amido e entre as cadeias de amido e lipídios, melhorando a estabilidade das regiões amorfas nos grânulos de amido (HAN *et al.*, 2021).

A tendência à retrogradação aumentou quando houve aumento da temperatura de extração aquosa. Para a extração por US apenas a utilização de 15 min 80%, 30 min 60% (2) e 30 min 88% aumentaram este parâmetro, sendo que os demais mantiveram valores similares à amostra controle.

A amilose e amilopectina são cineticamente diferentes. A amilose retrograda mais rapidamente, tendo forte tendência a se reassociar por meio da formação de pontes de hidrogênio com outras moléculas de amilose adjacentes. Assim, há formação de estruturas cristalinas de duplas hélices quando a solução esfria e se mantém por longo período de tempo (THARANATHAN, 2002). Isso se deve a maior mobilidade alcançada pela sua estrutura linear (BERNARDO *et al.*, 2018).

Alimentos enlatados ou congelados são preferencialmente elaborados com amidos que apresentam uma diminuição na tendência à retrogradação, reduzindo assim a perda de água (sinérese) (JAYAKODY; HOOVER, 2008). O fato de o amido de amaranto ser considerado ceroso, o que o caracteriza com elevado teor de amilopectina (no mínimo 90%), pode relacioná-lo à formação de géis mais macios durante o armazenamento a longo prazo, devido à retrogradação mais lenta das cadeias ramificadas (BERTOFT *et al.*, 2016; KONG; CORKE; BERTOFT, 2009) e das interações amilopectina-amilopectina, amilose-amilopectina como discutido por Jane e Chen (1992).

Sit, Deka e Misra (2014) observaram que a extração com US durante 10 min permitiu uma diminuição na sinérese de amido de taro. Observou-se que os amidos extraídos por US foram mais estáveis sob ciclos repetidos de congelamento/descongelamento, já que menor diferença foi notada na porcentagem de sinérese ocorrida entre os ciclos de congelamento/descongelamento. Os autores

sugerem que isso ocorreu devido à reordenação das cadeias do amido, expondo mais ligações hidrofílicas e conseqüentemente, elas estão disponíveis para ligações com a água perdida durante o descongelamento. Dessa forma, reforçaram a aplicação deste amido em alimentos refrigerados ou congelados.

Mesmo após o *breakdown*, a viscosidade final das amostras extraídas por US apresentou valor maior que a do amido controle, evidenciando que o amido de amaranto foi estável ao cisalhamento, permitindo a formação de uma pasta viscosa após o aquecimento (KAUR; SINGH; RANA, 2010).

A viscosidade final foi maior após a extração por US, em relação à extração aquosa, principalmente para o tratamento 51 min 60%, o qual teve menor quebra, mantendo assim, a estabilidade ao cisalhamento.

Sit, Deka e Misra (2014b) relataram comportamentos similares para amido de taro extraído por US (ligeiro aumento na temperatura de pasta, da viscosidade de pico e final, e diminuição do *breakdown*).

A extração aquosa a 45 °C impactou no maior tempo para atingir a máxima viscosidade de pasta (ou seja, tempo de pico), assim como as demais amostras extraídas por US a 51 min 60%; 30 min 88% e 45 min 80%. Os demais tratamentos mantiveram este parâmetro sem diferença significativa para a amostra controle.

Para alguns parâmetros da análise de pasta dos amidos foi ajustada uma superfície de resposta.

Após eliminar os fatores não significativos considerando um nível de significância de 5% (valor  $p < 0,05$ ), chegou-se a um modelo reduzido para viscosidade mínima e para o tempo de pico. Para os demais parâmetros de propriedades de pasta, o tempo e a amplitude de vibração não exerceram influência estatística significativa, lembrando que estes modelos não compreendem a amostra nativa. Portanto a comparação é dentro do delineamento composto central, avaliando se os fatores podem direcionar as características avaliadas.

No caso da viscosidade mínima, o efeito linear do tempo, quadrático da amplitude de vibração e a interação linear entre tempo e amplitude foram significativos. Para o tempo de pico, os termos lineares do tempo e amplitude e o coeficiente quadrático da amplitude foram significativos, impactando este parâmetro, conforme apresentado na Tabela 3.12.

Tabela 3.12 – Efeito estimado, erro, valor de t e grau de significância estatística (p) para cada fator em relação à viscosidade mínima e tempo de pico utilizando delineamento composto central rotacional

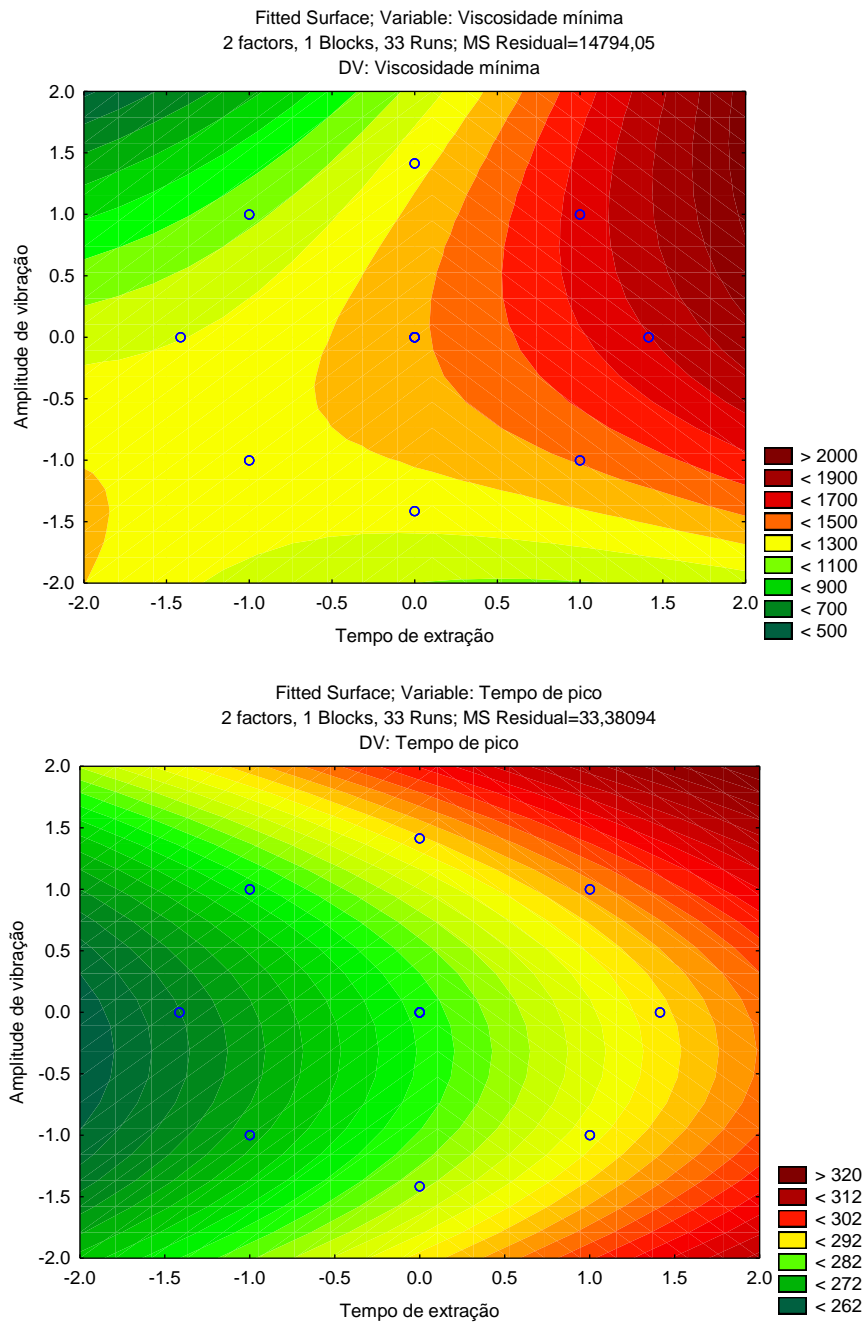
Fatores	Coefficientes de regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	-95% Confiança	+95% Confiança
<b>Viscosidade mínima</b>						
Tempo (L)	176,563	24,51845	7,20124	<0,001	126,417	226,709
Amplitude (Q)	-76,199	27,89201	-2,73193	0,011	-133,241	-19,153
Tempo x Amplitude	106,833	34,67432	3,08105	0,004	35,916	177,750
R <sup>2</sup>	0,70352					
R <sup>2</sup> ajustado	0,67285					
$y = 1412,79020 + 176,56327x_1 - 76,19902x_2 + 106,83333x_1x_2$						
<b>Tempo de pico</b>						
Tempo (L)	8,9902	1,179353	7,6230	<0,001	6,5782	11,40203
Amplitude (L)	2,8711	1,179353	2,4345	0,021	0,4591	5,2832
Amplitude (Q)	4,4543	1,341623	3,3201	0,002	1,7103	7,1982
R <sup>2</sup>	0,72131					
R <sup>2</sup> ajustado	0,69248					
$y = 278,62902 + 8,99022x_1 + 2,87112x_2 + 4,45426x_2^2$						

Notas: L = Linear; Q = Quadrático

Para que um modelo de metodologia de superfície de resposta seja proposto deve-se levar em consideração a equação, o valor de R<sup>2</sup> e R<sup>2</sup> ajustado (calcula a proporção da variação na variável dependente influenciada pelas variáveis preditoras). A partir desta análise, percebe-se que a regressão explica 70,35% das variações na viscosidade mínima e de 72,13% para o tempo de pico. O R<sup>2</sup> ajustado está próximo ao valor de R<sup>2</sup> indicando que os modelos gerados com a MSR têm boa qualidade estatística. Isso permite inferir que o modelo é preditivo nestes parâmetros. Assim, estabeleceu-se uma relação matemática entre os fatores e as respostas.

Os gráficos de contorno no plano bidimensional estão apresentados abaixo (3.4), os quais auxiliam na interpretação do efeito das interações entre as variáveis no comportamento de pasta dos amidos (viscosidade mínima e tempo de pico).

Gráfico 3.4 – Efeito do tempo e amplitude de vibração na viscosidade mínima e tempo de pico representados por gráfico de contorno.



Conforme identificado no Gráfico 3.4, o maior tempo de sonicação, somado às maiores amplitudes de vibração resultaram nas maiores viscosidades mínimas, ou seja, permitiram maior resistência ao aquecimento e cisalhamento. A viscosidade mínima é alcançada depois da quebra. Quando eles permanecem altos, mantém a viscosidade mais elevada da pasta de amido antes de iniciar a retrogradação durante o resfriamento.

Para o tempo de pico, tempo necessário para atingir a viscosidade de pasta, os menores valores são obtidos quando se utiliza menor tempo de extração e valores intermediários de amplitude de vibração (60%). O maior tempo e maior amplitude conferem um alto tempo de pico.

#### 3.4.5.7 Difratomia de raios X pelo método de pó

De acordo com o Bernardo *et al.* (2018), a difração de raios X revela a definição do arranjo formado em áreas cristalinas, de acordo com a posição dos picos de difração.

Marcon *et al.* (2009) relataram que os picos característicos de padrão tipo A são intensos nos espaços interplanares a  $15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $18^\circ$  e  $23^\circ$  em  $2(\Theta)$ . Já o tipo B mostra picos a  $5,6^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $18^\circ$  e  $23^\circ$ , e o tipo C exibe picos e,  $5,5^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $22^\circ$  e  $23^\circ$  em  $2(\Theta)$ .

Os difratogramas estão apresentados na Figura 3.11.

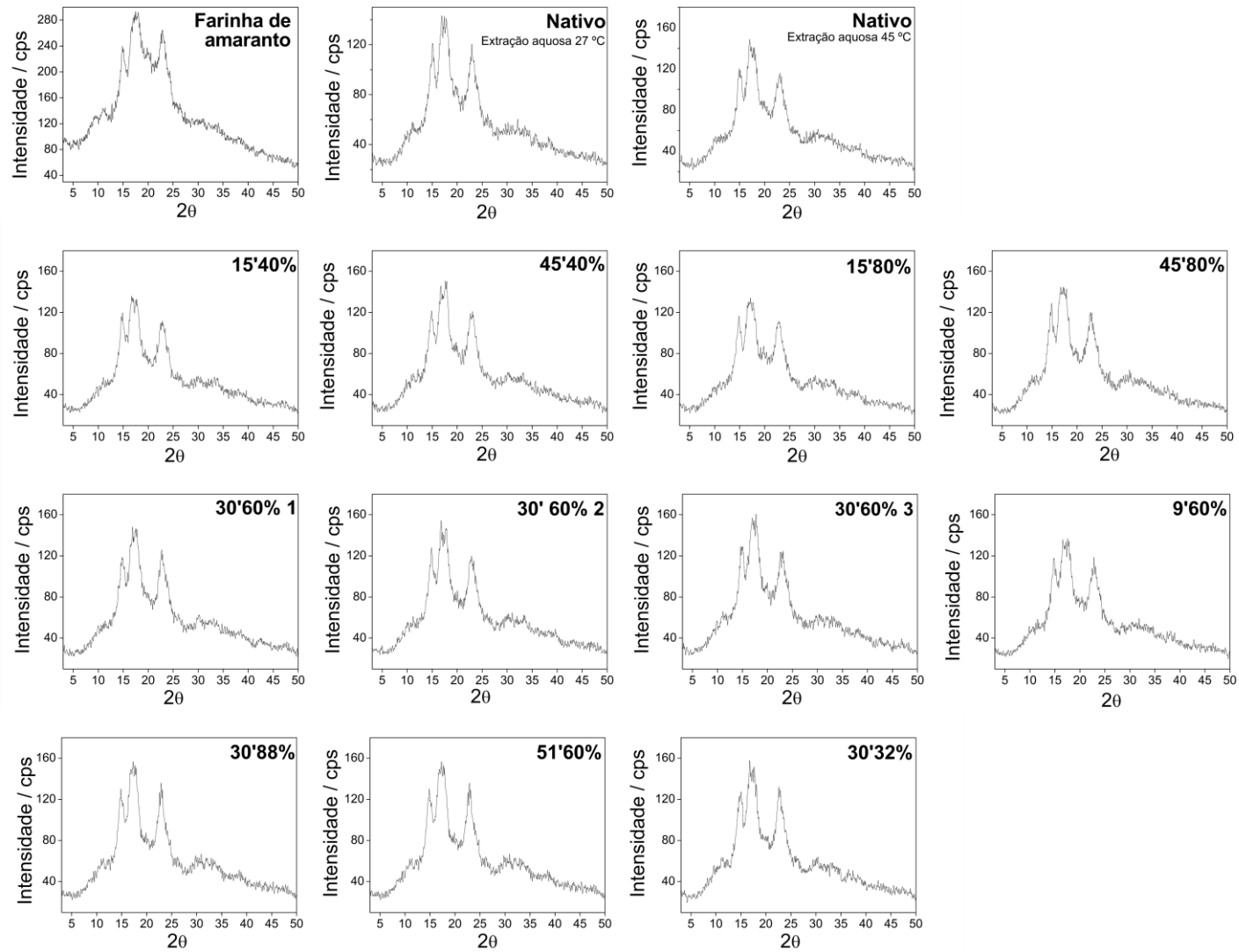
Analisando estes picos, o amido de amaranto pode ser classificado de acordo com o padrão de difração como do tipo A, assim como encontrado por Perez-Rea e Antezana-Gomez (2018).

No padrão do tipo A o canal central está associado a outra dupla hélice e somente oito moléculas de água por célula unitária estão inseridas entre as duplas hélices. Com isso, podem ser mais resistentes às enzimas, e apresentam-se mais homogêneos em relação à distribuição de forças internas de ligação (RAIGOND; EZEKIEL; RAIGON, 2015).

A extração por US não alterou o padrão de cristalinidade do amido de amaranto. Consistente a isso, Kaur e Gill (2019) não observaram mudanças para o padrão de difração de amido de trigo, milho, cevada e arroz após modificação por US (24 kHz, 15-30 min, 100 W, amplitude de vibração 100%, probe 2 mm, banho de gelo).

Para o amido de amaranto, os picos de difração nos ângulos de Bragg ( $2\Theta$ ) sofreram alterações quanto à intensidade e ligeiros deslocamentos em relação ao grau de difração após extração por US. Bernardo *et al.* (2018) também relataram uma redução do pico a  $5,6^\circ$  e  $17^\circ$ , principalmente nos ensaios com 9 min com as amplitudes de 12% e 68% para amido de cará-do-ar extraído por US.

Figura 3.11 – Difratomogramas para Farinha e Amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e por US



\* O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

Para o amido de amaranto extraído por US, houve uma diminuição da intensidade nos picos a 17°, 18° e 23°, principalmente para as extrações durante 15 min (45% e 80%) e 9 min 60%, bem como para a extração aquosa a 45 °C, as quais tiveram o menor grau de CR (Tabela 3.13).

Tabela 3.13–Cristalinidade relativa (CR) para amido de amaranto extraído por metodologia aquosa e assistida por ultrassom.

Amostra	CR (%)
Farinha	28,43±1,29
Nativo aquosa 27°C	38,21±0,01 <sup>b</sup>
Nativo aquosa 45°C	33,80±0,01 <sup>f</sup>
15 min 40%	35,53±0,01 <sup>de</sup>
45 min 40%	35,72±0,01 <sup>d</sup>
15 min 80%	33,15±0,01 <sup>f</sup>
45 min 80%	35,03±0,01 <sup>de</sup>
30 min 60% (1)	35,35±0,01 <sup>de</sup>
30 min 60% (2)	36,47±0,01 <sup>cd</sup>
30 min 60% (3)	36,10±0,01 <sup>d</sup>
9 min 60%	34,24±0,01 <sup>ef</sup>
30 min 88%	40,39±0,01 <sup>a</sup>
51 min 60%	37,65±0,01 <sup>bc</sup>
30 min 32%	35,68±0,01 <sup>de</sup>

Notas: Resultados expressos como média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\*O ponto central 30'60% foi feito em triplicata, e, portanto, os números ao lado da identificação das amostras indicam o 1º, 2º e 3º tratamentos nestas condições.

A farinha apresentou CR similar à farinha de arroz ceroso relatado por Jongsutjarittam e Charoenrein (2014). Yu *et al.* (2015) ressaltam que a moagem pode ocasionar a fragmentação dos grânulos de amido, sem causar mudanças significativas na cristalinidade relativa.

A cristalinidade do grânulo de amido pode ser determinada com base na separação e integração das áreas sob a região cristalina e amorfa e geralmente é encontrada no amido nativo de 15 a 45%. Assim, calcula-se a cristalinidade relativa, por meio da relação entre a região cristalina e a região total. Os valores obtidos são influenciados pelo tamanho das cadeias de amilopectina, densidade, empacotamento e quantidade de água presente no grânulo (BERNARDO *et al.*, 2018).

O amido de amaranto nativo apresentou uma CR de 38,21%, sendo que quando a extração a temperatura de 45 °C foi realizada, houve diminuição significativa deste parâmetro. Kaur e Gill (2019) encontraram valores similares de CR para amido de trigo (32%), arroz (40,4%), milho (44,3%) e cevada (33%).

Segundo Perez-Rea e Antezana-Gomez (2018), o amido de amaranto apresenta um grau de cristalinidade para espécie *A. caudatus* de 19-25%; *A. cruentus* (25-28%) e *hypochondriacus* entre (21-30%). Zhu (2015b) relata que a cristalinidade relativa de amido de amaranto varia entre 24,5-27,9%. Estes valores foram menores ao encontrado no presente estudo.

A extração assistida por US propiciou uma redução na CR, exceto para o ensaio 30 min 88%. Somente a extração a 51 min 60% não apresentou alterações significativas para a amostra controle (nativo extraído a 27 °C). Também não foram encontradas diferenças significativas após extração por US para amido de jicama (GONZÁLEZ-LEMOS, 2018) e para amido de araruta japonesa (*Radix puerariae*) (LI *et al.* (2019), constatada apenas leve redução quando a intensidade de US foi mais alta. O fato de a temperatura permanecer baixa favorece a preservação da estrutura cristalina.

Kaur e Gill (2019) reforçam que a cristalinidade do amido pode ser aumentada ou diminuída, dependendo das condições de US. Já, Jambrak *et al.* (2010) discutem que, de uma forma geral, espera-se que haja ruptura dos grânulos, colapso com as bolhas de cavitação, desorganização interna, e possível quebra do arranjo cristalino a partir da difusão da água, e conseqüentemente, há uma diminuição da CR.

A redução da cristalinidade após US foi discutida por Yang *et al.* (2019). Para compreensão é necessário ressaltar que a estrutura fina do amido é classificada em quatro grupos de acordo com o grau de polimerização (DP) das cadeias de amilopectina em tipo: A (DP de 6-12); B<sub>1</sub> (DP de 13-24); B<sub>2</sub> (DP de 25-36) e B<sub>3</sub> (DP>37). As cadeias A (mais externas) se organizam em hélices duplas, originando as lamelas cristalinas, enquanto que as cadeias mais internas (cadeias B) estão localizadas entre os grupos de ramificações nas regiões amorfas.

A maior parte da amilose está localizada nas camadas amorfas dos anéis de crescimento (HUANG; LI; FU, 2007). É importante dizer que a quantidade de duplas hélices é superior ao grau de cristalinidade. Ou seja, nem todas as duplas hélices participam da estrutura cristalina nos grânulos de amido nativo (NIU *et al.*, 2019).



Em geral, o que se espera é um aumento da cristalinidade pois durante a sonicação ocorre preferencialmente a degradação das regiões amorfas, isto é, nas cadeias mais longas como a B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>, com conseqüente aumento na porcentagem de cadeias A (YANG *et al.*, 2019). Isso pode ter ocorrido na amostra extraída a 30 min 88%, devido a maior amplitude de vibração utilizada, com o rompimento de partes amorfas e aumento da CR (HUANG; LI; FU, 2007).

As partes amorfas do amido de milho são mais facilmente destruídas por força externa, possivelmente devido à compactação da região cristalina (HUANG; LI; FU, 2007; ZHU, 2015a). Luo *et al.* (2008) também observaram maior impacto na região amorfa de amido de milho sonicado, sugerindo que a amilose linear é preferencialmente atacada em relação às moléculas de amilopectina altamente ramificadas.

Corroborando com essa informação, Bernardo *et al.* (2018) observaram por meio de microscopia de luz polarizada que a cruz de malta dos grânulos de amido de cará-do-ar foi preservada após extração por US. Com isso, eles sugeriram que o US pode ter perturbado as regiões amorfas da estrutura do amido, nas condições experimentais testadas. Considerando que a cruz de malta não desaparece após o tratamento com US, pode se concluir que o impacto da sonicação pode não alterar toda a estrutura dos grânulos (HUANG; LI; FU, 2007).

Yang *et al.* (2019) observaram que o amido de arroz tratado em potência maior no US (450-600 W) apresentou resultados contrários, com maior porcentagem de cadeias B, em relação às cadeias mais curtas. A irradiação de ultrassom mais intensa pode levar a uma distorção adicional das regiões cristalinas, o que requer mais energia do que o rompimento de regiões amorfas, em última análise, desenrolando as hélices duplas e reduzindo a porcentagem da cadeia A. Dessa forma, é observado uma redução da CR (YANG *et al.*, 2019).

No caso do amaranto, estudos apontam que os primeiros picos identificados para o comprimento de cadeias de amilopectina se referem a um grau de polimerização 12, seguido por 44 (KONG *et al.*, 2008). As cadeias de amilopectina do tipo A correspondem a 51,8-54,5%. A média do comprimento da cadeia externa (ECL) foi de 10,9-11,9, enquanto o comprimento da cadeia interna (ICL) foi de 5,2-5,6 (KONG *et al.*, 2008).

Um grau de polimerização maior ou igual a 9 já tem potencial participação na formação de duplas hélices e dos cristais de amido (BERTOFT *et al.*, 2016). Cadeias

muito curtas (DP de 6-8) dificilmente conseguem fazer duplas hélices, embora possam co-cristalizar com cadeias mais longas (VAMADEVAN *et al.*, 2013).

A redução na CR também foi apontada como consequência da:

- a) ruptura ou reorientação do cristalito (VERMELEYEN; GODERIS; DELCOUR, 2006);
- b) rompimento das ligações covalentes e distorção nas cadeias de amilopectina como resultado da cavitação (JAMBRAK *et al.*, 2010);
- c) possível ocorrência de erosão de estruturas cristalinas mais fracas durante a sonicação (FALSAFI *et al.*, 2019). Isso corrobora com os resultados obtidos do DSC.

Han *et al.* (2021) constataram por cromatografia líquida de alta eficiência que o US reduziu significativamente o peso molecular (PM) da amilopectina e aumentou o da amilose em amidos de ervilha. Além disso a estrutura fina da amilopectina teve sua distribuição de comprimento de cadeia ramificada alterada na direção de cadeias mais curtas, aumentando as proporções de cadeias B<sub>1</sub> (DP 13-24, cadeia mais interna, estrutura mais amorfa) e A (6-12, cadeia mais externa, estrutura cristalina) em comparação ao nativo. A CR dos grânulos reduziu notavelmente indicando os danos na estrutura cristalina que são totalmente dependentes das condições de tratamento e origem do amido. O empacotamento diferente das regiões amorfas e cristalina têm suscetibilidade diferentes ao US.

Conforme Bento *et al.* (2021), os amidos que apresentam cristalinidade do tipo B (como de raízes, tubérculos e rizomas), apresentam maior flexibilidade em duplas hélices, e, com essa maior mobilidade, são mais sujeitas a rupturas do que o amido dos cristalitos do tipo A. De fato, o amido com polimorfo do tipo B foi mais suscetível ao ultrassom do que o amido do tipo A devido ao empacotamento mais frouxo das hélices duplas (MINAKAWA *et al.*, 2019).

As mudanças na CR também podem estar relacionadas a pequenas variações no teor de umidade das amostras (8–9%), conforme visto por Cheetham e Tao (1998), que mencionam que a hidratação dos grânulos pode levar a um aumento da cristalinidade, sem alteração do tipo de cristal original.

Portanto, as mudanças estruturais causadas pelo US, dependem das propriedades do polissacarídeo como: composição, comprimento e conformação da cadeia, peso molecular e ligação glucosídica (CZECHOWSKA-BISKUP *et al.*, 2005).

Yang *et al.* (2019) utilizaram suspensões com 30% de amido de arroz, mantidas sob agitação por 10 min a 25 °C e submetidas à sonicação por 20 min a 25 °C (banho de gelo), com sonda 10 mm inserida a 2 cm de profundidade, frequência 22 kHz, volume de 50 mL e potências entre 150-600 W. Eles não observaram alterações do padrão de cristalinidade de amido de arroz, com ligeira diminuição da cristalinidade com aumento da potência utilizada. Por meio de análise por infravermelho foi possível perceber que o aumento da potência foi capaz de causar um enfraquecimento no intervalo de cristalinidade dos grânulos, bem como por meio do Raman, constando que houve uma diminuição na altura da banda correlacionada com a cristalinidade.

Haaj *et al.* (2013) isolaram nanopartículas de amido através da US de alta potência, observando também uma perturbação da estrutura cristalina da amilopectina agrupada, resultando em nanopartículas com baixa cristalinidade ou com caráter amorfo. Zhu *et al.* (2012) mostraram que o amido de batata modificado por US (potência inferior a 155W, 30 min, 20 e 30 °C) teve uma redução da ordem molecular nas lamelas cristalinas.

Chan *et al.* (2010) constataram que a ultrassonicação aumentou o teor de amilose de amidos de milho, batata, feijão mungo e sagu (analisado por espectrofotometria de ligação de iodo), sugerindo a cisão molecular de cadeias pelo ultrassom contribuindo para o aumento dos fragmentos lineares. Comportamento similar foi obtido por Li *et al.* (2019) para amido de alta amilose de *Radix puerariae* extraído por US. Eles discutem que é possível ocorrer a despolimerização parcial da amilose e da amilopectina durante a extração assistida por US, resultando no aumento das cadeias lineares e conteúdo de amilose. E com as diferentes condições é possível encontrar diferentes graus de despolimerização.

Han *et al.* (2021), corroborando ao discutido acima, identificaram aumento do teor de amilose de 34,08% para 37,82% para amido de ervilha após modificação por US. Sugeriram a ocorrência da despolimerização parcial de cadeias de amilopectina pelo US, aumentando o número de fragmentos lineares, e conseqüentemente, o conteúdo de amilose nos grânulos de amido.

Com o aumento da amilose, pode ocorrer complexos amilose-lipídeo, identificado pelo pico de *Bragg* no ângulo de espalhamento ( $2\theta$ ) de 20°. Pequenas variações para intensidade deste pico foram notadas no presente estudo, assim como

observado para amido de aveia (FALSAFI *et al.*, 2019) e amido de fruta-pão (ANDRADE *et al.*, 2020), ambos modificados por US.

Zheng *et al.* (2013) também detectaram por infravermelho uma destruição da região cristalina de amido de batata doce.

Portanto, seria interessante a realização posterior da análise de infravermelho destas amostras de amido de amaranto para avaliação dos impactos do US na região cristalina.

Conclui-se, portanto, que a redução da cristalinidade pode estar associada à erosão dos cristais nos grânulos ou à distorção adicional das regiões cristalinas.

#### 3.4.6 Perspectivas para Aplicações de Amaranto e de Amido Extraído por Ultrassom

O amaranto pode ser utilizado em uma ampla gama de produtos da indústria de alimentos, inclusive podendo ser consumido por celíacos, melhorando o valor nutricional dos produtos onde é adicionado. Sementes inteiras após cozidas podem ser consumidas, ou podem ser expandidas. Também são empregados para fabricação de doces e snacks. A farinha de amaranto pode ser adicionada em doces, bolos, biscoitos, cereais matinais (COELHO *et al.*, 2018; SANTRA; SCHOENLECHNER, 2017).

O processamento do grão ou farinha é recomendado devido aos fatores antinutricionais, mesmo que estejam em baixas quantidades, como oxalatos, nitratos que são compostos termolábeis (COELHO *et al.*, 2018).

O amido de amaranto, devido ao seu pequeno tamanho, pode ser utilizado como espessante (sopas, molhos), estabilizante, em pós para cosméticos, e até mesmo na produção de plásticos biodegradáveis (CORKE; CAI; WU, 2016; WRIGLEY; BATEY; MISKELLY, 2017). Também já foi utilizado como substituto de gordura, encapsulante de sabor e para formação de filmes de baixa densidade (ZHU, 2015b).

Proteínas, concentrados ou isolados de amaranto são caracterizados por excelente solubilidade, bem como formação de espuma, emulsificação e estabilização (FIDANTSI; DOXASTAKIS, 2001) e, portanto, têm um alto potencial para alimentos funcionais, em particular, onde a formação de gel é desejada (SANTRA; SCHOENLECHNER, 2017).

Esta linha de alimentos funcionais tem sido bastante atrativa para indústria a fim de entregar alimentos inovadores, mas que principalmente contribuam com benefícios à saúde.

Propriedades como a alta viscosidade, boa estabilidade ao congelamento e descongelamento, alta capacidade de ligação com a água, alto poder de inchamento, baixa tendência à retrogradação permitem a aplicação do amido de amaranto como agente espessante.

Destaca-se aqui o amido extraído durante 15 min a 40% e 9 min 60% que apresentaram excelentes características de pasta, bem como, boa estabilidade térmica e baixa temperatura e entalpia de gelatinização. Assim, com um pequeno tempo de extração é possível não somente aumentar o rendimento, mas também, alcançar propriedades desejáveis para o amido.

Portanto, a extração por US reforça estas propriedades desejadas, podendo além de melhorar o rendimento, auxiliar nas características necessárias para sua aplicabilidade industrial. Trata-se de uma tecnologia potencial emergente que pode acelerar a transferência de calor e massa utilizando-se de forças hidrodinâmicas e que pode ser melhor explorada para isolamento de amidos de diferentes fontes botânicas.

A sonda ultrassônica é feita de titânio e pode sofrer erosões intensas quando trabalha em altas intensidades ou tempo de processamento é prolongado. Isso poderia reduzir a eficiência da extração assistida por US. A própria migração de partículas do metal para os alimentos pode ser um fator negativo para a segurança dos alimentos, e ainda, contribuir para diminuição da vida útil da sonda. A substituição pelo banho ultrassônico poderia ser uma alternativa devido aos vários transdutores de vibração ligados à base que fornecem um efeito de cavitação relativamente uniforme nos polissacarídeos. No entanto, menor energia de ultrassom é fornecida diretamente aos polissacarídeos usando o sistema de banho em comparação com o sistema de sonda, uma vez que a energia entregue é significativamente atenuada pela água do banho e pelos vasos usados para o tratamento (CUI; ZHU, 2021).

Chemat *et al.* (2017) sugerem a utilização de frascos cônicos e com a menor espessura para amenizar a reflexão de ondas acústicas. As condições de operação do US para extração de diferentes amidos precisam ser investigadas pois os resultados não podem ser generalizados, e amidos de diferentes fontes botânicas apresentam diferentes formas e composição. Cinética da extração poderia ser estudada para avaliação do melhor tempo e concentração.

O ultrassom também apresenta a vantagem de poder ser utilizado como método de conservação, aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) (CHEMAT; HUMA; KHAN, 2011).

Algumas limitações para utilização do US podem estar relacionadas ao custo, processamento requer meio líquido e a solubilidade do polissacarídeo afeta eficiência do processamento, e a viabilização de *scale-up* para industrialização (CUI; ZHU, 2021). No entanto, é um método rápido, eficaz, de alta reprodutibilidade, remove a necessidade de utilização de solventes químicos que poderiam ter maior impacto ambiental e pode também reduzir o consumo de energia quando comparado aos métodos convencionais.

### 3.5 CONCLUSÃO

A extração ultrassônica de amido de amaranto facilitou a liberação do conteúdo amiláceo da matriz farinácea devido ao colapso das bolhas de cavitação, aumentando a área de superfície. Somado a isso, o efeito capilar ultrassônico também favoreceu a penetração do solvente e transferência de massa para o meio líquido.

O ultrassom é uma tecnologia que se destaca em relação a outros métodos por contemplar alto rendimento, economia, produtividade e sustentabilidade.

Maior viscosidade, estabilidade térmica, redução da cristalinidade relativa, entalpia de gelatinização puderam ser obtidas. Não foram identificadas alterações na morfologia dos grânulos mesmo nas maiores amplitudes e tempos testados.

O tratamento que apresentou as melhores características para realização de aplicação tecnológica foi a extração a 15 min 40% e 9 min 60% de amplitude de vibração. Destaca-se a alta estabilidade térmica e viscosidade, bom índice de brancura, baixa tendência à retrogradação, valores inferiores de temperatura e entalpia envolvidas na gelatinização. Além das propriedades interessantes, envolve uma condição que apresenta pouco impacto na temperatura de processo, menor tempo e amplitude mais baixa.

Novos estudos podem ser realizados para avaliar o teor de amilose e amilopectina, bem como o comprimento das cadeias para associar os resultados obtidos das propriedades térmicas do amido.

As alterações provocadas no amido de amaranto podem estar relacionadas aos efeitos do US na desintegração de ligações intermoleculares, perturbação de

estrutura molecular cristalina de amido e fez com que as moléculas de água se ligassem com os grupos hidroxila livres de amilose e amilopectina por ligação de hidrogênio.

Conclui-se, portanto, que o ultrassom é um método eficiente para extração de amido de amaranto, possibilitando a tempos curtos e amplitudes baixas, sem considerável aumento da temperatura quando controlado, obter maior rendimento quando comparado à extração aquosa. Aliado a isso, trata-se de uma tecnologia limpa e com boas perspectivas para aplicação industrial.

## CAPÍTULO 4 - INCORPORAÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS EM FARINHA E AMIDO DE AMARANTO ORGÂNICO POR IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA ASSISTIDA POR LIOFILIZAÇÃO

### RESUMO

A transição epidemiológica e nutricional tem despontado novos nichos para o mercado alimentício, destacando-se o de alimentos funcionais. Assim, a fim de possibilitar o desenvolvimento de produtos atendendo aos apelos de saudabilidade, *clean label*, e praticidade, o amido e a farinha de amaranto podem ser enriquecidos com frutooligossacarídeos (FOS), considerados prebióticos. Portanto, o objetivo deste estudo foi incorporar FOS em farinha e amido de amaranto orgânico por ultrassom (US) e liofilização. A incorporação foi realizada com 15% de FOS na farinha e de 40% no amido nativo e extraído por ultrassom. As análises realizadas compreenderam microscopia eletrônica de varredura, colorimetria, quantificação de FOS por cromatografia líquida de alta eficiência, propriedades de pasta e análise térmica. A sonicação e a liofilização provocaram alterações na morfologia da farinha, amido e frutooligossacarídeos. O uso do ultrassom possibilitou melhor incorporação dos FOS no amido devido à formação de uma distribuição mais homogênea, identificada por microscopia. A concentração destes compostos permaneceu elevada tanto no amido nativo quanto no amido extraído por US. Após adição de FOS houve redução na temperatura de estabilidade térmica, viscosidade e entalpia de gelatinização da farinha e amido de amaranto. Houve aumento do índice de brancura, temperatura *onset* e temperatura de pico. O enriquecimento de amido e farinha de amaranto pode ser uma alternativa interessante a ser otimizada para possibilitar aumento do valor nutricional de alimentos e diversificação da dieta.

**Palavras-chave:** Alimentos funcionais. Prebióticos. Enriquecimento. *Amaranthus caudatus*.

### ABSTRACT

The epidemiological and nutritional transition has emerged new niches for the food market, especially functional foods. Thus, in order to enable the development of products meeting the healthiness, clean label, and practicality appeals, amaranth starch and flour can be enriched with fructooligosaccharides (FOS), considered prebiotics. Therefore, the aim of this study was to incorporate FOS into flour and starch of organic amaranth by ultrasound (US) and freeze-drying. The incorporation was performed with 15% of FOS in the flour and 40% in the native starch and extracted by ultrasound. The analyses performed comprised scanning electron microscopy, colorimetry, FOS quantification by high performance liquid chromatography, pasting properties, and thermal analysis. Sonication and freeze-drying caused changes in the morphology of flour, starch, and fructooligosaccharides. The use of ultrasound allowed a better incorporation of FOS in the starch due to the formation of a more homogeneous distribution, identified by microscopy. The concentration of these compounds remained high both in the native starch and in the starch extracted by US. After addition of FOS there was a reduction in thermal stability temperature, viscosity and enthalpy of gelatinization of amaranth flour and starch. There was an increase in the whiteness index, onset temperature and peak temperature. The enrichment of



amaranth starch and flour may be an interesting alternative to be optimized to enable the increase of the nutritional value of foods and diet diversification.

Keywords: Functional foods. Prebiotics Enrichment. *Amaranthus caudatus*.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O estilo de vida moderno associado à transição nutricional repercute significativamente na qualidade da dieta alimentar e, isso tem impacto direto na saúde pública. Como consequência, a transição epidemiológica ampliou as discussões acerca da ocorrência simultânea entre as doenças infecciosas e não infecciosas na sociedade. E embora muitos recursos tenham sido desenvolvidos, é preciso buscar alternativas que auxiliem e aceleram a redução de patologias como uma estratégia de saúde coletiva, principalmente em relação às doenças crônicas não transmissíveis.

Pesquisas recentes têm apontado correlação entre a microbiota intestinal, baixo consumo de fibra alimentar e incidência de doenças crônicas, como depressão, diabetes, obesidade, hipertensão e até mesmo transtornos mentais. Outro fator preocupante é que estas doenças têm se manifestado em indivíduos cada vez mais jovens. Portanto, como forma a estimular o sistema imunológico, é fundamental que se mantenha a produção de ácidos graxos de cadeia curta pelos microrganismos no cólon. Para isso, é necessário manter uma microbiota saudável, a partir de bons hábitos relacionados principalmente à nutrição. E nesse contexto, destacam-se os alimentos funcionais, os quais desempenham um papel importante na saúde das pessoas (GUAN; XIONG; XIE, 2021).

Entre estes alimentos estão os prebióticos, carboidratos não digeríveis que estimulam o crescimento ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon, sendo, portanto, considerados fibras dietéticas. Porém, nem toda fibra é considerada um prebiótico. Neste sentido, as fibras prebióticas são: inulina, oligofrutose/frutooligossacarídeos (FOS), glucooligossacarídeos, galacto-oligossacarídeos, xilo-oligossacarídeos, malto-oligossacarídeos, isomaltose, lactulose, lactosacarose, rafinose, estaquiiose, lactulosucose, frutanos, amido resistente, entre outros (CARDOSO *et al.*, 2021).

Pesquisas para o desenvolvimento de alimentos que possam fornecer estes compostos à microbiota intestinal estão sendo bastante encorajados.

Os frutooligossacarídeos (FOS) são considerados prebióticos pois conforme Gibson e Roberfroid (1995) discutem, eles não podem ser hidrolisados nem absorvidos na parte superior do trato digestivo. Dessa forma, podem ser fermentados seletivamente pela microbiota intestinal auxiliando na produção de ácidos graxos de cadeia curta, que estão relacionados com prevenção de várias doenças e com o bom funcionamento do organismo.

Uma alternativa interessante para incentivar o consumo destes compostos funcionais é utilizá-los para enriquecer alimentos ou ingredientes bastante utilizados na indústria agregando valor ao produto final. Assim, a incorporação destas fibras alimentares é relevante (COELHO *et al.*, 2018). Além do potencial prebiótico, os FOS contribuem para as propriedades sensoriais de alimentos, conferindo doçura e um valor calórico de aproximadamente 1,5 kcal g<sup>-1</sup> (ZENG *et al.*, 2016).

Ressalta-se ainda que a deficiência na ingestão de fibra alimentar pode afetar irreversivelmente o crescimento de determinados microrganismos intestinais (GUAN; XIONG; XIE, 2021; YILDIZ *et al.*, 2013).

Portanto, a proposta de realizar a incorporação de FOS na farinha ou amido de amaranto é baseada na necessidade de ingredientes enriquecidos deste prebiótico que possam ser utilizados tanto em preparações caseiras como industriais. Isto vem de encontro às novas tendências pautadas na saudabilidade, valor nutricional e funcionalidade dos alimentos. Além disso, o enriquecimento do amaranto sob a forma de farinha ou amido permite a diversificação de produtos, não apenas para o público em geral, mas atendendo também dietas restritivas, portadores de doença celíaca ou relacionada à própria deficiência de consumo de fibra alimentar abaixo da ingestão diária recomendada.

Assim, destaca-se o pão como um produto alvo para utilização destes ingredientes enriquecidos e sem glúten. O pão é um alimento básico na dieta das pessoas, apresentando um consumo médio de 70 Kg por ano per capita. Pode ser encontrado sob diferentes formas e formulações, que envolvem simplicidade de ingredientes e preparo, utilizando-se principalmente a farinha de trigo, embora outros cereais também sejam empregados (CAROCHO *et al.*, 2020).

Os produtos à base de cereais são geralmente escolhidos para inserção de prebióticos devido à longa vida útil, estabilidade no armazenamento, boa aceitação e consumo mundial (SÁNCHEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2020). Os panificados geralmente apresentam baixo teor de fibra uma vez que a farinha de trigo é geralmente substituída

por amidos comerciais que não contribuem no fornecimento deste macronutriente (RODRIGUEZ-SANDOVAL; FRANCO; MANJARRES-PINZON, 2014).

Com a acirrada competitividade industrial e a necessidade constante de inovação, desperta-se o interesse por novas formulações e uso de outras farinhas. Isso corrobora com o perfil de consumidores que tendem a substituir o pão branco, somado ao aumento das dietas sem glúten (CAROCHO *et al.*, 2020).

Assim, a farinha de amaranto ou o próprio amido podem ser enriquecidos com FOS para adição nas formulações de pães, atendendo também ao público celíaco, que geralmente se sentem inseguros na compra de panificados pela possibilidade da presença de glúten. Em geral, o principal constituinte de pães sem glúten é o amido. Estes produtos geralmente apresentam baixo conteúdo proteico, lipídeos, vitaminas e outros componentes nutricionais importantes, reforçando assim a ideia de enriquecimento da farinha/amido de amaranto para contribuir na melhoria do valor nutricional (KORUS *et al.*, 2006).

É possível que com a adição de prebióticos em produtos de padaria, como o pão por exemplo, sejam alcançadas melhorias tecnológicas, tais como volume, razão de espalhamento, volume específico e propriedades sensoriais, como sabor e aroma. No entanto, poucas farinhas enriquecidas de fontes alternativas têm sido estudadas como veículos de propriedades prebióticas (GARCÍA *et al.*, 2018).

Vale ressaltar que de acordo com a legislação, a alegação de propriedade funcional se refere ao “*papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano*”. Para os nutrientes que já tenham demonstrado a eficácia em estudos epidemiológicos, já é possível fornecer a alegação funcional na rotulagem (BRASIL, 1999).

O amaranto destaca-se em seu conteúdo nutricional, e tem se apresentado como alternativa interessante para diversificação da dieta de celíacos, inclusive na produção de pães, bolos, biscoitos e produtos de confeitaria (MIGUEL, 2018). O amido de amaranto apresenta um grande potencial de utilização devido a sua granulometria pequena, baixo teor de amilose e menor tendência à retrogradação. E como visto no Capítulo anterior, a extração por ultrassom pode favorecer o aparecimento de canais, fissuras ou poros que favorecem sua aplicação como agente encapsulante ou carreador de substâncias.

Além da farinha, o amido é um ingrediente amplamente presente na indústria alimentícia pela capacidade de formação de gel, espessante, estabilizante, texturizante e transportador de compostos aromáticos. Somado a isso, em resposta à tendência alimentar global com relação a produtos *clean label*, a utilização de amidos não modificados quimicamente passa ser uma estratégia interessante para a indústria alimentícia, já que o mercado de amidos modificados deve crescer de US\$ 10,35 bilhões em 2018 para US\$ 12,67 bilhões em 2023. Os consumidores passaram a examinar minuciosamente os ingredientes dos produtos, considerando também o impacto ambiental. E os amidos modificados física ou enzimaticamente, bem como os nativos, são considerados ingredientes e não aditivos, respondendo positivamente a estas novas tendências (PARK; KIM, 2021).

Assim, o enriquecimento de alimentos com diferentes fibras alimentares é uma tendência real (HERRANZ; MARTÍNEZ; ALVAREZ, 2019), aliada à saúde intestinal que envolve mecanismos imunológicos complexos de vital importância para atingir uma população saudável (GUAN; XIONG; XIE, 2021).

Com isso, reforça-se a necessidade de avaliar a interação dos FOS com a farinha ou com o amido, para evitar a limitação de seu uso, ou para possibilitar adequação às formulações alvo. Como o amido é amplamente utilizado na indústria alimentícia, avaliar o comportamento dessa mistura é fundamental (YILDIZ *et al.*, 2013).

Não foram encontrados na literatura estudos com a incorporação de FOS em farinha ou amido de amaranto. Técnicas como ultrassom e liofilização (*freeze-drying*) podem ser testadas principalmente por se tratarem de tecnologias limpas.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a incorporação de FOS em farinha e amido de amaranto por irradiação ultrassônica assistida por liofilização.

## 4.2 OBJETIVOS

### 4.2.1 Objetivo Geral

Incorporar frutooligossacarídeos em farinha e amido de amaranto a partir de irradiação ultrassônica e liofilização.

#### 4.2.2 Objetivos Específicos

- Calcular a quantidade de FOS a ser incorporada na farinha e no amido para atender apelo prebiótico em formulação de pão;
- Analisar os aspectos morfológicos das amostras incorporadas;
- Quantificar os FOS presentes nas amostras;
- Caracterizar as incorporações por análise de cor, propriedades de pasta, termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial.
- Identificar a importância da etapa de ultrassom precedendo a liofilização para a incorporação de frutooligossacarídeos na farinha e amido de amaranto;

### 4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.3.1 Materiais

A farinha e o amido de amaranto orgânico foram produzidos com a variedade *Amaranthus caudatus*, cedidas por uma fazenda localizada em San Salvador, Cusco (Peru) (13°30'11.7"S 71°46'10.6"W).

O padrão de Frutooligossacarídeos foi utilizado da marca *Sigma Life Science* (Lote #SLBV9756), obtidos a partir da chicória

As análises foram realizadas nos Laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos e do Complexo de Laboratórios Multiusuários da Universidade Estadual de Ponta Grossa. A etapa de liofilização foi realizada no Laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa/PR.

#### 4.3.2 Incorporação de Frutooligossacarídeos em Farinha e Amido de Amaranto

Para realizar a incorporação de frutooligossacarídeos em farinha e amido de amaranto com apelo prebiótico, partiu-se da premissa de que o alimento, para ser considerado com esta funcionalidade, deve conter uma quantidade mínima de 2,5 g de FOS por porção, conforme legislação vigente (BRASIL, 2019). Ideando a utilização da farinha ou amido enriquecidos para formulação de pães, a Instrução Normativa n. 75 de 08 de outubro de 2020 acerca da rotulagem nutricional, orienta que a porção de

pão deve ser dada em 50 g. Neste caso, a farinha/amido que está presente em 50 g de pão, deverá conter no mínimo 2,5 g de FOS para que confira apelo prebiótico.

A partir disso, baseando-se em uma formulação tradicional de pão francês, calculou-se o quanto de farinha estaria presente nesta porção de 50 g de pão.

A formulação compreende 1000 g de farinha de trigo, 600 g de água, 20 g de sal, 10 g de sacarose, 30 g de fermento biológico, 20 g de margarina, 10 g de melhorador, resultando em um rendimento de 24 pães de 50 g cada. Dessa forma, cada pão recebe 41,667 g de farinha de trigo (aproximadamente 42 g).

Assim, para que 42 g de farinha de trigo fornecessem 2,5 g de FOS, calculou-se a quantidade de FOS a ser adicionada, uma vez que a farinha será diluída com os demais ingredientes do pão, por meio da Equação 1 de percentagem massa-massa.

$$C_1.V_1 = C_2.V_2 \quad (1)$$

Onde:  $C_1$  = concentração a ser adicionada de FOS na farinha ou amido ( $\text{g g}^{-1}$ );  $V_1$  = quantidade de mistura (g);  $C_2$  = concentração de FOS no pão ( $\text{g g}^{-1}$ ),  $V_2$  = quantidade da porção do pão (g).

As quantidades utilizadas para cálculo estão representadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Cálculos para determinação da quantidade de FOS a ser incorporada em farinha e amido de amaranto

	$C_1$ ( $\text{g g}^{-1}$ )	$V_1$ (g)	$C_2$ ( $\text{g g}^{-1}$ )	$V_2$ (g)
Farinha	$x = 2,98$	42	$2,5 \text{ g g}^{-1}$	50
Amido	$y = 6,25$	20	2,5	50

Notas: C, concentração; V, volume

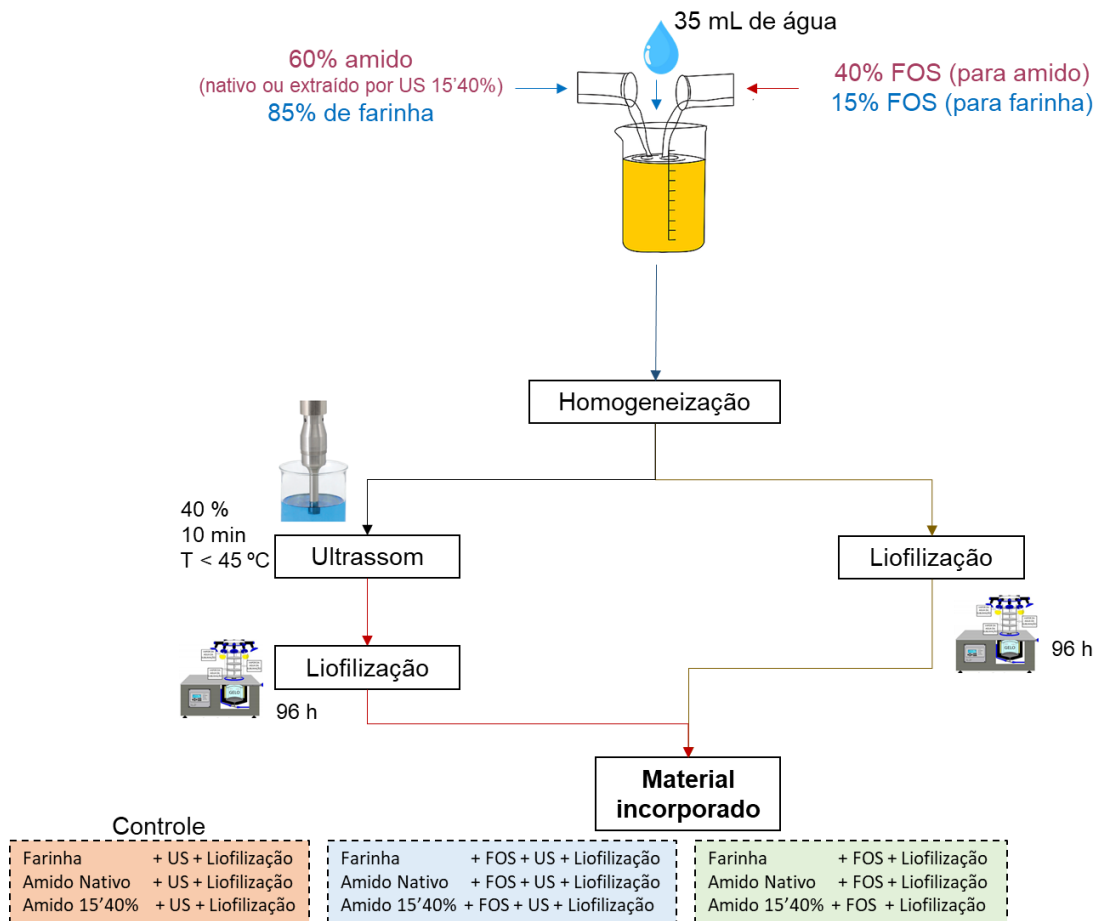
O cálculo para farinha de amaranto resultou em 2,98 g de FOS que devem ser adicionados em 42 g de mistura para fornecer 2,5 g em uma porção de pão (50 g). Isto corresponde a 7,10% de FOS. Como podem ocorrer perdas durante o processo, determinou-se a utilização de 15% de FOS na farinha, pesados em base seca (4,25 g de farinha e 0,75 g de FOS). A partir destes 15% que serão adicionados na farinha, a porção de 50 g de pão terá aproximadamente 5,29 g de FOS (considerando que não haverá perdas).

O cálculo para amido foi feito pensando na substituição parcial da farinha para elaboração do pão (22 g de farinha e 20 g de amido). Neste caso, a massa de amido

que estará contida em 1 porção de pão deve fornecer 2,5 g de FOS. Utilizou a mesma Equação (1) para obtenção da quantidade de FOS a ser incorporada. Assim 6,25 g de FOS devem ser adicionados em 20 g da mistura para fornecer 2,5 g de FOS em 50 g de pão. Isto é, 31,25% de FOS em relação à massa de amido. Devido às perdas durante a incorporação, determinou-se a proporção de 40% de FOS (3 g de amido e 2 g de FOS). Neste caso, a porção de 50 g de pão terá 3,2 g de FOS (sem considerar possíveis perdas no processo).

Dando sequência, as massas em base seca dos componentes foram pesadas e misturadas com adição de 35 mL de água (1:7; m:v), mesma proporção utilizada na extração de amido por US, conforme ilustrado na Figura 4.1). Esta proporção melhora a viscosidade da suspensão deixando-a mais fluida para aplicação do US.

Figura 4.1 – Ensaio de incorporação de FOS em farinha e amido de amaranto



Como controle foram preparadas amostras contendo apenas farinha (FAR+US+LIO), amido nativo (NAT+US+LIO) ou amido extraído por ultrassom (15 min 40% + US+ LIO), seguindo para sonicação e liofilização.

Em seguida, as suspensões foram sonicadas durante 10 min para homogeneização com amplitude de 40%. A temperatura foi monitorada por um sensor, impedindo que a temperatura ultrapassasse 45 °C. Isso para que se evitasse a gelatinização do amido, bem como, alterações na pressão de vapor. O US realizado antes da liofilização auxilia na uniformidade do meio, aumento da área superficial, melhorando a taxa de solubilização (O'SULLIVA *et al.*, 2017; LE; LE, 2015; CHANDRAPALA *et al.*, 2014).

Para avaliar se a etapa de sonicação é necessária, amostras também foram preparadas para incorporação sem passar pela sonicação, sendo encaminhadas após a mistura diretamente para liofilização.

Assim, a distribuição dos ensaios de incorporação pode ser visualizada na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Ensaios utilizados para incorporação de FOS em amido e farinha de amaranto

Amostra	Farinha	Amido		FOS	US	LIO
		Nativo	15'40%			
1	100%	-	-	-	x	x
2	85%	-	-	15%	x	x
3	85%	-	-	15%	-	x
4	-	100%	-	-	x	x
5	-	60%	-	40%	x	x
6	-	60%	-	40%	-	x
7	-	-	100%	-	x	x
8	-	-	60%	40%	x	x
9	-	-	60%	40%	-	x
10	-	-	-	100%	x	X

Notas: \*FOS, frutooligossacarídeos; US, ultrassom, LIO, liofilização.

Os ensaios 1, 4, 7 e 10 foram realizados com o intuito de verificar possíveis alterações na estrutura individual da farinha, amido (nativo e extraído por US 15 min 40%) ou FOS com a aplicação do US e da liofilização. Os ingredientes de forma isolada foram misturados à água, homogeneizados com US e liofilizados nos mesmos parâmetros utilizados para as demais amostras.

Após a homogeneização, as amostras foram congeladas em freezer a -10 °C por 36 h e depois colocadas em *ultrafreezer* a -80 °C (Modelo Nu9668GC/Nuaire). A estrutura final do alimento depende diretamente do tipo e a velocidade de



congelamento, porque a distribuição dos poros depende do tamanho e da localização dos cristais de gelo formados. Assim, o congelamento mais adequado depende das características particulares do alimento a ser liofilizado. Caso haja formação de cristais grandes, gerando uma rede cristalina, tem-se uma boa estrutura porosa. Isso facilitará o escape de vapor d'água durante a liofilização, bem como a entrada da água em sua posterior reidratação (TERRONI *et al.*, 2013).

A etapa de liofilização foi realizada no laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR, Campus Ponta Grossa/PR). Para transportá-las, as amostras foram colocadas em caixa de isopor e injetado nitrogênio líquido (ponto de ebulição -195,8 °C) para assegurar uma temperatura adequada impedindo que houvesse descongelamento.

Utilizou-se um liofilizador de bancada (modelo L101, marca *Liotop*, São Carlos-SP/BR). O equipamento é composto de uma câmara de secagem acrílica cilíndrica e transparente. Uma tampa em aço inox acopla oito torneiras de silicone (“*manifold*”) para encaixe dos frascos com o sistema de alívio de vácuo. Na parte inferior, no interior da câmara de secagem em acrílico transparente (diâmetro externo 25 cm, altura 35 cm), há um suporte em aço inoxidável para quatro bandejas de inox de diâmetro de 18 cm (VIEIRA; NICOLETI; TELIS, 2012). Na parte externa ao equipamento, encontra-se acoplada uma bomba de vácuo.

Nas bandejas as amostras foram dispostas e o liofilizador se manteve em operação sob vácuo por 96 h. Todas estas etapas realizadas para mistura de FOS em farinha e amido estão ilustradas na Figura 4.2.

Figura 4.2 – Incorporação de FOS em farinha e amido de amaranto



Na sequência, as amostras liofilizadas foram dispostas em dessecador e mantidas até o momento das análises.

#### 4.3.3 Caracterização das Amostras com Incorporação de Frutooligossacarídeos

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

A morfologia das misturas ou dos componentes individuais foi observada por microscópio eletrônico de emissão de campo (FEG-SEM) MIRA 3 (Tescan, República Tcheca) com uma corrente do feixe de elétrons de 15 kV no canhão de emissão de campo, gerada por uma lâmpada com filamento de tungstênio. Cada amostra foi previamente disposta sobre uma fita de carbono, seguida de metalização com plasma de ouro a 20 mA, durante 150 s, para promover a passagem de elétrons (BET *et al.*, 2016).

#### 4.3.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Cromatógrafo *Waters* 2695, com bomba peristáltica *Waters* 2414 e detector de índice de refração, controlado pelo software *Empower – Waters* Antes foi utilizado par análise cromatográfica. A curva padrão foi construída com 9 níveis de concentração em diluição seriada, plotadas relacionando a uma coluna Oligossacarídica Rezex RSO - Ag<sup>+</sup> (200 x 10 mm) com fase móvel - água ultrapura (Milli - Q ®) filtrada e degaseificada. O padrão de grau cromatográfico (FOS, Sigma-Aldrich Brasil-LTDA, F8052) e as amostras diluídas (1:20 amostra:água ultrapura m/v) foram preparadas utilizando balões volumétricos certificados, água ultra pura (Milli-Q) e filtradas em membrana CHROMAFIL (Xtra PA-45/25) poro 0,45 µ e diâmetro 25 mm. O fluxo da fase móvel foi de 0,2 mL min<sup>-1</sup>, com temperatura do detector de 30 °C e da coluna de 75 °C, sendo a sensibilidade de 64.

#### 4.3.3.3 Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas foram obtidas por meio do sistema de análise térmica TGA-50 (*Shimadzu, Japão*). O equipamento foi previamente calibrado com peso padrão conforme instruções do fabricante, e a verificação realizada com oxalato de cálcio. Uma massa de 8-10 mg de cada amostra foi pesada em cadinhos de alumina abertos e aquecida de 30-650 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, sob um fluxo de ar comprimido com vazão de 150 mL min<sup>-1</sup>. As percentagens de perda de massa e a obtenção da primeira derivada (DTG) foram obtidas com auxílio do software de análise de dados TA-60 WS (BET *et al.*, 2018).

#### 4.3.3.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O equipamento DSC-Q200 (*TA-Instruments, EUA*) foi previamente calibrado conforme as instruções do fabricante, para obtenção das curvas DSC. Utilizou-se fluxo de ar de 100 mL min<sup>-1</sup>, faixa de aquecimento de 20 a 100 °C e razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>. Pesou-se uma massa de aproximadamente 2,5 mg de cada amostra, as quais foram homogeneizadas em 10 µL de água deionizada (proporção de 1:4) em cadinhos de alumínio posteriormente selados (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

#### 4.3.3.5 Propriedades de pasta (RVA)

Equipamento RVA-4 (*Newport Scientific, Australia*) foi utilizado para avaliação das propriedades de pasta do amido, bem como da farinha. Para isso, uma dispersão em água a 8% (m/m) de amido em base seca em 28 g de massa total foi preparada e submetida a um ciclo de aquecimento até 95 °C e resfriamento controlado sob agitação circular constante. Os parâmetros utilizados estão descritos a seguir: temperatura mantida a 50 °C por 2 min, seguido de aquecimento até 95 °C a uma razão de aquecimento de 6 °C min<sup>-1</sup>, temperatura mantida a 95 °C durante 5 min, seguido de arrefecimento a 50 °C a 6 °C min<sup>-1</sup>. Ao fim do ciclo a temperatura foi mantida por 2 min a 50 °C (LACERDA et al., 2014).

#### 4.3.3.6 Colorimetria

A cor foi analisada com um colorímetro MiniScan EZ (*Hunter Lab, Reston, Virginia, USA*). O instrumento (geometria 45°/0°, ângulo de observação 10°, iluminante D65) foi pré-calibrado com placas padrão (branco e preto; X: 82,30; Y: 87,38; Z: 93,37) antes da medição da amostra.

Os parâmetros de cor foram avaliados com base no sistema CIE L\*a\*b\*, em que L\* é a luminosidade, a\* (intensidade de cor vermelha) representa a tendência da cor verde (-) a vermelho (+), e b\* (intensidade de cor amarela) indica a tendência de azul (-) ao amarelo (+). Os valores médios da cor foram obtidos a partir de três medições.

Com estes resultados, calculou-se a diferença global de cor ( $\Delta E$ ) (Equação 2), que corresponde à diferença na percepção de tonalidade de cor, incluindo brilho e saturação (CAMPOS et al., 2016). As amostras controles foram consideradas as que não haviam sido incorporadas de FOS e que não haviam passado pelo processo de sonicação ou liofilização.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2)$$

Onde:  $\Delta L^* = (L^* \text{ da amostra controle}) - (L^* \text{ da amostra incorporada})$ ;  $\Delta a^* = (a^* \text{ da amostra controle}) - (a^* \text{ da amostra incorporada})$ ;  $\Delta b^* = (b^* \text{ da amostra controle}) - (b^* \text{ da amostra incorporada})$ . Maiores valores de  $\Delta E^*$  indicam maiores diferenças entre

duas cores: imperceptível ( $\Delta E^* < 1$ ); mínima ( $1 \leq \Delta E^* < 2$ ); apenas perceptível ( $2 \leq \Delta E^* < 3$ ); perceptível ( $3 \leq \Delta E^* < 5$ ); forte diferença ( $5 \leq \Delta E^* < 12$ ) e cor diferente ( $\Delta E^* \geq 12$ ).

A partir dos valores obtidos de L,  $a^*$  e  $b^*$  foi também possível calcular os valores de croma ( $C^*$ ) que corresponde à intensidade de cor por meio da Equação 3:

$$\Delta C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3)$$

E ainda, o ângulo de tonalidade (ângulo *Hue*) também pode ser calculado (Equação 4) (ITO *et al.*, 2016):

$$h^\circ = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (4)$$

O índice de brancura (WI) também foi calculado de acordo com a Equação 5. Quanto mais alto o valor deste índice, mais branca é a cor da superfície (LUCCAS; BONOMI; KIECKBUSCH, 2014).

$$WI = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{1/2} \quad (5)$$

As cores foram mostradas usando-se um conversor de cores online denominado *Nix Color Sensor* com sistema de entrada CIELAB, iluminante  $D_{65}$  e ângulo de referência  $10^\circ$ .

#### 4.3.4 Análise Estatística

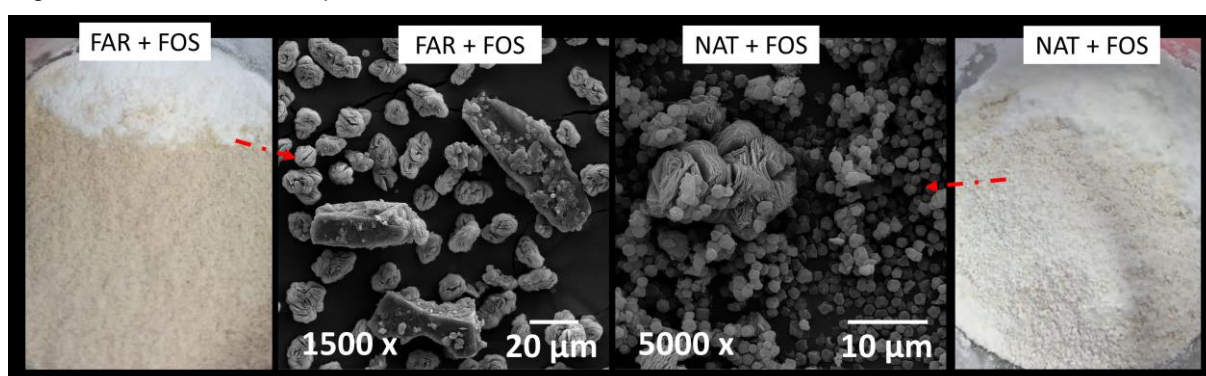
Os resultados experimentais foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão amostral ( $n=3$ ). O teste de Shapiro Wilk ( $p>0,05$ ) foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados. A homoscedasticidades das variâncias foi analisada com teste de Levene ( $p>0,05$ ). Para amostras homoscedásticas, aplicou-se o teste de análise de variâncias unifatorial para identificar diferenças entre as médias. Estes testes foram realizados com o software IBM SPSS *Statistics* 22. O teste *post-hoc* de Tukey foi utilizado com 95% de confiança ( $p<0,05$ ) com o auxílio do software *SasmAgri* versão 8.2.

## 4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.4.1 Microimagens de Farinha e Amido Incorporados com FOS

Uma mistura física foi observada microscopicamente para fins de comparação às incorporações realizadas com US e liofilização. As microimagens obtidas estão ilustradas na Figura 4.3.

Figura 4.3 – Mistura física para sistema Farinha-FOS e Amido-FOS



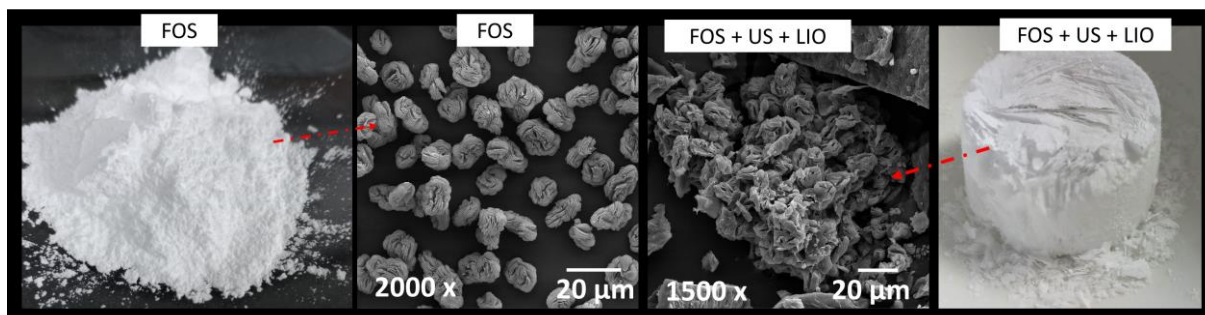
Apenas a mistura física, utilizando-se almofariz e pistilo não é suficiente para permitir uma interação ou ligação entre os dois componentes. Na imagem do sistema farinha-FOS percebe-se as placas que caracterizam a fração farinácea rodeada pelos FOS, os quais apresentam forma irregular. Na imagem à direita, o sistema amido nativo-FOS exibe também as porções de amido de amaranto como pequenos grânulos rodeando uma estrutura de FOS.

O diâmetro médio do amido de amaranto foi de  $1,36 \pm 0,24 \mu\text{m}$ , enquanto que o FOS apresenta um comprimento médio  $15,79 \pm 3,02 \mu\text{m}$ .

A Figura 4.4 ilustra os frutooligossacarídeos tanto na sua forma isolada quanto após a exposição ao ultrassom e liofilização. A exposição ao US e à liofilização ocasionou deformações dos FOS, favorecendo a formação de agregados.

Mendes (2017) constataram que ao realizar a extração de FOS por ultrassom a partir de raiz de yacon, com parâmetros de 5,5 min, 60% de amplitude, as quantidades de glucose e frutose não aumentaram significativamente quando comparado ao extrato de yacon não sonificado. Com isso é possível perceber que nestas condições não houve degradação do FOS durante a exposição à cavitação acústica.

Figura 4.4 – Microimagens de frutooligossacarídeos submetidos ou não ao processo de ultrasonicação e liofilização

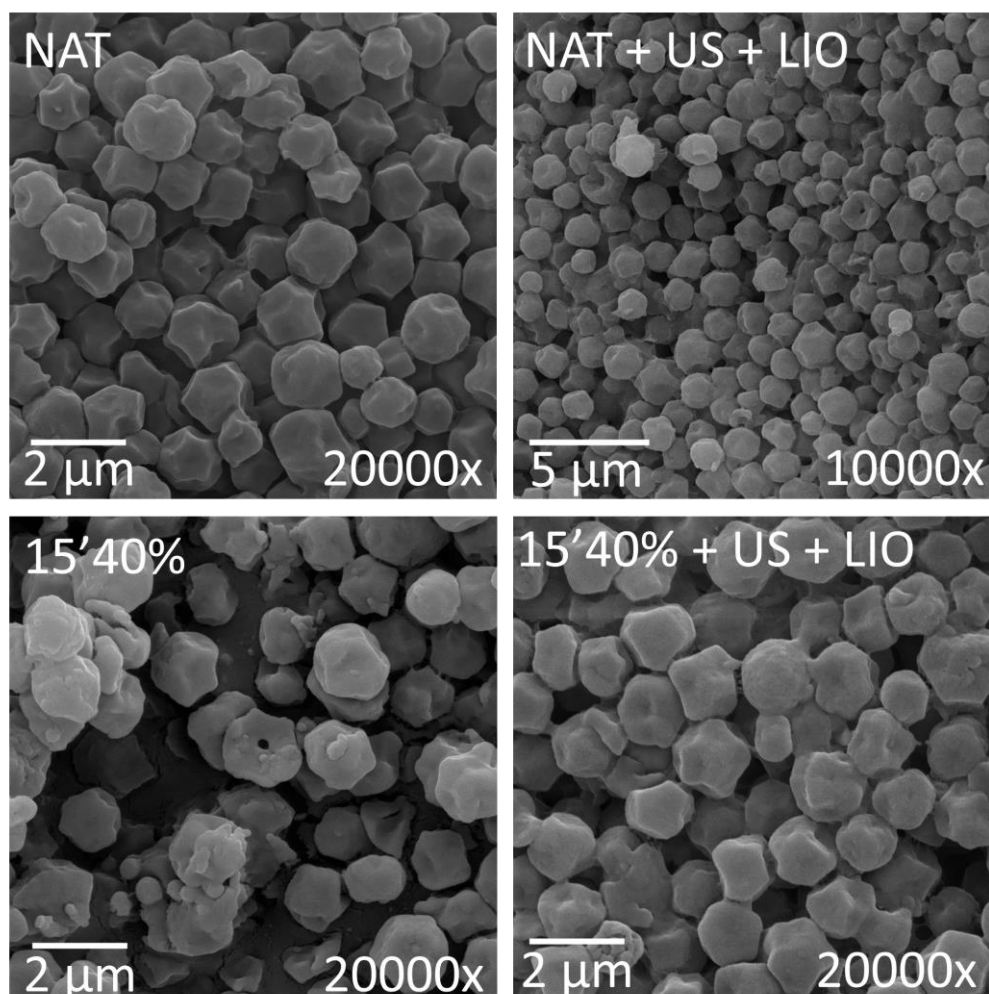


Chen *et al.* (2019) constataram que o US (49 °C, 40 min, 40 kHz, 240 W, 1:20, m/v) foi capaz de aumentar a atividade prebiótica de polissacarídeos devido às mudanças estruturais sofridas. Hu *et al.* (2018) também confirmaram que o tamanho médio das partículas e o peso molecular do polissacarídeo extraído de sementes de *Plantago asiatica* L. diminuíram devido à irradiação ultrassônica (100 kHz, 60, 120 e 180 min) seguido de liofilização, possivelmente devido às rupturas nas ligações glucosídicas. Com isso, houve maior produção de ácidos graxos de cadeia curta durante a fermentação, possibilitando maior assimilação e crescimento de *Lactobacillus* e *Bacteroidaceae* em relação à polissacarídeos não tratados por US.

Com isso percebe-se que a aplicação do US não foi somente estratégica para homogeneização do sistema amido-FOS, mas também pode estar relacionado à maior fermentação e conseqüentemente, a uma maior atividade prebiótica.

A Figura 4.5 exhibe o perfil morfológico dos grânulos de amido, comparando-se o amido nativo, extraído por US (15 min 40%) e após submeter o amido 15 min 40% à liofilização, precedida ou não de US, tratamentos que foram empregados para incorporação.

Figura 4.5 – Microimagens de amido de amaranto e influência da sonicação e liofilização na morfologia



Observa-se que o amido nativo após passar pelo processo de ultrassom e liofilização sofreu alguns danos em sua superfície, tornando-se mais irregular, perdendo ligeiramente sua forma inicial. Estes danos parecem estar mais relacionados ao US quando comparado à liofilização, uma vez que na amostra em que o US não foi empregado para incorporação, o amido não apresentou tantos danos evidentes. Já, na última imagem a direita é possível visualizar que, após a segunda passagem pelo US, os grânulos tendem a ficar ligeiramente mais deformados, e menos aglomerados quando comparados a utilização isolada de liofilização. Mas ainda assim, o amido de amaranto apresenta uma certa resistência às deformações pelo US e pela liofilização.

Estudos relatam formação de poros, rachaduras e fissuras após a exposição ao US, como relatado por Sujka e Jamroz (2013) em amido de batata e trigo, enquanto que no milho e arroz estas alterações também não foram tão evidentes.



Possivelmente isso se deve ao pequeno tamanho do amido de amaranto, o que o torna menos suscetível às alterações superficiais pelos microjatos formados com a implosão das bolhas de cavitação durante a sonicação.

Já, Bento *et al.* (2021) observaram arranhões, rachaduras e depressões no grânulo de amido de lírio branco após modificação por US relacionados aos efeitos da cavitação. Os microjatos gerados pelo colapso assimétrico da bolha perto de uma superfície podem perturbar os grânulos a uma taxa de até  $100 \text{ m s}^{-1}$ .

Amido de leguminosas extraídos por US (feijão faba, lentilha vermelha e verde, ervilha) apresentaram arranhões na superfície dos grânulos, depressões e rachaduras, principalmente à medida que maior amplitude fosse empregada (KARAMAN; TUNCEL; TUNCEL, 2017).

Yang *et al.* (2019) observaram fissuras e poros na superfície dos grânulos e amido de arroz, e maior homogeneidade dos grânulos, com efeito mínimo no tamanho. A extensão da destruição do grânulo depende de vários fatores, incluindo a concentração da suspensão de amido, a temperatura e meio do sistema, a composição e tipo de amido, e a potência, frequência e tempo de processamento ultrassônico.

A liofilização também pode contribuir com arranhões e aspereza nos grânulos. Neste processo a água é retirada por sublimação do gelo sob alto vácuo sem passar pelo estado líquido, o que pode favorecer uma estrutura mais porosa, justificando a maior higroscopicidade de produtos liofilizados (AHMED; THOMAS; KHASHAWI, 2020).

E conforme discutido por Zhang *et al.* (2014b), os arranhões e aspereza nos grânulos crioconcentrados são provavelmente causados pela distorção forçada dos grânulos de amido devido à liberação local explosiva de vapor de água pela pressão acumulada dentro dos grânulos rígidos. Isso vai ocorrendo à medida que as moléculas de água tentam escapar através da estrutura interna sólida e da estrutura superficial lisa sob condições de vácuo. Caso o amido apresente poros e canais na superfície e dentro dos grânulos de amido (que podem também ser gerados pelo US), pode facilitar o escape de moléculas de água durante a liofilização, resultando em nenhuma mudança aparente na estrutura granular quando comparada com o amido nativo.

Zhang *et al.* (2014b) ainda complementam que alguns microporos podem ser formados durante a liofilização, porém eles não são facilmente observados por microscopia eletrônica de varredura, pois podem ser recobertos pelo revestimento por

pulverização catódica de platina ou ouro (pelo menos 10 nm de espessura) usado na preparação da amostra.

Porém, é possível que danos não ocorram pelo processo da liofilização como constatado por Zhang *et al.* (2013) para o amido de inhame e por He *et al.* (2021) para amido de lúcumã, ambos secos por liofilização.

As amostras que foram incorporadas usando US e liofilização estão apresentadas na Figura 4.6 (farinha), 4.7 (amido nativo) e 4.8 (amido extraído por US 15min 40%).

A primeira coluna das Figuras mostra as microimagens da farinha nativa ou do amido nativo ou extraído por US durante 15 min sob 40% de amplitude de vibração de forma isolada. A segunda coluna ilustra cada uma destas amostras submetidas ao US e à liofilização. A terceira coluna mostra a incorporação de FOS com o uso de US e liofilização, enquanto a quarta coluna apresenta a incorporação realizada somente com liofilização.

Não foi possível identificar alterações expressivas na farinha de amaranto após a exposição ao US e à liofilização. Possivelmente, o tratamento por 10 min e 40% de amplitude de vibração não foram suficientes para ocasionar danos, somente uma certa desagregação entre os blocos (fratura).

Sudha e Leelavathi (2011) observaram que a microestrutura das partículas de farinha de amaranto mostrou que elas tinham formato irregular e tamanho variável. Um exame atento das partículas revelou que a maioria dos grânulos de amido estavam intactos e poucos deles estavam danificados, além de se apresentarem mais espalhados. Suriya *et al.* (2016), também não observaram danos à farinha de inhame pé-de-elefante após secagem por liofilização, possivelmente pela baixa temperatura de secagem.

Ao contrário, Li, Pordesimo e Weiss (2004) constataram microfaturas nos flocos de soja após exposição aos US, o que os tornou mais porosos. Em outro estudo, a farinha de arroz também exibiu estrutura compacta, entrelaçamentos com corpos proteicos globulares e lipídeos, que após ultrassom foram rompidos (VELA *et al.*, 2021).

Figura 4.6 – Microimagens de Farinha de amaranto incorporada ou não de FOS.



A exposição ao US remete aos efeitos sonoquímicos que ocorrem em um líquido devido à cavitação acústica. Ela está relacionada à propagação da onda no meio, gerando ciclos de pressão e rarefação, que resultam em um deslocamento longitudinal das moléculas constituintes de sua posição original. Quando a rarefação vence as forças de atração das moléculas do líquido, podem ser formadas cavidades, conhecidas como bolhas de cavitação. Estas, crescem por coalescência ou difusão retificada, pois vapores e gases dissolvidos entram na bolha durante a rarefação, não sendo totalmente expelidos durante o ciclo de compressão. Quando elas atingem um valor crítico, entram em colapso durante a compressão e um ponto quente e transitório é formado, aumentando a reatividade do meio. Esta implosão ocorre próximo à superfície do material que está em suspensão, favorecendo os danos e quebras devido às ondas de choque e jatos de líquido em alta velocidade (CHEMAT *et al.*, 2017).

Quando foi adicionado FOS na farinha, a exposição ao US resultou no espalhamento desta fibra, mas sem uma distribuição homogênea ou formação de uma rede. Possivelmente, isso se deve a maior quantidade de fibras, proteínas, lipídeos que impossibilitaram uma incorporação mais eficaz. Houve redução no tamanho dos agregados, quando comparado à utilização apenas da liofilização, em que esta quebra mais intensa não foi evidente.

A diminuição do tamanho das partículas e a distribuição mais homogênea dos poros na superfície dos polissacarídeos favorece a compatibilidade entre os materiais tratados pelo US (BELLUZO, 2016). E isso corrobora com a incorporação realizada no amido de amaranto, conforme ilustrado nas Figuras 4.7 e 4.8.

A incorporação de FOS no amido de amaranto promoveu o aparecimento de um emaranhado entre esses componentes. As ondas sinusoidais de ultrassom passam pelo meio aquoso, resultando em um movimento contínuo do tipo onda. A pressão do movimento induz a mistura no líquido melhorando a homogeneização da amostra (ZHU, 2015).

A homogeneização, a qual neste estudo foi realizada pelo US, pode alterar a distribuição de tamanho de partícula e até a forma da mesma conforme discutido por Castro *et al.* (2012). Dependendo do grau de suscetibilidade do material da parede celular a ser rompido, bem como o local afetado (parede celular ou lamela média), pode haver maiores ou menores alterações nas propriedades físico-químicas, principalmente na reologia das suspensões de fibras. Além disso, como nem todas as células são perturbadas na mesma extensão, isso implica também nas diferenças.

Esta rede não foi visualizada na incorporação realizada somente com a liofilização, onde é possível perceber (no aumento de 5000 vezes) tanto o amido quanto os FOS separados.

Vale ressaltar a possibilidade de utilização do amido de amaranto na sua forma nativa para incorporação, que muitas vezes é limitado.

Figura 4.7 – Microimagens de amido de amaranto extraído por metodologia aquosa incorporados ou não com FOS

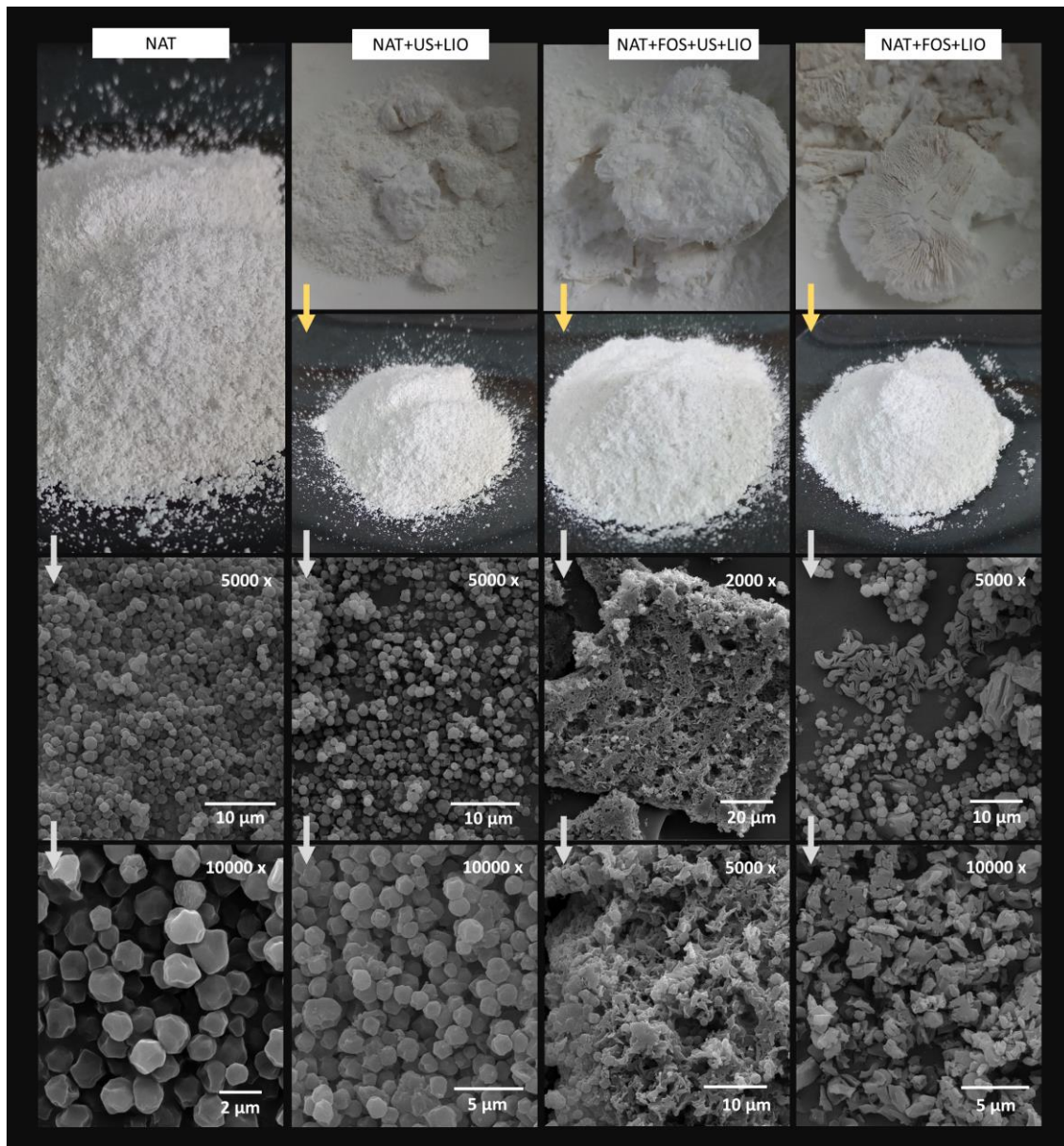
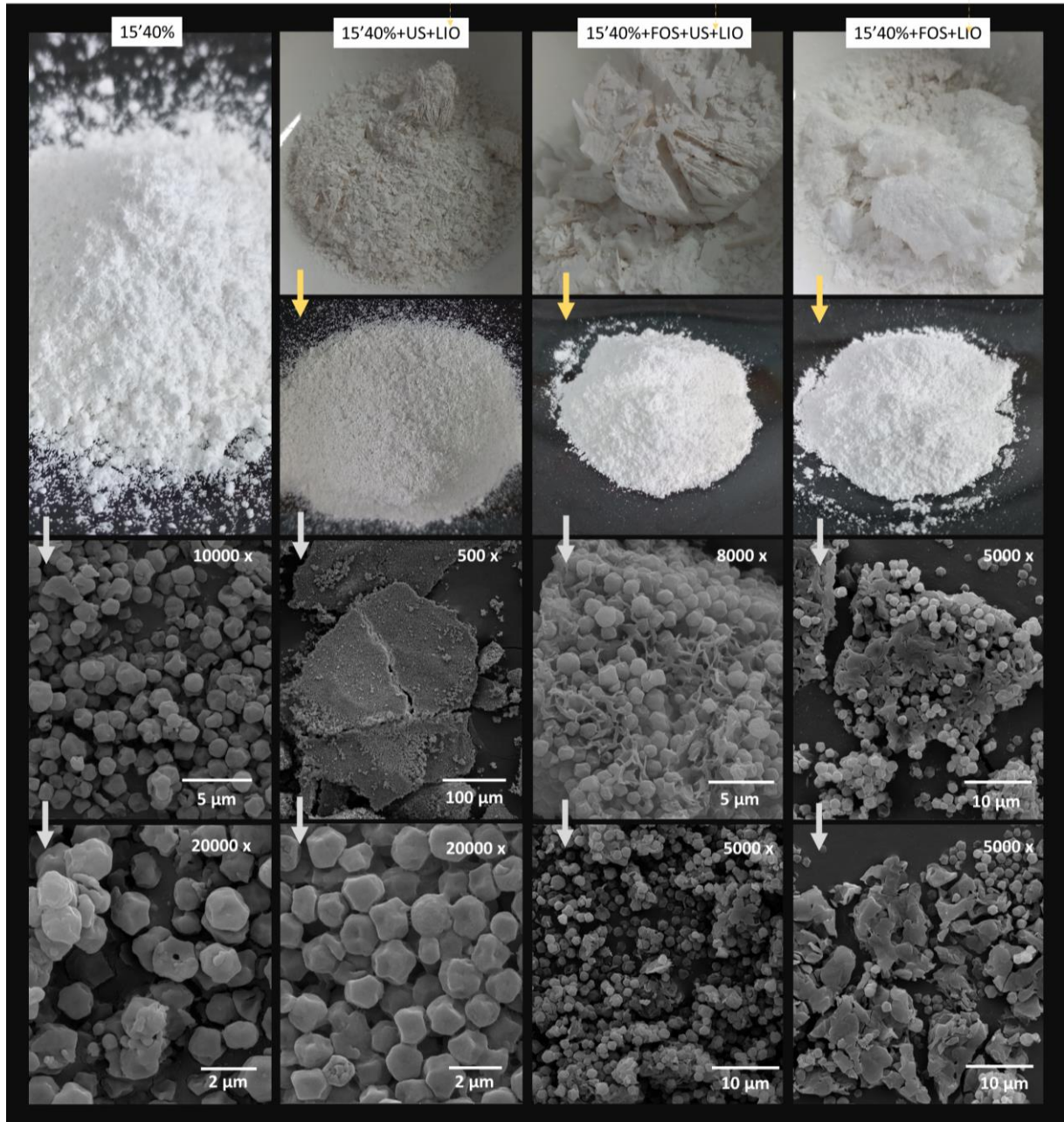


Figura 4.8 – Microimagens amido de amaranto extraído por US (15'40%) incorporados ou não de FOS



O amido 15 min 40% apresentou resultados similares ao amido nativo, visualizando-se a rede formada após aplicação de US para incorporação de FOS, enquanto que na liofilização os grânulos se apresentam dispostos sobre a fibra, que formou alguns aglomerados.

Pós secos podem se apresentar como aglomerados unidos por forças fracas de van de Waals ou ligações químicas mais fortes. Quanto maior a área superficial, estas ligações nominalmente mais fracas podem ser grandes o suficiente para demandarem técnicas como a sonicação para quebrar ou perturbar os aglomerados

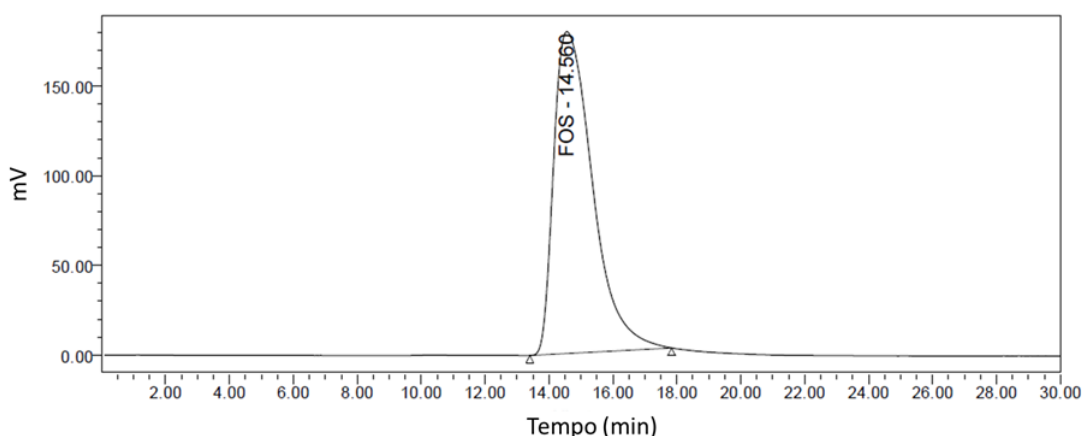
de pó. Portanto, a sonicação antes da liofilização parece ser uma técnica que melhora a homogeneização do meio, potencializando a etapa posterior (TAUROZZI; HACKLEY; WIESNER, 2011).

#### 4.4.2 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Para quantificar os frutooligossacarídeos presentes nas amostras incorporadas, foi utilizada metodologia já validada por Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE).

A Figura 4.9 registra o perfil cromatográfico dos FOS, que eluíram em um tempo de retenção de 14,56 min.

Figura 4.9 – Perfil cromatográfico de Frutooligossacarídeos



Após a sonicação, uma redução nos picos referente ao amido foi observada. Isso vai de encontro ao obtido por Lorimer *et al.* (1994), em que a aplicação do US resultou na despolimerização das cadeias de amilose e amilopectina, ocasionando a redução nos picos.

A quantificação foi realizada usando a curva padrão com 9 níveis de concentração, cuja equação da reta de regressão, com  $R^2$  de 0,9908, foi (Equação 4.1):

$$y = 1,39 \cdot 10^7 x + 7,84 \cdot 10^5 \quad (1)$$

Onde: y corresponde à área do pico (mV) e x representa a concentração de FOS ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ).

Os valores calculados para a concentração de FOS nas amostras incorporadas estão apresentados na Tabela 4.3, bem como as perdas que podem ter ocorrido durante o processo.

Tabela 4.3 – Áreas dos picos e concentração de FOS nas amostras incorporadas

Amostra	Área do pico (mV.s)	Concentração de FOS (g 100 g <sup>-1</sup> )	Perda (% <sup>1</sup> )	Estimativa de FOS em 20 g amido (g)	Estimativa de FOS em 1 porção de pão (g)
NAT + US + FOS + LIO	25736168	35,90	10,24	7,18	2,87
NAT + FOS + LIO	25836845	36,05	9,88	7,21	2,88
15'40% + US + FOS + LIO	28179260	39,42	1,46	7,88	3,15
15'40% + FOS + LIO	25346516	35,34	11,65	7,07	2,83

Notas: NAT, nativo; US, ultrassom, FOS, frutooligossacarídeos, LIO, liofilização

Não foi possível quantificar a concentração de FOS na farinha de amaranto incorporada.

A incorporação apresentou resultados bastante similares entre as técnicas de utilizadas. O amido extraído por US teve a menor perda o que pode estar relacionado à uma distribuição mais homogênea da amostra, possivelmente pelos danos que foram induzidos pelo US, aumentando a área de exposição para que os dois se mantivessem unidos. As maiores perdas podem também estar relacionadas ao preparo da amostra, menor homogeneidade e demais erros analíticos do processo (perda no filtro, homogeneização incorreta durante a solubilização).

Observou-se que todas as amostras apresentaram concentração acima de 31,25%, porcentagem que corresponde a mínima quantidade necessária para que uma porção do pão (conforme formulação sugerida) forneça 2,5 g de FOS, como orientado pela legislação (BRASIL, 2019). Assim, essa quantidade poderia ser alcançada dentro das estimativas teóricas, variando entre 7,07 g a 7,88 g para as amostras de amido incorporadas, e de 2,83 – 3,15 g no pão conforme formulação de referência.

Segundo Rodriguez-Sandoval, Franco e Manharres-Pinzon (2014), doses diárias de 10-15 g de FOS não causam desconforto significativo, porém doses mais elevadas podem estar associadas à flatulência. Neste caso, é possível consumir até 5 porções de pão para alcançar este limite de 15 g. Vale ressaltar que testes devem ser realizados para quantificação de FOS no produto pronto.

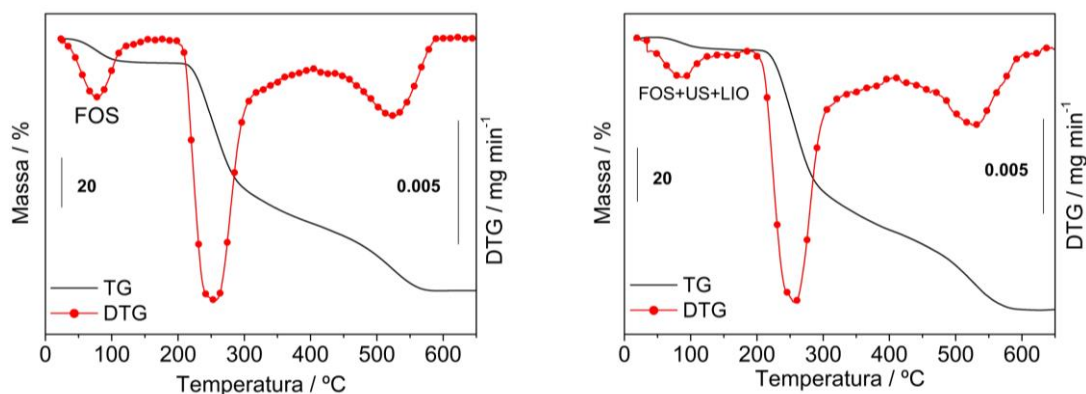


A incorporação de FOS no amido pode ser interessante já que apresenta benefícios à saúde, principalmente relacionados à melhora da função gastrointestinal e aumento da absorção de cálcio, magnésio e ferro (WEI *et al.*, 2014).

#### 4.4.3 Termogravimetria

A partir das curvas obtidas para análise da decomposição térmica dos frutooligossacarídeos (Figura 4.10) observou-se 3 etapas de perda de massa e um período de estabilidade. Comportamento similar foi relatado por Leone *et al.* (2014) para inulina.

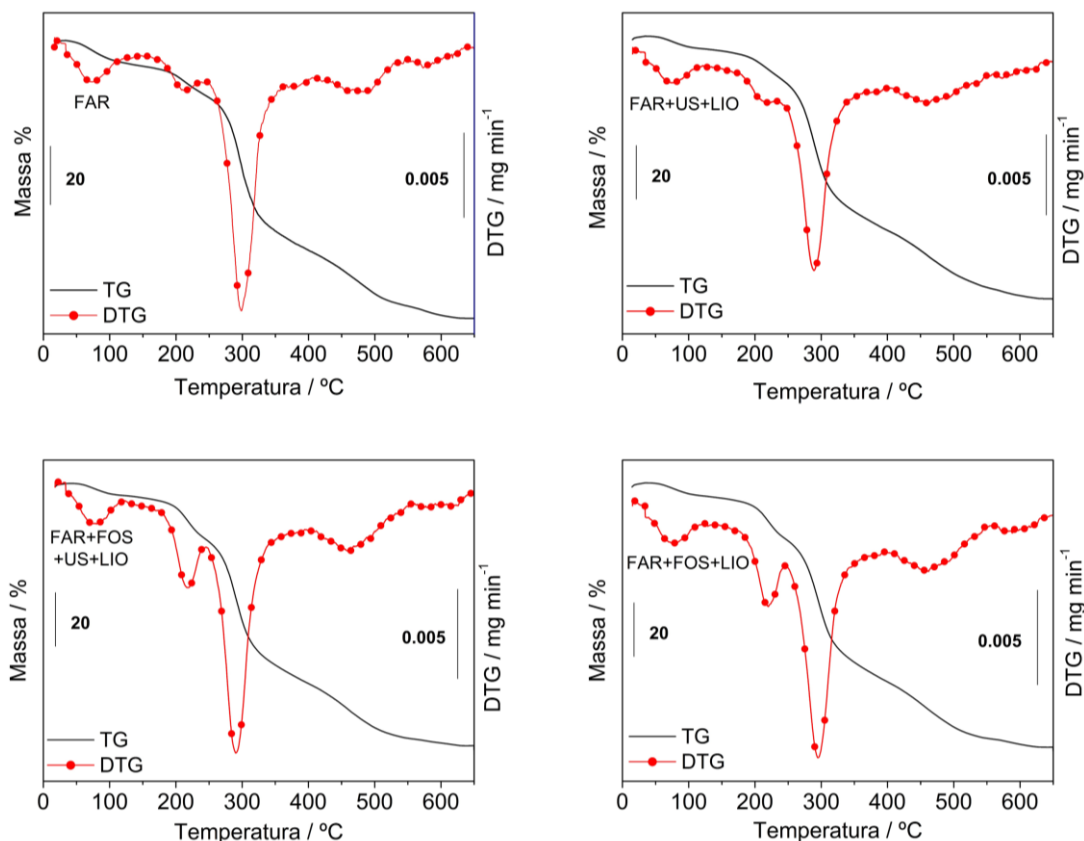
Figura 4.10 – Curvas TG/DTG para frutooligossacarídeos



A exposição ao US e à liofilização não provocaram alterações no comportamento térmico dos frutooligossacarídeos.

Para a amostra das farinhas não foi observado um período de estabilidade. Portanto, a decomposição térmica ocorre em eventos consecutivos, conforme observado na Figura 4.11.

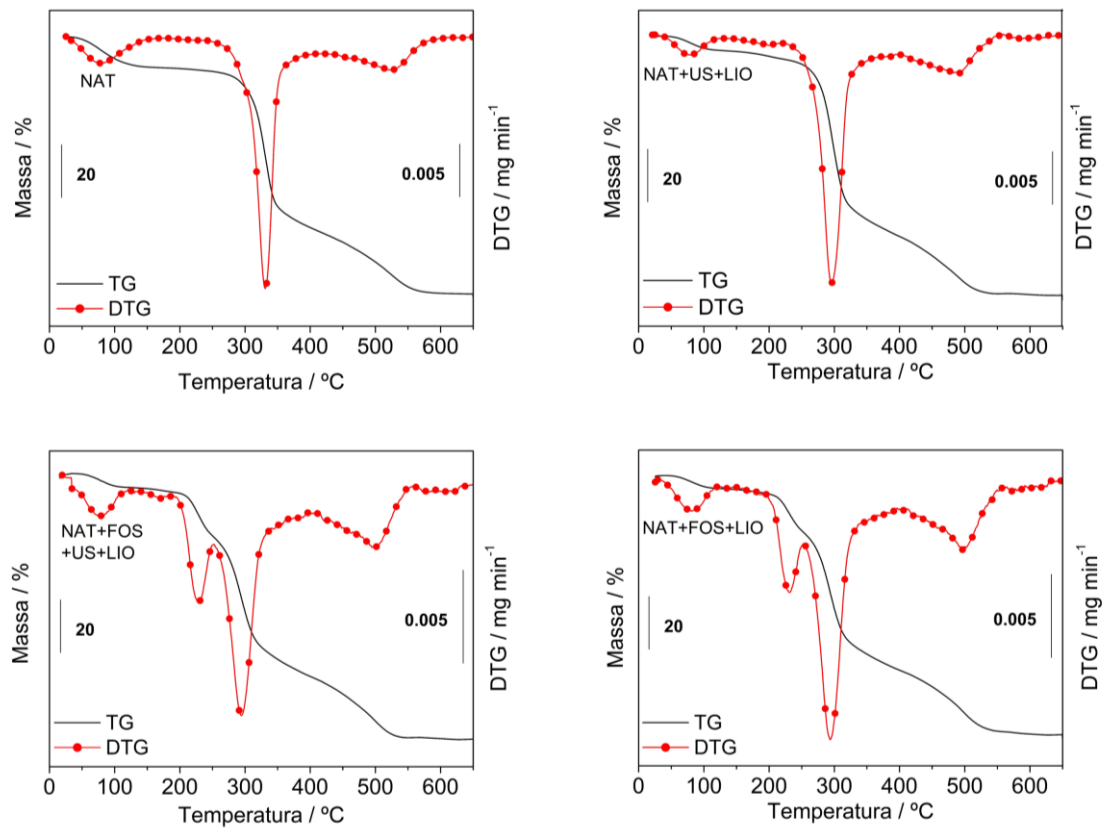
Figura 4.11 – Curvas TG/DTG para farinha de amaranto incorporada ou não de FOS



Com a incorporação de FOS, um ombro mais acentuado na curva DTG foi identificado. Sugere-se que além da perda de lipídeos e proteínas que já era identificada na curva de decomposição da farinha isolada, os FOS somaram nesta etapa fazendo com que a perda de massa fosse maior.

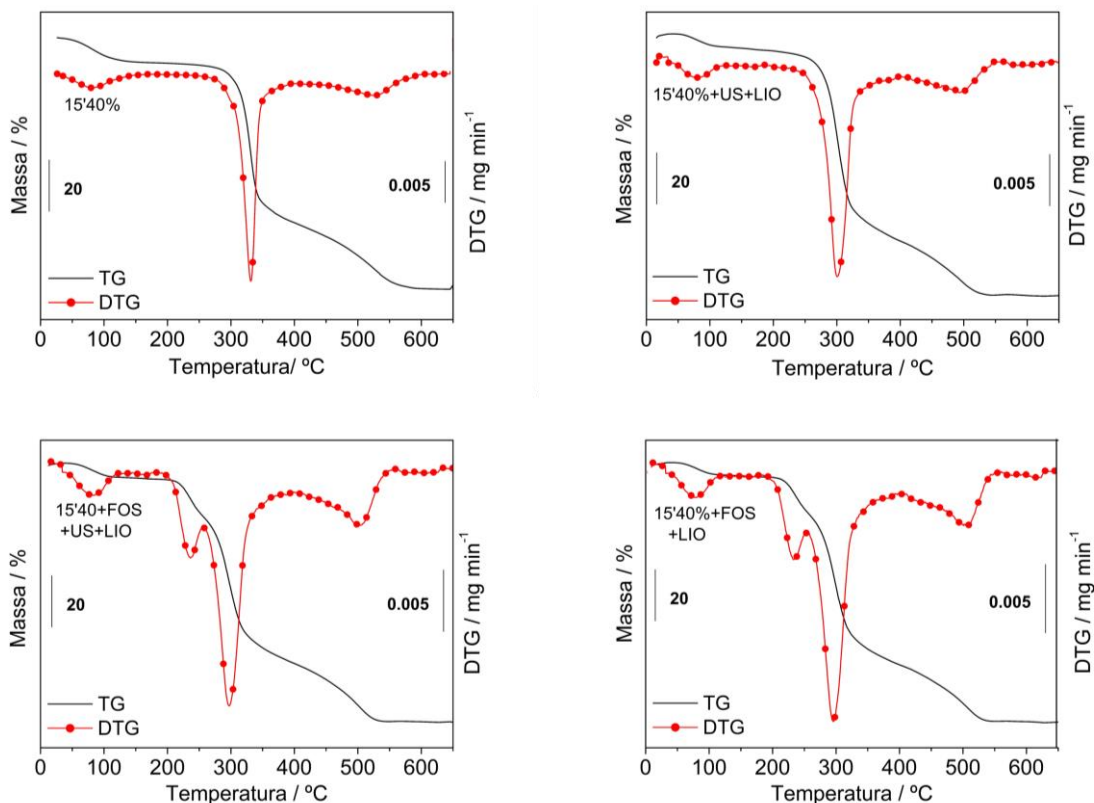
Este ombro também foi identificado nas amostras de amido incorporados com FOS, estando ausente quando apenas o amido foi analisado (Figuras 4.12 e 4.13). Sugere-se, portanto, que corresponde ao início da decomposição de frutooligossacarídeos, confirmando a presença deste após incorporação.

Figura 4.12 – Curvas TG/DTG para amido de amaranto nativo incorporado ou não de FOS



O amido de amaranto (nativo ou extraído por US) apresentou três perdas de massa, com um período bem definido de estabilidade, que sofreu uma redução após submetido à US e liofilização com ou sem a incorporação de FOS.

Figura 4.13 – Curvas TG/DTG para amido de amaranto extraído por US (15'40%) incorporado ou não de FOS



As temperaturas em que as etapas ocorreram, bem como as porcentagens de perda de massa estão apresentadas na Tabela 4.4.

A primeira perda de massa se refere à desidratação das amostras, como mostrado por análise dos gases com técnica acoplada de TG-DSC-infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) realizada por Leone *et al.* (2014), em que as bandas exibidas são de grupos OH.

Percebe-se que após a liofilização, a desidratação ocorreu em faixa de temperatura menor, possivelmente porque com esta operação remove-se a água livre e uma parte da água adsorvida do substrato. Dessa maneira, a quantidade de água é substancialmente menor. A umidade residual se deve a uma parte da água adsorvida não eliminada e à reidratação da amostra devido à absorção de umidade presente no ambiente.

Tabela 4.4 – Resultados extraídos das curvas TG para FOS, farinha e amido de amaranto, bem como para as incorporações por US e liofilização

Amostra	1ª etapa			Estabilidade	Ombro			2ª etapa			3ª etapa			Cinzas
	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$		$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	
FOS (controle)	9,76	30-147	78,93	147-209	-	-	-	64,00	209-397	253,98	26,10	397-612	525,52	0,14
FOS + US + LIO	4,28	30-147	85,66	147-209	-	-	-	65,57	209-389	257,48	30,13	389-626	527,91	0,02
FAR (controle)	8,72	30-153	73,11	-	10,34	153-248	214,39	53,71	248-410	298,79	22,73	410-692	461,86	4,50
FAR+US+LIO	4,81	30-132	73,72	-	11,54	132-242	220,52	57,08	242-407	289,05	24,93	407-664	462,15	1,64
FAR+FOS+US+LIO	4,69	30-134	80,14	-	15,99	134-245	218,09	54,62	245-405	290,24	22,67	405-642	462,01	2,03
FAR+FOS+LIO	4,79	30-125	75,84	-	16,09	125-247	220,34	53,50	247-401	295,09	24,34	401-642	461,94	1,28
NAT (controle)	11,65	30-163	77,06	163-232	-	-	-	61,33	233-405	331,02	24,52	405-612	523,62	2,50
NAT+US+LIO	5,55	30-132	78,92	132-178	-	-	-	70,40	178-392	296,83	22,82	392-560	493,07	1,23
NAT+FOS+US+LIO	5,17	30-123	76,59	123-170	19,03	170-253	227,65	50,30	253-387	297,74	24,73	387-559	495,27	0,77
NAT+FOS+LIO	4,91	30-129	81,32	129-176	17,04	176-254	231,88	50,34	254-380	293,79	25,98	380-569	497,25	1,73
15 min 40% (controle)	9,52	30-161	79,49	161-249	-	-	-	62,16	249-397	331,45	26,12	397-611	525,58	2,20
15 min 40%+US+LIO	5,31	30-139	76,51	139-189	-	-	-	75,51	189-418	300,73	19,12	417-582	493,61	0,06
15 min 40%+FOS+US+LIO	5,52	30-133	81,03	133-203	14,28	203-257	236,44	56,44	257-398	297,52	22,77	398-575	504,56	0,99
15 min 40%+FOS+LIO	4,70	30-124	81,53	124-192	14,58	192-258	235,95	57,67	257-390	298,37	23,04	390-563	503,25	0,01

Notas:  $\Delta m$ , variação de massa (%);  $\Delta T$ , variação de temperatura ( $^\circ\text{C}$ ),  $T_p$ , temperatura de pico ( $^\circ\text{C}$ ).

Valores que apresentam a cor verde ou vermelha foram inferiores ou superiores, respectivamente, à amostra controle do grupo correspondente.

\*FAR, farinha; NAT, nativo, FOS, frutooligossacarídeos, US, ultrassom, LIO, liofilização

Durante a secagem por liofilização, duas etapas podem ser destacadas: desidratação primária e a secundária. Na primária ocorre a remoção de aproximadamente 90% do conteúdo da água livre durante o processo de sublimação. Na secagem secundária, ocorre a evaporação da água adsorvida em temperaturas entre 30-60 °C (dependendo da natureza do produto), não sendo possível removê-la totalmente (HOCHI *et al.*, 2011; HOCHI *et al.*, 2008).

Os frutooligossacarídeos apresentaram uma estabilidade antes da decomposição devido ao aquecimento até 209 °C, a qual não foi alterada após a sua exposição ao US e à liofilização. Houve apenas uma redução no teor de umidade, como esperado. Essa temperatura foi similar à inulina (214 °C) conforme relataram Leone *et al.* (2014).

Acima desta temperatura as bandas de absorção apontam liberação de CO<sub>2</sub>, CO. De fato, acompanhando a análise é possível sentir, a partir de 215 °C um odor bem similar à caramelização do açúcar, mais intenso próximo aos 240 °C. Leone *et al.* (2014) identificaram um pico por DSC a 217 °C referente à fusão das moléculas resultantes da clivagem dos carboidratos com maior grau de polimerização como FOS e inulina. Portanto, perdas de massa próximo a 230-250 °C podem estar relacionadas à caramelização, quebra da ligação glucosídica e fusão dos açúcares.

Como o FOS passa a se decompor a 209 °C, a quebra de suas ligações pode liberar glucose, que por sua vez é um açúcar redutor e pode haver ocorrência de Reação de *Maillard*, pois o amido apresenta conteúdo proteico. Além disso, pode haver também a caramelização.

Isso também passa a ser perceptível durante a análise por meio do odor dos compostos volatilizados. E conforme aponta Cueto e Swedlund (2019), abaixo de 160 °C não há percepção de odor, enquanto que acima de 170 °C o odor muda de xarope cozido progredindo para amanteigado, melado, caramelo, lenha torrada, passas, caramelo passado e enfim, fósforo queimado (indicando já formação de cinzas).

O amido nativo de amaranto apresentou uma diminuição na sua estabilidade térmica após a exposição à sonicação e à liofilização. O mesmo ocorreu para o amido já extraído por US após nova exposição à sonicação e à liofilização. O impacto dos efeitos ultrassônicos parece ter sido mais intenso devido à maior área superficial, já que os grânulos não se encontravam protegidos pela matriz, como no processo de extração.

Como afirmado por Cui e Zhu (2020), o US é capaz de quebrar as cadeias poliméricas e induzir a degradação do polímero.

Após a incorporação, o teor de umidade manteve-se baixo, e a decomposição térmica se iniciou antes, evidenciando uma menor estabilidade ao aquecimento, chegando a 170-176 °C para o amido nativo (temperaturas próximas às registradas apenas para o amido sonificado e liofilizado) e 192-204 °C para o amido 15 min 40% (ligeiramente superior ao do amido sozinho).

Comparando-se os resultados obtidos entre a o amido nativo incorporado de FOS com ou sem o uso de ultrassom, não foram percebidas alterações no comportamento térmico, mantendo o mesmo padrão. Isso também foi observado para a amostra 15 min 40%. Apenas houve uma maior redução do teor da umidade quando a amostra foi somente liofilizada.

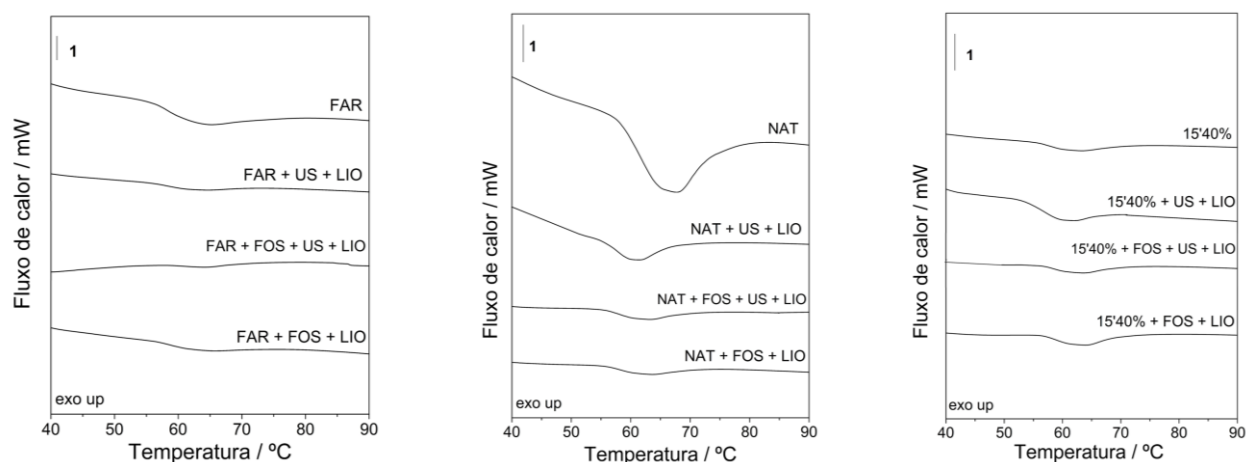
Um ombro foi identificado nas amostras de farinha e amidos incorporados com FOS entre 150-258 °C. É possível que nesta faixa de temperatura ocorra a degradação do FOS levando à caramelização do açúcar, com velocidade máxima de perda em temperaturas mais próximas de 240 °C (LEONE *et al.*, 2014)

#### 4.4.4 Calorimetria Exploratória Diferencial

A gelatinização do amido acontece numa faixa de temperatura pois envolve diferentes transições de perda de ordem principalmente pela heterogeneidade dos grânulos que ocorrem numa mesma fonte botânica (RODRIGUEZ-SANDOVAL; FRANCO; MANJARRES-PINZON, 2014).

As curvas DSC obtidas para avaliação do fenômeno endotérmico associado à gelatinização de amidos estão apresentados na Figura 4.14.

Figura 4.14 – Curvas DSC para farinha e amido de amaranto incorporados ou não com frutooligossacarídeos



Foi possível observar um ligeiro deslocamento para direita do evento de gelatinização das amostras que foram incorporadas com FOS, mostrando um incremento da temperatura. Os resultados extraídos das curvas DSC estão apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Temperaturas de transição e entalpia de gelatinização para farinha e amido incorporados ou não com frutooligossacarídeos

Amostras	$T_o/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$\Delta H_{\text{gel}}/ \text{J g}^{-1}$
FAR (controle)	56,23±0,06 <sup>c</sup>	63,67±0,21 <sup>b</sup>	73,13±0,27 <sup>a</sup>	16,89±0,20 <sup>a</sup>	3,55±0,11 <sup>a</sup>
FAR+US+LIO	55,30±0,10 <sup>d</sup>	61,40±0,36 <sup>c</sup>	70,51±0,39 <sup>c</sup>	15,21±0,49 <sup>b</sup>	3,94±0,19 <sup>a</sup>
FAR+FOS+US+LIO	58,89±0,05 <sup>a</sup>	64,71±0,02 <sup>a</sup>	71,95±0,32 <sup>b</sup>	13,06±0,27 <sup>c</sup>	1,92±0,03 <sup>c</sup>
FAR+FOS+LIO	56,55±0,19 <sup>b</sup>	61,61±0,51 <sup>c</sup>	71,94±0,65 <sup>b</sup>	15,39±0,84 <sup>b</sup>	2,32±0,20 <sup>b</sup>
NAT (controle)	54,53±0,07 <sup>b</sup>	60,25±0,09 <sup>b</sup>	69,97±0,58 <sup>b</sup>	15,45±0,65 <sup>ab</sup>	6,65±0,31 <sup>b</sup>
NAT+US+LIO	54,69±0,15 <sup>b</sup>	60,10±0,02 <sup>b</sup>	68,96±0,15 <sup>b</sup>	14,27±0,30 <sup>b</sup>	10,21±0,45 <sup>a</sup>
NAT+FOS+US+LIO	55,49±0,16 <sup>a</sup>	62,30±0,17 <sup>a</sup>	72,41±0,85 <sup>a</sup>	16,92±0,98 <sup>a</sup>	5,33±0,29 <sup>c</sup>
NAT+FOS+LIO	55,72±0,06 <sup>a</sup>	62,55±0,17 <sup>a</sup>	72,56±0,75 <sup>a</sup>	16,84±0,73 <sup>a</sup>	4,23±0,19 <sup>d</sup>
15 min 40% (controle)	55,32±0,06 <sup>c</sup>	61,70±0,20 <sup>c</sup>	71,70±0,66 <sup>a</sup>	16,38±0,65 <sup>a</sup>	5,27±0,26 <sup>b</sup>
15 min 40%+US+LIO	53,21±0,08 <sup>d</sup>	59,23±0,08 <sup>d</sup>	68,77±0,69 <sup>b</sup>	15,56±0,77 <sup>a</sup>	7,09±0,38 <sup>a</sup>
15 min 40%+FOS+US+LIO	56,43±0,08 <sup>b</sup>	63,29±0,04 <sup>b</sup>	72,72±0,33 <sup>a</sup>	16,29±0,32 <sup>a</sup>	4,20±0,11 <sup>c</sup>
15 min 40%+FOS+LIO	56,81±0,06 <sup>a</sup>	63,84±0,09 <sup>a</sup>	72,05±0,21 <sup>a</sup>	15,23±0,15 <sup>a</sup>	5,53±0,02 <sup>b</sup>

Notas: Valores que apresentam letras diferentes na mesma coluna, no mesmo grupo, apresentam diferença estatística significativa entre si pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Valores que apresentam cor verde foram estatisticamente inferiores à amostra controle do grupo correspondente. Valores que apresentam cor vermelha foram estatisticamente superiores à amostra controle do grupo correspondente. \* $T_o$ , temperatura onset;  $T_p$ , temperatura de pico;  $T_c$ , temperatura de conclusão,  $\Delta T$ , faixa de temperatura,  $\Delta H_{\text{gel}}$ , entalpia de gelatinização; FAR, farinha; NAT, nativo, FOS, frutooligossacarídeos, US, ultrassom, LIO, liofilização



A farinha de amaranto apresentou temperaturas superiores ao amido de amaranto nativo. Temperaturas similares, embora maior entalpia foram encontradas para farinha de amaranto orgânico (BET *et al.*, 2019).

Com a presença de proteínas, fibras, lipídeos e minerais, a gelatinização do amido se dá de forma menos intensa, principalmente pela interação com estes outros nutrientes e ligação com a água. Assim, a entalpia também é menor, uma vez que uma menor fração de amido será gelatinizado. Isso se intensifica ainda mais quando FOS é adicionado, devido a sua alta solubilidade.

Villarreal *et al.* (2013) justificam que a alta competitividade pela água pelas fibras e proteínas reduzem a gelatinização do amido aumentando as temperaturas de transição. Além disso, Iturriaga *et al.* (2004) também identificaram maiores temperaturas e menor entalpia para farinha de arroz devido à baixa disponibilidade de água quando comparado ao amido sozinho.

Zhu e Li (2019) observaram uma redução nas temperaturas de gelatinização e da entalpia quando US foi aplicado em farinha de quinoa. Eles apontam que os e microjatos da sonicação, que impactam nas propriedades componentes não amiláceos são afetados pelas forças de cisalhamento funcionais da farinha.

Vela *et al.* (2021) constataram redução na entalpia de gelatinização de farinha de arroz após sonicação, justificado pelos diferentes alinhamentos de pontes de hidrogênio dentro das moléculas de amido, como consequência do rompimento de regiões amorfas. As temperaturas de início foram aumentadas e houve uma redução da faixa de temperatura. A menor faixa indica um reforço da estrutura do amido após o tratamento provavelmente devido a uma estrutura de sobras cristalinas melhor compactadas após a quebra das regiões amorfas e a fusão dos cristalitos mais fracos no amido causada pela cavitação.

Esta diferença entre  $T_c$  e  $T_o$  está relacionada às diferenças na estabilidade dos cristalitos. Caso a faixa de gelatinização seja maior, indica maior heterogeneidade dos cristais. O estreitamento do pico relacionado ao tratamento de ultrassom pode sugerir que a sonicação distorceu as partes amorfas e não organizadas do grânulo de amido e, em seguida, a homogeneidade do amido aumentou (AMINI; RAZAVI; MORTAZAVI, 2015). Porém, somente a farinha submetida ao US e à liofilização apresentou diminuição deste parâmetro.

Não foram observadas mudanças nas temperaturas de gelatinização para o amido nativo quando submetido ao US e liofilização. No caso do amido já extraído por

US (15 min 40%) e submetido aos tratamentos de sonicação (10 min 40%) e liofilização observou-se uma diminuição das temperaturas envolvidas, mantendo-se similar a faixa de temperatura de transição.

Conforme discutido por Jambrak *et al.* (2010) quando o amido é submetido ao processo de sonicação, tanto o fenômeno da cavitação acústica quanto o aumento da temperatura favorecem a perda estrutural dos grânulos do amido, que reduzem a temperatura para a gelatinização do amido.

Quanto à entalpia, observou-se um aumento significativo deste parâmetro após US e liofilização.

O processo de sonicação envolve tensão forte e energia de cisalhamento provocados pelos efeitos mecânicos da cavitação, e isso provoca danos irreversíveis às cadeias. Pode acontecer uma cisão de cadeia aleatória ou de ponto médio, dependendo da configuração estrutural inicial do material sonicado, bem como de sua composição. No caso da cisão aleatória, são produzidos diferentes comprimentos de cadeia, enquanto a cisão de ponto médio assume que a degradação ocorre no centro do polissacarídeo. Assim, polissacarídeos de maior peso molecular sofrem quebras mais rápidas (VILKHU *et al.*, 2010).

Estes novos comprimentos de cadeia podem também favorecer novos realinhamentos ou ligações. Corroborando com isso, Bento *et al.* (2021) e Sandhu e Sinh (2007) discutiram que a variação da  $\Delta H_{gel}$  do amido pode ser explicada pela diferença entre as forças de ligação da dupla hélice, que resultam em diferentes alinhamentos de ligações de hidrogênio dentro das moléculas de amido. É justamente esta perda da ordem helicoidal responsável pelas variações na entalpia de gelatinização. Quando a dupla hélice se quebra, a energia de gelatinização é reduzida e a estrutura cristalina é pouco afetada.

Pelo contrário, quando há presença de cristais mais fortes pode haver o aumento da entalpia, conforme discutido por Zhu (2015b) e Bernardo *et al.* (2018) já que ela reflete a perda da ordem molecular dentro do grânulo de amido, após a gelatinização.

Dessa forma, ressalta-se que o tipo de amido e as condições de ultrassom, tanto de operação quanto do equipamento, apresentam grande influência nas propriedades térmicas do amido, não sendo possível generalizar as alterações que ocorrerão.

E quanto à secagem por liofilização, acredita-se que ocorra uma mudança ou desorganização na estrutura do amido durante esta operação (AHMED; THOMAS; KHASHAWI, 2020).

Zhang *et al.* (2013) indicaram que estrutura ordenada do amido nativo foi interrompida devido à crioconcentração, apresentando-se menos amorfo. Eles observaram uma diminuição nas temperaturas e entalpia de gelatinização.

Consistente a isso, quando submetido à liofilização, amido de lúcumã apresentou redução nas temperaturas de transição e na entalpia de gelatinização (HE *et al.*, 2021).

A avaliação da crioconcentração de amidos realizada por Zhang *et al.* (2014b) comprovaram uma redução tanto das temperaturas quanto da entalpia de gelatinização. Eles discutiram que como a temperatura de gelatinização se relaciona à estabilidade térmica de cristalitos, e a  $\Delta H_{gel}$  reflete à ordem molecular e cristalinidade, a liofilização pode ter ocasionado a ruptura do arranjo cristalino e/ou a redução na quantidade de duplas hélices. Com a análise de difratometria de raios X eles identificaram picos no difratograma mais baixos e mais largos (menos nítidos), isto é, houveram alterações estruturais. O grau de cristalinidade relativa foi 50% menor que amidos que não passaram pela liofilização.

Niu *et al.* (2019) mostraram que não necessariamente todas as duplas hélices participem da estrutura cristalina nos grânulos de amido de nativo. Pelo contrário, a quantidade de duplas hélices é superior ao grau de cristalinidade.

E Zhang *et al.* (2014b) concluíram que a liofilização pode romper em grau ligeiramente maior o empacotamento cristalino (estruturas ordenadas de longo alcance) em relação à ordem molecular (estruturas ordenadas de curto alcance). Isto significa que a liofilização pode desalinhar ou romper os cristalitos com menor desenrolamento das hélices duplas. E com o impacto na ordem molecular, reduz-se a entalpia. Porém, percebe-se que pode haver menor efeito na estrutura e no empacotamento molecular de amidos de cereais quando comparado aos amidos do tipo B. Outro ponto levantado foi que os danos podem ser menores pelo teor mais elevado de amilose e também pelo tamanho menor do grânulo.

Portanto, enquanto o US parece romper as cadeias e provocar aumento nas temperaturas de transição e da entalpia, a crioconcentração (liofilização) tende a reduzir estes parâmetros pela desordem molecular induzida.

A adição de FOS provocou um aumento nas temperaturas de gelatinização, e uma redução da entalpia de gelatinização tanto envolvendo o amido nativo quanto o amido já extraído por US (15 min 40%). O mesmo comportamento foi observado por Rodriguez-Sandova; Franco; Manjarres-Pinzon (2014) para polvilho azedo misturado fisicamente com FOS em concentrações de 9%, 17% e 29%.

Pourmohammadi *et al.* (2018) discutiram que os açúcares reduzem a absorção de água dos grânulos de amido, retardando) a  $T_0$  (isto é, aumentando seu valor).

Isso pode ter sido ocasionado pela limitação da gelatinização na presença de fibra, que tem maior solubilidade e indisponibiliza a água para o intumescimento dos grânulos de amido.

Isso corrobora com os estudos de Yu *et al.* (2013), que observaram que quanto maior o teor de água disponível, menor o início e a temperatura de pico para gelatinização do amido. Eles também relataram que a maior concentração de água foi associada a maior entalpia.

Stauffer (2000) discutiu que a temperatura na qual o amido gelatiniza é dependente da quantidade de água disponível, sendo necessário pelo menos duas partes de água para uma parte de amido por peso. Dessa forma, é possível gelatinizar todo o amido em faixa de temperatura normal. No entanto, se a relação água-amido for menor, a temperatura necessária para completar a gelatinização será maior. Além do mais, a porção cristalina remanescente degrada durante um processo anidro que ocorre em uma faixa de temperatura de até 115 °C, impactando a entalpia de gelatinização.

No caso do amido nativo, a exposição do US no amido enriquecido com FOS fez com que a entalpia fosse maior em relação à utilização apenas de liofilização, que pode estar relacionada às mudanças da ordem estrutural do amido. Já, no caso do amido 15 min 40%, comportamento inverso foi observado, em que a entalpia foi maior quando a liofilização foi utilizada sozinha.

Em amidos, a liofilização parece causar alterações mais pronunciadas em grânulos com padrão de difração do tipo B, conforme discutido por Zhang *et al.* (2014), reduzindo a ordem molecular devido à maior rigidez da cadeia promovida pelas baixas temperaturas. A liofilização induziu o rompimento das duplas hélices em amido de castanha (WANG; LIM; WANG, 2016) devido à perda das moléculas de água presas nesta conformação, reduzindo a entalpia de gelatinização.

Ranhas e poros podem ser favorecidos por este método de secagem, provavelmente causados pela distorção forçada dos grânulos de amido devido à liberação local rápida de vapor de água. Este processo pode ocorrer pela pressão interna acumulada dentro dos grânulos rígidos e à medida que as moléculas de água tentam escapar através da estrutura interna sólida e da estrutura superficial lisa sob as condições de vácuo, provocam a formação de poros (ZHANG *et al.*, 2014b). Isso poderia alterar as propriedades do amido, dependendo da fonte botânica, condições de congelamento e de liofilização.

González-Lemos *et al.* (2018) constaram alterações na  $\Delta H_{gel}$  de amido de raízes pré-congeladas a  $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$  de jicama extraído por US. Eles sugeriram a presença de fibras solúveis (pectinas ou frutano) ou insolúveis (resíduo de parede celular ou parênquima) que podem interferir na gelatinização e aumentar a entalpia, mesmo em pequenas proporções.

Zeng *et al.* (2016) relataram um aumento da entalpia de gelatinização avaliando apenas a mistura de FOS e amido de trigo, sem diferenças significativas para  $T_o$  e  $T_p$ .

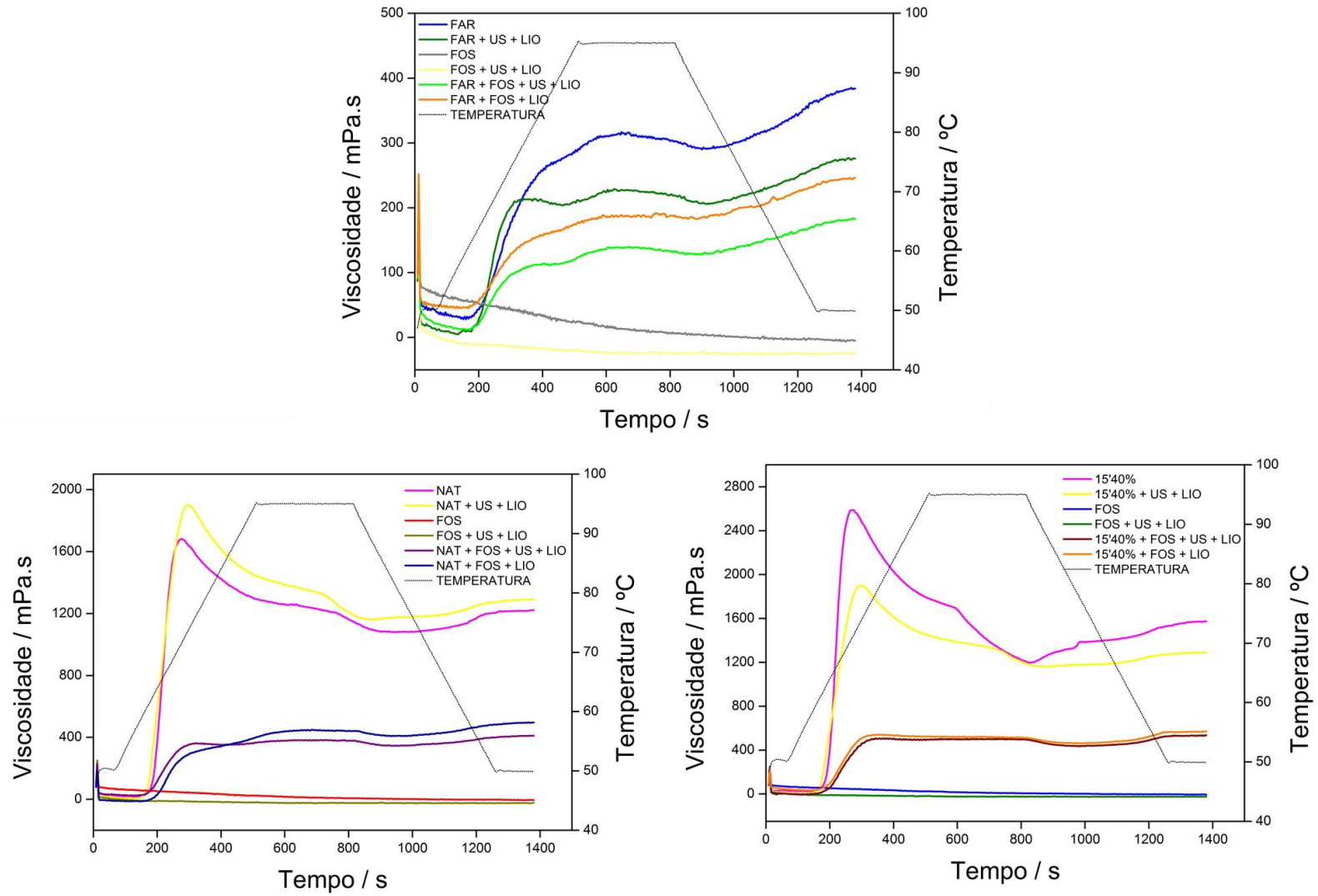
Uma redução da entalpia pode ser associada ao enfraquecimento da região amorfa e cristalina, ou ruptura da cristalinidade do amido (ZHU, 2015b), como também pelo encurtamento do comprimento da cadeia de amilopectina (YANG *et al.*, 2019).

Assim como no ultrassom, os rompimentos de ligações, expondo os grupos para novas interações, bem como o aparecimento de poros durante o processo de liofilização favorece a interação de substâncias. Ao contrário do *spray dryer* em que as temperaturas são mais altas, a liofilização emprega temperaturas muito baixas para causar a desidratação da amostra. O material resultante deste processo se apresenta como um pó, o qual pode ser moído, apresentando partículas irregulares (SEPELEVS; STEPANOVA; GALO BURDA, 2018).

#### 4.4.5 Propriedades de Pasta

As curvas para análise viscoamilográfica estão ilustradas na Figura 4.15.

Figura 4.15 – Curvas RVA para farinha e amido incorporados ou não com frutooligossacarídeos



A farinha de amaranto apresentou redução na viscosidade de pico, *breakdown* e na tendência à retrogradação após US e liofilização, bem como com a incorporação de FOS. Resultados similares foram relatados por Vela *et al.* (2021) para farinha de arroz tratada com US. Isso indica que as amostras têm uma melhor capacidade de resistir ao estresse e ao aquecimento quando comparado à farinha controle (VELA *et al.*, 2021).

É possível identificar que o amido nativo após a passagem pelo US e liofilização teve um aumento de sua viscosidade de pico ( $V_p$ ). Enquanto que a adição de FOS, componente que não apresentou viscosidade, provocou uma drástica redução deste parâmetro.

O amido que já havia sido extraído por US, ao ser submetido novamente à sonicação, seguida de liofilização, mostrou uma diminuição na  $V_p$ . Isso se acentuou ainda mais com a adição de FOS.

Vale destacar, observando as curvas, que a adição de FOS fez com que a viscosidade adquirida durante o aquecimento permanecesse ao final. Com isso, a quebra da viscosidade e a tendência à retrogradação foram significativamente reduzidas, mostrando uma certa estabilidade ou resistência ao aquecimento e resfriamento durante cisalhamento, conforme discutido por Martins *et al.* (2020).

Chung *et al.* (2008) complementam que as interações físicas descritas entre proteína/fibra e amido são susceptíveis de reduzir a quebra dos grânulos.

Como visto por meio das curvas RVA, notou-se que os FOS não conferem viscosidade, com consistência líquida após a análise.

As propriedades de pasta para a farinha, amido nativo e extraído por US (15 min 40%) incorporados ou não com FOS estão apresentados na Tabela 4.6.

Após exposição da farinha ao ultrassom e liofilização percebeu-se uma redução dos parâmetros, exceto para o tempo de pico que não teve diferença significativa para a farinha nativa. Zhu e Li (2019) também relataram que o US (20 kHz, 250 W, temperatura abaixo de 25 °C, 1-19 h) reduziu a quebra e a tendência à retrogradação da farinha de quinoa, bem como a viscosidade da farinha.

Farinha de batata doce e de trigo exibiram redução de viscosidade, tendência à retrogradação e *breakdown* quanto maior foi o tempo de exposição ao ultrassom de acordo com Cui e Zhu (2020).

Vela *et al.* (2021) identificaram um aumento na temperatura de pasta de farinha de arroz sonicada, referindo-se ao fortalecimento do amido após US. Não foi possível detectar a temperatura de pasta da farinha.

Com a incorporação de FOS na farinha, a redução da viscosidade de pico, *breakdown* e tendência à retrogradação não se diferenciaram da farinha tratada por US e liofilização. O tempo de pico aumentou principalmente quando o US não foi usado.

Com relação ao amido submetido ao US e à liofilização, algumas alterações nas propriedades de pasta diferiram comparando-se o amido nativo e o extraído por US.

Para o amido nativo, houve aumento na viscosidade de pico e na quebra após exposição ao US e liofilização, comportamento contrário ao amido que já havia sido extraído por US, o qual exibiu redução nas viscosidades (pico, quebra, tendência à retrogradação e final).

Bento *et al.* (2021) relataram que o aumento da viscosidade está relacionado a maior absorção de água pelo amido sonicado. Quando ocorre o processo de cavitação, mudanças ocorrem em um nível estrutural, como ruptura de ligações intermoleculares, alterações morfológicas e de permeabilidade nos grânulos. Com isso, permite-se uma melhor acessibilidade das moléculas de água aos grupos hidroxila livres de amilose e amilopectina. Consequentemente, haverá um aumento da capacidade de absorção de água, contribuindo para a maior viscosidade.

Zhang *et al.* (2013) observaram que a liofilização de inhame antes do isolamento do amido provocou um aumento no poder do intumescimento e na tendência à retrogradação.

A modificação (US+Liofilização) do amido, que já havia sido extraído por US (15 min 40%), provocou uma redução da viscosidade (que ainda permaneceu superior ao nativo) e da temperatura de pasta (inferior ao nativo). A tendência à retrogradação também sofreu uma redução. Sugere-se que a nova exposição ao US tenha causado o maior impacto no amido. Isso porque um teste foi realizado com esta amostra submetida somente à liofilização, e os impactos não foram tão severos mantendo a viscosidade alta (2323 mPa.s), porém reduzindo os outros parâmetros ( $T_p$  60,65 °C, tendência à retrogradação 279 mPas, quebra de 1291 mPa.s e viscosidade final de 1311 mPa.s), e aumentando o tempo de pico.



Huang, Li e Fu (2007) observaram uma diminuição da viscosidade da pasta de amido de milho após a sonicação, que foi conectada com uma clivagem parcial das ligações glucosídicas e enfraquecimento da rede polimérica.

O comportamento similar aos dois amidos foi a redução na temperatura de pasta. Bento *et al.* (2021) comentaram que temperatura de pasta mais baixa está relacionada a uma menor resistência à absorção de água pelo grânulo de amido. Além disso, apontaram que amidos com maior teor de amilose, devido a maior suscetibilidade aos efeitos mecânicos durante o US apresentam maior redução da viscosidade, principalmente pelas reações induzidas por radicais OH, às quais a amilopectina altamente ramificada parece resistir mais.

Quando o amido foi extraído por US (15 min 40%), esta exposição já havia propiciado um aumento da  $V_p$  e não havia alterado significativamente a  $T_p$  quando comparado ao amido nativo. Porém, a nova exposição ao US, seguida de liofilização promove uma redução nestes parâmetros.

Tabela 4.6 – Propriedades de pasta para farinha e amido de amaranto incorporado ou não com FOS

Amostra	T <sub>p</sub> (°C)	Viscosidade de pico (mPa.s)	Viscosidade mínima (mPa.s)	Breakdown (mPa.s)	Viscosidade final (mPa.s)	Tendência à retrogradação (mPa.s)	Tempo de pico (s)
FAR	-	345,67±34,53 <sup>a</sup>	314,33±28,71 <sup>a</sup>	31,33±5,86 <sup>a</sup>	411,67±28,54 <sup>a</sup>	97,33±4,93 <sup>a</sup>	630,60±20,64 <sup>c</sup>
FAR+US+LIO	-	230,67±22,55 <sup>b</sup>	217,33±29,67 <sup>b</sup>	21,33±5,69 <sup>ab</sup>	272,00±20,30 <sup>b</sup>	71,67±6,66 <sup>b</sup>	626,00±13,11 <sup>c</sup>
FAR+FOS+US+LIO	-	161,00±28,93 <sup>b</sup>	128,00±18,00 <sup>c</sup>	13,67±7,64 <sup>b</sup>	185,67±13,20 <sup>c</sup>	56,00±7,55 <sup>b</sup>	675,33±13,32 <sup>b</sup>
FAR+FOS+LIO	-	202,33±43,43 <sup>b</sup>	181,00±20,07 <sup>bc</sup>	9,67±5,03 <sup>b</sup>	250,33±21,83 <sup>b</sup>	65,33±8,74 <sup>b</sup>	755,33±15,01 <sup>a</sup>
NAT	61,44±0,13 <sup>c</sup>	1700,33±91,65 <sup>b</sup>	1069,67±66,11 <sup>a</sup>	621,67±22,55 <sup>b</sup>	1215,00±81,73 <sup>a</sup>	144,00±45,03 <sup>a</sup>	271,60±1,51 <sup>c</sup>
NAT+US+LIO	60,23±0,11 <sup>d</sup>	1925,33±65,21 <sup>a</sup>	1163,67±65,04 <sup>a</sup>	740,00±49,51 <sup>a</sup>	1290,33±60,00 <sup>a</sup>	131,67±12,58 <sup>ab</sup>	295,20±0,56 <sup>c</sup>
NAT+FOS+US+LIO	63,95±0,19 <sup>b</sup>	382,67±17,04 <sup>c</sup>	345,33±14,50 <sup>b</sup>	37,33±16,56 <sup>c</sup>	413,67±16,17 <sup>b</sup>	65,33±15,01 <sup>b</sup>	722,60±10,97 <sup>a</sup>
NAT+FOS+LIO	65,40±0,56 <sup>a</sup>	448,67±38,50 <sup>c</sup>	402,33±35,84 <sup>b</sup>	41,67±12,01 <sup>c</sup>	498,33±20,60 <sup>b</sup>	87,33±13,01 <sup>ab</sup>	682,67±28,02 <sup>b</sup>
15 min 40%	61,91±0,34 <sup>b</sup>	2585,67±35,02 <sup>a</sup>	1183,33±76,07 <sup>a</sup>	1376,67±61,10 <sup>a</sup>	1574,67±75,00 <sup>a</sup>	357,33±50,46 <sup>a</sup>	271,18±0,18 <sup>d</sup>
15 min 40%+US+LIO	60,26±0,22 <sup>c</sup>	1885,67±73,51 <sup>b</sup>	1050,67±43,19 <sup>b</sup>	836,00±35,04 <sup>b</sup>	1209,00±38,35 <sup>b</sup>	158,00±9,54 <sup>b</sup>	292,30±0,75 <sup>c</sup>
15 min 40%+FOS+US+LIO	65,18±0,41 <sup>a</sup>	510,67±42,62 <sup>c</sup>	433,33±32,53 <sup>c</sup>	73,00±4,58 <sup>c</sup>	540,67±52,32 <sup>c</sup>	101,33±22,59 <sup>b</sup>	343,53±0,55 <sup>b</sup>
15 min 40%+FOS+LIO	65,76±0,13 <sup>a</sup>	540,67±20,03 <sup>c</sup>	461,67±31,50 <sup>c</sup>	79,00±7,55 <sup>c</sup>	569,33±10,50 <sup>c</sup>	106,67±12,50 <sup>b</sup>	359,97±0,85 <sup>a</sup>

Notas: Resultados expressos como média±desvio padrão. Valores com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística significativa pelo Teste de Tukey (p<0,05).

Valores que apresentam cor verde foram estatisticamente inferiores à amostra controle do grupo correspondente. Valores que apresentam cor vermelha foram estatisticamente superiores à amostra controle do grupo correspondente.

\*FAR, farinha; NAT, nativo, FOS, frutooligossacarídeos, US, ultrassom, LIO, liofilização

Tanto a incorporação de FOS quanto a exposição ao US e liofilização impactaram diretamente nas propriedades de pasta do amido de amaranto. Após incorporação, todos os parâmetros relacionados à viscosidade decresceram, acompanhados do aumento da temperatura de pasta e tempo de pico.

Comportamento similar foi observado por Rodriguez-Sandova; Franco; Manjarres-Pinzon (2014) em amido de mandioca (polvilho azedo) adicionado de FOS. Quanto maior a concentração de FOS adicionado, maior foi a temperatura registrada. Essa fibra retarda a gelatinização do amido, devido à alta competitividade pela água.

Aliado a presença de FOS que impactou na propriedade de pasta, a ausência de ultrassom apresentou o maior valor de temperatura de pasta. Sugere-se que o fato de expor o amido e o FOS ao US possibilita-se a maior quebra dos grânulos ou agregados de amido, enfraquecendo a integridade do amido, possibilitando o seu cozimento a temperaturas mais baixas. Corroborando a isso, com os danos maiores, a viscosidade de pasta também foi inferior aos outros tratamentos.

Isso porque, a temperatura de pasta reflete as forças que mantêm a integridade do amido, e corresponde ao ponto que há a maior presença de grânulos inchados (KAUR; SINGH; RANA, 2010). Com a degradação ocorrida tanto na exposição do US quanto na liofilização, este parâmetro pode sofrer alterações de acordo com o grau de danos sofridos pelo amido.

A presença de FOS reduziu significativamente a viscosidade da pasta produzida. Ele parece ser o fator principal, uma vez que quando sem a adição de FOS, o amido após exposição ao US e à liofilização não havia apresentado uma redução tão expressiva quanto com a adição da fibra. E o fato de o FOS ser submetido ao US, conforme visualizado nas microimagens, há uma degradação da sua estrutura afetando ainda mais a viscosidade de amido de amaranto.

Isso pode ser explicado pela maior solubilidade de FOS, conseqüentemente reduzindo a quantidade de água disponível para inchamento dos grânulos de amido.

Rodriguez-Sandova; Franco; Manjarres-Pinzon (2014) também observaram que à medida que se acrescentava maior concentração de FOS em amido de mandioca ceroso, menor era a viscosidade. Além disso também relataram que a viscosidade final, quebra e tendência à retrogradação foram mais altas para o amido de mandioca sem adição de FOS.

O amido de mandioca (polvilho azedo) apresentou uma redução no índice de absorção de água quando foi adicionado de 7, 19 e 26% de FOS, porém teve um

aumento no índice de solubilidade, principalmente com a maior adição de FOS (RODRIGUEZ-SANDOVA; FRANCO; MANJARRES-PINZON, 2014).

Conforme discutido por estes autores, a redução do índice de absorção pode estar relacionada à formação de microcristais de FOS na presença de água, que interagem, formando partículas de gel e tornando a textura cremosa e macia. Diferente de outras fibras solúveis que apresentam alta capacidade de ligação com a água, as macromoléculas de FOS podem formar zonas de junção, absorvendo menor quantidade de água. Curiosamente, as propriedades de oligossacarídeos estão associadas a imobilização da água durante a formação dessas partículas de gel, ao invés de realmente se ligarem a ela.

Bishay (1998) também observou que a água se liga às cadeias de inulina mais curtas de maneira mais rápida, resultando em baixas viscosidades. Consistente a isso, Lobato, Benassi e Grossmann (2012) observaram a limitação do inchamento de géis de amido de milho com a adição de inulina na presença de leite.

Zeng *et al.* (2016) identificaram que a adição por mistura física de FOS ao amido de trigo afetou a capacidade de absorção e água, devido à redução da mobilidade das moléculas de água em ligações de hidrogênio aos oligossacarídeos.

Por outro lado, amido de trigo na presença de diferentes fibras (aveia, limão, ervilha e maçã) apresentou um aumento da viscosidade (principalmente com a fibra de limão), *breakdown* e redução na temperatura de pasta. Este aumento foi explicado com base na suposição de que a fração de fibra alimentar insolúvel em água causaria perturbação na estrutura da amilopectina, resultando no aumento do poder de inchaço. A quebra também sofreu aumento, viscosidade final e tendência à retrogradação (YILDIZ *et al.*, 2013).

Tárrega e Costell (2006) reforçam que as propriedades de pasta quando se adicionou inulina (polissacarídeo não digerível linear de resíduos de frutose ligados a  $\beta$ -(2-1) com uma unidade de resíduo de glucose terminal) em sobremesas lácteas contendo diferentes concentrações de amido são influenciadas diretamente pela competição entre a inulina e o amido pela água. Quando há maior concentração de amido, aumenta-se a fração volumétrica dos grânulos na dispersão, possibilitando maior registro de viscosidade. Porém, quando há menor concentração, parte da água poderá estar ligada às cadeias de inulina, limitando o inchamento do amido, reduzindo a viscosidade.

Zimeri e Kokini (2003) constataram que em sistemas de amido de milho ceroso de inulina, ocorreu uma inversão no comportamento reológico passando de um sistema contínuo de amido com inulina como fase dispersa, para um sistema contínuo de inulina com amido como a fase dispersa.

Tárrega e Costell (2006) também relataram que a adição de inulina contribui como agente de textura nas propriedades sensoriais de sobremesas lácteas com baixo teor de gordura em diferentes concentrações de amido. A adição de inulina aumentou a doçura e a cremosidade, estando dependente da quantidade de amido.

Essa consistência mais macia e transparente foi observada nas pastas formadas após análise viscoamilográfica quando comparadas com os géis formados apenas com suspensão de amido.

Destaca-se também a menor tendência à retrogradação do amido, característica observada após incorporação de FOS. Isso é interessante para produção de pães, minimizando a sinérese (BENTO *et al.*, 2021). E mesmo os valores mais altos obtidos neste parâmetro, ainda assim, são bastante inferiores aos amidos de diferentes fontes botânicas apresentadas por Hornung *et al.* (2017), considerando que sua viscosidade pico também é muito menor.

O tempo de pico foi aumentado principalmente para o amido nativo após incorporação de FOS. Zeng *et al.* (2016) não observaram grandes alterações neste parâmetro quando adicionaram FOS ao amido de trigo.

O amido enriquecido com FOS poderia ser uma boa alternativa para ser utilizado em formulações de sobremesas lácteas a base de amido, que são amplamente consumidas por crianças e idosos, destacando-se a Europa. Em geral, as formulações contêm com leite, espessantes (amido e hidrocolóides), sacarose, aroma e corantes (TÁRREGA; COSTELL, 2006).

Somado a adição do FOS, o US e liofilização também podem exercer influência devido à desintegração/desorganização dos grânulos de amido, perturbando ou reduzindo a interação entre cadeias. Com isso, há um menor poder de inchamento, reduzindo assim a viscosidade (BERNARDO *et al.*, 2018).

Esta menor viscosidade também contribui para maior fermentação das fibras pelas bactérias, como relatado por Hu *et al.* (2018) e Yuan (2020). Yuan *et al.* (2020) observaram que o polissacarídeo degradado por ultrassom da alga marinha de folha grande (*Sargassum pallidum*) foi mais facilmente fermentado e utilizado pelas bactérias intestinais.

Ressalta-se que testes deveriam ser feitos e o conteúdo adicionado também precisaria ser calculado para que o apelo prebiótico pudesse ser fornecido de acordo com a legislação vigente.

#### 4.4.6 Colorimetria

O resultado da análise de cor para as misturas produzidas está apresentado na Tabela 4.7.

A farinha de amaranto apresentou valores de luminosidade e tendência ao vermelho maiores que o relatado por Sudha e Leelavathi (2011). Já, a tendência ao amarelo e o valor de croma foram bem similares, além de exibir um valor inferior para o ângulo Hue. Resultados bastante similares foram encontrados por Menegassi, Pilosof e Arêas (2011) para farinha de *Amaranthus cruentus* L. da variedade BRS Alegria.















Filmes a base de farinha de amaranto apresentaram maior coloração amarela devido a maiores teores de proteínas, conforme relatado por Tápia-Blácido *et al.* (2007).

Quando submetida ao ultrassom e liofilização, a coloração da farinha de amaranto não apresentou diferença significativa na intensidade ao vermelho, amarelo, saturação, índice de brancura e ângulo Hue.

No entanto, estas operações tiveram influência no parâmetro de luminosidade, com um ligeiro aumento, sendo que a diferença de tonalidade de cor foi mínima. Isso foi consistente com o obtido por Suriya *et al.* (2016) para farinha de inhame-pé-de-elefante seco por liofilização quando comparado à secagem solar.

Zhu e Li (2019) observaram redução na luminosidade de farinha de quinoa após sonicação, e aumento na intensidade ao vermelho e amarelo.

Tabela 4.7 – Colorimetria de farinha e amido incorporados ou não com FOS

	Cor	L	a*	b*	WI	ΔE	Conclusão	C*	Hue
FAR		81,22±0,24 <sup>c</sup>	2,76±0,02 <sup>a</sup>	17,15±0,03 <sup>a</sup>	74,42±0,16 <sup>b</sup>	Controle	-	17,37±0,02 <sup>a</sup>	80,86±0,07 <sup>b</sup>
FAR+US+LIO		82,72±0,14 <sup>b</sup>	2,76±0,05 <sup>a</sup>	17,79±0,23 <sup>a</sup>	75,05±0,19 <sup>b</sup>	1,63	MÍN	18,00±0,23 <sup>a</sup>	81,18±0,04 <sup>b</sup>
FAR+FOS+US+LIO		86,39±0,52 <sup>a</sup>	1,96±0,19 <sup>c</sup>	13,86±0,39 <sup>b</sup>	80,48±0,65 <sup>a</sup>	6,17	F.D.	14,00±0,41 <sup>c</sup>	81,95±0,53 <sup>a</sup>
FAR+FOS+LIO		86,14±0,25 <sup>a</sup>	2,23±0,08 <sup>b</sup>	14,89±0,44 <sup>b</sup>	79,54±0,33 <sup>a</sup>	5,43	F.D.	15,05±0,28 <sup>b</sup>	81,47±0,15 <sup>ab</sup>
NAT		87,20±0,84 <sup>b</sup>	1,22±0,03 <sup>a</sup>	7,86±0,07 <sup>a</sup>	84,92±0,73 <sup>c</sup>	Controle	-	7,96±0,06 <sup>a</sup>	81,16±0,24 <sup>b</sup>
NAT+US+LIO		94,46±0,07 <sup>a</sup>	0,46±0,07 <sup>b</sup>	5,50±0,14 <sup>b</sup>	92,18±0,15 <sup>b</sup>	7,68	F.D.	5,52±0,14 <sup>b</sup>	85,22±0,67 <sup>a</sup>
NAT+FOS+US+LIO		94,83±0,25 <sup>a</sup>	0,37±0,06 <sup>b</sup>	4,79±0,19 <sup>c</sup>	92,94±0,31 <sup>ab</sup>	8,27	F.D.	4,80±0,19 <sup>c</sup>	85,63±0,54 <sup>a</sup>
NAT+FOS+LIO		95,06±0,48 <sup>a</sup>	0,44±0,10 <sup>b</sup>	4,08±0,21 <sup>d</sup>	93,57±0,25 <sup>a</sup>	8,76	F.D.	4,10±0,20 <sup>d</sup>	83,83±1,64 <sup>a</sup>
15 min 40%		91,18±0,50 <sup>d</sup>	0,68±0,06 <sup>a</sup>	6,83±0,17 <sup>a</sup>	88,82±0,33 <sup>d</sup>	Controle	-	6,86±0,17 <sup>a</sup>	84,34±0,35 <sup>b</sup>
15 min 40%+US+LIO		93,40±0,21 <sup>c</sup>	0,67±0,05 <sup>a</sup>	5,64±0,17 <sup>b</sup>	91,29±0,25 <sup>c</sup>	3,39	PERC.	5,68±0,18 <sup>b</sup>	83,23±0,33 <sup>c</sup>
15 min 40%+FOS+US+LIO		96,35±0,14 <sup>b</sup>	0,09±0,02 <sup>c</sup>	3,07±0,13 <sup>c</sup>	95,23±0,14 <sup>b</sup>	5,96	F.D.	3,07±0,13 <sup>c</sup>	88,32±0,41 <sup>a</sup>
15 min 40%+FOS+LIO		97,36±0,35 <sup>a</sup>	0,27±0,02 <sup>b</sup>	2,72±0,21 <sup>c</sup>	96,19±0,39 <sup>a</sup>	7,89	F.D.	2,74±0,22 <sup>c</sup>	84,27±0,04 <sup>b</sup>
FOS		99,76±0,18 <sup>a</sup>	-0,05±0,03 <sup>a</sup>	0,75±0,03 <sup>a</sup>	99,20±0,09 <sup>a</sup>	Controle	-	0,75±0,03 <sup>a</sup>	-86,45±1,83
FOS+US+LIO		95,37±0,41 <sup>b</sup>	-0,16±0,05 <sup>b</sup>	0,36±0,04 <sup>b</sup>	95,35±0,41 <sup>b</sup>	4,41	PERC.	0,40±0,02 <sup>b</sup>	-65,80±9,21

Notas: Resultados expressos como média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras de mesmo grupo pelo Teste de Tukey (p<0,05). \*Teste T pareado foi aplicado entre a amostra FOS e FOS+US+LIO para avaliar diferença entre médias (p<0,05). Conclusão para diferença de tonalidade de cor em relação à amostra controle: MÍN – mínima diferença; PERC. – perceptível; F.D. – forte diferença.

Valores que apresentam cor verde foram estatisticamente superiores à amostra controle do grupo correspondente. Valores que apresentam cor vermelha foram estatisticamente inferiores à amostra controle do grupo correspondente.

\*FAR, farinha; NAT, nativo, FOS, frutooligossacarídeos, US, ultrassom, LIO, liofilização

A luminosidade foi acentuada quando houve a incorporação do FOS, o qual já apresenta maior tendência ao branco. Sugere-se que a adição de FOS influenciou positivamente a luminosidade, principalmente porque a farinha de amaranto tem uma maior tendência ao amarelo, a qual foi reduzida quando ocorreu a incorporação. Além disso, quanto à tonalidade de cor, houve uma forte diferença quando a incorporação foi realizada tanto com o uso ou não da irradiação ultrassônica.

A incorporação também reduziu a intensidade ao vermelho e a saturação de cor; além de aumentar o índice de brancura e o ângulo *Hue*.

As condições utilizadas no US e a liofilização não tiveram influência nos parâmetros de cor da farinha incorporada. Apenas, com a aplicação da liofilização, maior tendência ao vermelho foi percebida. Quando a US e liofilização foram aplicadas em conjunto, a intensidade ao vermelho reduziu. O US parece ter tido influência neste parâmetro, reduzindo-o mais que a liofilização isolada.

A aplicação do ultrassom tanto no amido nativo de amaranto extraído por metodologia aquosa quanto no amido que já havia sido exposto ao US para extração (15 min 40%), possibilitou o aumento da luminosidade, redução na intensidade do amarelo, aumento do índice de brancura.

Estes resultados foram similares ao relatado por Zhang *et al.* (2005) para extração por US de amido de milho que também observaram aumento de  $L^*$  e redução de  $b^*$ .

Também foi calculada a saturação de cor ( $C^*$ ), o ângulo *Hue* e a diferença de tonalidade ( $\Delta E$ ). Tanto para farinha como para os amidos os valores encontram-se acima de  $80^\circ$  aproximando-se do amarelo.

A incorporação de FOS no amido e na farinha provocaram uma redução na saturação de cor, tornando-a mais opaca. Estas colorações podem ser vistas na Tabela 4.7 de acordo com as coordenadas do espaço de cor CIE  $L^*a^*b^*$  obtidas pelo sensor *Nix Color Sensor*.

A diferença de tonalidade apontou forte diferença para o amido nativo e uma diferença apenas perceptível para o amido que foi extraído por US. Isso se deve ao fato de que o amido extraído por US já tinha apresentado aumento da luminosidade em relação ao nativo, e em sua segunda exposição ao US para incorporação promoveu um aumento na claridade de forma mais branda.

Com as exposições, o amido nativo também apresentou uma redução na intensidade ao vermelho, que não foi significativa para o amido 15 min 40%.



A incorporação de FOS ao amido nativo aumentou a luminosidade, porém não foi percebida diferença quando comparada ao amido nativo exposto ao US e à liofilização. Houve uma redução à tendência ao amarelo, especialmente quando só a liofilização foi utilizada.

Assim, para o amido nativo, a exposição ao US e à liofilização foram mais decisivas para o índice de brancura do amido incorporado com FOS, apresentando forte diferença para tonalidade de cor.

Era esperado que o FOS aumentasse a tendência ao branco. Porém, o aumento neste parâmetro não foi tão alto, uma vez que quando este oligossacarídeo foi sonificado e liofilizado houve uma redução do seu parâmetro de luminosidade, possivelmente devido à quebra da sua estrutura conforme as microimagens obtidas.

A incorporação de FOS no amido extraído por US aumentou ainda mais a claridade da amostra e o índice de brancura, principalmente quando só a liofilização foi utilizada. A tendência ao vermelho foi reduzida, sem diferença para intensidade ao amarelo, e forte diferença na tonalidade foi observada.

Conclui-se, portanto, que a incorporação e os tratamentos de US e liofilização contribuíram para aumentar a tendência ao branco das amostras.

#### 4.5 PROPOSTAS FUTURAS

A farinha ou o amido são ingredientes fundamentais para indústria de alimentos adicionados com a finalidade de melhorar a qualidade geral dos produtos, sendo adicionados às formulações como agente espessante, estabilizante e texturizante.

A gelatinização, propriedades de pasta, solubilidade e digestibilidade do amido são as propriedades de grande interesse nos sistemas alimentares. Por isso, a seleção correta da variedade do amido, e o estudo de sua interação com outros componentes, pode direcioná-lo a diferentes formulações de acordo com as características tecnológicas desejáveis (POURMOHAMMADI *et al.*, 2018).

O tamanho muito pequeno do grânulo e o teor geralmente baixo de amilose tornam o amido de amaranto único para algumas aplicações alimentares e não alimentares (ZHU, 2015).

Com novas tendências de consumo, e principalmente, em virtude do aumento de incidência de condições patológicas relacionadas ao glúten como a alergia

alimentar, doença celíaca ou sensibilidade ao glúten, é necessário que novos produtos ou ingredientes sejam formulados. O desenvolvimento de produtos sem glúten é um grande desafio para cientistas de alimentos (ROSELL *et al.*, 2014).

A partir dos resultados interessantes obtidos com o enriquecimento da farinha ou do amido de amaranto com frutooligossacarídeos, poderia ser realizada a composição centesimal para quantificação principalmente da fibra alimentar nas misturas. Isso está relacionado ao atendimento da legislação quanto à concentração que deverá ser adicionada na formulação para alegação de propriedade funcional.

Garcia *et al.* (2018) reforçam que caracterizar a farinha que foi enriquecida é fundamental para que se conheça o comportamento dela ao se desenvolver um produto. Como por exemplo, se esta mistura tiver uma alta quantidade de fibras, poderá exigir a adição de mais água para alcançar a mesma consistência de uma farinha com um teor mais baixo. Estas propriedades desempenham um papel fundamental na compreensão das propriedades mecânicas que poderiam servir de preditores para a qualidade dos produtos (LONGORIA-GARCÍA *et al.*, 2018).

Como parte da investigação feita para avaliar o potencial prebiótico para farinhas de fontes alternativas, várias propriedades físicas funcionais são medidas para estabelecer uma base do conhecimento do comportamento físico da farinha de interesse. Estas propriedades físicas acabam por tocar um papel importante em parâmetros físicos chave que determinam que tipo de produto cozido pode ser feito a partir dele, bem como seu papel na análise sensorial (LONGORIA-GARCÍA *et al.*, 2018).

Além do mais, Han *et al.* (2021) constataram que a exposição ao US promoveu um aumento do conteúdo de amido resistente, devido à despolimerização da cadeia do amido, e mudanças na sua estrutura molecular. Com isso, uma investigação acerca da quantidade de amido resistente no amido de amaranto após US e liofilização são interessantes, principalmente com o foco voltado à produção de alimentos funcionais.

Ahmed, Thomas e Khashawi (2020) também mostram a liofilização como potencializador da formação de amido resistente devido à desorganização promovida durante a saída das moléculas de água.

Zhang *et al.* (2014) registraram um aumento da rigidez da cadeia levando a uma desorganização da estrutura durante a remoção de água em escalas micrométricas e nanométricas em polimorfos, como os grânulos de amido tipo B. Isso

pode contribuir, assim como ultrassom, na formação de amido resistente. Ahmed, Thomas e Khashawi (2020) relataram aumento do teor de amido resistente em farinha de banana verde quando a liofilização foi utilizada, passando de 25,77% na secagem a quente para 37,87% na crioconcentração.

Dessa forma, a digestibilidade também seria um fator importante a fim de avaliar se o processo de US e liofilização possam ter comprometido este parâmetro. Ressalta-se que os estudos já citados anteriormente, relataram que a redução do tamanho das partículas foi de extrema importância para maior utilização de fibras pelas bactérias da microbiota intestinal (YUAN *et al.*, 2020). Não foram encontrados estudos acerca da digestibilidade de FOS após a liofilização.

O teste realizado com o amido nativo é sustentado pela atual tendência de consumo de componentes mais naturais, como os amidos nativos, que embora sejam geralmente relacionados a uma qualidade tecnológica inferior, precisam ser melhor investigados. Amidos nativos podem demonstrar características interessantes sem a necessidade de modificação e ainda apresentam a vantagem de não terem adição de aditivos e até mesmo serem economicamente mais viáveis (HERRANZ; MARTÍNEZ; ALVAREZ, 2019).

E quanto à técnica utilizada, os efeitos dos ultrassons nos grânulos de amido dependem de muitos fatores, como: potência e frequência de sonicação, temperatura e tempo de tratamento e propriedades das dispersões de amido (concentração e origem botânica do amido) (ZUO *et al.*, 2009). Portanto, diferentes combinações de parâmetros podem ser testadas para melhorar a incorporação de FOS em amido.

#### 4.6 CONCLUSÃO

A incorporação de frutooligossacarídeos em farinha ou amido de amaranto é uma estratégia interessante para enriquecimento destes produtos para diversificação da dieta, aumento do valor nutricional e inovação de produtos no mercado.

O ultrassom desempenha papel fundamental na redução do tamanho das partículas e melhor homogeneização para incorporação da fibra nas matrizes relacionado ao efeito da cavitação acústica. E a liofilização foi de vital importância para redução da umidade, contribuindo para a apresentação e otimizando armazenamento e transporte do produto. Foi possível manter uma concentração elevada de FOS no

amido nativo e extraído por US, mostrando potencial para incorporação com uma distribuição homogênea.

Alterações foram detectadas por microscopia, em que a ausência de ultrassom não permitiu a junção da matriz (farinha ou amido) com FOS. Houve redução da entalpia de gelatinização, bem como da viscosidade, tendência à retrogradação, embora um aumento da temperatura de pasta após o enriquecimento com FOS. Estas modificações têm forte influência da alta solubilidade de FOS, embora os danos provocados por US também possam contribuir para as propriedades resultantes.

A coloração das misturas também apresentou resultados positivos, com maior tendência ao branco. Estas propriedades direcionam a aplicabilidade desta pré-mistura para formulação de panificados, bebidas lácteas que não exigem altas viscosidades e que a baixa tendência à retrogradação é interessante, reduzindo o efeito da sinérese. Vale ressaltar que o apelo prebiótico e, portanto, funcional só poderá ser realizado com a quantificação de FOS na porção do produto conforme legislação vigente. Mas o enriquecimento já é uma alternativa bastante interessante e promissora para a indústria de alimentos.

O estudo da interação entre os compostos que estão sendo misturados, bem como as condições de trabalho, é de extrema importância para avaliar estabilidade, concentração final do bioativo e demais características que possam influenciar e viabilizar seu uso pela indústria alimentícia.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As sementes de amaranto apresentam uma estrutura organizada, contendo um perisperma protegido pelo embrião e com conteúdo de amido bem definido e estruturado.

Com a aplicação do ultrassom, danos foram induzidos nas sementes de amaranto, possibilitando extravasamento do conteúdo da matriz celular, principalmente quando maiores amplitudes de vibração e tempos são utilizadas. É possível extrair amido a partir do grão, porém com um rendimento de extração bastante inferior ao isolamento a partir da farinha. A morfologia dos grânulos é afetada ligeiramente, e os parâmetros de gelatinização exibem diferenças quando comparada à extração após a moagem das sementes.

A farinha de amaranto apresentou composição proximal interessante, com alto teor de fibras, proteínas e lipídeos, os quais se apresentam agrupados em blocos observados por microscopia. A extração do amido assistida por US possibilitou maior recuperação do conteúdo de amido, sem redução do teor proteico quando comparado à extração por metodologia aquosa. Em geral, a sonicação conferiu maior temperatura de estabilidade térmica, redução do grau de cristalinidade relativa, aumento da luminosidade, temperatura *onset* e da entalpia de gelatinização, bem como da viscosidade.

O menor tempo de irradiação ultrassônica foi suficiente para conferir características interessantes ao amido extraído. Na condição de exposição ao US durante 15 min e 40% de amplitude de vibração, as melhores respostas para as variáveis dependentes foram obtidas com base na maior temperatura de estabilidade térmica, viscosidade, índice de brancura e redução na entalpia. Portanto, essa foi a amostra escolhida para direcionamento de aplicação.

Observando-se o efeito sinérgico do ultrassom seguido de liofilização nas amostras de farinha e amido, percebeu-se que ocorreu uma redução da temperatura *onset*, estabilidade térmica, viscosidade e tendência à retrogradação. Apenas o amido nativo apresentou aumento da viscosidade. A energia necessária para gelatinização e luminosidade apresentaram-se mais elevadas em relação às amostras nativas.

A utilização de ultrassom se mostrou fundamental para melhorar a incorporação de frutooligossacarídeos no amido de amaranto. Porém, nas condições

testadas, não foi interessante para a farinha devido a maior presença de macronutrientes que dificultaram a distribuição homogênea.

A aplicação de US e liofilização possibilitaram uma deformação dos FOS. Tanto o amido nativo quanto o amido extraído por US formaram uma rede com os FOS após a incorporação por US.

Com a incorporação, os FOS reduziram significativamente a viscosidade de pico da farinha e do amido, aumentando a temperatura de pasta e o tempo de pico. Redução da entalpia de gelatinização e da temperatura de estabilidade térmica, acompanhada de aumento da temperatura *onset* foram observadas. A luminosidade das amostras foi aumentada, com redução da temperatura de estabilidade térmica.

Conclui-se, portanto que as condições escolhidas para ultrassom, bem como a quantidade de FOS e até mesmo a exposição à liofilização exercem forte influência nas propriedades tecnológicas do amido de amaranto.

Propriedades interessantes podem ser obtidas a partir da incorporação de FOS ao amido a fim de agregar valor e inovar na indústria de alimentos, atendendo a diferentes públicos e necessidades de consumo. Ressalta-se a importância da extração com ultrassom, que permite aumentar o rendimento melhorando as características iniciais do amido, e reduzindo o consumo de solventes e geração de resíduos.

## REFERÊNCIAS

- ACANSKI, M. M.; VUJIC, D. N. Comparing sugar components of cereal and pseudocereal flour by GC–MS analysis. **Food Chemistry**, v. 145, p. 743-748, 2014.
- ADEKUNTE, A.O. *et al.* Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. **Food Chemistry**, v.122, n.3, p.500-507, 2010.
- ADKINS, G. K.; GREENWOOD, C. T. The Isolation of Cereal Starches in the Laboratory. **Starch - Stärke**, v. 18, n. 7, p. 213–218, 1996.
- AHMED, J.; THOMAS L.; KHASHAWI, R. Influence of hot-air drying and freeze-drying on functional, rheological, structural and dielectric properties of green banana flour and dispersions. **Food Hydrocolloids**, v. 99, p. 105331, 2020.
- AKHTAR, M. N.; MUSHTAQ, Z.; AHMAD, N.; KHAN, M. K.; AHMAD, M. H.; HUSSAIN, A. I.; IMRAN, M. Optimal Ultrasound-Assisted Process Extraction, Characterization, and Functional Product Development from Flaxseed Meal Derived Polysaccharide Gum. **Processes**, v. 7, n. 4, p. 189, 2019.
- AMINI, M.; RAZAVI, S. M.A.; MORTZAVI, S. A. Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 282-292, 2015.
- ANALITICA. **Perguntas frequentes sobre banhos ultrassônicos**. 2015. Disponível em: [https://www.analiticaweb.com.br/informe/banhos-elma-03-2015/elma\\_aplicacoes\\_faq.pdf](https://www.analiticaweb.com.br/informe/banhos-elma-03-2015/elma_aplicacoes_faq.pdf). Acesso em: 20 jun. 2021.
- ANDRADE, I. H. P.; OTONI, C. G.; AMORIM, T. S.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Ultrasound-assisted extraction of starch nanoparticles from breadfruit (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg). **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering aspects**, v. 586, n. 5, p. 124277, 2020.
- ANDRADE, M. M. P.; OLIVEIRA, C. S. de.; COLMAN, T. A. D.; COSTA, F. J. O. G. da; SCHNITZLER, E. Effects of heat-moisture treatment on organic cassava starch: Thermal, rheological and structural study. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2115-2122, 2014.
- AMINI, M.; RAZAVI, S. M.A.; MORTZAVI, S. A. Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 282-292, 2015.
- ARENDT, E. K.; ZANNINI, E. Amaranth. **Cereal Grains for the Food and Beverage Industries**. 1 ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2013.
- ARZENI, C.; MARTÍNEZ, K.; ZEMA, P.; ARIAS, A.; PÉREZ, O.E.; PILOSOFF, A.M.R. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n.3, 463–472, 2012.

ASHOKKUMAR, M. Applications of ultrasound in food and bioprocessing. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 25, p. 17-23, 2015.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official Methods of Analysis**. 17. ed. Washington:AOAC, 2000.

AVANZA, M. V.; AÑÓN, M. C. Effect on thermal treatment on the proteins of amaranth isolates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 616-623, 2007.

BAO, J.S. Accurate Measurement of pasting temperature by the rapid visco-analyser: a case study using rice flour. **Rice Science**, v. 15, n. 1, p. 69-72, 2008.

BALDWIN, P.M. Starch Granule-Associated Proteins and Polypeptides: A Review. **Starch/Stärke**, v. 53, p. 475-503, 2001.

BECKER, R. Amaranth oil: composition, processing and nutritional qualities. **Amaranth: Biology, Chemistry and Technology**. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 133-142, 1994.

BELLUZO, M. S.; MEDINA, L. F.; CORTIZO, A. M.; CORTIZO, M. S. Ultrasonic compatibilization of polyelectrolyte complex based on polysaccharides for biomedical applications. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 30, p. 1-8, 2016.

BENMOUSSA, M.; MOLDENHAUER, K. A. K.; HAMAKER, B. R. Rice amylopectin fine structure variability affects starch digestion properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1475-1479, 2007.

BENMOUSSA, M.; HAMAKER, B. R. Rapid small-scale starch isolation using a combination of ultrasonic sonication and sucrose density separation. **Starch-Stärke**, v. 63, p.333–649, 2011.

BENTO, J A. C.; FERREIRA, K. C.; FIDELIS, M. C.; NETO, M. A. de S.; SILVA, G. de L. P. e.; BATAUS, L. A. M.; CALIARI, M.; JÚNIOR, M. S. Ultrasound modification of White Garland-Lily starch: Functional, thermal, and pasting properties. **Starch/Stärke**, v. 73, n. 3-4, p. 2000129, 2021.

BERNARDO, C.O.; ASCHERI, J.L.R.; CHÁVEZ, D.W.H.; CARVALHO, C.W.P. Ultrasound assisted extraction of yam (*Dioscorea bulbifera*) starch: effect on morphology and functional properties. **Starch/Stärke**, v. 70, p. 1700185, 2018.

BERTOFT, E.; ANNOR, G. A.; SHEN, X.; RUMPAGAPORN, P.; SEETHARAMAN, K.; HAMAKER, B. R. Small differences in amylopectin fine structure may explain large functional differences of starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 140, p. 113-121, 2016.

BET, C.D.; CORDOBA, L.P.; RIBEIRO, L.S.; SCHNITZLER, E. Common vetch (*Vicia sativa*) as a new starch source: its thermal, rheological and structural properties after acid hydrolysis. **Food Biophysics**, v. 11, p. 275-282, 2016.



BET, C.D.; OLIVEIRA, C.S.de.; 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, p. 435-442, 2018a.

BET, C.D.; OLIVEIRA, C.S.de.; BENINCA, C.; COLMAN, T.A.D.; LACERDA, L.G.; SCHNITZLER, E. Influence of the addition of hydrocolloids on the thermal, pasting and structural properties of starch from common vetch seeds (*Vicia sativa* sp). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, p. 1-9, 2018b.

BET, C. D.; OLIVEIRA, C. S. de.; COLMAN, T. A. D.; BISINELLA, R. Z. B.; BENINCA, C.; LACERDA, L. G.; RAMOS, A. P.; SCHNITZLER, E. Aqueous extraction of organic amaranth starch and their by-products - Characterisation before and after degreasing. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, p. 2733–2749, 2019.

BETSCHART, A. A.; IRVING, D. W.; SHEPHERD, A. D.; SAUDER, R. M. *Amaranthus cruentus*: Milling characteristic, distribution of nutrients within seed components, and the effects of temperature on nutritional quality. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1181-1187, 1981.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 118–129, 2013.

BIOPOL. **Sonicador**. Disponível em:  
<http://www.biopol.ufpr.br/equipamentos/sonicador/>. Acesso em: 20 jul. 2021.

BIOSYSTEMS. **Homogeneizador ultrassônico** (Sonicador). 2021. Disponível em:  
<http://www.biosystems.com.br/equipamentos/homogeneizador-ultrassonico>. Acesso em: 20 abr. 2021.

BIOVERA. **Sonicador Sonics** Vibra-Cell VCX 500 – VCX 750. Disponível em:  
<https://www.biovera.com.br/p/processador-ultrassonico-sonicadores>. Acesso em: 06 ago. 2020.

BISHAY, I. E., Rheological characterization of inulin. In: Williams, P. A.; Phillips, G. O. (Eds.) Gums and stabilizers for the food industry. v. 9, **Royal Society of Chemistry**, London, 1998.

BLASZCZAK, W.; MISHARINA, T. A.; FESSAS, D.; SIGNORELLI, M.; GÓRECKI, A. R. Retention of aroma compounds by corn, sorghum and amaranth starches. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 338-344, 2013.

BŁASZCZAK, W.; BUCIŃSKI, A.; GÓRECKI, A. R. In vitro release of theophylline from starch-based matrices prepared via high hydrostatic pressure treatment and autoclaving. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 25-33, 2015.

BONTO, A. P.; TIOZON JR., R. N.; ROJVIRIYA, C.; SREENIVASULU, N.; CAMACHO, D. H. Sonication increases the porosity of uncooked rice kernels

affording softer textural properties, loss of intrinsic nutrients and increased uptake capacity during fortification. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 68, 105234, 2020.

BORGES, S.S.; KORN, M. Geração sonoquímica de oxidantes em solução aquosa saturada de tetracloreto de Carbono. **Química Nova**, v. 25, p. 558-562, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Portaria n. 398, de 30 de abril de 1999**. Estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Diário Oficial de União, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 abr. 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Alegações de propriedade funcional aprovadas**. 2019. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas\\_anvisa.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas_anvisa.pdf). Acesso em: 20 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução Normativa - IN n. 75 de 8 de outubro de 2020**. Estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 09 out. 2020.

BRASIL FOOD TRENDS. **São Paulo**: ITAL/FIESP, 2020, 173p. Disponível em: <http://www.brazilfoodtrends.com.br/publicacao.html>. Acesso em: 20 ago. 2020.

BREWER, M.S. Reducing the fat content in ground beef without sacrificing quality: A review. **Meat Science**, v. 91, p.385-395, 2012.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85-112, 1998.

CAMERON, D. K.; WANG, Y. J. Application of protease and high-intensity ultrasound in corn starch isolation from degermed corn flour. **Cereal Chemistry**, v. 83, p. 505–509, 2006.

CAMPOS, B.E.; RUIVO, T.D.; SCAPIM, M.R.S.; MADRONA, G.S.; BERGAMASCO, R.C. Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. **LWT – Food Science and Technology**, v.65, p. 874-883, 2016.

CAPES. **Portal de periódicos CAPES**. Disponível em: <https://www-periodicos-capes-gov-br.ez1.periodicos.capes.gov.br/index.php?>. Acesso em: 20 ago. 2021.

CAPRILES, V. D.; SILVA, K. E.A.; FISBERG, M. Prebióticos, probióticos e simbióticos: uma nova tendência no mercado de alimentos funcionais. **Nutrição Brasil**. Rio de Janeiro. v. 4, n. 6, p. 327-355, 2005.

CÁRCEL, J.A.; GARCÍA-PÉREZ, J.V.; BENEDITO, J.; MULET, A. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 200-207, 2012.

CÁRDENAS-HERNÁNDEZ, A.; BETA, C.; LOARCA-PIÑA, G.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; NIETO-BARRERA, J. O.; MENDOZA, S. Improved functional properties of pasta: Enrichment with amaranth seed flour and dried amaranth leaves. **Journal of Cereal Science**, v. 72, p. 84-90, 2016.

CARDOSO, B. B.; AMORIM, C.; SILVÉRIO, S. C.; RODRIGUES, L. R. Novel and emerging prebiotics: Advances and opportunities. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 95, p. 41-95, 2021.

CARMONA-GARCIA, R.; BELLO-PÉREZ, L. A.; AGUIRRE-CRUZ, A.; H. T. J.; RAMIREZ, J. Effect of ultrasonic treatment on the morphological, physicochemical, functional, and rheological properties of starches with different granule size. **Starch/Stärke**, v. 68, p.1-8, 2016.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; CIUDAD-MULERO, M.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; FERREIRA, E.; HELENO, S. A.; RODRIGUES, P.; LILIAN, B.; FERREIRA, I. C. F. R. Comparison of different bread types: Chemical and physical parameters. **Food Chemistry**, v. 310, 125954, 2020.

CASTRO, A.; CÉSPEDES, G.; CARBALLO, S.; BERGENSTAHL, B.; TORNBERG, E. Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 392-400, 2013.

CASTRO, A.; BERGENSTAHL, B.; TORNBERG, E. Parsnip (*Pastinaca sativa* L.): Dietary fibre composition and physicochemical characterization of its homogenized suspensions. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 598-608, 2012.

CHAN, H.T.; BHAT, R.; KARIM, A.A. Effects of sodium dodecyl sulphate and sonication treatment on physicochemical properties of starch. **Food Chemistry**, v. 120, p. 703-709, 2010.

CHANDRAPALA, J.; ZISU, B.; PALMER, M.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 5, p. 951–957, 2011.

CHANDRAPALA, J.; Martin, G. J. O.; KENTISH, S. E., ASHOKKUMAR, M. Dissolution and reconstitution of casein micelle containing dairy powders by high shear using ultrasonic and physical methods. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 5, p. 1658 – 1665, 2014.

CHATTOPADHYAY, S.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Oxidised starch as gum arabic substitute for encapsulation of flavours. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 2, p. 143–144, 1998.

CHAVES, D. F. S. **Compostos bioativos dos alimentos**. São Paulo. Valéria Paschoal Editora Ltda., 2015. 340p.

CHEETAM, N. W. H.; TAO, L. Variation in Crystalline Type with Amylose Content in Maize Starch Granules: An X-Ray Powder Diffraction Study. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, p. 277-284, 1998.

CHEMAT, S.; LAGHA, A.; AITAMAR, H.; BARTELS, P.V.; CHEMAT, F. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 19, p. 188-195, 2004.

CHEMAT, F.; HUMA, Z. H.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 813-835, 2011.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ALBERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CHEN, Q.; LIN, S.; YANG, C.; FAN, C.; GE, H. Grain fragmentation in ultrasonic-assisted TIG weld of pure aluminum. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. p., 2017.

CHEN, G.; CHEN, X.; YANG, B.; YU, Q.; WEI, X.; DING, Y.; KAN, J. New insight into bamboo shoot (*Chimonobambusa quadrangularis*) polysaccharides: Impact of extraction process on its prebiotic activity. **Food Hydrocolloids**, v. 95, p. 367-377, 2019.

CHENG, W.; CHEN, J.; LIU, D.; YE, X.; KE, F. Impact of ultrasonic treatment on properties of starch film-forming dispersion and the resulting films. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 707-711, 2010.

CHIUMARELLI, M.; PEREIRA, L. M.; FERRARI, C. C.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER, M. D. Cassava starch coating and citric acid to preserve quality parameters of fresh-cut "Tommy Atkins" mango. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, p. E297-E304, 2010.

CHOI, H.; KIM, W.; SHIN, M. Properties of Korean amaranth starch compared to waxy millet and waxy sorghum starches. **Starch/Stärke**, v. 56, p. 469-477, 2004.

CHUGH, B.; SINGH, G.; KUMBHAR, B.K. Development of low-fat soft dough biscuits using carbohydrate-based fat replacers. **International Journal of Food Science**, v. 2013, p.12-24, 2013.

CHUNG, K. M.; MOON, T.W.; KIM, H.; CHUN, J.K. Physicochemical Properties of Sonicated Mung Bean, Potato, and Rice Starches. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 631-633, 2002.

CHUNG, H. J.; LIU, Q.; HOOVER, R.; WARKENTIN, T. D.; VANDENBERG, B. In vitro starch digestibility, expected glycemic index, and thermal and pasting properties

of flours from pea, lentil and chickpea cultivars. **Food Chemistry**, v. 111, n. 2, p. 316-321, 2008.

COELHO, L. M.; SILVA, P. M.; MARTINS, J. T.; PINHEIRO, A. C.; VICENTE, A. A. Emerging opportunities in exploring the nutritional/functional value of amaranth. **Food & Function**, v. 9, n. 11, p. 5499–5512, 2018.

CORKE, H.; CAI, Y.Z.; WU, H.X. Amaranth: Overview. **Reference Module in Food Science**. The Legumes and Pseudocereals, p. 1-10, 2016.

CORRADINI, E.; IMAM, S. H.; AGNELLI, J. A. M.; MATTOSO, L. H. C. Effect of coconut, sisal and jute fibers on the properties of starch/gluten/glycerol matrix. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 17, p. 1-9, 2009.

CORRADINI, C.; LANTANO, C.; CAVAZZA, A. Innovative analytical tools to characterize prebiotic carbohydrates of functional food interest. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p. 4591-4605, 2013.

CORREIA, P.R.; BEIRÃO-DA-COSTA, M.L. Starch isolation from chestnut and corn flours through alkaline and enzymatic methods. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 309-316, 2012.

COZZOLINO, D. The use of the rapid visco analyser (RVA) in breeding and selection of cereals. **Journal of Cereal Science**, v. 70, p. 282-290, 2016.

CUETO, L. A. G.; SWEDLUND, P. J. Mid-infrared spectroscopy as a probe for caramelization in dispersed systems. **Food Analytical Methods**, v. 12, p. 2121-2128, 2019.

CUI, R.; ZHU, F. Effect of ultrasound on structural and physicochemical properties of sweetpotato and wheat flours. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 66, p. 105118, 2020.

CUI, R.; ZHU, F. Ultrasound modified polysaccharides: A review of structure, physicochemical properties, biological activities and food applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 107, p. 491-508, 2021.

CUMMINGS, J. H. *et al.* Dietary carbohydrates and health: do we still need the fibre concept? **Clinical Nutrition Supplements**; v. 1, p.5-17, 2004.

CYRAS, V.P.; MANFREDI, L.B.; TON-THAT, M.T.; VÁZQUEZ, A. Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, p. 55-63, 2008.

CZECHOWSKA-BISKUP, R.; ROKITA, B.; LOTFY, S.; ULANSKI, P.; ROSIAK, J.M. Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 175-184, 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos**. Artmed, p. 108-109, 2010.

DELADINO, L.; TEIXEIRA, A.S.; NAVARRO, A.S.; ALVAREZ, I.; MOLINA-GARCÍA, A.D.; MARTNIO, M. Corn starch systems as carriers for yerba mate (*Ilex paraguariensis*) antioxidants. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 463-472, 2015.

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

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; DIETRICH, S.M.C.; MELLO-AIRES, M. Measurement of glomerular filtration rate using inulin prepared from *Vernonia herbacea*, a Brazilian native species. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, v. 29, p. 1393-1396, 1996.

DIAMANTINO, V.R.; BERALDO, F.A.; SUNAKOZAWA, T.N.; PENNA, A.L.B. Effect of octenyl succinylated waxy starch as a fat mimetic on texture, microstructure and physicochemical properties of Minas fresh cheese. **LWT – Food Science and Technology**, v. 56, p. 356-362, 2014.

DING, J.; HOU, G.G.; DONG, M.; XIONG, S.; ZHAO, S.; FENG, H. Physicochemical properties of germinated dehulled rice flour and energy requirement in germination as affected by ultrasound treatment. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 41, p. 484-491, 2018.

DRZEWIECKI, J.; DELGADO-LICON, E.; HARUENKIT, T.; PAWLEXIK, E.; MARTIN-BELLOSO, O.; PARK, Y.S.; JUNG, S. T.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. Identification and differences of total proteins and their soluble fractions in some pseudocereals based on electrophoretic pattern. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 51, p. 7798-7804, 2003.

EGGLESTON, G.; TRASK-MORREL, B. J.; VERCELLOTTI, J. R. Use of differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis to characterize the thermal degradation of crystalline sucrose and dried sucrose-salt residues. **Journal of Agricultural of Food Chemistry**, v. 44, n. 10, p. 331, 1996.

ENTEZARI, M. H.; NAZARY, S. H.; KHODAPARAST, M. H. H. The direct effect of ultrasound on the extraction of date syrup and its micro-organisms. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 6, p. 379-384, 2004.

ESCLAPEZ, M.D.; GARCÍA-PÉREZ, J.V.; MULET, A.; CÁRCEL, J.A. Ultrasound-assisted extraction of natural products. **Food Engineering Reviews**, v. 3, n. 2, p. 108–120, 2011.

FALSAFI, S. R.; MAGHSOUDLOU, Y.; ROSTAMABADI, H.; ROSTAMABADI, M. M.; HAMED, H.; HOSSEINI, S. M. H. Preparation of physically modified oat starch with different sonication treatments. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 311-320, 2019.

FATHI, M.; MARTÍN, A.; McCLEMENTS, D.J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate-based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 39, p. 18-39, 2014.

FELLOWS, P. **Food processing technology principles and pratic.** 1 ed., Ellis Horwood, Southmpton. 550p., 1988.

FERREIRA, M. D; SPRICIGO, P. C. Colorimetria – princípios e aplicações na agricultura. In: FERREIRA, M. D. **Instrumentação pós-colheita em frutas e hortaliças.** Brasília, DF: Embrapa, 2017. p. 207-217.

FIDANTSI, A.; DOXASTAKIS, G. Emulsifying and foaming properties of amaranth seed protein isolates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 21, p. 119124, 2001.

FOEGEDIND, E.A.; DAVIS, J.P. Food protein functionality: **A comprehensive approach. Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1853–1864, 2011.

FU, Y. C.; CHEN, S.; LAI, Y. J. Centrifugation and foam fractionation effect on mucilage recovery from *Dioscorea* (yam) tuber. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 9, w.509-514, 2004.

FU, F.; CHEN, J.; SHUN-JING, L.; LIU, C-M.; LIU, W. Effect of food additives on starch retrogradation: A review. **Starch/Stärke**, v. 67, n. 1-2, p. 69-78, 2015.

GALANAKIS, C. Nutraceutical and Functional Food Components. **Effects of Innovative Processing Techniques.** 1ed. 2017. 382p.

GALLANT, D.; DEGROIS, M.; STERLING, C.; GUILBOT, A. Microscopic Effects of Ultrasound on the Structure of Potato Starch Preliminary Study. **Starch/Stärke**, v. 24, p. 116 – 123, 1972.

GAMA, T. do S. S., LUCAS, F. C. A., LOBATO, G. de J. M. Morfologia dos grãos de amido de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em Caxiuanã, Pará, Brasil. **Scientia Amazonia**, v. 4, n. 3, p. 63-68, 2015.

GARCIA-PEREZ, J.V.; CARCEL, J.A.; RIERA, E.; MULET, A. Influence of the applied acoustic energy on the drying of carrots and lemon peel. **Drying Technology**, v. 27, p. 281-287, 2009.

GARCIA, M. C., FRANCO, C. M. L., JÚNIOR, M. S. S., CALIARI, M., Structural characteristics and gelatinization properties of sour cassava starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, p. 919- 926, 2016.

GARCÍA SALCEDO, A. J.; TORRES VARGAS, O. L.; ARIZA CALDERÓN, H. Physical-chemical characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), amaranth (*Amaranthus caudatus* L.), and chia (*Salvia hispanica* L.) flours and seeds. **Acta Agronómica**, v. 67, n. 2, p. 215–222, 2018.

GEDANKEN, A. Doping nanoparticles into polymers and ceramics using ultrasound radiation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 4, p. 418-430, 2007.

GIBSON, R.; ROBERFOIRD, M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition Bethesda**, v. 125, n. 6, p. 1401-1414, 1995.

**GRAND VIEW RESEARCH.** Amaranth Market Size, Share & Trends Analysis Report by Application (Personal Care, Food & Beverages, Pharmaceuticals), By Product (Seed, Oil, Leaf, Flour), By Region, And Segment Forecasts, 2019 – 2025. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/amaranth-market>. Acesso em: 03 mar. 2021.

GOMES, D. de S.; CORDOBA, L. do P.; ROSA, L. S.; SIPIER, M. R.; SCHNITZLER, E.; WASZCZYNSKYJ, N. Thermal, pastig properties and morphological characterization of pea starch (*Pisum sativum* L.), rice starch (*Oryza sativa*) and arracaha starch (*Arracacia xanthorrhiza*) blends, established by simples-centroid design. **Termochimica Acta**, v. 662, p. 90-99, 2018.

GOMES, A. M. M., MENDES DA SILVA, C. E., RICARDO, N. M. P. S., Effects of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (polvilho azedo). **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 1-6, 2005.

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

GONZÁLEZ-LEMONS, L., B.; CALDERÓN-DOMINGUEZ, G.; SALGADO-CRUZ, M. de la P.; DÍAZ-RAMÍREZ, M.; RAMÍREZ-MIRANDA, M.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; GEMES-VERA; N.; FARRERA-REBOLLO, R. R.). Ultrasound-assisted extraction of starch from frozen jicama (*P. erosus*) roots: Effect on yield, structural characteristics and thermal properties. **Journal of Food**, v. 16, n.1, p. 738-746, 2018.

GONZALEZ, N. J.; ADHIKARI, K.; SANCHO-MADRIZ, M. F. Sensory characteristics of peach-flavored yogurt drinks containing prebiotics and synbiotics. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie**, v. 44, n. 1, p. 158-163, 2011.

GONZÁLEZ, R.; CARRARA, C.; TOSI, W.; AÑÓN, M. C.; PILOSOF, A. Amaranth starch-rich fraction properties modified by extrusion and fluidized bed heating. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 136-143, 2007.

GORDON, A. G. Beneficial effects of ultrasound on plants: a review. **Ultrasonics**, v. 9 p. 81-84, 1971.

GORINSTEIN, S.; PAWELZIK, E.; DELGADO-LINCON, E.; YAMAMOTO, K.; KOBAYASHI, S.; TANIGUCHI, H.; HARUENKIT, R.; PARK, Y.S.; JUNG, S.T.; DRZEWIECKI, J.; TRAKHTENBERG, S. Use of scanning electron microscopy to indicate the similarities and differences in pseudocereal and cereal proteins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 183-189, 2004.



GOUVEIA DE SOUZA A.; OLIVEIRA SANTOS J. C.; CONCEICAO, M. M.; DANTAS SILVA M. C.; PRASAD, S. A thermoanalytic and kinetic study of sunflower oil. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 21, n. 2, p. 265-273, 2004.

GUAN, Q.; XIONG.; XIE, M. Influence of probiotic fermented fruit and vegetables on human health and the related industrial development trend. **Engineering**, v. 7, n. 2, p. 212-218, 2021.

GÜLÇİN, S.; ÖZTÜRK, S. Investigation on potential utilization of native and modified starches containing resistant starch as a fat replacer in bakery products. **Starch/Stärke**, 2016, DOI: 10.1002/star.201600022.

GUTIÉRREZ-CORTEZ, E.; HERNANDEZ-BECERRA, W.; LONDOÑO-RESTREPO, S. M.; RODRIGUEZ-GARCIA, M. E. Physicochemical characterization of Amaranth starch insulated by mechanical separations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 430-436, 2021.

HAAJ, S. B.; MAGNINB, A.; PETRIER, C.; BOUFIA, S. Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 1625–1632, 2013.

HAN, X.; HAMAKER, B.R. Functional and microstructural aspects of soluble corn starch in pastes and gels. **Starch/Stärke**, v. 52, p.76-80, 2000.

HAN, S.; CHOI, S. H.; KIM, W.; KIM, B. Y.; BAIK, M. Y. Infusion of catechin into native corn starch granules for drug and nutrient delivery systems. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, p. 2035-2040, 2015.

HAN, L.; CAO, S.; YU, Y.; XU, X.; CAO, X.; CHEN, W. Modification in physicochemical, structural and digestive properties of pea starch during heat-moisture process assisted by pre- and post- treatment of ultrasound. **Food Chemistry**, v. 360, p. 129929, 2021.

HASANVAND, E.; FATHI, M.; BASSIRI, A.; JAVANMARD, M.; ABBASZADEH, R. Novel starch based nanocarrier for vitamin D fortification of milk: Production and characterization. **Food and Bioproducts Processing**, v. 96, p. 264-277, 2015.

HASHIMOTO, J.; SCHMIELE, M.; NABESHIMA, E. Pasting properties of raw and extruded cowpea cotyledons flour. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. 1-11, 2020.

HATAMI, T.; CAVALCANTI, R. N.; TAKEUCHI, T. M.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from Macela (*Achyrocline satureioides*) flowers: Kinetic, experiments and modelling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 65, p. 71-77, 2012.

HE, R.; SHANG, W. T.; PAN, Y. G.; XIANG, D.; YUN, Y. H.; ZHANG, W. M. Effect of drying treatment on the structural characterizations and physicochemical properties of starch from canistel (*Lucuma nervosa* A.DC). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 167, p. 539-546, 2021.

HERRANZ, B.; MARTÍNEZ, A.; ALVAREZ, M. D. Influence of fiber addition on white sauces made with corn starch: Effect on their freezing/thawing stability. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 8, p. 2128-2138, 2019.

HOCHI S, WATANABE K, KATO M, HIRABAYASHI M. Live rats resulting from injection of oocytes with spermatozoa freeze-dried and stored for one year. **Molecular Reproduction and Development**, v. 75, p. 890-894, 2008.

HOCHI S, ABDALLA H, HARA H, HIRABAYASHI M. Challenging endeavour for preservation of freeze-dried mammalian spermatozoa. **Journal of Reproduction and Development**, v. 57, p. 557-563, 2011.

HONG, J., LI, L., LI, C., LIU, C., ZHENG, X.; BIAN, K. Effect of Heat–Moisture Treatment on Physicochemical, Thermal, Morphological, and Structural Properties of Mechanically Activated Large A-and Small B-Wheat Starch Granules. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 10, p. 2795-2804, 2019.

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

HORNUNG, P. S.; CORDOBA, L. do P.; LAZZAROTTO, S. R. da. S.; SCHNITZLER, W.; LAZZAROTTO, M.; RIBANI, R. H. Brazilian Dioscoreaceas starches: Thermal, structural and rheological properties compared to commercial starches. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, p. 1869-1877, 2017.

HROMÁDKOVÁ, Z.; EBRINGERVÁ, A.; VALACHOVIC, P. Ultrasound-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from the roots of valerian (*Valeriana officinalis* L.). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 9, p. 37-44, 2002.

HU, A.; LU, J.; ZHENG, J.; SUN, J.; YANG, L.; ZHANG, X, ZHANG, Y, LIN, Q. Ultrasonically aided enzymatical effects on the properties and structure of mung bean starch. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 20, p. 146–151, 2013.

HU, J. L.; NIE, S. P.; LI, C.; WANG, S.; XIE, M. Y. Ultrasonic irradiation induces degradation and improves prebiotic properties of polysaccharide from seeds of *Plantago asiatica* L. during in vitro fermentation by human fecal microbiota. **Food Hydrocolloids**, v. 76, p. 60-66, 2018.

HUANG, Q.; LI, L.; FU, X. Ultrasound Effects on the Structure and Chemical Reactivity of Corn starch Granules. **Starch/Stärke**, v. 58, n. 8, p. 371-378, 2007.

HUBER, K.C.; BeMILLER J.N. Channels of maize and sorghum starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 269-276, 2000.

IRVING, D.W.; BECKLER, R. Seed Structure and Composition of Potential New Crops. **Food Structure**, v.4, p. 43-53, 1985.

IRVING, D.W.; BETSCHAT, A.A.; SAUNDERS, R.M. Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. **Journal of Food Science**, v. 46, 1170-1174, 1981.

ISHWARYA, S. P.; PRABHASANKAR, P. Fructooligosaccharide: Retention during baking and its influence on biscuit quality. **Food Bioscience**, v. 4, p. 68-80, 2013.

ITO, V. C.; ALBERTI, A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 251-259, 2016.

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, p. 529-537, 2018.

ITURRIAGA, L.; LOPEZ, B.; AÑÓN, M. Thermal and physicochemical characterization of seven argentine rice flours and starches. **Food Research International**, v. 37, p. 437-447, 2004.

ITTECHNOLOGY. Global ultrasonic liquid processors. Disponível em: <<http://ittechnology24.com/tag/global-ultrasonic-liquid-processors-market-analysis/>>. Acesso em: 13 de junho de 2018.

JAIME, L.; MARTÍN-CABREJAS, M.A.; MOLLÁ, E.; LÓPEZ-ANDRÉU, F.J.; ESTEBAN, R.M. Effect of storage on fructan and fructooligosaccharide of onion (*Allium cepa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 982-988, 2001.

JAMBRAK, A. R.; HERCEG, Z.; SUBARIC, D.; BRNCIC, M.; BRNCICO, S. R.; BOSILJKOV, T.; CVEK, D.; TRIPALO, B.; GELO, J. Ultrasound effect on physical properties of corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n.1, p. 91-100, 2010.

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

JAYAKODY, L.; HOOVER, R. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins - A review, **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 691-703, 2008.

JONGSUTJARITTAM, O.; CHAROENREIN, S. The effect of moisture content on physicochemical properties of extruded waxy and non-waxy rice flour. **Carbohydrate Polymers**, v. 114, p. 133-140, 2014.

KADAM, S.U.; TIWARI, B.K.; ÁLVAREZ, C.; O'DONNELL, C.P. Ultrasound applications for the extraction, identification and delivery of food proteins and bioactive peptides. **Trends in Food Science and Technology**, v.46, p.60-67, 2015.

KARAMAN, M., TUNCEL, N. B., YILMAZ TUNCEL, N. The effect of ultrasound-assisted extraction on yield and properties of some pulse starches. **Starch/Stärke**, v. 69, p. 1-28, 2017.

KARAMÁCM M.; GAI, F.; LONGATO, E.; MEINWEI, G.; JANIÁK, M. A.; AMAROWICZ, R.; PEIRETTI, P. G. Antioxidant activity and phenolic composition of amaranth (*Amaranthus caudatus*) during plant growth. **Antioxidants**, v. 8, p. 1-14, 2019.

KARDOS, N.; LUCHE, J. L. Sonochemistry of carbohydrate compounds. **Carbohydrate Research**, v. 332, p. 115–131, 2001.

KARELAKIS, C.; ZEVGITIS, P.; GALANOPOULOS, K.; MATTAS, K. Consumer Trends and Attitudes to Functional Foods. **Journal of International Food & Agribusiness Marketing**, v. 32, n. 3, p. 266-294, 2019.

KASUBUCHI, M. *et al.* Dietary Gut Microbial Metabolites, Short-chain Fatty Acids, and Host Metabolic Regulation. **Nutrients**. v. 7, p. 2839-2849, 2015.

KAUR, S.; SINGH, N.; RANA, J. C. *Amaranthus hypochondriacus* and *Amaranthus caudatus* germplasm: Characteristics of plants, grains and flours. **Food Chemistry**, v. 123, n. 4, p.1227-1234, 2010.

KAUR, H.; GILL, B. S. Effect of high-intensity ultrasound treatment on nutritional, rheological and structural properties of starches obtained from different cereals. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 367-375, 2019.

KIM, H.Y.; HAN, J.A.; KWEON, D.K.; PARK, J.D.; LIM, S.T. Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid hydrolyzed waxy maize starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p.582-588, 2013.

KIM, H.Y.; PARK, S.S.; LIM, S.T. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.126, p.607-620, 2015.

KOLIDA, S.; TUOHY, K.; GIBSON, G. R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 87, p. 193-197, 2002.

KONG, X. L.; BERTOFT, E.; BAO, J. S.; CORKE, H. Molecular structure of amylopectin from amaranth starch and its effect on physicochemical properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 43, p. 377 – 382, 2008.

KONG, X.; BAO, J.; CORKE, H. Physical properties of *Amaranthus* starch. **Food Chemistry**, v. 113, p. 371-376, 2009.

KONG, X.; CORKE, H.; BERTOFT, E. Fine structure characterization of amylopectins from grains amaranth starch. **Carbohydrate Research**, v.344, p.1701-1708, 2009.

KONISHI, Y.; NAKAMURA, R.; SUGIMOTO, Y.; FUJIMORI, K. Transmission Electron Microscopy of protein bodies in the *Amaranthus cruentus* seed embryo. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 11, p. 2140-2142, 1995.

KORUS, J.; GRZELAK, K.; ACHREMOWICZ, K.; SABAT, R. Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides. **Food Science and Technology International**, v. 12, n.6, p. 489-495, 2006.

KRISHNAKUMAR, T.; SAJEEV, M. Response surface optimization of bath type ultrasound-assisted extraction (UAE) of native starch from fresh cassava tubers. **Advances in Research**, p. 1-13, 2017.

KSHIRSAGAR, A. C.; SINGHAL, R. S. Preparation of hydroxypropyl corn and amaranth starch hydrolysate and its evaluation as wall material in microencapsulation. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 958-964, 2008.

KUBIAKI, F.T.; FIGUEROA, A.M.; OLIVEIRA, C.S.; DEMIATE, I.M.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L.G. Effect of acid-alcoholic treatment on the thermal, structural and pasting characteristics of European chestnut (*Castanea sativa*, Mill) starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2016. DOI 10.1007/s10973-016-5832-9.

KUMARESAN, T.; KUMAR, A.; PANDIT, A. B.; JOSHI, J. B. Modeling flow pattern induced by Ultrasound: the influence of modeling approach and turbulence models. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 46, n. 10, p. 2936-2950, 2006.

LACERDA, L.G.; COLMAN, T.A.D.; BAUAB, T.; FILHO, M.A.S.C.; DEMIATE, I.M.; VASCONCELOS, E.C.; SCHNITZLER, E. Thermal, structural and rheological properties of starch from avocado seeds (*Persea americana*, Miller) modified with standard sodium hypochlorite solutions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 1893-1899, 2014.

LAI, P.; LI, K. Y.; LU, S.; CHEN, H. H. Physicochemical characteristics of rice starch supplemented with dietary fibre. **Food Chemistry**, v. 127, p. 153-158, 2011.

LAN, W.; ZHIHUA, Y.; YUN, Z.; BIJUN, X.; ZHIDA, S. Morphological, physicochemical and textural properties of starch separated from Chinese water chestnut. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 181-191, 2008.

LASSEUR, B.; LOTHIER, J.; DJOUMAD, A.; CONINCK, B.de.; SMEEKENS, S.; LAERE, A.V.; MORVAN-BERTRAND, A.; ENDE, W.V.D.; PRUD'HOMME, M.S. Molecular and functional characterization of a cDNA encoding fructan:fructan 6G-fructosyltransferase (6G-FFT)/fructan:fructan 1-fructosyltransferase (1-FFT) from perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2719-2734, 2006.

LE, H.D.; LE, V.V.M. Application of ultrasound to microencapsulation of coconut milk fat by spray drying method. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 4, p. 2474-2478, 2015.

LE BAIL, P.; RONDEAU, C.; BULÉON, A. Structural investigation of amylose complexes with small ligands: Helical conformation, crystalline structure and thermostability. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 35, n. 1–2, p. 1–7, 2005.

LE BOURGOT, C.; APPER, E.; BÇAT, S.; RESPONDEK, F. Fructo-oligosaccharides and glucose homeostasis: A systematic review and meta-analysis in animal models (Review). **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2019.

LE CORRE, D.; ANGELLIER-COUSSY, H. Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. **Reactive & Functional Polymers**, v. 85, p. 97-120, 2014.

LEIGHTON, T.G. Bubble population phenomena in acoustic cavitation. **Ultrasounds Sonochemistry**, v. 2, p. S123-S136, 1995.

LEIVAS, C. L.; COSTA, F. J. O. G. da; ALMEIDA, R. R. de.; FREITAS, R. J. S. de.; STERTZ, S. C.; SCHNITZLER, E. Structural physico-chemical, thermal and pasting properties of potato (*Solanum tuberosum* L.) flour. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, p. 2211-2216, 2013.

LEMOS, P. V. F., BARBOSA, L. S., RAMOS, I. G., COELHO, R. E., DRUZIAN, J. I. Characterization of amylose and amylopectin fractions separated from potato, banana, corn, and cassava starches. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 32-42, 2019.

LESMESS, U.; BARCHECHATH, J.; SHIMONI, E. Continuous dual feed homogenization for the production of starch inclusion complexes for controlled release of nutrients. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, p. 507-515, 2008.

LEONE, R.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Evolved gas analysis (coupled TG-DSC-FTIR) applied to the thermal behaviour of inulin. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 108, p.323-326.

LEONG, Y. K.; YANG, F. C.; CHANG, J. S. Extraction of polysaccharides from edible mushrooms: Emerging technologies and recent advances. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, 1170006, 2021.

LI, C., GILBERT, R.G. Progress in controlling starch structure by modifying starch-branching enzymes. **Planta**, 243 (1), 13-22, 2016.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, v. 37, n. 7, p. 731-738, 2004.

LI, Y.; WU, Z.; WAN, N.; WANG, X.; YANG, M. Extraction of high-amylose starch from *Radix puerariae* using high-intensity low-frequency ultrasound. **Ultrasounds Sonochemistry**, v. 59, p. 104710, 2019.

LIMA, F.; ANDRADE, C. Ultrasonics Sonochemistry Effect of melt-processing and ultrasonic treatment on physical properties of high-amylose maize starch. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, n. 4, p. 637–641, 2010.

LIU, Q. Understanding starches and their role in foods. **Food Carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications**, v. 340, 2005.

LIU, H.; YU, L.; SIMON, G.; DEAN, K.; CHEN, L. Effects of annealing on gelatinization and microstructures of corn starches with different amylose/amylopectin ratios. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 662-669, 2009.

LIU, Y.; ZHAO, Y.; FENG, X. Exergy analysis for a freeze-drying process. **Applied Thermal Engineering**, v. 28, p. 675–690, 2008.

LOBATO, L. P.; BENASSI, M. de T.; GROSSMANN, M. V. E. Addition of inulin to starch and milk gels using an experimental mixture design. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 134-140, 2012.

LONGORIA-GARCÍA, S.; CRUZ-HERNÁNDEZ, M. A.; FLORES-VERÁSTEGUI, M. I. M.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; MONTAÑEZ-SÁENZ, J. C.; BELMARES-CERDA, R. E. (2018). Potential functional bakery products as delivery systems for prebiotics and probiotics health enhancers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 3, p. 833-845, 2018.

LORIMER, J. P.; MASON, T. J.; CUTHBERT, T. C.; BROOKIFIELD, E. A. Effect of ultrasound on the degradation of aqueous native dextran. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 2, p. 55- 57, 1994.

LOUBES, M.A.; RESIO, A.C.; TOLABA, M.P.; SUAREZ, C. Mechanical and thermal characteristics of amaranth starch isolated by acid wet-milling procedure. **LWT – Food Science and Technology**, v. 46, p. 519-524, 2012.

LU, S.; CHEN, L.N.; LII, C. Y. Correlations Between the Fine Structure, Physicochemical Properties, and Retrogradation of Amylopectins from Taiwan Rice Varieties. **Cereal Chemistry**, v. 74, p. 34-39, 1997.

LUCCAS, V.; BONOMI, E. C.; KIECKBUSCH, T. G. Caracterização comparativa entre chocolates ao leite formulados com gordura de leite anidra e com estearina de gordura de leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 130-138, 2014.

LUO, Z.; FU, X.; HE, X.; LUO, F. Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties of maize starches differing in amylose content. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 646–653, 2008.

MA, Y.; CAI, C.; WANG, J.; SUN, D.W. Enzymatic hydrolysis of corn starch for producing fat mimetics. **Journal of Food Engineering**, v. 73, p. 297-303, 2006.

MABEL, M.J.; SANGEETHA, P.T.; PLATEL, K.; SRINIVASAN, K.; PRAPULLA, S.G. Physicochemical characterization of fructooligosaccharides and evaluation of their

suitability as a potential sweetener for diabetics. **Carbohydrate Research**, v. 343, p. 56-66, 2008.

MACEDO, L. L.; VIMERCATI, W. C.; ARAÚJO, C. da S. Fructooligosaccharides: nutritional, technological and sensory aspects. **Brazilian Journal of Food Technology**, 23, e2019080, 2020.

MALUCELLI, L. C.; LACERDA, L. G.; FILHO, M. A. S. da C.; FERNÁNDEZ, D. E. R.; DEMIATE, I. M. Porous waxy maize starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, p. 520-532, 2015.

MAMAT, H.; HILL, S. Effect of ingredients on the mass loss, pasting properties and thermal profile of semi-sweet biscuit dough. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 134, n. 3, p. 1413-1428, 2018.

MARCON, M. J. A.; 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/Stärke**, v. 61, p. 716-726, 2009.

MAREFATI, A.; RAYNER, M.; TIMGREN, A.; DEJMEK, P.; SJÖÖ, M. Freezing and freeze-drying of Pickering emulsions stabilized by starch granules. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 436, p. 512-520, 2013.

MARIANO, T. B.; HIGASHI, B.; LOPES, S. M. S.; CARNEIRO, J. W. P.; ALMEIDA, R. T. R. de.; PILAU, E. J.; GONÇALVES, J. E.; GONÇALVES, R. A. C.; OLIVEIRA, A. J. B. Prebiotic fructooligosaccharides obtained from escarole (*Cichorium endivia* L.) roots. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 24, 100233, 2020.

MARIOTTI, M.; LUCISANO, M.; PAGANI, M.A.; NG, P.K.W. The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate, and *Psyllium flour* on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs. **Food Research International**, v. 42, p. 963-975, 2009.

MARTINS, A.; BENINCA, C.; BET, C. D.; BISINELLA, R. Z. B.; DE OLIVEIRA, C. S.; HORNUNG, P. S.; SCHNITZLER, E. Ultrasonic modification of purple taro starch (*Colocasia esculenta* B. Tini): structural, psychochemical and thermal properties. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 142, p. 819-828, 2020

MASON, T. J.; PANIWNYK, L.; LORIMER, J. P. The use of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 3, p. 253–260, 1996.

MASON, T.J. Some neglected or rejected paths in sonochemistry – a very personal view. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 25, p. 89–93, 2015.

MENEGASSI, B.; PILOSOFF, A. M. R.; ARÊAS, J. A. G. Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria) flour. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1915, 1921, 2011.



MENDES, A. C. G. **Uso de ultrassom para extração de frutooligossacarídeos de raízes de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e estudo da adsorção de seus açúcares em resinas de troca catiônica**. 2017. 87 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2017.

MIGUEL, M. G. Betalains in some species of the *Amaranthaceae* family: a review. **Antioxidants**, v. 7, n. 4, p. 53-86, 2018.

MILLER, D.L. The botanical effects of ultrasound: a review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 23, n. 1, p. 1-27, 1983.

MILIÁNA, Y.E.; GUTIÉRREZA, A.; GRÁGEDAA, M.; USHAKA, S. A review on encapsulation techniques for inorganic phase change materials and the influence on their thermophysical properties. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 7, p. 983–999, 2017.

MINAKAWA, A. F. K.; FARIA-TISCHER, P. C. S.; MALI, S. Simple ultrasound method to obtain starch micro- and nanoparticles from cassava, corn and yam starches. **Food Chemistry**, v. 283, p. 11-18, 2019.

MOHAMED, A.; PETERSON, S. C.; GRANT, L. A.; RAYAS-DUARTE, P. Effect of jet-cooked wheat gluten/lecithin blends on maize and rice starch retrogradation. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 3, p. 293-300, 2006.

MOLINA, S. S.; LARQUÉ, E.; TORELLA, F.; ZAMORA, S. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 65, n. 3, p. 315-328, 2009.

MONGENOT, N.; CHARRIER, S; CHALIER, P. Effect of Ultrasound Emulsification on Cheese Aroma Encapsulation by Carbohydrates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 861-867, 2000.

MONROY, Y.; RIVERO, S.; GARCÍA, M.A. Microstructural and techno-functional properties of cassava starch modified by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 42, p. 795-804, 2018.

MONTOYA-RODRÍGUEZ, A.; GÓMEZ-FAVELA, M. A.; REYES-MORENO, C.; MILÁN-CARRILLO, J.; GONZÁLEZ DE MEJÍA, E. Identification of bioactive peptide sequences from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed proteins and their potential role in the prevention of chronic diseases. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 139-158, 2015.

MOREL, M.H.; DEHLON, P.; AUTRAN, J.C.; LEYGUE, J.P.; BAR-L'HELGOUAC'H, C. Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography. **Cereal Chemistry**, 77, 685-691, 2000.

MORRIS, C.; MORRIS, G. A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 237-248, 2012.

MUJOO, R.; NG, P.K.W. Physicochemical properties of bread baked from flour blended with immature wheat meal rich in fructooligosaccharides. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 8, 2448-2452, 2003.

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.

NARVAEZ, P. C.; RINCON, S. M.; CASTANEDA, L. Z, SANCHEZ, F. J. Determination of some physical and transport properties of palm oil and of its methyl esters. **Latin American Applied Research**, v. 38, p. 1-6, 2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1984. **Amaranth: Modern Prospects for an Ancient Crop**. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/19381>.

NINFALI, P.; PANATO, A.; BORTOLOTTI, F.; VALENTINI, L.; GOBBI, P. Morphological analysis of the seeds of three pseudocereals by using light microscopy and ESEM-EDS. **European Journal of Histochemistry**, v. 64, n. 1, p. 1-10, 2020.

NIU, L.; DING, H.; HAO, R.; LIU, H.; WU, X.; HU, X.; WANG, W. A rapid universal method for isolating starch granules in plant tissues. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, p. 3355-3371, 2019.

NOISUWAN A., BRONLUND J., WILKINSON B., HEMAR Y. (2008). Effect of milk protein products on the rheological and thermal (DSC) properties of normal rice starch and waxy rice starch. **Food Hydrocolloids**, 22, 174-183. doi: 10.1016/j.foodhyd.2007.01.009

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

O'SULLIVAN, J.J.; PARK, M.; BEEVERS, J.; GREENWOOD, R.W.; NORTON, I.T. Applications of ultrasound for the functional modification of proteins and nanoemulsion formation: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 71, p. 299-310, 2017

OZUNA, C.; PANIAGUA-MARTÍNEZ, I.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; OZIMEK, L.; AMAYA-LLANO, S.L. Innovative applications of high-intensity ultrasound in the development of functional food ingredients: Production of protein hydrolysates and bioactive peptides. **Food Research International**, v. 77, p. 685-696, 2015.

PARK, S. H.; BEAN, S. R.; WILSON, J. D.; SCHOBE, T. J. Rapid isolation of sorghum and other cereal starches using sonication. **Cereal Chemistry**, v. 83, p. 611-616, 2006.

- PARK, E. Y.; JANG, S. B.; LIM, S. T. Effect of fructo-oligosaccharide and isomalto-oligosaccharide addition on baking quality of frozen dough. **Food Chemistry**, v. 213, p. 157-162, 2016.
- PARK, S.; KIM, Y. R. Clean label starch: production, physicochemical, characteristics, and industrial applications. *Food Science and Biotechnology*, v. 20, p. 1-17, 2017.
- PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 385-390, 2003.
- PATINDOL, J.A.; SIEBENMORGEN, T.J.; WANG, Y-J. Impact of environmental factors on rice starch structure: A review. **Starch-Stärke**, v. 67 (1-2), p. 42-54, 2014.
- PATIST, A., BATES, D. Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, p. 147-154, 2008.
- PÉCORA, J. D.; GUERISOLI, D. M. Z. **Ultra-som**. (2004). Disponível em: <http://www.forp.usp.br/restauradora/us01.htm>. Acesso em: 07 jan. 2019.
- PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch/Stärke**, v. 68, p. 389-420, 2010.
- PEREZ-REA, D.; ANTEZANA-GOMEZ, R. The functionality of pseudocereal starches. **Starch in Food**. 2ed.p. 509-542, 2018.
- PINEDA-GÓMEZ, P.; ROSALES-RIVERA, A.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M. E. Effect of the thermo-alkaline treatment over the thermal degradation of corn starch. *Starch/Stärke*, v. 64, n. 10, p. 776-785, 2012.
- PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A.S.; BOURVELLEC, C.L.; RENARD, C.M.G.C.; CHEMAT, F. Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 111, p. 73–81, 2012.
- PINTO, V. Z., VANIER, N. L., DEON, V. G., MOOMAND, K., EL HALAL, S. L. M., ZAVAREZE, E. D. R., LIM, L.-T., DIAS, A. R. G. Effects of single and dual physical modifications on pinhão starch. **Food Chemistry**, v. 187, p. 98-105, 2015.
- PINYO, J.; LUANGPITUKSA, P.; SUPHANTHARIKA, M.; HANSAWASDI, C.; WONGSAGONSUP, R. Improvement of sago starch extraction process using various pretreatment techniques and their pretreatment combination. **Starch/Stärke**, v. 69, n. 9-10, p. 1700005, 2017.
- PORWAL, K.; PAL, S.; KULKARNI, C.; SINGH, P.; SHARMA, S.; SINGH, P.; PRAJAPATI, G.; GAYEN, J. R.; AMPAPATHI, R. S.; MULLICK, A.; CHATTOPADHYAY, N. A prebiotic, short-chain fructo-oligosaccharides promotes peak bone mass and maintains bone mass in ovariectomized rats by an osteogenic mechanism. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 129, p. 110448, 2020.

PRANOTO, Y.; RAKSHIT, S. Physicochemical properties of heat moisture treated sweet potato starches of selected Indonesian varieties. **International Food Research**, v. 21, n. 5, p. 2031-2038, 2014.

PRAZNIK, W.; CIESLIK, E.; FILIPIAK-FLORKIEWICZ, A. Soluble dietary fibres in Jerusalem artichoke powders: Composition and application in bread. **Nahrung-Food**, v. 46, n. 3, p. 151-157, 2002.

PORTENLAENGER, G.; HEUSINGER, H. The influence of frequency on the mechanical and radical effects for the ultrasonic degradation of dextrans. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 4, n. 2, p. 127-130, 1997.

POURMOHAMMADI, K.; ABEDI, E.; HASHEMI, S. M. B.; TORRI, L. Effects of sucrose, isomal and maltodextrin on microstructural, thermal, pasting and textural properties of wheat and cassava starch gel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1935-1943, 2018.

PUNCHA-ARNON S, UTTAPAP D. Rice starch vs. rice flour: differences in their properties when modified by heat-moisture treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 85-91, 2013.

RACHMAN, A.; BRENNAN, M. A.; MORTON, J.; BRENNAN, C. S. Starch pasting properties, and effects of banana flour and cassava flour addition to semolina flour on starch and amino acid digestion. **Starch/Stärke**, v. 73, n. 1-2, p. 2000137, 2021.

RAMÍREZ-BALBOA, G.; BALOIS-MORALES, R.; BELLO-LARA, J. E.; BAUTISTA-ROSALES, P. U.; LEÓN-FERNÁNDEZ, A. E.; LÓPEZ-GUZMÁN, G. G.; PALOMIN-HERMOSILLO, Y. A.; LÓPEZ-FLORES, Y. A. Ultrasound-assisted extraction and characterization of the functional properties of starch from soursop fruits (*Annona muricata* L.). **Acta Scientiarum**, v. 43, p. 1-10, 2021.

RAIGOND, P.; EZEKIEL, R.; RAIGOND, B. Resistant starch in food: a review. **Journal of the Science and Agriculture**, v. 95, p. 1968-1978, 2015.

RAO, G.; ASHRAF, U.; HUANG, S.; CHENG, S.; ABRAR, M.; MO, Z.; PAN, S.; TANG, X. Ultrasonic seed treatment improved physiological and yield traits of rice under lead toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 33637-33644, 2018.

RAYO-MENDEZ, L. M.; KOSHIMA, C. C.; FILHO, P. A. P.; TADINI, C. C. Recovery of non-starch polysaccharides from ripe banana (*Musa cavendishii*). **Journal of Food Engineering**, v. 292, 110356, 2021.

RECHSTEINER, M.S. **Desenvolvimento de amidos fosfatados de batata-doce e mandioca e aplicação como substitutos de gordura em sorvetes**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2009.

RESIO, A.C.; AGUERRE, R.J.; SUAREZ, C. Hydration kinetics of amaranth grain. **Journal of Food Engineering**, v. 72, p. 247-253, 2006.

RESIO, A.C.; SUAREZ, C. Gelatinization kinetics of amaranth starch. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, p. 441-448, 2001.

ROA-ACOSTA, D. F.; JHON-EDINSON, N. C.; LINA-MARCELA, A. L. Relative humidity effect on encapsulation properties of coproducts obtained from wet milling of amaranth grain. **Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial**, v. 19, n. 1, p.1-13, 2021.

ROBERFROID, M.B. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 139-143, 2002.

RODAS, B.; BRESSANI, R. Contenido de aceite, ácidos grasos y escualeno en variedades crudas y procesadas de grano de amaranto. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 59, n. 1, p. 82–87, 2009.

RODRIGUEZ-SANDOVAL, E.; FRANCO, C. M. L.; MANJARRES-PINZON, K. Effect of fructooligosaccharides on the physicochemical properties of sour cassava starch and baking quality of gluten-free cheese bread. **Starch/Stärke**, v. 66, n. 7-8, p. 678-684, 2014.

ROSELL, C. M.; BARRO, F.; SOUSA, C.; MENA, M. C. Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. **Journal of Cereal Science**, v. 59, n. 3, p. 354-364, 2014.

SAFARI, J.; SADEGHI, M. Nanostarch: a novel and Green catalysis for synthesis of 2-aminothiazoles. **Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly**, p.1-5, 2016.

SALINAS, M. V.; ZULETA, A.; RONAYNE, P.; PUPPO, M. C. Wheat bread enriched with organic calcium salts and inulin. A bread quality study. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 491–500, 2016.

SALISOVA, M.; TOMA, S.; MASON, T.J. Comparison of conventional and ultrasonically-assisted extraction of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 4, p. 131–134, 1997.

SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, M. J.; SOTO-JOVER, S.; ANTOLINOS, V.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B.; LÓPEZ-GÓMEZ, A. Manufacturing of short-chain fructooligosaccharides: from Laboratory to Industrial Scale. **Food Engineering Reviews**, v. 12, p. 149-172, 2020.

SANDHU, K. S.; SINGH, N. Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1499-1507, 2007.

SANTACRUZ, S.; KOCH, K.; SVENSSON, E.; RUALES, J.; ELIASSON, A.C. Three under utilised sources of starch from the Andean region in Ecuador Part I. Physico-chemical characterisation. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 63–70, 2002.

SANTIAGO, L.G.; CASTRO, G.R. Novel technologies for the encapsulation of bioactive food compounds. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 78-85, 2016.

SANTRA, D.K; SCHOENLECHNER, R. Amaranth Part 2 - Sustainability, Processing, and Applications of Amaranth. **Sustainable Protein Sources**, Ch.16, p.257-264, Elsevier, 2017.

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

SCHIRMER, M.; HÖCHSTÖTTER, M.; JEKLE, M.; ARENDT, E.; BECKER, T. Physicochemical and morphological characterization of different starches with variable amylose/amylopectin ratio. **Food Hydrocolloids**, v. 32, p. 52-63, 2013.

SCHOLZ-AHRENS, K.; SCHREZENMEIR, J. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n.11, p. 2513S-2523S, 2007.

**SCIENCE DIRECT**. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/>. Acesso em: 20 ago. 2021.

SEGURA-NIETO, M.; DE LA ROSA, B.A.P.; PAREDES-LÓPEZ, O. Biochemistry of amaranth proteins. **Amaranth: Biology, Chemistry and Technology**. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 75-106, 1994.

SEPELEVS, I.; STEPANOVA, V.; GALO BURDA, R. Encapsulation of Gallic Acid with Acid-Modified Low Dextrose Equivalent Potato Starch Using Spray- and Freeze-Drying Techniques. **Polish Journal of Food and Nutrition Science**, v. 68, n. 3, p. 273–280, 2018.

SETYANINGSIH, W.; KARMILA; FATHIMAH, R. N.; CAHYANTO, M. N. Process optimization for ultrasound-assisted starch production from Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using response surface methodology. **Agronomy**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. Chemical Engineering and Processing, **Process Intensification**, v. 53, p. 10-23, 2012.

SHOAIB, M.; SHEHZAD, A.; OMAR, M.; RAKHA, A.; RAZA, H.; SHARIF, H.R.; SHAKEEL, A.; ANSARI, A.; NIAZI, S. Inulin: Properties, health benefits and food applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 444-454, 2016.

SILVA-SÁNCHEZ, C., DE LA ROSA, A.P.B.; LEÓN-GALVÁN, M.F.; DE LUMEN, B.O.; DE LEÓN RODRÍGUEZ, A.; DE MEJÍA, E.G. Bioactive peptides in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 4, p. 1233–1240, 2008.

SINDHU, R.; KHATKAR, B. S. Thermal, structural and textural properties of amaranth and buckwheat starches. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 5133-5160, 2018.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, v. 81, n. 2, p. 219-231, 2003

SINGH, N.; INOUCHE, N.; NISHINARI, K. Structural, thermal and viscoelastic characteristics of starches separated from normal, sugary and waxy maize. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 6, p. 923-935, 2006.

SINGH, N.; KAUR, S.; KAUR, A.; ISONO, N.; ICHIHASHI, Y.; NODA, T.; RANA, J. C. Structural, thermal and rheological properties of *Amaranthus hypochondriacus* and *Amaranthus caudatus*. **Starch-Stärke**, v. 66, p. 457-467, 2014.

SIQUEIRA, G. L. de A.; HORNUNG, P. S.; da Silveira, A. C.; LAZZAROTTO, S. R. da S.; CORDOBA, L. do P.; SCHNITZLER, E.; LAZZAROTTO, M. Impact of treatment with HCl/alcoholic in the modification of corn starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 129, p. 1705-1713, 2017.

SIRA, E. E. P; AMAIZ, M. L. A laboratory scale method for isolation of starch from pigmented sorghum. **Journal of Food Engineering**, v. 64, n.4, p. 515-519, 2004.

SIT, N.; DEKA, S. C.; MISRA, S. Combined effect of ultrasound and enzymatic pretreatment on yield and functional properties of taro (*Colocasia esculenta*) starch. **Starch/Stärke**, v. 66, p. 959-967, 2014.

SIT, N.; MISRA, S.; DEKA, S. C. Yield and functional properties of taro starch as affected by ultrasound. **Food Bioprocess and Biotechnology**, v. 7, p. 1950-1958, 2014.

SLATTERY, C.J.; KAVAKLI, I.H.; OKITA, T.W. Engineering starch for increased quantity and quality. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 291-298, 2000.

SONICS – SONICS & MATERIALS. **Introducing the VCX 500 and VCX 750**. Disponível em: <https://www.sonics.com/liquid-processing/products/vibra-cell-processors/vcx-500-vcx-750/>. Acesso em: 17 jan. 2020.

SOYKEABKAEW, N.; THANOMSILP, C.; SUWANTONG, O. A review: Starch-based composite foams. **Composites: Part A**, v.78, p.246-263, 2015.

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

SPEHAR, C.R. *et al.* Amaranth BRS Alegria: alternativa para diversificar os sistemas de produção. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, v.38, n.5, p.659-663, 2003.

- SRICHUWONG, S.; CURTI, D.; AUSTIN, S.; KING, R.; LAMOTHE, L.; GLORIA-HERNANDEZ, H. Physicochemical properties and starch digestibility of whole grain sorghums, millet, quinoa and amaranth flours, as affected by starch and non-starch constituents. **Food Chemistry**, v. 233, p. 1-10, 2017.
- STAUFFER, C. E. Emulsifiers as antistating agents. **Cereal Foods World**, v. 45, n. 3, p. 106-110, 2000.
- SUDHA, M. L.; LEELAVATHI, K. Effect of blends of dehydrated green pea flour and amaranth seed flour on the rheological microstructure and pasta making quality. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 713-720, 2012.
- SUI, Z.; KONG, X. Physical modifications of starch. 2018. 1ed. Springer. 274p.
- SUJKA, M.; JAMROZ, J. Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 413-419, 2013.
- SUJKA, M. Ultrasonic modification of starch – Impact on granules porosity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 37, p. 424-429, 2017.
- SUKSOMBOON, A.; NAIVIKUL, O. Effect of dry- and wet milling processes on chemical, physicochemical properties and starch molecular structures of rice starches. **Kasetsart Journal – Natural Science**, v. 40, p. 125-134, 2006.
- SURIYA, M.; BARANWAL, G.; BASHIR, M.; REDDY, C. K.; HARIPRIYA, S. Influence of blanching and drying methods on molecular structure and functional properties of elephant foot yam (*Amorphophallus paeoniifolius*) flour. **LWT – Food Science and Technology**, v. 68, p. 235-243, 2016.
- TAO, K.; LI, C.; YU, W.; GILBERT, R. G.; LI, E. How amylose molecular fine structure of rice starch affects functional properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 204, p. 24-31, 2019.
- TÁPIA-BLÁCIDO, D.; MAURI, A. N.; MENEGALLI, F. C.; SOBRAL, P. J. A.; AÑÓN, M. C. Contribution of the starch, protein, and lipid fractions to the physical, thermal, and structural properties of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) flour films. **Journal of Food Science**, v. 72, p. E293-E300, 2007.
- TAPIA-BLÁCIDO, D.R.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C. Potential of *Amaranthus cruentus* BRS Alegria in the production of flour, starch and protein concentrate: chemical, thermal and rheological characterization. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 1185-1193, 2010.
- TARI, T. A.; SINGHAL, R. S. Starch based spherical aggregates: reconfirmation of the role of amylose on the stability of a model flavouring compound, vanillin. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, n. 3, p. 279-282, 2002a.
- TARI, T. A.; SINGHAL, R. S. Starch-based spherical aggregates: stability of a model flavouring compound, vanillin entrapped therein. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, n. 4, p. 417-421, 2002b.



TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 9, p. 1104-1112, 2006.

TÁRREGA, A.; ROCAFULL, A.; COSTELL, E. Effect of blends of short and long-chain inulin on the rheological and sensory properties of prebiotic low-fat custards *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*. **Food Science and Technology**, v. 43, pp. 556-562, 2010.

TAUROZZI, J. S.; HACKLEY, V. A.; WIESNER, A. R. Ultrasonic dispersion of nanoparticles for environmental, health and safety assessment – issues and recommendations. **Nanotoxicology**, v. 5, p. 1-19, 2011.

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

TERRONI, H. C.; DE JESUS, J. M.; ARTUZO, L. T.; VENTURA, L. V.; SANTOS, R. F.; DAMY-BENEDETTI, P. de C. Liofilização. **Revista Científica Unilago**, v. 1, p. 271-284, 2013.

THARANATHAN, R. N. Food-derived carbohydrates - Structural complexity and functional diversity. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 22, p. 65-84, 2002.

TIAN, Y.; ZHU, Y.; BASHARI, M., HU, X.; XU, X.; JIN, Z. Identification and releasing characteristics of high-amylose corn starch–cinnamaldehyde inclusion complex prepared using ultrasound treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 586–589, 2013.

TIWARI, B.K. Ultrasound: a clean, green extraction technology. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p.100-109, 2015.

TOMA, M.; VINTORU, M.; PANIWNYK, L.; MASON, T.J. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, p. 137-142, 2001.

TOMITA, Y.; SUGIMOTO, Y.; SAKAMOTO, S.; FUWA, H. Some properties of starches of grain amaranths and several millets. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 27, p. 471–484, 1981.

TORRES, M. D.; MOREIRA, R.; CHENLO, F.; MOREL, M. H. Effect of water and guar gum content on thermal properties of chestnut flour and its starch. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 192-198, 2013.

VAMADEVAN, V.; BERTOFT, E.; SOLDATOV, D. V.; SEETHARAMAN, K. Impact on molecular organization of amylopectin in starch granules upon annealing. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1045-1055, 2013.

VELA, A. J.; VILLANUEVA, M.; SOLAESA, A. G.; RONDA, F. Impact of high-intensity ultrasound waves on structural, functional, thermal and rheological properties of rice

flour and its biopolymers structural features. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106480, 2021.

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

VIEIRA, A. P.; NICOLETI, J. F.; TELIS, V. R. N. Liofilização de fatias de abacaxi: avaliação da cinética de secagem e da qualidade do produto. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 50-58, 2012.

VIDAL, A. M. *et al.* A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**. Aracaju, v. 1, n. 15, p. 43-52, 2012.

VILLARREAL, M. E.; RIBOTTA, P. D.; ITURRIAGA, L. B. Comparing methods for extracting amaranth starch and the properties of the isolated starches. **LWT – Food Science and Technology**, v. 51, p. 441-447, 2013.

VILKHU, K.; MANASSEH, R.; MAWSON, R.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic Recovery and Modification of Food Ingredients. **Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing**, p. 345-368, 2010.

WANG, L.; WANG, Y. J. Comparison of protease digestion at neutral pH with alkaline steeping method for rice starch isolation. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 690-932, 2001.

WANG, L.; WANG, Y.J. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p.291-296, 2004a.

WANG, L.; WANG, Y.J. Application of High-Intensity Ultrasound and Surfactants in Rice Starch Isolation. **Cereal Chemistry**, v. 81, n. 1, p. 140-144, 2004b.

WANG, S.; LIU, C.; WANG, S. Drying methods used in starch isolation change properties of C-type chestnut (*Castanea mollissima*) starches. **LWT – Food Science and Technology**, v. 73, p. 663-669, 2016.

WANG, W.; MA, X.; ZOU, M.; JIANG, P.; HU, W.; LI, J.; ZHI, Z.; CHEN, J.; LI, S.; DING, T.; YE, X.; LIU, D. Effects of Ultrasound on Spoilage Microorganisms, Quality, and Antioxidant Capacity of Postharvest Cherry Tomatoes. **Journal of Food Science**, v. 80, p. C2117-C2126, 2015.

WANG, W.; WU, X.; CHANTAPKUL, T.; WANG, D.; ZHANG, S.; MA, X.; DING, T.; YE, X.; LIU, D. Acoustic cavitation assisted extraction of pectin from waste grapefruit peels: A green two-stage approach and its general mechanism. **Food Research International**, v. 102, p. 101-110, 2017.

WANG, H.; XU, K.; MA, Y.; LIANG, Y.; ZHANG, H.; CHEN, L. Impact of ultrasonication on the aggregation structure and physicochemical characteristics of sweet potato starch. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 63, 104868, 2020.

WEI, L.; DAFENG, J.; JINDONG, C.; QIHUA, S.; FENGHUA, L.; YANNI, J.; FEI, Q. Determination of fructooligosaccharides in infant formula by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Letters**, v. 47, n. 6, p. 934, 943, 2014.

WILHELM, E.; ABERLE, T.; BURCHARD, W.; LANDERS, R. Peculiarities of aqueous amaranth starch suspensions. **Biomacromolecules**, v. 3, p. 17–26, 2002.

WRIGLEY, C.; BATEY, I.; MISKELLY, D. Cereal Grains: Assessing and Manging quality. Duxford; Cambridge, MA; Kidlington:Woodhead, **Elsevier**, 2017, 788p.  
XAVIER-SANTOS, D.; BEDANI, R.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; SAAD, S. M. I. L. *acidophilus* La-5, fructo-oligosaccharides and inulin may improve sensory acceptance and texture profile of a symbiotic diet mousse. **LWT – Food Science and Technology**, 105, p. 329-335, 2019.

XIA, X.; LI, G.; LIAO, F.; ZHANG, F.; ZHENG, J.; KAN, J. Granular structure and physicochemical properties of starches from amaranth grain. **International Journal of Food Properties**, v. 18, p. 1029-1037, 2015.

XING, Y.; XU, Q.; MA, Y.; CHE, Z.; CAI, Y.; JIANG, L. Effect of porous starch concentrations on the microbiological characteristics of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. **Food & Function**, v. 5, n. 5, p. 972, 2014.

XING, Q.; WIT, M. de.; KYRIAKOPOULOU, K.; BOOM, R. M.; SCHUTYSER, M. A. I. Protein enrichment of deffatted soybean flour by fine milling and electrostatic separation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 50, p. 42-49, 2018.

XU, F.; ZHANG, L.; LIU, W.; LIU, Q.; WANG, F.; ZHANG, H.; HU, H.; BLECKER, C. Physicochemical and structural characterization of potato starch with different degrees of gelatinization. **Foods**, v. 10, p. 1104, 2021.

XU, Y.; ZHANG, X.; YAN, X. H.; ZHANG, J. L.; WANG, L. Y.; XUE, H.; JIANG, G. C.; MA, X. T.; LIU, X. J. Characterization, hypolipidemic and antioxidant activities of degraded polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 706-716, 2019.

YACKEL, W.C.; COX, C. Application of starch – Based fat replacers. **Food Technology**, v. 46, p. 146-148, 1992.

YAMANI, B.V. **Substituição parcial de farinha de trigo por farinha de amaranto (*Amaranthus cruentus*), quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) e maca (*Lepidium meyenii* W.) na elaboração de panetones**. Tese de doutorado, Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015, 237p.

YANG, W.; LIU, Z.; SIEVENMORGEN, T. J. Effect of power ultrasound on the affinity between corn bran and endosperm. Abstract. **AACC International**: SL Paul, MN, 2002.

YANG, X.; LI, Y.; LI, S.; OLADEJO, A.O.; WANG, Y.; HUANG, S.; ZHOU, C.; YE, X.; MA, H.; DUAN, Y. Effects of ultrasound-assisted  $\alpha$ -amylase degradation treatment with multiple modes on the extraction of rice protein. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 40, p. 890-899, 2018.

YANG, W.; KONG, X.; ZHENG, Y.; SUN, W.; CHEN, S.; LIU, D.; ZHANG, H.; FANG, H.; TIAN, J.; YE, X. Controlled ultrasound treatments modify the morphology and physical properties of rice starch rather than the fine structure. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 59, 104709, 2019.

YILDIZ, O.; YURT, B.; BASTÜRK, A.; TOKER, O. S.; YILMAZ, M. T.; KARAMAN, S.; DAGLIOGLU, O. Pasting properties, texture profile and stress-relaxation behavior of wheat starch/dietary fiber systems. **Food Research International**, v. 53, n. 1, p. 278-290, 2013.

YU, H.; HUANG, Q. Enhanced in vitro anti-cancer activity of curcumin encapsulated in hydrophobically modified starch. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 669–674, 2010.

YU, S.; ZHANG, Y.; GE, Y.; ZHANG, Y.; SUN, T.; JIAO, Y.; ZHENG, X. Q. Effects of ultrasound processing on the thermal and retrogradation properties of nonwaxy rice starch. **Journal of Food Process Engineering**, v. 36, n. 6, p. 793-802, 2013.

YU, J.; WANG, S.; WANG, J.; LI, C.; XIN, Q.; HUANG, W.; ZHANG, Y.; HE, Z.; WANG, S. Effect of laboratory milling on properties of starches isolated from different flour millstreams of hard and soft wheat. **Food Chemistry**, v. 172, p. 504-514, 2015.

YUAN, R.C.; THOMPSON, D.B.; BOYER, C.D. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 1, p. 81-89, 1993.

YUAN, D.; LI, C.; YOU, L.; DONG, H.; FU, X. Changes of digestive and fermentation properties of *Sargassum pallidum* polysaccharide after ultrasonic degradation and its impacts on gut microbiota. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 1443-1450, 2020.

YUAN, T. Z.; LIU, S.; REIMER, M.; ISAAK, C.; AI, Y. Evaluation of pasting and gelling properties of commercial flours under high heating temperatures using Rapid Visco Analyzer 4800. **Food Chemistry**, v. 344, p. 128616, 2021.

ZENG, J.; HU, Y.; GAO, H.; SUN, J.; MA, H. Fructooligosaccharides Impact on the Hydration and Retro-Gradation of Wheat Starch and Gel. **International Journal of Food Properties**, v. 19, p. 22682-2692, 2016.

ZHANG, X.; GOLDING, J.; BURGAR, I. Thermal decomposition chemistry of starch studied by  $^{13}\text{C}$  high-resolution solid-state NMR spectroscopy. **Polymer**, v. 43, p. 5791-5796, 2002.

ZHANG, Z.; FENG, H.; NIU, Y.; ECKHOFF, S. R. Starch Recovery from Degermed Corn Flour and Hominy Feed Using Power Ultrasound. **Cereal Chemistry Journal**, v. 82, n. 4, p. 447–449, 2005a.

ZHANG, Z.; NIU, Y.; ECKHOFF, S. R.; FENG, H. Sonication Enhanced Cornstarch Separation. **Starch – Stärke**, 57(6), 240–245, 2005b.

ZHANG, Z.; GAO, W.; LI, X.; JIANG, Q.; XIA, Y.; WANG, H.; HUANG, L.; GUO, L. Effect of different drying methods on the physicochemical and functional properties of *Dioscorea opposita* Thunb. starch. **Starch/Stärke**, v. 65, n. 3-4, p. 219-226, 2013.

ZHANG, Q.; SALEH A. S. M.; CHEN, J.; SUN, P.; SHEN, Q. Monitoring of thermal behavior and decomposition products of soybean oil. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 1, p. 19-29, 2014a.

ZHANG, B.; WNAG, K.; HASJIM, J.; LI, E.; FLANAGAN, B. M.; GIDLEY, J.; DHITAL, S. Freeze-drying changes the structure and digestibility of B-polymorphic starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 7, p. 1482-1491, 2014b.

ZHANG, Z.; LI, E.; FAN, X.; YANG, C.; MA, H.; GILBERT, R. G. The effects of the chain-length distributions of starch molecules on rheological and thermal properties of wheat flour paste. **Food Hydrocolloids**, v. 101, p. 105563, 2020.

ZHENG, J.; LI, Q.; HU, A.; YANG, L.; LU, J.; ZHANG, X.; LIN, Q. Dual-frequency ultrasound effect on structure and properties of sweet potato starch. **Starch/Stärke**, v. 65, n. 7-8, p. 621-627, 2013.

ZHOU, Yang; HOOVER, R.; LIU, Q. Relationship between  $\alpha$ -amylase degradation and the structure and physicochemical properties of legume starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 3, p. 299-317, 2004.

ZHU, F. Isolation, composition, structure, properties, modifications, and uses of yam starches. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 357-386, 2015a.

ZHU, F. Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. **Trends in Food Science and Technology**, v. 43, 1-17, 2015b.

ZHU, F. Underutilized and unconventional starches: Why should we care? **Trends in Food Science and Technology**, v. 100, p. 363-373, 2020.

ZHU, F.; LI, H. Modification of quinoa flour functionality using ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 52, p. 305-310, 2019.

ZHU, T.; JACKSON, D. S.; WEHLING, R. Ç.; GEERA, B. Comparison of amylose determination methods and the development of a dual wavelength iodine binding technique. **Cereal Chemistry**, v. 85, p. 51-58, 2008.

ZHU, J.; LI, L.; CHEN, L.; LI, X. Study on supramolecular structural changes of ultrasonic treated potato starch granules. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p.116-122, 2012.

ZHU, J.; LI, L.; CHEN, L.; LI, X. Study on supramolecular structural changes of ultrasonic treated potato starch granules. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p.116-122, 2012.

ZHU, F.; LIU, P. Starch gelatinization, retrogradation, and enzyme susceptibility of retrograded starch: Effect of amylopectin internal molecular structure. **Food Chemistry**, v. 316, p. 2-9 2020.

ZIMERI, J. E.; KOKINI, J. L. Morphological characterization of the phase behavior of inulin-waxy maize starch systems in high moisture environments. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 3, p. 225-236, 2003.

ZUO, J. Y.; KNOERZER, K.; MAWSON, R.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, n. 4, p. 462–468, 2009.