

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**Amido de capim-arroz (*Echinochloa crusgalli* (L)
Beauv.): caracterização e modificação por acetilação e
tratamento térmico em baixa umidade de forma isolada
e associada**

Josiane Bartz
Bacharel em Química de Alimentos

Pelotas, 2013

Josiane Bartz

Modificação de amido de capim-arroz (*Echinochloa crusgalli* (L) Beauv.) por acetilação e tratamento térmico em baixa umidade de forma isolada e associada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias – FAEM/UFPel

Pelotas, 2013

Catálogo na fonte
Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

B284a Bartz, Josiane

Amido de capim-arroz (*Echinochloa crusgalli* (L) Beauv.): caracterização e modificação por acetilação e tratamento térmico em baixa umidade de forma isolada e associada. / Josiane Bartz; orientador Alvaro Renato Guerra Dias - Pelotas, 2013.

81 f. :il

Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência e tecnologia de Alimentos). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Manoel Artigas Shirmer – FAEM/UFPeI

Prof^a. Dr^a. Elessandra da Rosa Zavareze – UNIPAMPA/BAGÉ

Prof. Dr. Maurício de Oliveira – FAEM/UFPeI

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias – FAEM/UFPeI

*À minha família: Marcos, Marli, Eduardo e
Carlos e aos meus amigos, dedico.*

Agradecimentos

À minha mãe e pai, Marli Bartz, pelo apoio incondicional e amor imensurável dedicado durante toda a vida. Obrigada por acreditar em mim e ter batalhado duro na vida para criar e educar a mim e aos meus queridos irmãos, Eduardo e Carlos, com dignidade. Tenho muito orgulho de contar tua história de mulher guerreira, saber de onde vim é o que me faz ter mais gosto nas coisas e oportunidades com que Deus tem me agraciado. Qualquer ganho que eu possa desfrutar nessa vida, será sempre mérito teu também.

Sou imensamente grata ao meu amor e melhor amigo, Marcos Antônio Giovanaz. Me sinto afortunada por te ter em minha vida. Adjetivos seriam pouco para expressar tudo que fazes por mim e tudo o que somos juntos. Quero que saibas, e sei que sabes, o quanto sou feliz por poder dividir cada coisa contigo, e esse trabalho é mais um dos grandes empreendimentos que juntos realizamos. As idas ao campus em finais de semana, colheita, descasque e limpeza dos grãos de capim-arroz, extração e modificações do amido, as análises, o discutir resultados e ideias, o escrever... Não teve etapa na qual não tivesses a tua parcela de participação. Vejo o quanto somos participativos na vida um do outro e o quanto nos queremos bem e vejo que de fato fomos e somos ricamente abençoados um com o outro. Te amo!

Aos amigos de sempre, Fabiane, Andrise, Larissa, Damaris, Elenara, Cristiano, Claiton, Marlise e tantos outros, pelo carinho e amizade de tantos anos. Não há dúvidas de que algumas amizades são pra sempre... Quando falo em vocês, não falo de coleguismo e amizades rasas que se fazem facilmente, falar de vocês é falar de amor fraterno com propriedade. Os amo muito! Tenho orgulho imenso de tê-los por verdadeiros amigos. Também acredito que esse seja um bom lugar para deixar registrado o quanto um amigo pode fazer diferença nas nossas escolhas de vida. Os amigos que citei, são as pessoas que mais contribuíram para a formação do meu caráter e postura diante da vida. Quando olho para trás vejo o quanto foram, em grande medida, responsáveis pelas escolhas que fiz, pelo que valorizo e prezo na vida e pelos rumos que minha vida tomou.

Fabi e Dri: ao pensar apenas nesses dois anos de mestrado não poderia deixar de destacar a diferença que vocês fizeram, pois dessa galera amada que citei, vocês foram as que puderam estar fisicamente mais próximas e, conseqüentemente, participar mais dos muitos bons e não tão bons “momentos” que vivi nesse tempo, tê-las por perto enriquece meus dias. Como já te disse Fabi, quando me pedirem para responder em uma palavra o que me motivou a seguir estudando, é teu nome que citarei, sou eternamente grata por

teres me empurrado junto contigo pelo caminho que nos trouxe até aqui. A primeira amiga feita ainda na infância, hoje uma irmã.

À todos os professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos pelos ensinamentos e convívio, assim como ao secretário André Martins, sempre atencioso e disposto.

Em especial ao meu orientador, Alvaro Renato Guerra Dias: nunca me esquecerei de quando me dissestes “quem corre atrás do que quer não cansa”, quando te sugeri mudarmos os rumos desse estudo. A confiança, liberdade e ideias compartilhadas, foram os responsáveis por eu encerrar esse mestrado com entusiasmo pela pesquisa e amor declarado aos grânulos de amido.

Também estendo esse agradecimento ao professor Manoel Artigas Schirmer, pela amizade e pinceladas de sabedoria durante todo o desenvolvimento desse estudo. Obrigada por me mostrar os caminhos que eu não soube enxergar sozinha durante o mestrado. Em apenas dois anos de convívio tive o privilégio de conhecer e aprender contigo sobre vida, ciência e bondade. Uma das principais conquistas desse período foi, sem dúvida, a conquista da tua amizade.

Aos colegas do LabGrãos, e demais Labs, pelo convívio diário e precioso auxílio durante esse trabalho, evitarei citar nomes, pois somos além de um grande time, um time grande. Aos estagiários do LabGrãos pelo auxílio no desenvolver desse projeto, em especial ao Jorge Goebel que participou ativamente na colheita e descasque dos grãos. Se não fosse tua teimosia guri, eu não teria grãos de capim-arroz descascados. Muito obrigada!

À CAPES, pelo auxílio financeiro e ao Laboratório de Difração de Raios-X, do Departamento de Física da UFSC pelas análises de difração de raios-X.

E à Deus, “Por que Dele e por Ele, para Ele são todas as coisas. À Ele a glória, para sempre, amém.” (Rm 11.36).

*“Sê forte e corajoso; não temas,
nem te espantes, porque o Senhor teu
Deus, é contigo por onde quer que
andares”. Josué 1.9*

RESUMO

BARTZ, J. **Modificação de amido de capim-arroz (*Echinochloa crusgalli* (L) Beauv.) por acetilação e tratamento térmico em baixa umidade de forma isolada e associada.** 2013. 82f. Dissertação (Mestrado)—Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O capim-arroz é uma planta invasora de difícil controle encontrada em abundância como parte dos resíduos da indústria orizícola. Uma forma de agregar valor a esse resíduo seria a extração de amido. A modificação de amidos visa ampliar o espectro de utilização do mesmo. Objetivou-se com esse trabalho extrair e modificar amido de capim-arroz e avaliar os efeitos da modificação por acetilação sob catálise de iodo e do TTBU de forma isolada e associada, sobre o nível de substituição de grupos acetila, estrutura granular e propriedades funcionais. A acetilação foi realizada a 100°C durante período de 10 min variando a quantidade de iodo como catalisador (1, 5 e 10 mM). O TTBU foi realizado no amido condicionado para 25% de umidade e autoclavado a 110°C por 1h. Para a realização das modificações combinadas, os amidos foram modificados por acetilação prévia ao TTBU e vice-versa. Foi avaliado o grau de substituição (GS), padrão de infravermelho, aspectos morfológicos e birrefringência, padrão polimórfico, cristalinidade relativa, poder de inchamento, lixiviação de amilose, propriedades de viscosidade e propriedades térmicas nos amidos nativo e modificados. O GS dos amidos aumenta conforme com o acréscimo da quantidade de iodo utilizada como catalisador. O TTBU reduz o grau de inserção de grupos acetila ao amido. As modificações afetam a estrutura granular do amido de capim-arroz, a partir da formação de aglomerados e pontos escuros no centro de alguns grânulos e da redução da cristalinidade relativa, sobretudo nos amidos modificados de forma associada. O poder de inchamento e lixiviação de amilose aumenta após a acetilação realizada de forma isolada e anteriormente ao TTBU, mas decresce nos amidos modificados por TTBU isolado e previamente à acetilação. As propriedades de pasta são alteradas após as modificações e um comportamento dependente do nível de adição de iodo é observado. A temperatura de pasta reduz após a acetilação e acetilação seguida de TTBU, mas aumenta após o TTBU e TTBU seguido de acetilação. A acetilação sob 1 e 5 mM de iodo, bem como a acetilação com 1 mM de iodo seguida de TTBU ocasionam acréscimos nas viscosidades, mas após acetilação sob 10 mM e acetilação seguida de TTBU sob 5 e 10 mM de iodo, reduções de viscosidade é observada. Após TTBU e TTBU seguido de acetilação todas as viscosidades são reduzidas, sendo essa redução mais expressiva conforme o aumento da quantidade de iodo utilizada. A acetilação reduz as temperaturas de gelatinização, enquanto que o TTBU e tratamentos combinados ocasionam acréscimos nas mesmas. Redução na entalpia e ampliação da faixa de gelatinização é obtida após todas as modificações.

Palavras-chave: modificação química; modificação física; modificação combinada; iodo; capim-arroz.

ABSTRACT

BARTZ, J. **Modified barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli* (L) Beauv.) starch by acetylation and heat-moisture treatment in an isolated way and associated**. 2013. 82f. Dissertação (Mestrado)–Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The barnyard grass is a weed difficult to control found in abundance as part of the waste industry paddy. One way to add value to this waste would be the extraction of starch. The modification of starches aims to expand the range of use. The objective of this work was to extract and modify starch barnyardgrass and evaluate the effects of modification by acetylation under iodine catalysis and HMT in isolation and associated, on the level of substitution of acetyl groups, granular structure and functional properties. Acetylation was performed at 100 ° C during 10 min varying the amount of iodine as catalyst (1, 5 and 10 mM). The HMT was performed in starch conditioned to 25% moisture and autoclaved at 110 ° C for 1h. To conduct the combined modifications, starches have been modified by acetylation prior to HMT and vice versa. The degree of substitution (DS), infrared pattern, morphology and birefringence, polymorphic pattern, relative crystallinity, swelling power, amylose leaching, properties of viscosity and thermal properties of native and associated modified starches. The GS increases with the increasing addition of iodine used as catalyst. The HMT reduces the degree of insertion of acetyl groups to the starch. The changes affect the granular structure of starch barnyardgrass, from the formation of aggregates and dark spots in the center of some granules and reducing relative crystallinity, especially in modified starches so associated. The swelling power and amylose leaching increases after acetylation held in isolation and before the HMT, but decreases in starch modified by HMT and isolated prior to acetylation. Pasting properties are altered after the modification and a behavior dependent upon the level of addition of iodine is observed. The paste temperature reduces after acetylation and acetylation followed by HMT, but increases after HMT and HMT followed by acetylation. Acetylation under 1 and 5 mM iodine, and acetylation with 1 mM iodine followed by HMT cause increases in viscosity, but after acetylation in 10 mM followed by acetylation of HMT and at 5 and 10 mM iodine, reduction of viscosity is observed. After HMT and HMT followed by acetylation, all viscosities are reduced, such reduction being more expressive with increasing amount of iodine used. The acetylation reduces the gelatinization temperatures, whereas HMT and combined treatments cause increases therein. Reduction in enthalpy and broadening the range of gelatinization is obtained after all modifications.

Keywords: chemical modification, physical modification, combined modification; iodine; barnyardgrass.

Lista de Figuras

Figura 1 - Grão de arroz sem casca (1) e grãos de capim-arroz revestido de glumelas (2), com casca (3), parcialmente descascado (4) e sem casca (5)...	18
Figura 2 - Unidades estruturais de amilose (a) e amilopetina (b).	22
Figura 3 - Cadeias formadoras da molécula de amilopectina. (Círculos representam os resíduos de glicose, linhas horizontais e curvas correspondem às ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$, respectivamente, e o resíduo final à direita constitui a extremidade redutora da molécula).	23
Figura 4 - Representação esquemática da estrutura lamelar de um grânulo de amido. [Onde A: pilhas de lamelas microcristalinas separadas por anéis de crescimento amorfos; B: vista ampliada das regiões amorfas e cristalinas; C: estruturas helicoidais duplas formadas por cadeias adjacentes de amilopectina, dando origem às lamelas cristalinas (os pontos de ramificação constituem as regiões amorfas)].	24
Figura 5 - Estruturas dos polimorfos cristalinos do tipo-A e tipo-B. [Onde (a): visão 3D das estruturas; (b): empacotamento cristalino em do tipo-A, contendo quatro moléculas de água (círculos fechados) para cada célula unitária; (c): polimorfo do tipo-B, contendo trinta e seis moléculas de água]	25
Figura 6 - Representação esquemática das alterações ocorridas em uma suspensão de amido em excesso de água durante o aquecimento, resfriamento e armazenamento.	27
Figura 7 - Possíveis locais para a substituição, carbonos 2, 3 e 6 (destaque em amarelo) na unidade de anidroglicose.	28
Figura 8 - Representação esquemática da ativação do anidrido acético pelo iodo como catalisador da reação de acetilação em amidos.	30
Figura 9 - Grãos de capim-arroz com casca (a) e descascados (b).	42
Figura 11 - Espectro de infravermelho com transformada de Fourier dos amidos nativo e modificados. (destaque para o número de onde de 1743 cm^{-1} , indicando a introdução de grupos acetila ao amido).	48
Figura 12 - Micrografias de campo claro de grânulos de amido de capim-arroz nativo e modificados. (A10: acetilação com 10 mM de iodo; TTBU: tratamento térmico em baixa umidade; A10/T: acetilação com 10 mM de iodo seguida de TTBU; T/A10: TTBU seguido de acetilação com 10 mM de iodo).	49
Figura 13 - Micrografias sob luz polarizada de grânulos de amido de capim-arroz nativo e modificados. (A10: acetilação com 10 mM de iodo; TTBU: tratamento térmico em baixa umidade; A10/T: acetilação com 10 mM de iodo seguida de TTBU; T/A10: TTBU seguido de acetilação com 10 mM de iodo)..	51
Figura 14 - Difractogramas de raios-X dos amidos de capim-arroz nativo e modificados.	53

Figura 15 - Poder de inchamento do amido nativo e modificados por TTBU e por acetilação.	58
Figura 16 - Poder de inchamento dos amidos nativo e modificados por acetilação, TTBU e acetilação seguida de TTBU.	59
Figura 17 - Poder de inchamento dos amidos nativo e modificados por TTBU e TTBU seguido de acetilação.	59
Figura 18 - Viscoamilograma dos amidos de capim-arroz nativo e acetilados.	63
Figura 19 - Viscoamilograma dos amidos de capim-arroz nativo e modificados por TTBU e por acetilação seguida de TTBU.	66
Figura 20 - Viscoamilograma dos amidos de capim-arroz nativo e modificados por TTBU e TTBU seguido de acetilação.	67
Figura 21 - Curvas de DSC dos amidos de capim-arroz nativo e modificados.	71

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Delineamento experimental do projeto.....	36
Tabela 2 - Composição química (% em base seca) do grão de capim-arroz ...	43
Tabela 3 - Grau de substituição no amido de capim-arroz modificado por acetilação, de forma isolada e combinada ao TTBU, em diferentes níveis de adição de iodo como catalisador	44
Tabela 4 - Intensidade dos principais picos dos difractogramas de raios-X e cristalinidade relativa dos amidos de capim-arroz nativo e modificados	54
Tabela 5 - Lixiviação de amilose (%) dos amidos de capim-arroz nativo e modificados	60
Tabela 6 - Propriedades viscoamilográficas dos amidos de capim-arroz nativo e modificados	62
Tabela 7 - Propriedades de térmicas dos amidos de capim arroz modificados	69

Sumário

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
Lista de Figuras	10
Lista de Tabelas	12
1 INTRODUÇÃO	15
1.2 Hipóteses.....	16
1.3 Objetivos.....	16
1.3.1 Objetivo geral.....	16
1.3.2 Objetivos específicos	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Capim-arroz: aspectos gerais e importância.....	18
2.2 Amidos.....	21
2.2.1 Composição e organização estrutural.....	21
2.2.2 Propriedades funcionais	25
2.2.3 Modificação de amidos	27
2.2.3.1 Acetilação sob catálise de iodo.....	28
2.2.3.2 Tratamento térmico em baixa umidade.....	30
2.2.3.3 Amidos modificados por processos combinados	32
3 MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Material	34
3.2 Métodos	34
3.2.1 Descasque e caracterização dos grãos de capim-arroz	34
3.3.2 Extração do amido de capim-arroz	35
3.4 Caracterização química e teor de amilose do amido de capim-arroz	35
3.5 Modificações dos amidos.....	36
3.5.1 Delineamento experimental	36
3.5.2 Acetilação sob catálise de iodo.....	37
3.5.3 Tratamento térmico em baixa umidade (TTBU).....	37
3.5.4 Modificações combinadas.....	38
3.6 Grau de substituição (GS) dos amidos	38

3.7 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IV)	39
3.8 Aspectos morfológicos e birrefringência	39
3.9 Padrão polimórfico e percentual de cristalinidade relativa	39
3.10 Poder de inchamento.....	39
3.11 Lixiviação de amilose.....	40
3.12 Propriedades de pasta.....	40
3.13 Propriedades térmicas.....	40
3.14 Análise estatística	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 Rendimento de descasque e caracterização dos grãos de capim-arroz	42
4.2 Rendimento de extração e composição química do amido de capim-arroz	43
4.3 Grau de substituição (GS)	44
4.4 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IV)	47
4.5 Propriedades morfológicas e birrefringência.....	49
4.6 Padrão polimórfico e percentual de cristalinidade relativa	52
4.7 Poder de inchamento.....	57
4.8 Lixiviação de amilose.....	60
4.9 Propriedades Viscoamilográficas.....	61
4.10 Propriedades térmicas	68
6 REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

O capim-arroz (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) é um capim selvagem, conhecido como uma das principais plantas invasoras de importância na agricultura mundial, sendo responsável por perdas expressivas na produtividade de diversas culturas, sobretudo do arroz. Nas regiões de cultivo de arroz irrigado, o residual de capim-arroz gerado é bastante expressivo, no entanto, esse material é descartado ou destinado à alimentação animal sem nenhum preparo prévio. Nesse contexto, a extração de amido do capim-arroz poderia ser um meio de agregar valor a esse resíduo.

O amido é uma fonte importante de carboidratos na dieta humana e é amplamente utilizado em diversas áreas da ciência de alimentos e polímeros. Assim, para superar as deficiências intrínsecas à utilização de amidos na forma nativa, sobretudo a elevada hidrofobicidade, inúmeros métodos de modificação têm sido desenvolvidos. A combinação de métodos de modificação tem sido apontada como uma alternativa promissora para a obtenção de amidos com propriedades específicas, ou mesmo para otimização de processos reacionais.

A associação dos métodos de modificação por acetilação e tratamento térmico em baixa umidade (TTBU) ainda não foram explorados. A acetilação é uma modificação química na qual os grupos hidroxilas do amido são substituídos por grupos acetila, promovendo a redução nas interações entre as cadeias exteriores da amilopectina e entre as cadeias de amilose, além de conferir novas características ao polímero. Recentemente, alguns estudos têm demonstrado que o iodo é um excelente agente acilante na acetilação de polissacarídeos, reduzindo expressivamente os tempos de reação. Do mesmo modo, as alterações obtidas em amidos submetidos ao TTBU tem demonstrado o potencial desse método de modificação.

A maioria dos estudos sobre a organização estrutural e os mecanismos que são desencadeados durante a modificação de amidos por acetilação e TTBU são apoiados em resultados embasados na aplicação desses métodos de forma individual. Neste aspecto, o estudo destes, métodos de forma isolada ou associada sobre uma fonte não convencional de amido como o capim-arroz pode esclarecer muito sobre os efeitos destas modificações sobre o amido, assim como, prover uma forma de aproveitamento desta matéria-prima que é descartada na colheita e beneficiamento de grãos.

1.2 Hipóteses

- O capim-arroz constitui matéria-prima com potencial para a extração de amido;
- As diferentes quantidades de iodo utilizadas na acetilação, bem como a alteração estrutural promovida pelo TTBU, influenciam o grau de introdução de grupos acetila ao amido de capim-arroz;
- A associação da acetilação com o TTBU (acetilação/TTBU ou TTBU/acetilação) promove alterações na funcionalidade e em aspectos estruturais dos grânulos, distintos do obtido por estas modificações quando aplicadas de forma isolada em amido de capim-arroz.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo geral

Extrair e modificar amido de capim-arroz por acetilação sob catálise de 1, 5 e 10 mM de iodo e TTBU (25% de umidade/110°C/1h) de forma isolada e associada, e investigar as alterações no grau de substituição e em algumas propriedades funcionais e estruturais dos grânulos após essas modificações.

1.3.2 Objetivos específicos

- Extrair e caracterizar o amido obtido de grãos de capim-arroz quanto as suas propriedades estruturais e funcionais;

- Avaliar o efeito do TTBU sobre a estrutura granular de amido de capim-arroz frente à introdução de grupos acetila em diferentes níveis de acetilação sob catálise de iodo;

- Avaliar o impacto do TTBU e das condições reacionais adotadas na acetilação e a combinação destas modificações quanto aos aspectos morfológicos e birrefringência, padrão polimórfico e cristalinidade relativa, poder de inchamento, lixiviação de amilose, propriedades de pasta e propriedades térmicas no amido de capim-arroz.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Capim-arroz: aspectos gerais e importância

Echinochloa crus-galli (L.) Beauv., originário do leste asiático e de predominância em regiões temperadas, é um tipo de capim selvagem da família das poáceas que produz grãos muito pequenos e é comumente conhecido pelo nome de capim-arroz (YABUNO, 1987; HOLM et al., 1991). É uma das principais plantas invasoras de importância na agricultura mundial, sendo responsável por perdas expressivas na produtividade de diversas culturas, sobretudo do arroz (HOLM et al., 1991; ALTOP; MENNAN, 2011). O grão de capim-arroz é apresentado na Fig. 1, onde o pequeno tamanho do grão é evidenciado pela inserção de um grão de arroz na imagem para efeito de comparação.



Figura 1 - Grão de arroz sem casca (1) e grãos de capim-arroz revestido de glumelas (2), com casca (3), parcialmente descascado (4) e sem casca (5).

Fonte: Arquivo do autor.

Conforme Altop e Mennan (2011), a grande tolerância ecológica do capim-arroz, tais como a capacidade de adaptação em condições anaeróbicas (campos de arroz irrigado e pântanos), rápida germinação e crescimento, produção abundante de grãos e elevada capacidade competitiva, favorecem para que esta invasora esteja amplamente distribuída nas lavouras de cultivo de arroz irrigado, sobretudo nas pouco tecnificadas. Além de competir com a produção, a planta de *E. crus-galli* também pode causar grandes prejuízos durante a colheita. Conforme destacam Gonçalves e Saccol (1995) as folhas e caules verdes da invasora dificultam a trilha, bem como grãos são colhidos junto com os de arroz, contribuindo para o aumento de matérias estranhas no volume total colhido.

O manejo da lavoura, incluindo o controle químico intenso, é empregado para reduzir a infestação de *E. crus-galli* em sistemas de produção de arroz em muitos países (GIBSON et al., 2002). No entanto, a intensa utilização de herbicidas tem levado à seleção de biótipos resistentes da planta (CHEN et al., 2009; TANG et al., 2009). Além disso, as similaridades morfológicas com a planta de arroz na fase de plântula dificulta a aplicação de métodos alternativos de controle (ANDRES et al., 2007), visto que, quando o capim-arroz atinge um ponto de crescimento em que é identificado e pode ser removido, as perdas de rendimento na lavoura, geralmente, já são inevitáveis (HOLM et al., 1991).

De acordo com Olivo et al. (1991), no Rio Grande do Sul, e nas demais regiões que cultivam variedades de arroz irrigado, o percentual de capim-arroz nos resíduos da lavoura orizícola é bastante variável, sendo estimado valores em torno de 1 a 2% do total colhido. Considerando a previsão de colheita de aproximadamente 8,8 milhões de toneladas de arroz na safra 2010/2011 no estado (CONAB, 2011), a quantidade de capim-arroz gerado como resíduo pode vir a corresponder de 88 a 176 mil toneladas, o qual é predominantemente descartado ou destinado à alimentação animal, ainda que sem preparo prévio para tal função (WILSON, 1994).

Assim, embora o foco mundial em relação às espécies do gênero *Echinochloa* esteja voltado para os prejuízos que esta proporciona na agricultura, em países do continente africano e asiático é comum o uso do grão

de espécies de *Echinochloa* na alimentação humana (VEENA et al., 2004; UGARE, 2008).

De acordo com Yabuno (1987), o gênero *Echinochloa* inclui duas espécies cultivadas como alimento, *E. frumentacea* e *E. utilis* cultivadas, respectivamente, no Japão, Coréia e China, e na Índia, Paquistão e Nepal. Ambas são cultivadas para o consumo humano e como forrageira animal, sendo comumente conhecidas pelo nome genérico de “barnyard millets”. A partir de estudos citogenéticos, Yabuno (1987) reporta que *E. Utilis* foi domesticada da espécie selvagem *E. crus-galli* enquanto que *E. frumentacea* se origina de *E. colona*.

O cultivo de “barnyard millets” apesar de antigo, é ainda relativamente desconhecido e seu uso é restrito em regiões onde o solo é inadequado e o clima muito frio para o cultivo de arroz (UGARE, 2008). Conforme Veena et al. (2004) e Ugare (2008), o grão é comumente empregado em pratos típicos regionais ou ainda preparada a partir do cozimento com água (de forma semelhante ao arroz) ou com leite e açúcar. O grão também pode ser moído e inserido no preparo de mingaus (THATHOLA; SRIVASTAVA, 2002; VEENA et al., 2004), biscoitos (THATHOLA; SRIVASTAVA, 2010), massas (UGARE, 2008), dentre outros.

A distribuição composicional de nutrientes em “barnyard millets” é bem variável e apresenta diferenças conforme a espécie e cultivar em questão. De acordo com Kasaoka et al. (1999) e Gopalan et al. (2002), de forma geral, esses grãos apresentam valores de proteína, lipídios, fibras e vitamina B1 e B2 superiores aos encontrados em muitos cereais convencionais, como o arroz e trigo.

Em estudo realizado por Veena et al. (2005) em nove variedades de “barnyard millets” (*E. colona* var. *frumentacea*), os grãos apresentaram composição nutricional que variou entre 8,4-15,5% no conteúdo de proteína, 3,2-4,5% de lipídios, 2,7-4,2% de minerais, 9,60-15,8% de fibra dietética e 52,9-66,2% de carboidratos. Os autores também destacam que o elevado teor de fibras e o baixo teor e digestibilidade (20-28%) dos carboidratos pode ser conveniente na gestão de distúrbios metabólicos, como no controle de diabetes mellitus. Ainda que os dados apresentados não sejam referentes à *E. crus-galli*

var. *utilis*, os mesmos podem fornecer uma ideia do valor nutricional do gênero como um todo, visto a escassez de dados sobre esta espécie.

Em relação a compostos bioativos de ação antioxidante, a literatura dispõe de dois estudos com *E. crus-galli* var. *utilis*. Kim et al. (2011), a partir de extratos etanólicos, isolaram três ácidos fenólicos os quais identificaram como sendo o N-(*p*-cumárico)-serotonina, luteolina e Tricetin 3',5'-dimetil éter, e Watanabe (1999) em extratos metanólicos do grão, observaram valores expressivos de compostos fenólicos totais ($38,45 \pm 0,45 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), a maioria na forma de flavonóides ($28,71 \pm 0,27 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$).

Contudo, o conhecimento a respeito do potencial alimentar de “barnyard millets” disponível na literatura é ainda superficial, visto que apenas recentemente, com a divulgação de estudos sobre suas propriedades alimentares, é que o cultivo e interesse em torno desses grãos tem sido revitalizado (WATANABE, 1999; KIM et al., 2011).

2.2 Amidos

2.2.1 Composição e organização estrutural

O amido é um polissacarídeo abundante na natureza, relativamente barato e naturalmente renovável, o qual encontra ampla aplicação em diversas áreas da ciência de alimentos e polímeros em geral (TESTER; MORRISON, 1990; HOOVER, 2010). O amido se apresenta na forma de grânulos, com tamanhos e formas variáveis, os quais são altamente birrefringentes e sob luz polarizada apresentam o modelo típico da cruz de Malta (BULEÓN et al. et al, 1998).

De forma geral, amidos contêm em torno de 70-80% de amilopectina e entre 20-30% de amilose. Proteínas, lipídios, fósforo, fibras também estão presentes em quantidades muito pequenas. Na Fig. 2 são apresentadas as unidades estruturais de amilose e amilopectina. A amilose é definida como uma molécula linear formada por unidade de D-glicose unidas por ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$ e difere em tamanho e estrutura, dependendo da origem botânica. Apresenta peso molecular em torno de 1×10^5 a $1 \times 10^6 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (BULEÓN et al., 1998; BILIADERIS, 1991), e atualmente é bem estabelecido que certas moléculas são ligeiramente ramificadas por ligações $\alpha(1 \rightarrow 6)$. Em solução aquosa a amilose adota uma estrutura em forma de espiral aleatória, pouco estável e

tende a formar complexos simples de inclusão helicoidal com agentes complexantes apropriados (lipídios, iodo). Dependendo do tamanho desses agentes complexantes, a cadeia de amilose pode assumir uma estrutura helicoidal, podendo ter 6, 7 ou 8 unidades de glicose. Já a amilose restante é livre e ocorre em uma conformação desordenada (PÉREZ; BERTOFT, 2010).

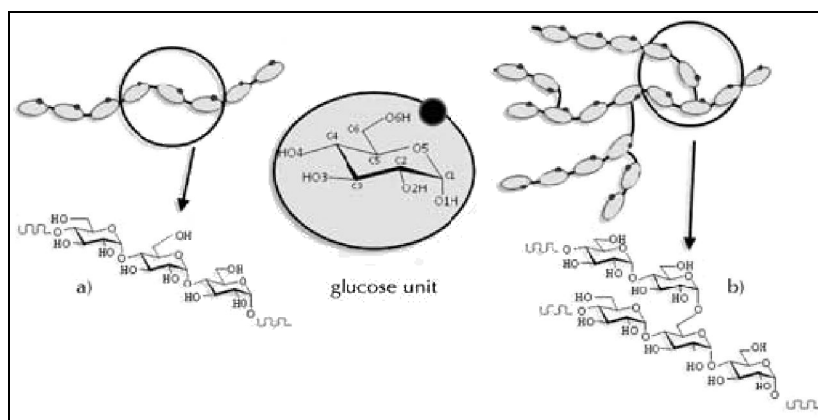


Figura 2 - Unidades estruturais de amilose (a) e amilopetina (b).

Fonte: PÉREZ; BERTOFT, 2010.

A amilopetina é uma molécula muito maior do que a amilose (peso molecular de 1×10^7 a $1.10^9 \text{ g.mol}^{-1}$) e constitui uma estrutura intensamente ramificada unida por aproximadamente 95% de ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$ 5% por $\alpha(1 \rightarrow 6)$ (BULÉON et al., 1998; BILIADERIS, 1991). No que diz respeito à composição estrutural, a molécula de amilopetina consiste de uma cadeia principal C (a qual carrega o grupo redutor da molécula) e de numerosas cadeias ramificadas conectadas por ligações $\alpha(1 \rightarrow 6)$, constituídas pelas curtas cadeias A (sem ramificação) e pelas longas cadeias B (ramificadas por uma ou mais cadeias A ou B) (Fig. 3).

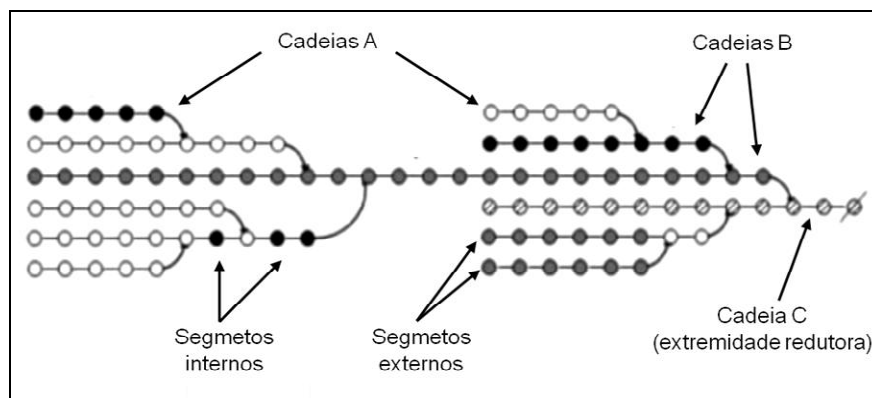


Figura 3 - Cadeias formadoras da molécula de amilopectina. (Círculos representam os resíduos de glicose, linhas horizontais e curvas correspondem às ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$, respectivamente, e o resíduo final à direita constitui a extremidade redutora da molécula).

Fonte: Adaptado de PÉREZ; BERTOFT, 2010.

Os grânulos estão organizados em camadas alternadas amorfas e semicristalinas oriundas da organização radial dos anéis de crescimento a partir do hilo (ponto original da onde o grânulo se desenvolve). Os anéis de baixa densidade amorfos consistem de amilose e amilopectina numa conformação desordenada, enquanto os anéis semicristalinos densos são formados por uma estrutura lamelar com alternância de regiões cristalinas (formadas principalmente por duplas hélices de cadeias laterais de amilopectina dispostas radialmente) e amorfas (amilose e pontos de ramificação da amilopectina) (BULÉON et al., 1998; TESTER; KARKALAS; QI, 2004; PÉREZ; BERTOFT, 2010). A Fig. 4 mostra um esquema proposto para a organização estrutural dos grânulos de amidos.

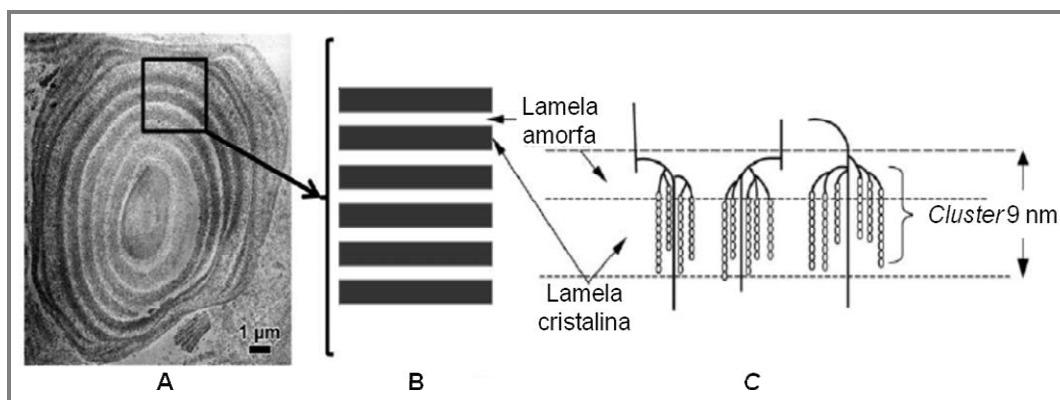


Figura 4 - Representação esquemática da estrutura lamelar de um grânulo de amido. [Onde A: pilhas de lamelas microcristalinas separadas por anéis de crescimento amorfo; B: vista ampliada das regiões amorfas e cristalinas; C: estruturas helicoidais duplas formadas por cadeias adjacentes de amilopectina, dando origem às lamelas cristalinas (os pontos de ramificação constituem as regiões amorfas)].

Fonte: Adaptado de TESTER; KARKALAS; QI, 2004.

As regiões cristalinas das lamelas são formadas principalmente por duplas hélices de cadeias laterais de amilopectina empacotada em formas polimórficas diferentes (Fig. 5), as quais podem ser distinguidas em difractogramas de raios-X. Em amidos de cereais, as cadeias exteriores relativamente curtas de moléculas de amilopectina favorecem a formação de polimorfos cristalinos do tipo-A, enquanto as cadeias mais longas exteriores predominantes em amidos de tubérculos favorecem a formação de polimorfos do tipo-B (HIZUKURI et al., 1985; ZOBEL, 1988; GIDLEY; BULPIN, 1987). As duplas hélices para ambas as formas polimórficas são essencialmente idênticas no que diz respeito à estrutura helicoidal (GIDLEY; BULPIN, 1987). No entanto, a embalagem destas duplas hélices dentro da estrutura polimórfica do tipo-A é relativamente compacta, e cristaliza-se em uma célula unitária ortogonal com empacotamento hexagonal levemente distorcido e oito moléculas de água por célula unitária, enquanto que o polimorfo do tipo-B tem uma estrutura mais aberta hexagonal, com um núcleo helicoidal hidratado por 36 moléculas de água. Além dos tipos polimórficos A e B, é reconhecido o tipo-C, encontrado em amidos de diversas leguminosas, e que consiste em uma mistura dos outros dois tipos em proporções variáveis (ZOBEL, 1988).

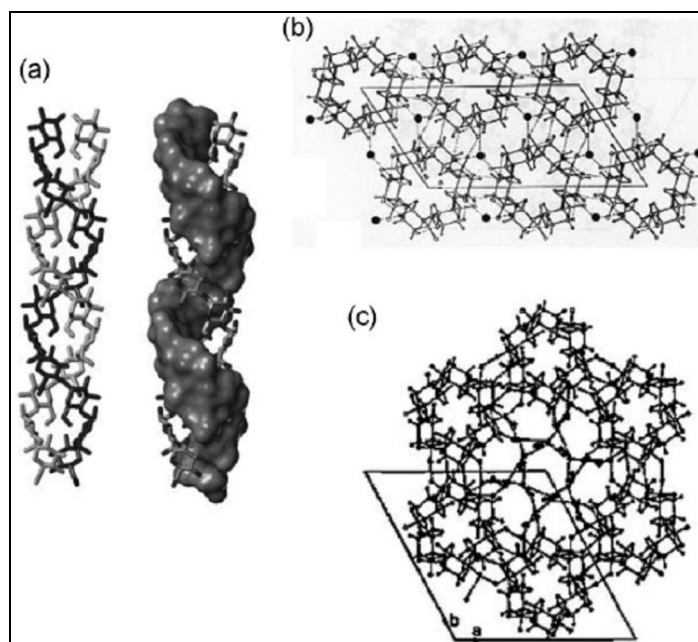


Figura 5 - Estruturas dos polimorfos cristalinos do tipo-A e tipo-B. [Onde (a): visão 3D das estruturas; (b): empacotamento cristalino em do tipo-A, contendo quatro moléculas de água (círculos fechados) para cada célula unitária; (c): polimorfo do tipo-B, contendo trinta e seis moléculas de água]

Fonte: PÉREZ; BERTOFT, 2010.

2.2.2 Propriedades funcionais

A funcionalidade do amido é, em grande parte, governada pelas características e organização granular, e determinam a especificidade de aplicação. Conforme destaca González; Perez (2002), o amido é amplamente utilizado na indústria de alimentos como um espessante, estabilizante e agente de gelificação. Quando intactos, os grânulos não são solúveis em água fria devido às ligações de hidrogênio entre as moléculas do amido, mas podem reter determinadas quantidades de água e incharem, sendo esse processo reversível pela secagem (CEREDA, 2002).

Quando uma suspensão de amido nativo é submetida ao aquecimento constante em temperaturas acima de 60°C, as moléculas de água presentes formam pontes de hidrogênio com os grupos hidroxila de suas macromoléculas, promovendo a gelatinização dos grânulos (TESTER; MORRISON, 1990). Conforme os autores, em seu sentido mais restrito, a

gelatinização constitui o desordenamento térmico das estruturas cristalinas nos grânulos de amido com consequente perda de birrefringência, mas num sentido mais amplo engloba eventos relacionados, tais como o inchamento granular e a lixiviação de polissacarídeos solúveis, principalmente de amilose, conduzindo a formação de uma pasta viscosa.

A temperatura na qual os grânulos começam a ganhar viscosidade é chamada de “temperatura de pasta”, a qual não deve ser confundida com a temperatura de gelatinização. Esta última é referente à temperatura ou faixa de temperatura em que ocorre a perda de birrefringência granular e, onde acima da mesma, o processo de expansão é irreversível (TESTER; MORRISON, 1990). A gelatinização do amido, por constituir um processo de absorção de energia, pode ser monitorada e caracterizada a partir de endotermas obtidas por calorimetria diferencial de varredura (DSC), pelo desaparecimento da cruz de Malta em microscópio ótico e/ou pela perda da cristalinidade a partir de difração de raios-X (CEREDA, 2002). Tester; Morrison (1990) e Cereda (2002) salientam que a gelatinização dos grânulos, e consequente formação de pasta, dependem de vários fatores, tais como o tipo de amido, concentração da dispersão, a temperatura utilizada, e intensidade de cisalhamento durante o aquecimento.

Após determinado período de aquecimento em temperatura elevada (95°C) e agitação constante, os grânulos começam a romper, ocorrendo o alinhamento das moléculas e causando uma diminuição na viscosidade. Ao ocorrer o resfriamento da pasta, alguns polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar, formando um gel. Este processo é denominado como retrogradação e esta transformação pode ser acompanhada pelo fenômeno caracterizado como sinerese, o qual consiste na expulsão de água das moléculas de amido formadoras do gel (BILLIADERES, 1991; CEREDA, 2002). De acordo com Sandhu et al. (2007), dentre os principais fatores que influenciam a retrogradação em géis de amido estão a concentração e comprimento de cadeia das moléculas de amilose presentes e o estado de dispersão das cadeias lineares. O comportamento de pastas de suspensões de amido durante o aquecimento e resfriamento pode ser medida a partir de curvas geradas em equipamentos específicos como o viscoamilógrafo Brabender e o RVA (*Rapid Visco Analyser*). Na Fig. 6 está

apresentado os eventos decorridos em suspensões de amido durante o aquecimento, resfriamento e armazenamento das mesmas.

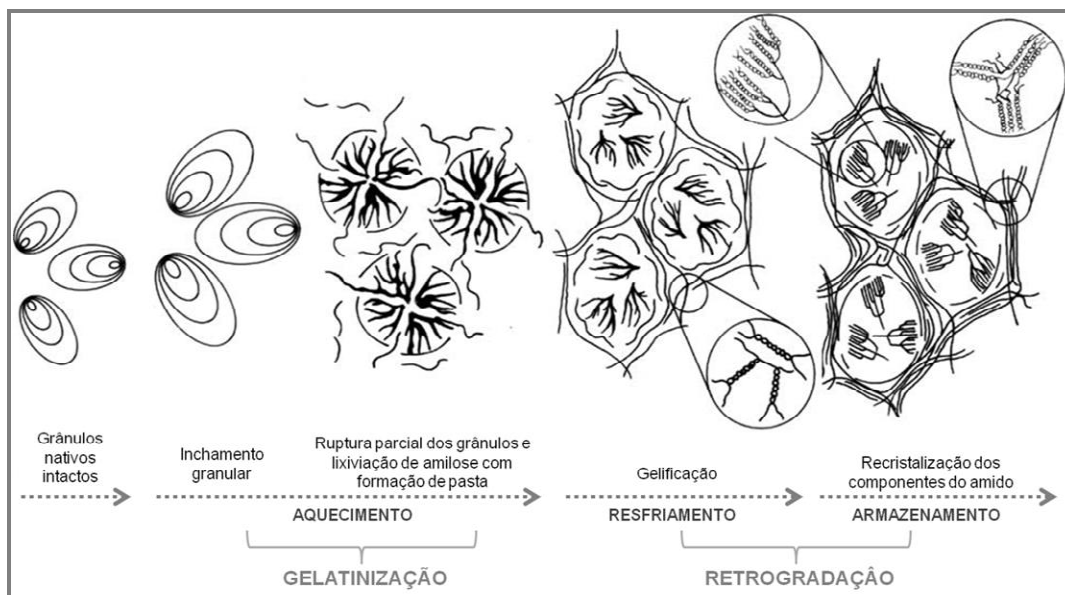


Figura 6 - Representação esquemática das alterações ocorridas em uma suspensão de amido em excesso de água durante o aquecimento, resfriamento e armazenamento.

Fonte: Adaptado de GOESAERT et al., 2005.

2.2.3 Modificação de amidos

A utilização de amidos na forma nativa apresenta limitações em determinados tipos de processamento. Condições de cisalhamento, temperatura, pH e refrigeração comumente aplicados durante o processamento costumam ser aspectos limitantes na utilização de amidos nativos. Dessa forma, a modificação deste polímero é uma alternativa para atingir uma determinada funcionalidade ou mesmo para ampliar as possibilidades de aplicação. Amidos modificados são ingredientes comuns em alimentos e em outros produtos industriais.

De forma genérica, a modificação de amidos pode ser obtida a partir de tratamentos químicos, físicos, enzimáticos e genéticos (SINGH; KAUR; MCCARTHY, 2007) e, mais recentemente, o uso combinado de uma ou mais modificações também tem se mostrado como uma alternativa promissora

(GUNARATNE; CORKE, 2007; DEETAE et al., 2008; LIN et al., 2011; KAUR et al., 2012).

2.2.3.1 Acetilação sob catálise de iodo

A acetilação é uma das modificações químicas mais conhecidas e utilizadas em nível industrial e, baseia-se na esterificação dos polímeros de amido com grupos acetila ($-\text{COCH}_3$) para formar acetatos de amido (MARK; MELTRETTER, 1972; SINGH; KAUR; MCCARTHY, 2007). Comumente o anidrido acético é utilizado como agente acilante e a reação ativada na presença de um catalisador alcalino. A substituição dos grupos hidroxila por grupos acetila ocorre através de uma reação de substituição nucleofílica, onde as hidroxilas dos C1, C3 ou C6 (Fig. 7) (grupo nucleófilo), atacam o grupo eletrófilo (C insaturado de uma das carbonilas do anidrido acético) a partir do mecanismo de adição-eliminação.

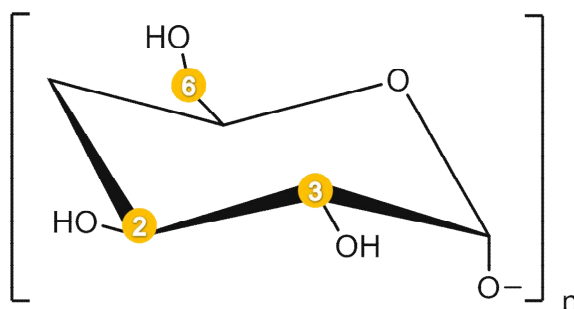


Figura 7 - Possíveis locais para a substituição, carbonos 2, 3 e 6 (destaque em amarelo) na unidade de anidroglicose.

Conforme destaca Xu; Miladinov; Hanna (2004), as três hidroxilas livres, apresentam reatividades diferentes, e atualmente é aceito que a hidroxila do C6 é a que maior probabilidade tem de participar no processo reacional de substituição, visto ser mais disponível estericamente. Posteriormente acredita-se que o C2 venha na ordem de reatividade por estar próximo ao grupo hemiacetal, e por esta razão é mais ácido do que o C3. O grau de substituição (GS) indica o número médio da substituição ocorrida por unidade de anidroglicose no amido. Como a unidade de anidroglicose apresenta três hidroxilas disponíveis, as quais podem ser substituídas por grupos acetila, o grau de

substituição (GS) máximo é de três unidades de grupos acetila por unidade de anidroglicose. Os acetatos de amido, de acordo com o GS, são classificados como de baixo GS ($< 0,1$), médio GS ($0,1-1,0$) e de alto GS ($> 1,0$) (MARK e MELTRETTER, 1972).

Conforme o grau de substituição, a molécula de amido adquire certa hidrofobicidade e maior estabilidade frente à retrogradação. Outras características, como redução na temperatura de gelatinização, aumento na claridade de pasta e na capacidade de absorção de água durante a gelatinização, também têm sido reportadas (RAINA et al., 2007; BELLO-PÉREZ et al., 2010). No entanto, os tempos reacionais requeridos no processo são extensos e a eficiência da modificação é baixa devido à hidrólise do reagente acilante pela água e álcali presentes (SÁNCHEZ-RIVERA et al., 2010).

Recentemente, alguns estudos têm demonstrado que o iodo é um excelente agente acilante de polissacarídeos (BISWAS et al., 2005; RAMÍREZ-ARREOLA et al., 2009; DIOP et al., 2011). Diferentemente dos métodos em que a reação necessita de um pH alcalino para favorecer o deslocamento da reação no sentido da substituição, nesse caso, o iodo atua como um catalisador ácido de Lewis, ativando o grupo carbonila do reagente acilante, tornando-o mais reativo durante o processo de síntese (Fig. 8) (BISWAS et al., 2005). A reação se processa em curto período de tempo (10 min) à temperatura de 100°C , sendo o iodo facilmente reduzido estequiometricamente com tiosulfato de sódio à iodeto (BISWAS et al., 2005). Além disso, Diop et al. (2011) verificaram que a quantidade de iodo utilizada é um dos fatores que mais afetam o grau de introdução dos grupos acetil à molécula de amido, sendo até mesmo, mais influente do que as proporções de anidrido acético e amido utilizadas.

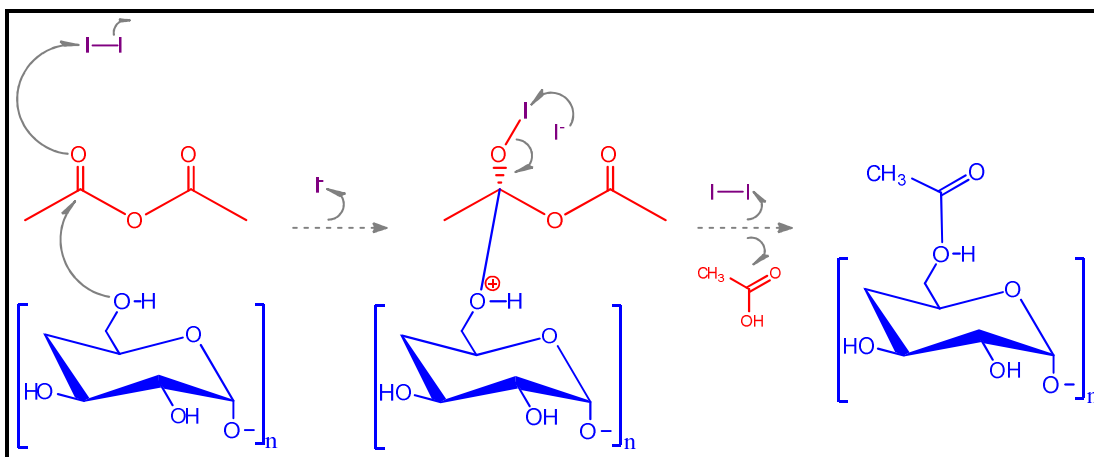


Figura 8 - Representação esquemática da ativação do anidrido acético pelo iodo como catalisador da reação de acetilação em amidos.

Fonte: Adaptado de BISWAS et al. (2005) e DIOP et al (2011).

Apenas os estudos realizados por Sánchez-Rivera et al. (2010) com amido de milho e de banana, e por Diop et al. (2011), com amido de milho, fornecem alguma informação sobre as propriedades físico-químicas obtidas por acetilação catalisada por iodo. Dessa forma, a influência da catálise de iodo em aspectos estruturais como padrão de substituição, além de aspectos funcionais e nutricionais, nessas e em outras fontes de amido, ainda não foram elucidados.

2.2.3.2 Tratamento térmico em baixa umidade

Dentre as modificações físicas, o tratamento térmico em baixa umidade (TTBU), tem se mostrado uma alternativa altamente promissora para a geração de aditivos alimentares ou ingredientes com propriedades específicas (HOOVER et al, 2010; ZAVAREZE; DIAS, 2011). Conforme Jacobs; Delcour (1998), o TTBU consiste na exposição dos grânulos de amido a temperaturas superiores a de gelatinização por determinado período de tempo e em condições de umidade reduzida, alterando as propriedades físico-químicas do amido sem alterar a sua estrutura molecular. As temperaturas de processo podem variar entre 84-130°C, por períodos de 15min à 16h e teor de umidade não superior à 35% (GUNARATNE; HOOVER, 2002; HORMDOK; NOOMHORM, 2007; HOOVER, 2010; VARATHARAJAN et al., 2011).

Conforme explica Gunaratne e Hoover (2002), o TTBU promove a interação das cadeias de amido, através do rompimento da estrutura cristalina e pela dissociação das estruturas de duplas hélices na região amorfa com posterior rearranjo dos cristais rompidos durante o tratamento. A extensão das alterações provocadas pelo TTBU é influenciada pela composição do amido, organização das cadeias de amilose e amilopectina no interior dos grânulos e pelas condições (temperatura, umidade e tempo) prevalecentes durante o tratamento (HOOVER, 2010; ZAVAREZE; DIAS, 2011).

Inúmeros estudos relatam os efeitos do TTBU sobre a estrutura e as propriedades físico-químicas de amidos de diferentes fontes botânicas (HOOVER; MANOEL, 1996; HOOVER, 2010; ZAVAREZE et al., 2010; VARATHARAJAN et al., 2011). Os principais efeitos observados após o TTBU são alterações no padrão polimórfico, no grau de cristalinidade relativa, no inchamento e na lixiviação de amilose granular, nos perfis térmicos e de viscosidade e na suscetibilidade enzimática dos grânulos (GUNARATNE; CORKE, 2002).

Amidos com padrão polimórfico de tipo-A e tipo-C permanecem inalterados, sendo apenas relatado redução nas intensidades dos picos de difração de raios-X, enquanto que em amidos com padrão polimórfico do tipo-B tem sido descrito a transição para o padrão do tipo-A ou para uma mistura de ambos os padrões. Essa mudança no padrão polimórfico tem sido atribuído à desidratação das 36 moléculas de água presentes no canal central da célula unitária do polimorfo B, bem como pelo movimento de um par de duplas hélices para o centro que originalmente era ocupado pela água (GUNARATNE; HOOVER, 2002; HOOVER, 2010; VARATHARAJAN et al., 2011). Reduções nos parâmetros de viscosidade, poder de inchamento e lixiviação de amilose, assim como aumentos das temperaturas de gelatinização e ampliação das endotermas de fusão têm sido relatadas (PERERA et al., 1997; LIM; CHANG; CHUNG, 2001; HORMDOK; NOOMHORM, 2007; CHUNG; LIU; HOOVER, 2009; VARATHARAJAN et al., 2010; JIRANUNTHAKUL et al., 2011). Em decorrência da maior estabilidade térmica e resistência ao cisalhamento, Hoover (2010) sugere que esses amidos poderiam ser uma alternativa no processamento de alimentos enlatados e congelados, na elaboração de molhos, massas alimentícias e em produtos de confeitaria.

2.2.3.3 Amidos modificados por processos combinados

A combinação de métodos de modificação, sobretudo a associação de métodos químicos previamente a métodos físicos e vice-versa, pode ser um meio de alterar a localização dos grupos substituintes, proporcionando um novo padrão de substituição ao amido, ou mesmo, aumentar a eficiência da reação, requerendo uma menor concentração de reagentes para alcançar o grau de modificação desejado. Nesse aspecto, a modificação prévia por TTBU aumentou a acessibilidade de grupos hidroxipropila nos domínios amorfos e cristalinos em grânulos de amido de batata (PERERA et al., 1997) e em milho ceroso (GUNARATNE; CORKE, 2007). Conforme Gunaratne; Corke (2007), a desestabilização e reorientação das duplas hélices da amilopectina pelo tratamento hidrotérmico, pode ter facilitado a penetração do reagente às regiões cristalinas do grânulo.

Lin; Wang; Chang (2009) observaram aumento nos conteúdos de amido resistente e amido lentamente digerível em amido de milho tratado com ácido-álcool previamente a modificação por *annealing*. Em estudo posterior, Lin et al. (2011) obtiveram o mesmo efeito combinando o tratamento ácido-álcool com tratamento térmico em baixa umidade (TTBU). Segundo os autores, a degradação parcial do amido obtida pelo tratamento químico prévio facilitou a mobilidade molecular durante os tratamentos físicos, possibilitando uma reordenação favorável à formação de amido resistente, e de amido lentamente digerível, do que a obtida pelos tratamentos hidrotérmicos de forma isolada.

A combinação de diferentes métodos pode ser utilizada para a otimização de determinados processos de modificação, tais como redução no uso de reagentes e tempos de preparo. A modificação prévia por TTBU aumentou a acessibilidade de grupos hidroxipropila nos domínios amorfos e cristalinos em grânulos de amido de batata (PERERA et al., 1997) e em milho ceroso (GUNARATNE; CORKE, 2007). Conforme Gunaratne e Corke (2007), a desestabilização e reorientação das duplas hélices da amilopectina pelo tratamento hidrotérmico, pode ter facilitado a penetração do reagente às regiões cristalinas do grânulo. Assim, a combinação de métodos de modificação, sobretudo a associação de métodos químicos previamente a métodos físicos e vice-versa, pode ser um meio de alterar a localização dos grupos substituintes, proporcionando um novo padrão de substituição ao

amido, ou mesmo, aumentar a eficiência da reação, requerendo uma menor concentração de reagentes para alcançar o grau de modificação desejado.

A associação dos métodos de modificação por acetilação e TTBU ainda não foram explorados. Nesse sentido, a combinação do TTBU precedido da acetilação ou vice-versa pode, além de proporcionar amidos com diferentes funcionalidades físico-químicas e nutricionais, fornecer um maior embasamento a respeito das alterações estruturais ocorridas a partir destes métodos de modificação em separado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Foram utilizados grãos de capim-arroz (*E. crus galli* Beauv.) provenientes de lavouras de cultivo de arroz irrigado localizadas no município de Capão do Leão-RS e Jaguarão-RS, safras 2010/2011 e 2011/2012. Os reagentes utilizados foram de grau analítico.

3.2 Métodos

3.2.1 Descasque e caracterização dos grãos de capim-arroz

Os grãos de capim-arroz (*E. crus galli* Beauv.) foram debulhados, secos ao sol e peneirados para remoção de impurezas presentes. O material resultante foi descascado em engenho de provas de arroz (Kepler Weber S. A.) e o material obtido (grãos descascados e cascas) purificado em máquina de ar. O rendimento de descasque foi obtido a partir da massa total de grãos com casca sobre a massa final de grãos sem casca. Coloração e forma foram observadas visualmente e as dimensões (comprimento, largura e espessura) foram determinadas a partir de paquímetro digital com base em 60 grãos descascados.

Os grãos foram caracterizados quanto à composição química conforme métodos oficiais da AOAC (2007) e os resultados expressos em b.s. O teor de amido total foi determinado por método oficial da AOAC (2007), com substituição de MOPS (ácido 4-morfolino propano sulfônico), pH 7,0, por tampão fosfato, pH 6,8, conforme recomendação de Walter, Silva e Perdomo (2005). Os grãos de capim-arroz moídos (200g) foram hidrolisados com α -amilase termoestável em tampão fosfato pH 6,8 (95°C/5min) e posteriormente hidrolisados com amiloglicosidase (50°C/30min), em tampão acetato de sódio 0,2M, pH 4,5. O material resultante foi centrifugado (1000g/10min) e o volume sobrenadante completado para 100 mL. O conteúdo de glicose liberado foi

determinado por kit de glicose-oxidase-peroxidase (Glicose PAP Liquiform, da Labtest) por reação colorimétrica visualizada à 505nm. O conteúdo de amido foi calculado como percentual de glicose livre multiplicado por 0,9 (valor para converter glicose livre em amido) e expresso em b.s. de amido disponível.

3.3.2 Extração do amido de capim-arroz

A extração do amido foi baseado no método descrito por Bello-Pérez et al. (2010), com adaptações. Os grãos lavados foram submersos em tampão acetato de sódio 0,02M (pH 6.5) e agitados por período de 1h. Posteriormente, o líquido foi drenado e os grãos amaciados lavados com água destilada e triturados em liquidificador doméstico por 1min. O material triturado e úmido foi sucessivamente peneirado em peneiras de 200 mesh e 270 mesh. Os resíduos de cada peneiragem foram novamente submetidos à trituração em água (1:2 v/v) e peneirados. O processo foi repetido até que a coloração esbranquiçada do líquido peneirado, indicando a presença de amido no resíduo, não fosse mais observada.

A suspensão foi então centrifugada à 2000g por 10 min. e a camada superior acinzentada (fibras) foi removida com auxílio de espátula. O amido resultante foi ressuspenso em solução aquosa de NaCl (0,2 M):tolueno (7:1) e então agitada vigorosamente overnight. Após o período, o material foi centrifugado 2000g /15min., permitindo a separação do material em diferentes frações, O sobrenadante foi descartado e a camada escura superior cuidadosamente removida. A camada restante (amido) foi lavada em água e novamente centrifugada para remoção de qualquer residual de impureza. Esse processo foi realizado três vezes. O amido obtido foi secado em estufa com circulação de ar à 40°C overnight ($\approx$ 11% de umidade). O rendimento de extração do amido foi obtido a partir da quantidade inicial de amido presente nos grãos de capim-arroz e na massa de grãos utilizada para a extração.

3.4 Caracterização química do amido de capim-arroz

O amido extraído foi caracterizado quanto à composição química conforme métodos oficiais da AOAC (2007) e os resultados expressos em b.s. O teor de amilose foi determinado por método colorimétrico com iodo, conforme

método de McGrane; Cornell e Rix (1998) com modificações sugeridas por Hoover e Ratnayake (2000).

Aproximadamente 20mg de amido desengordurado (b.s) juntamente com de 8mL de DMSO (dimetilsulfóxido) à 90% foi agitado durante 20min e posteriormente condicionado à banho de 85°C/15 min. Após arrefecimento, o conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 25mL e homogeneizado. Uma alíquota de 1mL da solução foi adicionada de 5mL de solução de I₂/KI (0,0025M de I₂ e 0,0065M de KI) e o volume completado para 50mL. A solução resultante foi homogeneizada e mantida em repouso por 15min previamente a leitura da absorbância em 600nm. Para a realização da curva de calibração foi utilizado 20mg de amilose de batata pura submetida ao mesmo processo descrito para o amido, sendo retirados alíquotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0mL para determinação da absorbância.

3.5 Modificações dos amidos

3.5.1 Delineamento experimental

Na tab. 1 está apresentado o delineamento experimental utilizado para as modificações do amido de capim-arroz.

Tabela 1 - Delineamento experimental do projeto

Tratamento	Variáveis Independentes		Variáveis Dependentes
	Modificação	Iodo (mM)**	Avaliações
1	Nativo	-	Grau de substituição;
2	Acetilação	1	Espectro de infravermelho (FT-IV);
3		5	
4		10	
5	TTBU*	-	Padrão polimórfico e cristalinidade relativa;
6	Acetilação + TTBU	1	Poder de inchamento;
7		5	
8		10	
9	TTBU + Acetilação	1	Propriedades de viscosidade;
10		5	
11		10	
			Propriedades térmicas;
			Análise estatística.

*TTBU: tratamento térmico em baixa umidade realizado em amido condicionado em 25%, b.u.**
Quantidade de iodo utilizada como catalisador nas reações de acetilação.

3.5.2 Acetilação sob catálise de iodo

A reação de acetilação foi conduzida sob as condições reacionais propostas por Biswas et al. (2005), com variação nas quantidades de amido e demais reagentes. O amido (80g) foi previamente seco para teor de umidade inferior a 5,0%, b.u., em estufa com circulação de ar a 70°C, e colocado em balão de fundo redondo provido de condensador de refluxo, termômetro e sistema de agitação, juntamente com 140 mL de anidrido acético. A suspensão foi mantida sob agitação constante à temperatura ambiente por período de 5min., e então, acrescida de iodo metálico (previamente dissolvido em 10mL de anidrido acético) nas proporções de 1, 5 e 10mM (0,13, 0,63 e 1,27g). A temperatura foi elevada para 100°C por período de 10 min. e, posteriormente, a reação interrompida pela adição de solução saturada de tiosulfato de sódio (≈50mL). O acetato de amido obtido foi lavado com álcool etílico 70% (≈150 mL) e com álcool metílico concentrado (≈100mL) para remoção do anidrido acético remanescente e, então, seco a 40°C até teor de umidade entre 10-11%, b.u. Os amidos acetilados sob as quantidades de 1, 5 e 10mM de iodo foram nomeados por A1, A5 e A10, respectivamente.

3.5.3 Tratamento térmico em baixa umidade (TTBU)

O tratamento térmico em baixa umidade (TTBU) foi conduzido conforme método proposto por Hormdok; Noomhorm (2007) com pequenas alterações em relação ao teor de umidade das amostras. A umidade do amido foi condicionada para 25%, b.u., e o amido armazenado em recipientes de vidro, hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração (~4°C) durante 24h para equalização da umidade. Após, as amostras foram autoclavadas a 110°C, durante 1h. Decorrido o tempo de tratamento, o amido foi mantido na autoclave aberta, até total resfriamento, para evitar uma possível condensação nas paredes do vidro, e posteriormente seca a 40°C até teor de umidade entre 10-11%, b.u.

3.5.4 Modificações combinadas

Para a realização das modificações combinadas, os amidos foram modificados por acetilação prévia ao TTBU e vice-versa, conforme os métodos já especificados nos itens 3.5.2 e 3.5.3, resultando em seis tratamentos combinados. Os amidos modificados por acetilação com 1, 5 e 10 mM de iodo e posteriormente por TTBU foram denominados, respectivamente, de A1/T, A5/T e A10/T, e os amidos modificados por TTBU seguido de acetilação sob as mesmas quantidades de iodo foram denominados de T/A1, T/A5 e T/A10.

3.6 Grau de substituição (GS) dos amidos

O percentual de grupos acetila (% Ac) (equação 1) para determinação do grau de substituição (GS) (equação 2) foi determinado por titulometria conforme proposto por Würzburg (1986). Aproximadamente 1g de cada amostra foi adicionada em frasco de vidro com tampa e acrescida de 50mL de álcool etílico a 75%. As amostras foram aquecidas em banho-maria a 50°C por 30min. e, após resfriadas, foram adicionadas de 40mL de KOH 0,5N e mantidas sob agitação de 200rpm por 72h. Decorrido o tempo, o excesso de álcali foi titulado com HCl 0,5N, utilizando fenolftaleína como indicador. A solução neutralizada é mantida sob agitação por 2h e o excesso de álcali (o qual pode ter lixiviado da amostra) foi titulado. Os valores da titulação para o amido nativo e o modificado somente por TTBU foram idênticos ($p \leq 0,05$) e a média utilizada como branco da reação.

$$\% Ac = \frac{[(mL \text{ branco} - mL \text{ amostra}) \times M \text{ HCl} \times 0,043 \times 100]}{\text{peso da amostra (g)}} \quad (1)$$

O grau de substituição é definido como o número médio de sítios por unidade de anidroglicose que receberam um grupo substituinte.

$$GS = \frac{(162 \times \% Ac)}{[4300 - (42 \times \% Ac)]} \quad (2)$$

3.7 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IV)

A preparação do amido e os parâmetros de análise foram realizados conforme as recomendações de Diop et al. (2011). Foram preparadas pastilhas a partir da mistura das amostras com KBr em uma proporção de 1:100 (amostra:KBr). Os espectros de infravermelho das amostras de amido de capim-arroz nativo e modificados foram obtidos em espectrofotômetro com transformada de Fourier (IR Prestige-21; Shimadzu) na região de 4000 – 400 cm^{-1} . Foram recolhidas 10 leituras a uma resolução de 4 cm^{-1} .

3.8 Aspectos morfológicos e birrefringência

A morfologia dos grânulos (tamanho, forma e aspecto de superfície) e a presença de birrefringência (presença da cruz de malta) nos grânulos foi observada em microscópio ótico (Olympus, modelo BX 51, acoplado ao analisador de imagens Image ProPlusTM) em campo claro e sob filtro de polarização, respectivamente, com ampliação de 400 vezes. Três lâminas para cada amostra foram preparadas com uma gota de suspensão de 100mg de amido em 5mL de solução 1:1 de glicerina:água. De cada lâmina foram tomadas medidas de 60 grânulos. O tamanho foi determinado a partir da medição do diâmetro maior dos grânulos.

3.9 Padrão polimórfico e percentual de cristalinidade relativa

Difratogramas de raios-X dos amidos foram obtidos com um difratômetro de raios-X (X'pert PRO Multi-Purpose, PanAnalytical) em que a região de varredura da difração variou de 5° a 30°, com uma tensão alvo de 30 kV, uma corrente de 30 mA e velocidade de varredura de 1°.min⁻¹. A cristalinidade relativa (CR) dos grânulos de amido foi calculada como descrito por Rabek (1980), seguindo a equação $RC (\%) = (A_c / (A_c + A_a)) * 100$, onde A_c é a área cristalina e A_a é a área amorfa no difratograma de raio-X.

3.10 Poder de inchamento

O poder de inchamento foi avaliado conforme método descrito por Leach et al. (1959), nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90°C. Aproximadamente 1g de amido foi adicionado de 50mL de água, homogeneizado e aquecido nas temperaturas indicadas por 30min. Após arrefecimento, o material foi

centrifugado (1000g/20 min) e o sobrenadante descartado. O amido intumescido foi pesado e o poder de inchamento obtido pela relação da massa final intumescida pela massa inicial de amido, expressa em g/g.

3.11 Lixiviação de amilose

Uma suspensão de 20mg de amido em 10mL de água foi homogeneizada e aquecida à 85°C durante 30min, sendo após o arrefecimento, centrifugada (2000g/10min) conforme descrito por Varathanjan et al. (2010). Uma alíquota de 1mL foi retirada do sobrenadante e o conteúdo de amilose determinada por reação colorimétrica conforme especificado no item 3.4. O percentual de amilose lixiviada foi calculado a partir da amilose lixiviada (mg) sobre 100g de amido seco.

3.12 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta dos amidos foram avaliadas por RVA - *Rapid Visco Analyser* (modelo RVA-4, *Newport Scientific*, Austrália), através do perfil *Standard Analysis 1* utilizando 2,5 g de amostra corrigida para 14% de umidade. As amostras foram aquecidas para 50°C em 1min, e posteriormente para 95°C em 3,5min, e mantidas a 95°C durante 2,5min. Após foram resfriadas para 50°C em 3,8min, e mantidas à 50°C por 2min. A velocidade de rotação foi mantida à 960rpm durante 10s e então, mantida à 160rpm durante o restante do processo. A partir do viscoamilograma obtido foi avaliada a temperatura de início de formação de pasta, pico de viscosidade, viscosidade inicial, quebra da viscosidade, viscosidade final e a tendência à retrogradação.

3.13 Propriedades térmicas

As propriedades térmicas foram avaliadas em calorímetro diferencial de varredura (DSC, TA-60WS, Shimadzu, Kyoto, Japão). Foram pesadas $\pm 2,5$ mg de amido em placas de alumínio e adicionado água destilada (1:3 p/p) e as placas hermeticamente fechadas e deixadas estabilizar durante uma hora antes do procedimento. As placas contendo as amostras foram aquecidas, juntamente com uma placa vazia como referência, sob atmosfera de nitrogênio de 20 a 120°C com uma rampa de aquecimento de 10°C por minuto. Entalpia de gelatinização (ΔH), temperatura inicial (T_0), pico de temperatura

(Tp), temperatura final (Tc) de gelatinização foram computados automaticamente e foi calculada a diferença de temperaturas (Tc-To).

3.14 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e os efeitos dos tratamentos avaliados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento de descasque e caracterização dos grãos de capim-arroz

Os grãos de capim-arroz antes e após o descasque podem ser visualizados na Fig. 9. O rendimento médio de grãos obtidos após o descasque foi de $43,6 \pm 4,7\%$. As características intrínsecas dos próprios grãos, como o pequeno tamanho, presença glumas e casca fortemente aderida, assim como a indisponibilidade de equipamento específico para o descasque, foram aspectos que podem ter contribuído para que o rendimento não fosse superior.

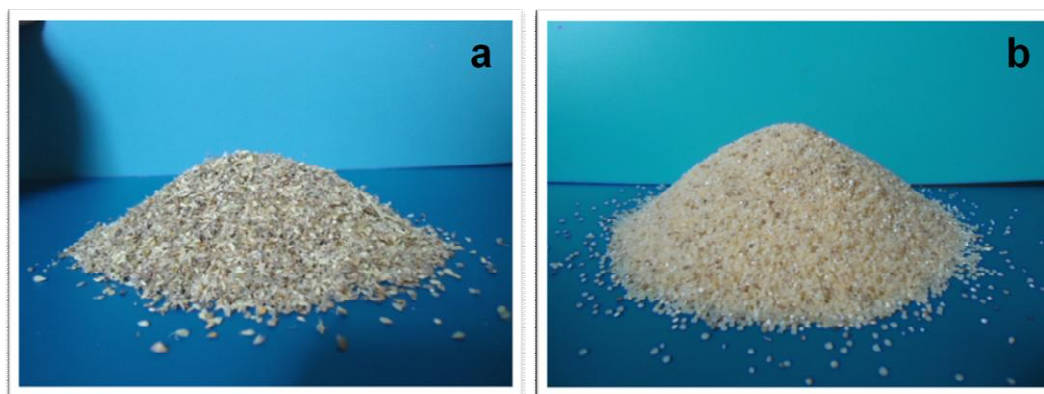


Figura 9 - Grãos de capim-arroz com casca (a) e descascados (b).

Após o descasque, a maioria dos grãos obtidos passaram a apresentar uma coloração creme opaca e em menor quantidade foi obtido grãos com coloração marrom clara, em função da menor ou maior remoção de material na retirada da casca. Os grãos descascados apresentaram forma esférica e comprimento médio de $1,57 \pm 0,06\text{mm}$, largura de $1,37 \pm 0,04\text{mm}$ e espessura de $0,78 \pm 0,08\text{mm}$. As características físicas dos grãos foram compatíveis com as reportadas em grãos domesticados de *Echinochloa crusgalli* no estudo de Ugare (2008), exceto o comprimento dos grãos que foi inferior ao obtido pelo

autor ($1,71 \pm 0,02$ mm). O menor comprimento médio de grãos pode ser consequência do nível de remoção superficial durante a operação de descasque, da variabilidade genética e do grau de maturação dos grãos de capim-arroz.

Na tab. 2 esta apresentada o percentual de lipídios, proteínas, cinzas, fibras, amido e outros carboidratos, em base seca. A composição química do grão de capim-arroz após o descasque foi semelhante aos reportado em outros cereais como arroz integral (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008) e em algumas cultivares de trigo e cevada (FUJITA; FIGUEROA, 2003).

Tabela 2 - Composição química (% em base seca) do grão de capim-arroz

	% em base seca
Proteínas	$13,57 \pm 0,4$
Lipídios	$2,61 \pm 0,2$
Fibras	$12,38 \pm 0,5$
Cinzas	$2,78 \pm 0,0$
Amido	$66,40 \pm 0,3$
Outros carboidratos	$2,21$

4.2 Rendimento de extração e composição química do amido de capim-arroz

O rendimento de extração de amido de capim-arroz com base na massa de grãos descascados (b.s.) e no conteúdo de amido disponível presente nos grãos foi de 43,71% e 65,78%, respectivamente. Rendimento semelhante é reportado para amido de arroz de alto e médio teor de amilose a partir de extração alcalina (ZAVAREZE et al., 2010) e amaranto, sob extração alcalina e utilização de protease (RADOSAVLJEVIC; JANE; JOHNSON, 1998).

O amido extraído apresentou alto grau de pureza (98,52%), visto que o residual de proteínas ($0,19 \pm 0,01$), lipídios ($0,63 \pm 0,03$), fibras ($0,38 \pm 0,10$) e cinzas ($0,28 \pm 0,08$) foi baixo. A utilização de tolueno permitiu agregar os constituintes liberados, formando uma emulsão sobrenadante de proteínas e lipídios, resultando em um amido com alta pureza.

O teor de amilose no amido de capim-arroz foi de $37,61 \pm 0,63\%$. Conforme Cereda (2002) amidos de cereais geralmente apresentam em torno

de 30% de amilose, no entanto, tanto amidos livres de amilose, como com altos teores de amilose (> 50%), também são encontrados na natureza ou podem ser obtidos a partir de modificações genéticas.

4.3 Grau de substituição (GS)

O grau de substituição (GS) dos amidos de capim-arroz modificados por acetilação de forma isolada e em combinação com o TTBU é apresentado na tab. 3. Os diferentes níveis de adição de iodo como catalisador (1, 5 e 10 mM de iodo) interferiu na introdução de grupos acetila aos amidos. Em todas as modificações, o GS aumentou com o aumento da adição de iodo.

Este comportamento deve-se provavelmente ao anidrido acético ser considerado um agente acilante de baixo poder de penetração granular (HUANG et al., 2007). De acordo com Chen; Schols; Voragen (2004) a acetilação utilizando anidrido acético ocorre predominantemente na região amorfa dos grânulos e apenas nas lamelas exteriores de regiões cristalinas. Estes autores verificaram que o GS em frações de amilose em amido de batata e batata doce foi consideravelmente superior ao obtido para frações de amilopectina.

Tabela 3 - Grau de substituição no amido de capim-arroz modificado por acetilação, de forma isolada e combinada ao TTBU, em diferentes níveis de adição de iodo como catalisador

Modificação	Quantidade de iodo		
	1 mM**	5 mM	10 mM
Acetilação	0,047 ± 0,003 ^{aC}	0,098 ± 0,002 ^{aB}	0,125 ± 0,009 ^{aA}
Acetilação + TTBU	0,049 ± 0,003 ^{aC}	0,099 ± 0,002 ^{aB}	0,122 ± 0,013 ^{aA}
TTBU + Acetilação	0,024 ± 0,002 ^{bC}	0,077 ± 0,003 ^{bB}	0,091 ± 0,004 ^{bA}

* Médias aritméticas (± desvio padrão) seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha para cada propriedades, e letras minúsculas diferentes na mesma coluna para a quantidade de catalisador, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ** Quantidade de catalisador iodo, em mM, utilizada na reação de acetilação.

Nos amidos modificados apenas por acetilação, o GS dos amidos modificados sob 1 e 5mM de iodo foi, respectivamente, de 0,047 e 0,098, classificando estes como de baixo GS (< 0,1), enquanto que sob 10mM de iodo foi possível obter um GS de 0,125 e, portanto, de médio GS (0,1-1,0).

Amidos acetilados com baixo GS são comumente empregados na indústria alimentícia como promotores de consistência, textura e estabilidade nos alimentos, enquanto que amidos de GS intermediários ou altamente substituídos encontram aplicação como termoplásticos substitutos dos acetatos de celulose (BISWAS et al., 2008). Além disso, mais recentemente, acetatos de amido (com baixo e alto GS) têm sido sugeridos como materiais biodegradáveis na elaboração de embalagens alimentícias e em diversas aplicações farmacêuticas (BISWAS et al., 2008; CHI et al., 2008).

Sánchez-Rivera et al. (2010) reportaram em amido de banana e milho, sob condições similares de reação e catálise de iodo, valores de GS de 0,025 e 0,077 para amido de banana e milho, respectivamente. No acetato de amido de capim-arroz produzido nesse estudo, sob condições similares de reação foi possível obter um GS de 0,098 sob a mesma quantidade molar de iodo (5mM) por resíduo de anidroglicose, indicando uma maior suscetibilidade do amido de capim-arroz à introdução de grupos acetil em relação aos amidos de banana e milho.

Como demonstrado no item 4.5, os grânulos de amido de capim-arroz são, em sua maioria, pequenos (4-8 μ m), o que pode favorecer a substituição devido a maior área superficial de contato. O efeito do tamanho dos grânulos em reações de acetilação foi relatado para amido de batata e batata doce (CHEN; SCHOLS; VORAGEN, 2004 e CHEN et al., 2005). Os amidos foram fracionados por peneiração em diferentes tamanhos de grânulos após a modificação com anidrido acético. Frações de grânulos de tamanho menores (<20 μ m) mostraram maiores graus de substituição do que as frações de maiores tamanhos (>20 μ m). Segundo os autores, não apenas o tamanho das frações granulares, mas a origem botânica dos amidos (batata e batata doce), também influenciou no GS sob as mesmas condições reacionais.

Singh et al. (2004) ao avaliarem amido de batata acetilado sob condições de catálise alcalina, observaram diferenças na introdução de grupos acetila em diferentes cultivares desse tubérculo. Neste aspecto, Sánchez-Rivera et al. (2010) salientaram que fatores como teor de amilose, distribuição de comprimento de cadeia, organização e morfologia granular, bem como a presença de outros componentes no amido, podem afetar a introdução de grupos acetila aos mesmos. Condições reacionais, tais como tipo e quantidade

de reagente e catalisador, temperatura e tempo de reação, são fatores que também devem ser considerados durante a acetilação de amidos (SINGH et al., 2004).

O TTBU realizado após a acetilação não alterou o GS dos amidos. Já a introdução de grupos acetila após o TTBU foi reduzida significativamente sob todas as quantidades de catalisador utilizadas. A interferência de uma modificação física previamente a uma química, ou vice e versa, tem sido pouco estudada. Vasanthan, Sosulski e Hoover (1995) relataram os efeitos de uma simples autoclavagem (121°C/1min.) na reatividade de amidos de batata, milho normal e ceroso, trigo, ervilha e lentilha submetidos à acetilação e cationização. A autoclavagem prévia gerou um incremento na capacidade de ligação com grupos acetila em amidos tratados com 5% e 10% de anidrido acético, mas não teve efeito sobre a cationização. Além dos efeitos sobre a acetilação, a autoclavagem dos amidos em condições de umidade reduzida ($\approx 10\%$) e curto intervalo de tempo, foi suficiente para causar alterações no padrão de difração de raios-X em amido de batata (transição do tipo-B para o tipo-A), bem como aumento nas intensidades de raios-X em todos os amidos. Deslocamento das temperaturas de gelatinização para temperaturas mais altas bem como decréscimos nos valores de entalpia também foi registrado.

Na literatura também estão descritos os efeitos do TTBU em relação à hidroxipropilação com óxido de propileno, conforme relatado nos estudos de Perera et al. (1997) em amido de batata, e de Gunaratne e Corke (2007), em trigo, batata e milho ceroso. Em ambos os casos, o TTBU prévio proporcionou aumentos no GS dos amidos. Segundo os autores, o TTBU prévio aumentaria a fração amorfa granular, facilitando a derivatização nessa região.

Nesse estudo, as condições prevalecentes durante o TTBU, como a umidade de tratamento elevada (25%), além de outros fatores, como tipo de catalisador e demais condições reacionais, além da fonte amilácea, também podem ter contribuído para a restrição na introdução de grupos acetila às moléculas do amido de capim-arroz.

Além disso, ainda é incerto como o TTBU afeta a integridade dos grânulos. A gelatinização parcial de componentes do amido menos estáveis ao calor durante certas condições de TTBU tem sido relatado (HORMDOK;

NOOMHORM, 2007). Outro fator a ser considerado é que, embora o C6 da unidade de anidroglicose seja comumente favorecido durante o processo de substituição, o rearranjo promovido durante o TTBU pode vir a favorecer substituições também nos C2 e C3 ou dificultar a substituição no C6 em virtude de um rearranjo molecular. Dessa forma, estudos sistemáticos no sentido de buscar compreender os mecanismos desencadeados durante a realização desses processos de forma associada, poderiam auxiliar na elucidação desses processos.

4.4 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IV)

A espectroscopia no infravermelho tem sido uma ferramenta útil no monitoramento de mudanças estruturais em biopolímeros. Na Fig. 11 são apresentadas as características estruturais do amido de capim-arroz nativo e após as modificações. A presença de polissacarídeos é descrita pela ocorrência de bandas de absorção na região denominada de “região de impressão digital” entre $1000\text{-}1220\text{cm}^{-1}$. O espectro do amido de capim-arroz nativo mostra picos intensos em números de onda em torno de 1018cm^{-1} , 1080cm^{-1} e 1157cm^{-1} , atribuídos à vibração da ligação (C-O) das unidades glicosídicas. Também foram registrados picos em 1641cm^{-1} , relativo à água fortemente ligada, em 3450cm^{-1} , resultante da vibração dos grupos hidrofílicos hidroxilas (O-H), e em 2960cm^{-1} , derivados da vibração do estiramento C-H das moléculas de glicose (DIOP et al., 2011). A faixa de absorção entre $950\text{-}750\text{cm}^{-1}$ é característica da “região anomérica” da cadeia e, conforme Šandula et al. (1999), cada pico de absorção nessa região é característico do tipo de conformação da ligação, α ou β presente. Assim, a banda fraca em 848cm^{-1} pode ser atribuída a ligação do tipo α -glicosídica entre as moléculas de glicose do amido.

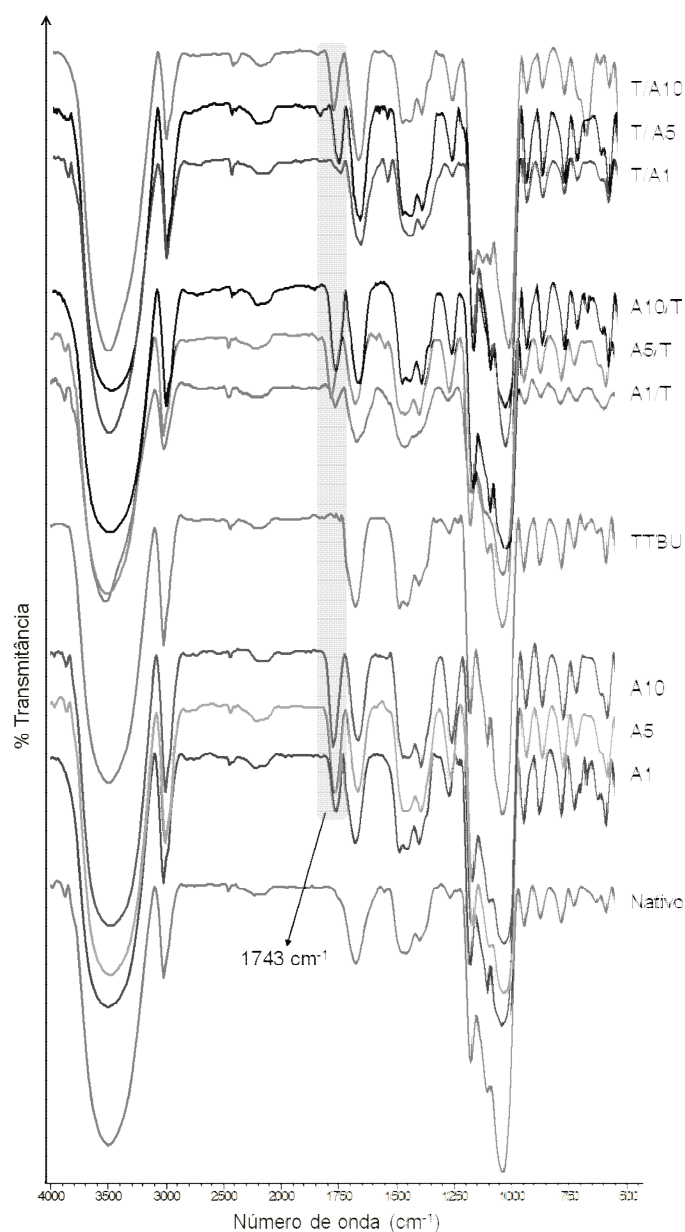


Figura 10 - Espectro de infravermelho com transformada de Fourier dos amidos nativo e modificados. (destaque para o número de onda de 1743 cm^{-1} , indicando a introdução de grupos acetila ao amido).

A confirmação da acetilação, bem como a extensão da incorporação dos grupos acetila à molécula do amido, é observada pelo aparecimento de um pico na região de absorção de 1743 cm^{-1} referente à ligação (C=O) da carbonila no grupo éster dos grupos acetila introduzidos.

4.5 Propriedades morfológicas e birrefringência

Nas Fig. 12 e 13 estão apresentadas, respectivamente, as micrografias de campo claro e sob polarização dos amidos nativo e modificados de capim-arroz.

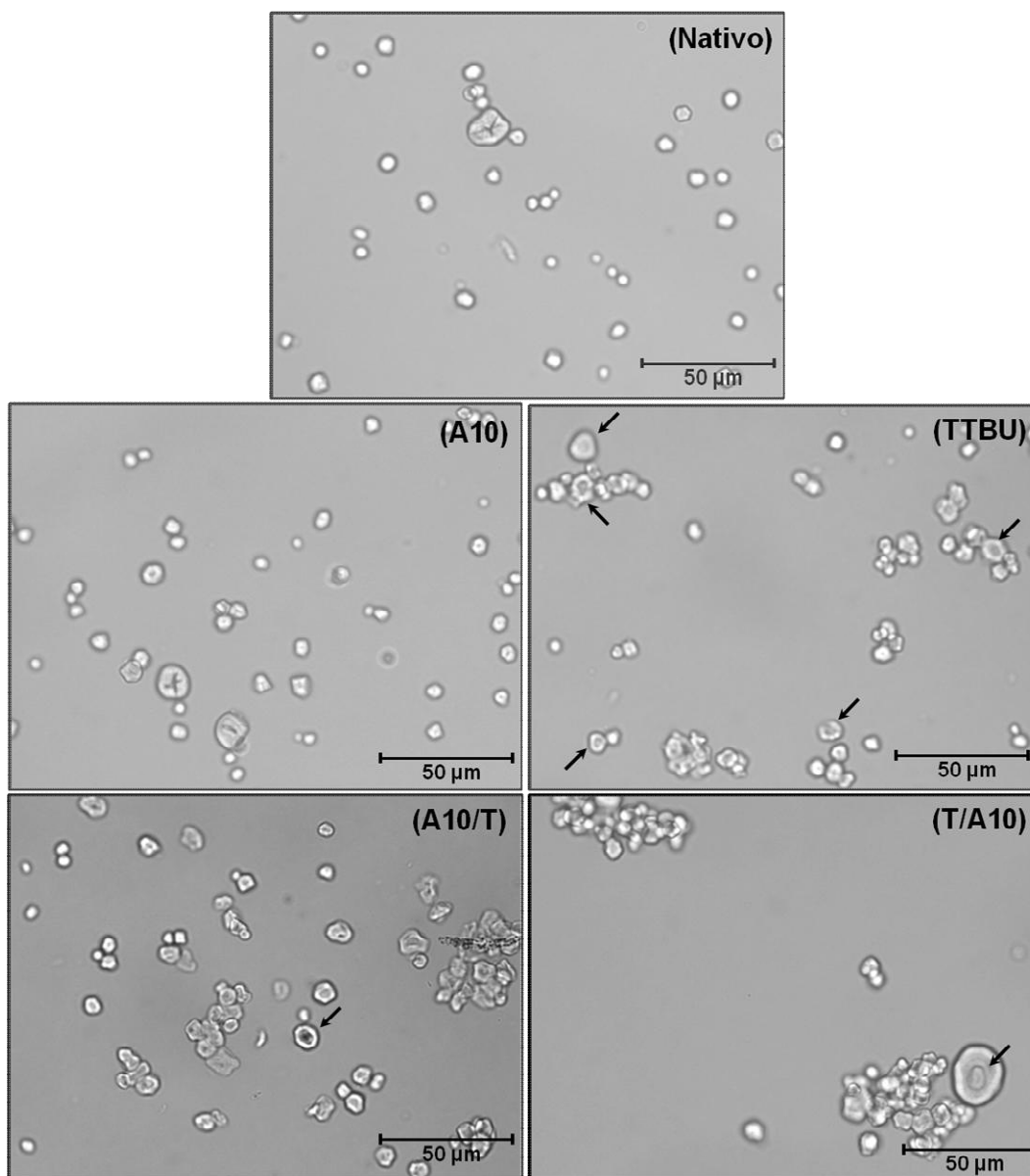


Figura 11 - Micrografias de campo claro de grânulos de amido de capim-arroz nativo e modificados. (A10: acetilação com 10 mM de iodo; TTBU: tratamento térmico em baixa umidade; A10/T: acetilação com 10 mM de iodo seguida de TTBU; T/A10: TTBU seguido de acetilação com 10 mM de iodo).

Os grânulos de amido nativo de capim-arroz apresentaram grânulos esféricos e poligonais. O tamanho foi variável (1-33 μ m), mas caracterizado pela predominância de grânulos pequenos (4-8 μ m). De forma geral, o tamanho dos grânulos de amido varia entre 1-100 μ m, sendo classificados em grânulos grandes (>25 μ m), médios (10-25 μ m) e pequenos (<10 μ m). Forma, tamanho e distribuição dos grânulos são características da origem botânica e, conforme destacam Lindeboom; Chang e Tyler (2004) estão entre os fatores que afetam a funcionalidade de amidos.

Sob luz polarizada, os grânulos de amido nativos exibiram alta birrefringência, conforme pode ser visualizado pelo aparecimento da cruz de Malta no centro dos grânulos, a qual indica a orientação radial das estruturas helicoidais.

A acetilação não causou nenhuma alteração aparente no formato, tamanho ou birrefringência dos grânulos, como mostrado nas micrografias de campo claro e polarizado do amido tratado com maior adição de iodo. No entanto, os grânulos acetilados apresentaram tendência a formar agregados, independente da quantidade de catalisador utilizada. Estes resultados foram semelhantes aos descritos por Gonzalez; Perez (2002), Sodhi; Singh (2005).

Após a modificação por TTBU, de forma isolada ou em combinação com a acetilação, parte dos grânulos passou a apresentar pontos escuros na região central. De forma semelhante, a periferia dos grânulos permaneceu altamente birrefringente, mas no centro de muitos grânulos a mesma foi perdida, evidenciando o efeito do tratamento nessa região granular em particular. Observações semelhantes têm sido reportadas em trabalhos anteriores (KAWABATA et al., 1994; VERMEYLEN; GODERIS; DELCOUR, 2006).

Em estudo recente, Varatharajan et al. (2010) também observaram que, após TTBU, as micrografias de campo claro em amido de batata normal e ceroso (27% de umidade sob 80, 100, 120 e 130°C/16h) passaram a apresentar “espaços vazios” na área dos grânulos próxima à região do hilo. Segundo os autores, tal efeito foi mais pronunciado com a elevação da temperatura no amido ceroso. Segundo os autores, o ocorrido pode ser um indicativo de que esta região, em especial, é fortemente afetada com o tratamento hidrotérmico.

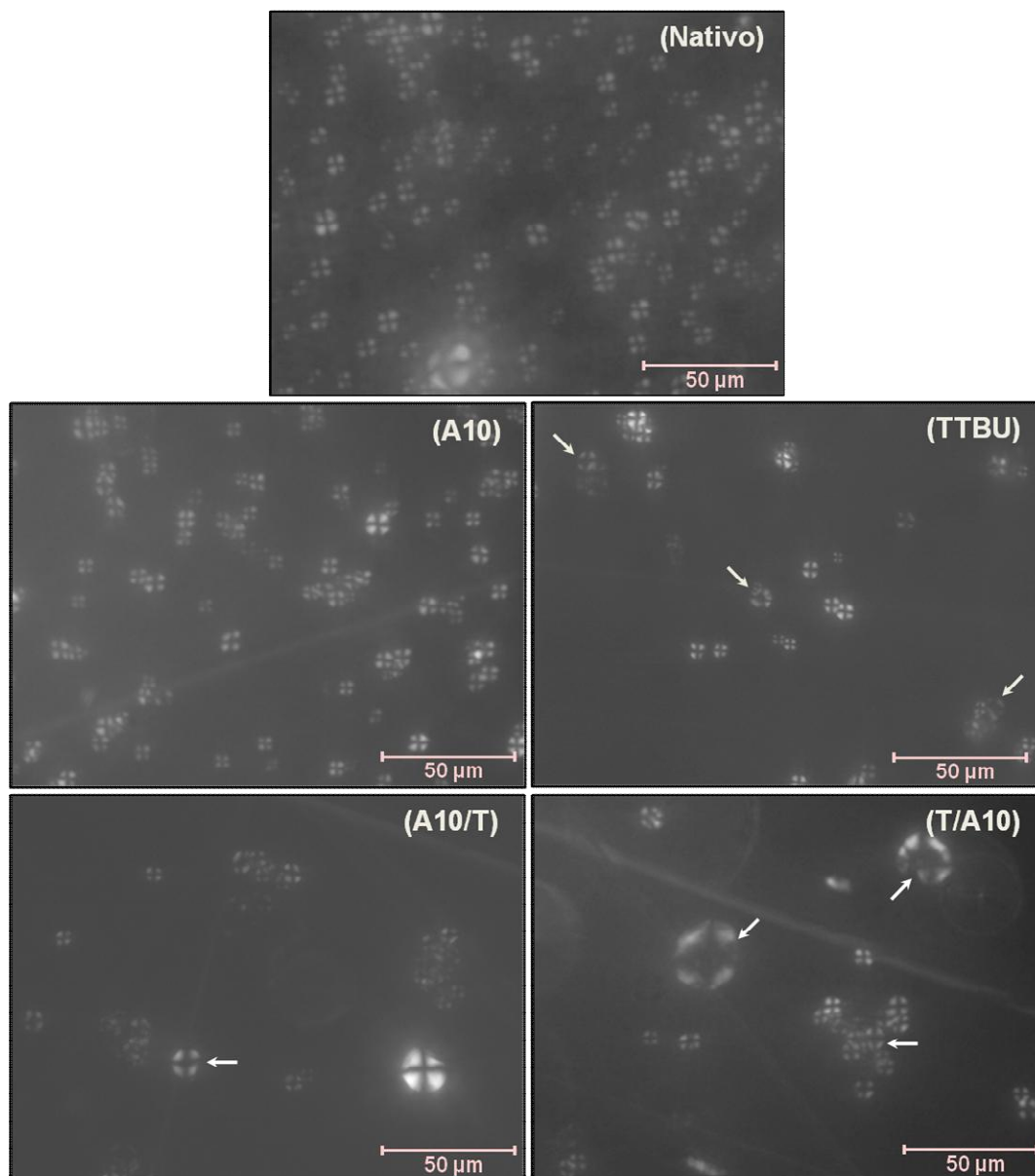


Figura 12 - Micrografias sob luz polarizada de grânulos de amido de capim-arroz nativo e modificados. (A10: acetilação com 10 mM de iodo; TTBU: tratamento térmico em baixa umidade; A10/T: acetilação com 10 mM de iodo seguida de TTBU; T/A10: TTBU seguido de acetilação com 10 mM de iodo).

Além disso, Vermeylen; Goderis; Delcour (2006) reportaram que, sob luz polarizada, assim como o observado nesse estudo, amidos de batata normal submetidos ao TTBU se mantiveram altamente birrefringentes na periferia, mas não no centro dos grânulos, sendo o desaparecimento da birrefringência simultâneo ao desenvolvimento de espaços vazios nos mesmos.

Logo, os autores sugerem que, durante o TTBU, ocorre a transferência do material do centro dos grânulos para outras partes ou, caso permaneça algum material nessa região, o mesmo perde a sua orientação radial.

Do mesmo modo, Buléon et al. (1998) sugeriram que o hilo é rodeado por um núcleo semicristalino com um menor grau de organização em relação às camadas mais cristalinas na periferia. Do mesmo modo, Wang et al. (2007) relataram um decréscimo na entalpia de gelatinização após remoção da superfície de grânulos de amido de arroz. Segundo os autores, a redução na entalpia é um indicativo de que a estrutura no núcleo, próxima ao hilo, possui um nível inferior de organização.

Além dos pontos escuros centrais, outro aspecto observado em todas as micrografias após o TTBU foi a intensa formação de aglomerados granulares, sobretudo quando o TTBU foi realizado previamente à acetilação. Alguns estudos tem relatado a fusão parcial de grânulos acetilados sob diferentes condições reacionais em amido de milho e de batata (SINGH et al., 2004), amido de arroz (GONZALEZ; PEREZ, 2002; SODHI; SINGH, 2005). A aglomeração granular intensa também pode ser um indicativo de que durante os processos de modificação tenha ocorrido gelatinização superficial de alguns grânulos, provocando a fusão dos mesmos.

4.6 Padrão polimórfico e percentual de cristalinidade relativa

Na Fig. 14 é possível observar os difractogramas dos amidos de capim-arroz nativo e modificados. O amido de capim-arroz nativo apresentou padrão de cristalinidade do tipo-A, típico ao observado em amidos de cereais como arroz (KHUNAE et al., 2007; ZAVAREZE et al., 2010) e milho (CHI et al., 2008; CHUNG, HOOVER, LIU, 2009), com picos de reflexão fortes nos ângulos 2θ de 15° e 23° , um duplete não resolvido em 17° e $17,8^\circ$ e um pico de menor intensidade em 19° . A cristalinidade relativa para o amido de capim-arroz nativo foi de 44,84% (tab. 4), o que pode ser considerado como elevado, visto que conforme Zobel (1988), grânulos de amidos nativos exibem cristalinidade relativa entre 15-45%. De acordo com Vermeulen, Goderis e Delcour (2006), as ligações de hidrogênio intra e intermoleculares são as responsáveis pela estrutura ordenada cristalina em amidos nativos, o que, segundo Buléon (1998), está intimamente relacionada com a distribuição de comprimento de

cadeias envolvidas na fase cristalina e do padrão de ramificação das moléculas de amilopectina.

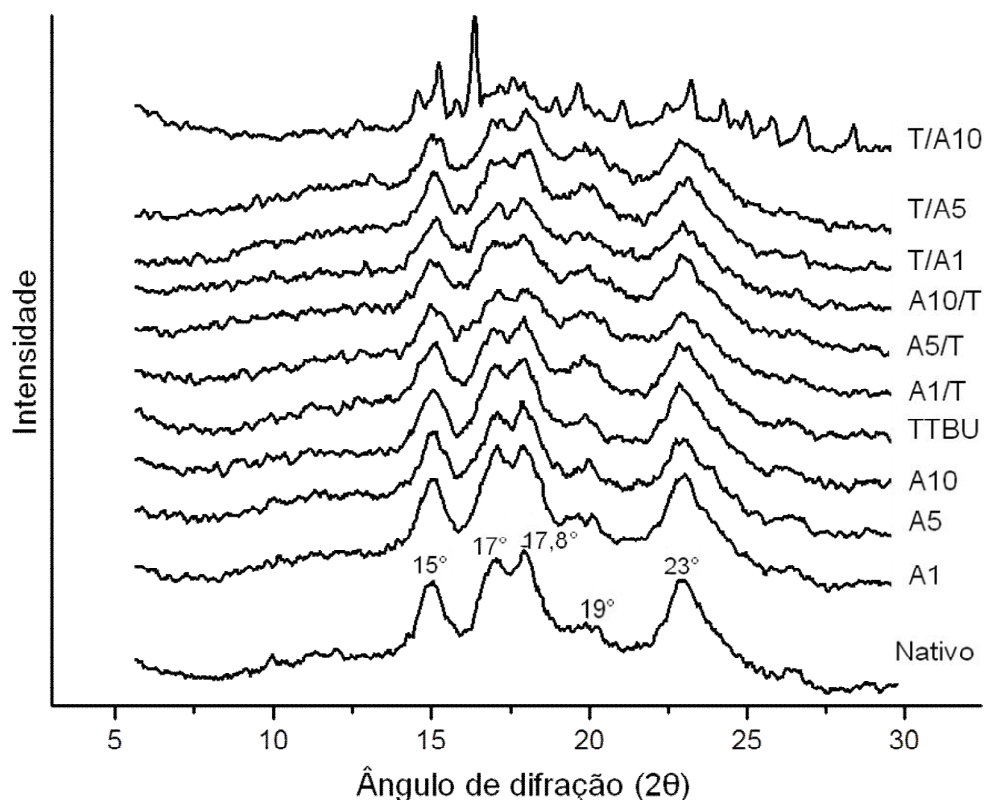


Figura 13 - Difractogramas de raios-X dos amidos de capim-arroz nativo e modificados.

De forma geral, após as modificações não foi possível observar mudança no padrão de difração de raios-X dos amidos, mas ocorreu redução da cristalinidade relativa global em comparação ao amido nativo (tab. 4). Dentre os amidos modificados, os acetilados foram os que apresentaram menor redução na cristalinidade relativa, estando de acordo com os dados da literatura, onde pouca ou nenhuma alteração é relatada em amidos acetilados de baixo GS (CHEN et al. 2004; HUANG et al., 2007; SÁNCHEZ-RIVERA et al., 2010). Conforme destaca Lawal (2004), quando grupos hidroxila são substituídos parcialmente por grupos acetila, os grupos hidroxila restantes ainda se ajustam de modo a formar ligações de hidrogênio. Portanto, os picos cristalinos característicos permanecem, mas as intensidades tornaram-se fracas.

Tabela 4 - Intensidade dos principais picos dos difractogramas de raios-X e cristalinidade relativa dos amidos de capim-arroz nativo e modificados

	Intensidade (CPS*)					CR** (%)
	15°	17°	17,8°	19°	23°	
Nativo	988	1133	1142	785	997	44,84
A1	989	1128	1180	831	1040	42,85
A5	973	1104	1087	813	939	42,36
A10	912	1049	1103	824	987	41,88
TTBU	891	981	1017	859	910	37,18
A1/T	903	963	979	882	868	32,93
A5/T	921	1014	1058	906	929	33,87
A10/T	883	969	1007	833	870	33,33
T/A1	934	1018	1052	880	899	34,04
T/A5	950	1029	1068	927	890	34,06
T/A10	752	623	615	639	639	39,27

A: acetilação (onde 1, 5 e 10 representam as quantidades de 1 mM, 5 mM e 10 mM de iodo utilizadas como catalisador, respectivamente); T: Tratamento térmico em baixa umidade. *CPS: contagens por segundo; ** CR: cristalinidade relativa.

Conforme Huang et al. (2007), a baixa alteração na cristalinidade em amidos acetilados com baixo GS sugere que os grupos acetila estão concentrados principalmente na região amorfa dos grânulos. Muitas são as evidências de que a amilopectina é o principal contribuinte da ordem cristalina em grânulos de amido (PÉREZ; BERTOFT, 2010), a concentração de grupos acetila na região amorfa seria a razão para a não ocorrência de mudanças substanciais na estrutura cristalina granular em amidos com baixo nível de substituição de grupos acetila.

Os decréscimos nos valores de cristalinidade relativa após o TTBU foram mais expressivos do que o observado para os amidos acetilados, sobretudo nos tratamentos combinados. Zavareze et al. (2010) também observaram decréscimos na cristalinidade relativa após o TTBU em amidos de

arroz com diferentes teores de amilose. Conforme explicam os autores, o decréscimo na cristalinidade foi acentuado com o aumento da umidade do tratamento (15-25%), sendo o efeito mais pronunciado no amido de arroz de baixo teor de amilose, o qual apresentou uma redução de 8,8% da sua cristalinidade inicial quando modificado com 25% de umidade.

Reduções na cristalinidade também foram reportadas em amido de milho (CHUNG; HOOVER; LIU, 2009), batata cerosa e normal (VARATHARAJAN et al., 2010), taro, mandioca e verdadeiro inhame (GUNARATNE; HOOVER, 2002). Diminuição na cristalinidade pode ser um resultado da ruptura de cristais de amilopectina advindos do excesso de calor ou de umidade aplicados durante o TTBU (LIM et al., 2001; CHUNG; HOOVER; LIU, 2009). Vermeylen, Goderis e Delcour (2006) sustentam que uma redução na cristalinidade acompanhada de queda na entalpia de gelatinização, reforçam a ideia da ocorrência de colapso nas duplas hélices das cadeias durante o TTBU, uma vez que a entalpia reflete a cristalinidade dos amidos em termos gerais.

Em contrapartida, outros autores relatam um aumento na cristalinidade em amidos de diferentes fontes modificados por TTBU em variada faixa de temperaturas e umidades de tratamento (HOOVER; VASANTHAN, 1994; HOOVER; MANOEL, 1996; VERMEYLEN; GODERIS; DELCOUR, 2006; ADEBOWALE et al., 2009).

As alterações da cristalinidade provavelmente não estejam relacionadas com a entalpia de gelatinização, visto que são reportados tanto decréscimos quanto manutenção dos valores de entalpia após o tratamento nos estudos acima citados. Neste contexto, um ganho na cristalinidade relativa após o TTBU, tem sido atribuído a um possível deslocamento das duplas hélices dentro dos cristais no sentido de formar uma estrutura cristalina mais ordenada (ZAVAREZE; DIAS, 2011).

Observa-se também que as intensidades dos feixes difratados foram reduzidas após as modificações, exceto no pico a 19° , o qual apresentou um acréscimo após as modificações, sobretudo nos amidos em que se realizou o TTBU. Um aumento relativo na intensidade do pico a 19° tem sido atribuída à formação de complexos do tipo-V, oriundos da complexação de cadeias de amilose com compostos orgânicos, água ou iodo (BULÉON et al., 1998).

Em amidos acetilados a formação desse tipo de estrutura é presumivelmente uma consequência da associação de amilose com os grupos acetila, visto que a acetilação ocorre predominantemente na região amorfa e, portanto, na fração de amilose. Conforme ressaltam Aburto et al. (1999), a formação de uma estrutura do tipo V-anidra é geralmente favorecida quando um grupo volumoso é enxertado em cadeias de amido. No caso de amidos modificados por TTBU, o aumento na intensidade próximo à 19° tem sido relacionado com a formação de complexos entre a amilose e a fração lipídica remanescente (KHUNAE et al., 2007).

No difractograma do amido T/A10, as intensidades dos picos característicos do padrão tipo-A foram reduzidas concomitantemente com o aparecimento de novos pequenos picos no espectro de difração. Mudanças no padrão de raios-X após acetilação, geralmente são descritos em amidos com GS superior a 0,5 (XU et al., 2004; CHI et al., 2008; DIOP et al., 2011). Chi et al. (2008) relatam o aparecimento de um novo pico em 9° (2θ) e ampliação do pico em 20° (2θ), indicando a transição da estrutura cristalina ordenada para uma estrutura amorfa. No entanto, em T/A10 o GS é inferior a 0,1 (tab 2, item 4.3) apresentando uma elevada cristalinidade (a maior dentre os amidos modificados) não permite inferir que houve transição da estrutura para uma fase menos organizada.

Vermeylen, Goderis e Delcour (2006) ao modificarem amido de batata por TTBU ($90-130^\circ\text{C}$, 23% b.u., 24h) observaram redução na cristalinidade relativa nos modificados até 120°C , enquanto que no amido modificado em temperatura superior a 130°C , foi obtido um material altamente cristalino. Os autores verificaram que o amido modificado à 130°C apresentou elevado número de cadeias de amilopectina curtas (grau de polimerização ≤ 6), indicando possível degradação térmica do material. Dessa forma, os autores atribuíram o aumento na cristalinidade no amido de batata à formação de novos cristais, maiores e/ou mais organizados, em decorrência da maior mobilidade advinda do rompimento de ligações covalentes entre as duplas hélices durante o aquecimento, possibilitando novo rearranjo cristalino.

A formação de um difractograma atípico para o tratamento T/A10 pode ser atribuído a maior mobilidade de cadeia, gerada tanto pelo TTBU quanto

pela introdução de grupos acetila, proporcionando o redirecionamento de cristais já existentes e/ou formado novos cristais.

4.7 Poder de inchamento

O poder de inchamento dos amidos nativo e modificados medidos na faixa de temperatura de 60 à 90°C (intervalos de 10°C) podem ser visualizados nas Fig. 15, 16 e 17. A acetilação (Fig. 15) ocasionou aumentos no inchamento granular em todos os amidos modificados, sendo tanto maior com o aumento da temperatura de aquecimentos das suspensões. No entanto, o aumento observado após a acetilação foi inversamente proporcional à inserção de grupos acetila, sendo mais expressivo no amido de menor GS (0,040) e menos expressivo no de maior GS (0,125).

Conforme Singh; Kaur; Singh (2004) a introdução de grupos acetila às moléculas de amido promovem uma redução na interação entre as cadeias e ocasiona desorganização parcial na estrutura intragranular em decorrência de efeitos estéricos e perturbações das ligações de hidrogênio após a substituição, facilitando a penetração de água para o interior dos grânulos.

Mesmo em baixa temperatura (60°C) de aquecimento, as suspensões de amidos acetilados apresentaram poder de inchamento em torno de 2-4 vezes maior ao obtido para o amido nativo sob as mesmas condições. Um inchamento maior dos grânulos a baixa temperatura pode ser atribuído à introdução de grupos acetila às moléculas, as quais segundo Liu et al. (1997), proporcionam o enfraquecimento das forças associativas nas regiões amorfas dos grânulos, facilitando a entrada e absorção de água.

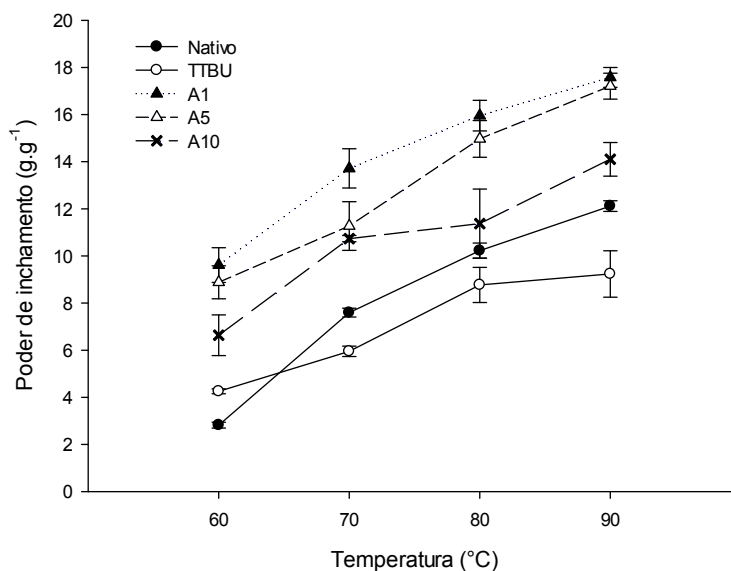


Figura 14 - Poder de inchamento do amido nativo e modificados por TTBU e por acetilação.

Após o TTBU, o amido apresentou um poder de inchamento superior na temperatura de 60°C, mas o mesmo foi inferior aos dos demais tratamentos nas temperaturas mais elevadas. Na Fig. 16, os amidos acetilados continuaram apresentando elevado poder de inchamento, mesmo após o TTBU, no entanto, interações adicionais entre as cadeias podem ter dificultado um inchamento granular mais expressivo como observado nos amidos acetilados.

Nos amidos modificados por TTBU previamente a acetilação (Fig. 17), foi observado comportamento semelhante ao amido modificado apenas por TTBU, ocorrendo um rápido inchamento à 60°C, mas inferior inchamento em temperaturas mais altas. Também é possível verificar que os maiores incrementos no poder de inchamento dos grânulos modificados por TTBU foram obtidos na temperatura de 90°C, quando grande parte dos grânulos já está intumescida ou gelatinizada.

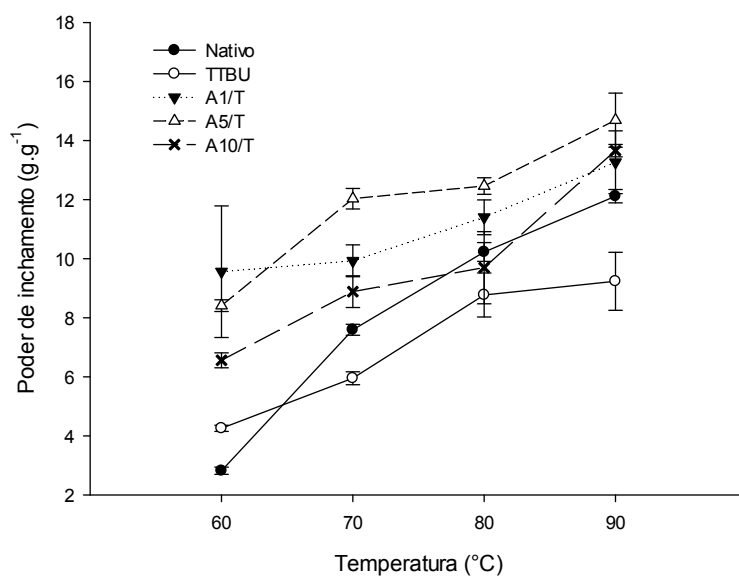


Figura 15 - Poder de inchamento dos amidos nativo e modificados por acetilação, TTBU e acetilação seguida de TTBU.

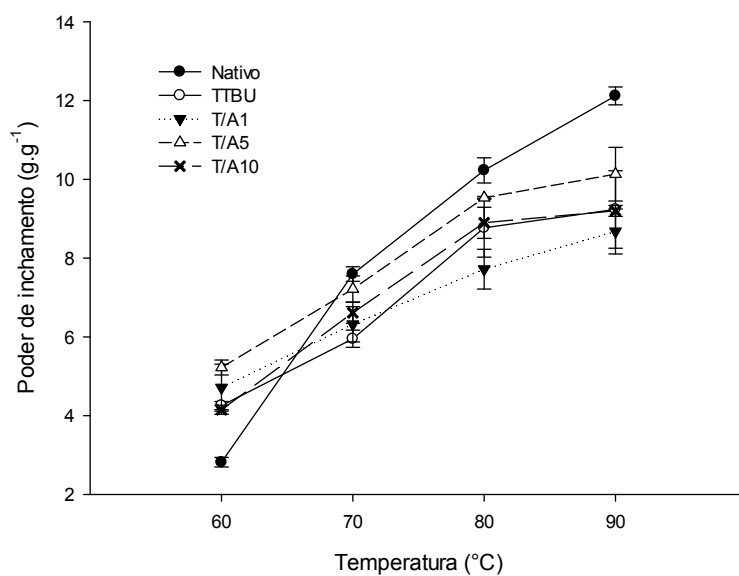


Figura 16 - Poder de inchamento dos amidos nativo e modificados por TTBU e TTBU seguido de acetilação.

4.8 Lixiviação de amilose

A lixiviação da amilose aumentou após a acetilação, sendo tanto mais intensa quando maiores quantidades de iodo utilizadas como catalisador (tab.4) e maiores GS foram obtidos. A maior lixiviação de amilose observada nos amidos acetilados é um indicativo de que a introdução de grupos acetila favorece a interrupção das ligações de hidrogênio entre as cadeias de amilose. Conforme Gunaratne e Corke (2007), a introdução de grupos volumosos pode promover descontinuidade nas ligações de hidrogênio das cadeias adjacentes de amido e, conseqüentemente, facilitar a mobilidade das cadeias de amilose para fora dos grânulos.

Tabela 5 - Lixiviação de amilose (%) dos amidos de capim-arroz nativo e modificados

	Nível de adição de I ₂			Nativo	TTBU
	1mM	5mM	10mM		
A**	13,89±0,1 ^{aB}	17,88±0,4 ^{aA}	18,68±0,3 ^{aA}	9,96±0,5 ^C	5,73±0,6 ^D
A/T	10,38±0,2 ^{bC}	14,60±0,7 ^{bA}	12,60±0,4 ^{bB}	9,96±0,5 ^C	5,73±0,6 ^D
T/A	6,26±0,9 ^{cB}	11,34±0,7 ^{cA}	7,18±0,5 ^{cB}	9,96±0,5 ^A	5,73±0,6 ^B

* Médias aritméticas (± desvio padrão) seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha para cada propriedades, e letras minúsculas diferentes na mesma coluna para a quantidade de catalisador, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ** A: acetilação; A+T: acetilação seguido de TTBU; T+A: TTBU seguido de acetilação.

A combinação de acetilação prévia ao TTBU reduziu a lixiviação de amilose quando comparada aos amidos acetilados sob mesmo nível de catalisador, sendo as lixiviações observadas para os tratamentos A5/T e A10/T superiores a do amido nativo. Os amidos modificados apenas por TTBU ou pela associação de TTBU prévio a acetilação, apresentaram lixiviação de amilose inferior ao amido nativo, exceto para o tratamento combinado com 5mM de iodo, o qual manteve-se inalterado em relação ao amido nativo. O amido tratado somente com o TTBU foi o que apresentou a menor lixiviação de amilose.

Redução na lixiviação de amilose após o TTBU tem sido descritas na literatura (HOOVER; VASANTHAN, 1996; GUNARATNE; HOOVER, 2002; ZAVAREZE et al., 2010; VARATARANJAN et al., 2011) e sugerem a ocorrência

de interações adicionais entre as cadeias de amilose-amilose e/ou de amilose/amilpectina (PERERA et al., 1997; VARATHARANJAN et al., 2011), a aumentos na formação de complexos entre amilose e lipídios presentes (TESTER; MORRISON, 1990; OZCAN; JACKSON, 2002), bem como a diminuições poder inchamento (HOOVER; VASANTHAN, 1994).

Neste estudo, a redução da lixiviação de amilose não pode ser atribuída a diminuição do poder de inchamento, visto que, nos amidos modificados pela combinação da acetilação com o TTBU, o poder de inchamento se manteve superior ao amido modificado apenas por TTBU.

Perera et al. (1997) estudaram o efeito do TTBU previamente a hidroxipropilação e observaram decréscimos na lixiviação de amilose com o aumento da substituição molar nos amidos. Segundo os autores, a interação dos grupos volumosos hidroxipropila com as cadeias de amilose, provavelmente, impediram a sua difusão da amilose para fora do grânulo após o tratamento hidrotérmico.

4.9 Propriedades Viscoamilográficas

As propriedades de pasta dos amidos nativo e modificados de capim-arroz podem ser observadas na tab. 5. As propriedades viscoamilográficas apresentaram comportamento variável após as modificações. Como enfatizado por Singh, Kaur e McCarthy (2007), o método de modificação, as condições reacionais e a fonte amilácea utilizada, são fatores críticos que governam o comportamento de pastas em amidos.

Tabela 6 - Propriedades viscoamilográficas dos amidos de capim-arroz nativo e modificados

		Nativo	TTBU	Nível adição de catalisador		
				1mM	5mM	10mM
TP**	A***	80,5±1,1 ^{B*}	87,0±0,4 ^A	68,6±0,1 ^{CD}	68,1±0,7 ^{CD}	75,0±0,1 ^{BC}
	A/T	80,5±1,1 ^B	87,0±0,4 ^A	72,4±1,2 ^{BD}	77,2±0,5 ^{BC}	82,0±0,5 ^{AB}
	T/A	80,5±1,1 ^C	87,0±0,4 ^B	92,1±0,1 ^{aA}	90,6±1,2 ^{aA}	93,4±0,9 ^{cA}
PV	A	165,0±1,4 ^B	84,6±1,9 ^D	166,5±2,1 ^{BB}	274,2±1,3 ^{aA}	139,0±3,2 ^{aC}
	A/T	165,0±1,4 ^B	84,6±1,9 ^D	206,3±0,7 ^{aA}	107,8±1,6 ^{BC}	104,2±1,8 ^{BC}
	T/A	165,0±1,4 ^A	84,6±1,9 ^B	72,0±1,0 ^{cC}	27,4±3,6 ^{Cd}	18,7±1,5 ^{cE}
Vi	A	136,1±1,4 ^A	82,5±1,2 ^C	140,0±2,3 ^{BA}	136,7±0,1 ^{aA}	88,9±2,4 ^{AB}
	A/T	136,1±1,4 ^B	82,5±1,2 ^E	180,9±1,1 ^{aA}	92,4±3,6 ^{BC}	89,6±1,5 ^{aD}
	T/A	136,1±1,4 ^A	82,5±1,2 ^B	66,2±1,1 ^{cC}	26,2±2,7 ^{CD}	16,2±1,6 ^{bE}
BD	A	28,8±0,8 ^C	5,4±0,1 ^D	26,5±0,4 ^{aC}	137,3±1,4 ^{aA}	55,1±2,4 ^{AB}
	A/T	28,8±0,8 ^A	5,4±0,1 ^C	25,2±0,1 ^{BA}	9,3±0,0 ^{BB}	11,0±0,1 ^{BB}
	T/A	28,8±0,8 ^A	5,4±0,1 ^B	5,7±0,4 ^{CB}	0,7±2,2 ^{CD}	2,4±1,9 ^{CC}
Vf	A	194,3±3,9 ^C	106,0±1,8 ^E	256,8±3,6 ^{BA}	240,2±2,7 ^{aB}	147,7±2,1 ^{BD}
	A/T	194,3±3,9 ^B	106,0±1,8 ^C	334,9±2,4 ^{aA}	105,6±1,6 ^{BC}	185,7±1,7 ^{AB}
	T/A	194,3±3,9 ^A	106,0±1,8 ^B	105,8±1,4 ^{CB}	72,4±2,4 ^{CC}	27,0±5,9 ^{CD}
SB	A	56,2±1,5 ^D	20,9±0,6 ^E	114,5±0,7 ^{BA}	103,3±2,8 ^{aB}	66,9±2,2 ^{BC}
	A/T	56,2±1,5 ^D	20,9±0,6 ^E	151,2±1,3 ^{aA}	61,4±0,6 ^{BC}	98,0±0,6 ^{AB}
	T/A	56,2±1,5 ^A	20,9±0,6 ^D	39,6±2,3 ^{CC}	42,9±2,2 ^{CB}	10,7±0,8 ^{cE}

* Médias aritméticas ($\pm$ desvio padrão) seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha para cada propriedades, e letras minúsculas diferentes na mesma coluna para a quantidade de catalisador, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.. **TP: temperatura de pasta (°C); PV: pico de viscosidade (RVU); Vi: viscosidade inicial (RVU); BD: quebra (RVU); Vf: viscosidade final (RVU); SB: retrogradação (RVU). *** A: acetilação; A+T: acetilação seguido de TTBU; T+A: TTBU seguido de acetilação.

A acetilação sob diferentes quantidades de iodo ocasionaram intensas modificações no perfil viscoamilográfico dos amidos (Fig. 18). Para os amidos modificados sob as quantidades de 1 e 5mM de iodo (GS), aumentos ou manutenção das propriedades de pasta foram visualizados, bem como decréscimos expressivos na temperatura de pasta (TP) (entre 5-10°C). No entanto, ainda que o tratamento com adição mínima de iodo (1mM) não tenha ocasionado diferença no valor de pico de viscosidade (PV) em relação ao amido nativo, a partir das curvas de RVA, observa-se um comportamento distinto entre ambos. O amido acetilado apresenta dois picos com alturas semelhantes, mas registrados em diferentes tempos no viscoamilograma. O

pico principal (à direita) registrado entre os 5,5min (próximo ao tempo de pico obtido para o amido nativo), e outro pico (à esquerda) em torno dos 3,8min (semelhante ao tempo de pico dos demais amidos acetilados). Esse comportamento é um indicativo de que nessas condições reacionais, a quantidade de catalisador utilizada não permitiu que a acetilação fosse homogênea nos grânulos de amido de capim-arroz. As novas propriedades de pasta conferidas ao amido são evidenciadas pelo pico à esquerda do pico principal, enquanto que o pico à direita confirma a manutenção de parte das características do amido nativo e, dessa forma, a mudança no pico de viscosidade para um valor mais elevado (como obtida para o amido acetilado sob 5mM de iodo) não foi visualizada.

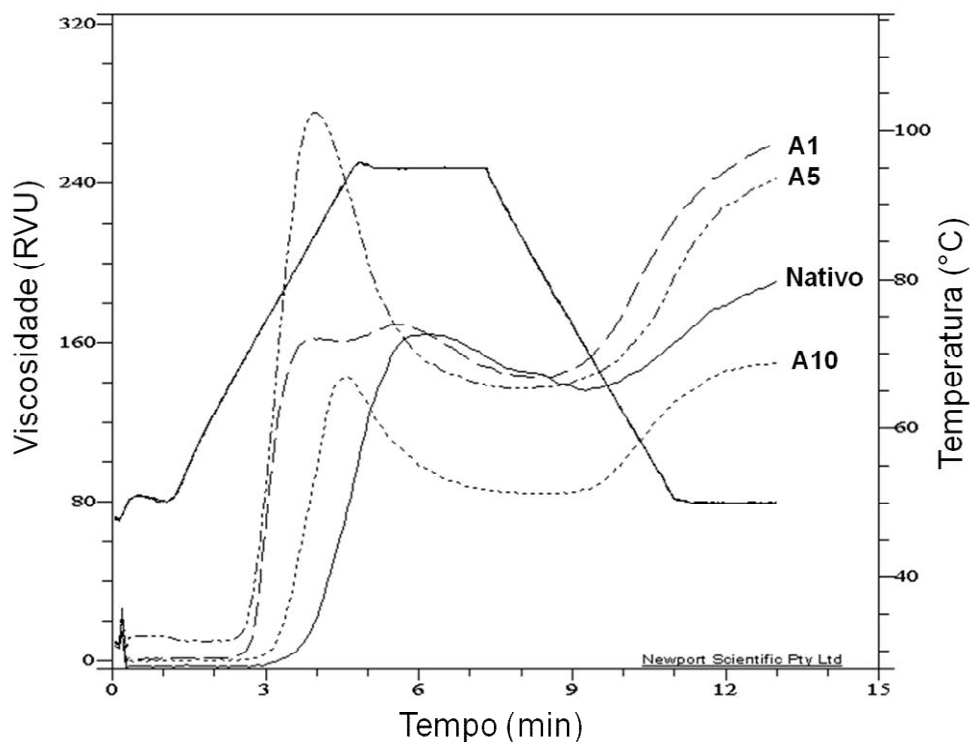


Figura 17 - Viscoamilograma dos amidos de capim-arroz nativo e acetilados.

Em estudos com amido de arroz realizados por Sodhi; Singh (2005) e por Raina et al. (2007), os autores reportaram um aumento na viscosidade de pasta de amido de arroz comercial após a acetilação, independentemente do conteúdo de amilose e cultivar avaliada. A introdução de grupos volumosos às cadeias do amido aumenta a capacidade de retenção de água pelo grânulo

(GONZÁLEZ; PÉREZ, 2002; SÁNCHEZ-RIVERA et al., 2010), proporcionando maior resistência à deformação e, conseqüentemente, uma viscosidade maior pode ser alcançada.

Já o amido acetilado sob maior quantidade de iodo (10mM) e de maior GS (0,125) apresentou redução significativa em TP, PV, Vi e Vf, enquanto a quebra (BD) e a tendência à retrogradação (SB) foram superiores aos do amido nativo, mas inferiores ao observado nos demais amidos acetilados de GS inferior. Redução na viscosidade é também reportado por Sánchez-Rivera et al. (2010) em amidos de banana e milho acetilados sob catálise de iodo (equivalentes aos tratamentos com 5 e 10mM desse estudo). Os autores relacionaram a menor capacidade de inchamento nesses amidos a uma possível desorganização parcial dos grânulos ocorrida pela introdução dos grupos volumosos acetil, os quais em maior proporção conferem hidrofobicidade e podem diminuir a capacidade de absorção e retenção de água no amido. Resultados semelhantes são reportados por Lawal (2004) em amido de taioba com GS de 0,30, por Bello-Pérez et al. (2010) em amido de cevada com GS de 0,9 e 2,7 e por Choi et al. (2009) em amido de milho com GS entre 0,046-0,089.

Em amidos com GS baixo ($\leq 0,1$), é pouco provável que nesse nível de substituição seja suficiente para conferir hidrofobicidade aos grânulos de amido. De fato, Xu et al. (2004) demonstraram que a característica de hidrofobicidade em amidos acetilados aumenta com o aumento do GS para valores acima de 0,5. Ao que parece, a redução no PV observada em A10, pode estar mais relacionada à despolimerização das cadeias de amido em razão da ocorrência de hidrólises secundárias durante o processo reacional. Nesse sentido, Diop et al. (2011) especulam que o iodo possa agir também como um agente oxidante sob a estrutura do amido, intensificando esse processo. Assim, erosão da região amorfa pode resultar em grânulos mais fracos, os quais são mais deformáveis sob agitação e, assim, reduzir a viscosidade das pastas (GUNARATNE; CORKE, 2007).

Observa-se também que, em A1 e A5, a tendência à retrogradação foi substancialmente aumentada em relação ao amido nativo. Conforme destaca Sodhi; Singh (2005), a introdução de grupos acetila deveria prevenir a interação entre as cadeias paralelas de amilose e, portanto, proporcionar

redução na retrogradação. No entanto, Hoover e Sosulski (1985) sugerem que um aumento na lixiviação da amilose (como observado para todos os amidos) e a ação de cisalhamento das pás durante a análise de RVA, podem ter o efeito de “anular” quaisquer efeitos estéricos advindos dos grupos substituintes na redução da retrogradação. Neste estudo, a quebra foi maior após a acetilação com 5mM de iodo, indicando maior fragilidade dos grânulos acetilados.

O PV do amido nativo ocorreu próximo à 6min, enquanto para os amidos acetilados os picos foram registrados entre 5,5-4,0min, sendo a antecipação do PV tanto maior com aumento no GS. A redução da TP e a superior hidratação dos grânulos acetilados conforme observado na determinação do poder de inchamento (item 4.7).

Em relação aos amidos modificados por TTBU e acetilados previamente ao TTBU, é possível observar que apenas o amido de menor GS apresentou pico de viscosidade e viscosidade inicial superior ao observado para o nativo, enquanto nos demais amidos ambos os parâmetros foram consideravelmente reduzidos (Fig. 19). No entanto, as viscosidades de pico foram marcadamente alteradas e, o ombro à esquerda do pico principal, observado no amido correspondente acetilado sob 1mM de iodo, foi desfeito, indicando uma maior homogeneidade no processo de gelatinização após a realização do TTBU nesse amido. Outra observação foi o aumento do tempo de registro de pico de viscosidade promovido nos amidos acetilados após o TTBU, sobretudo nos tratamentos com 5mM e 10mM de iodo, o qual não foi acompanhado pelo aumento na TP após a acetilação.

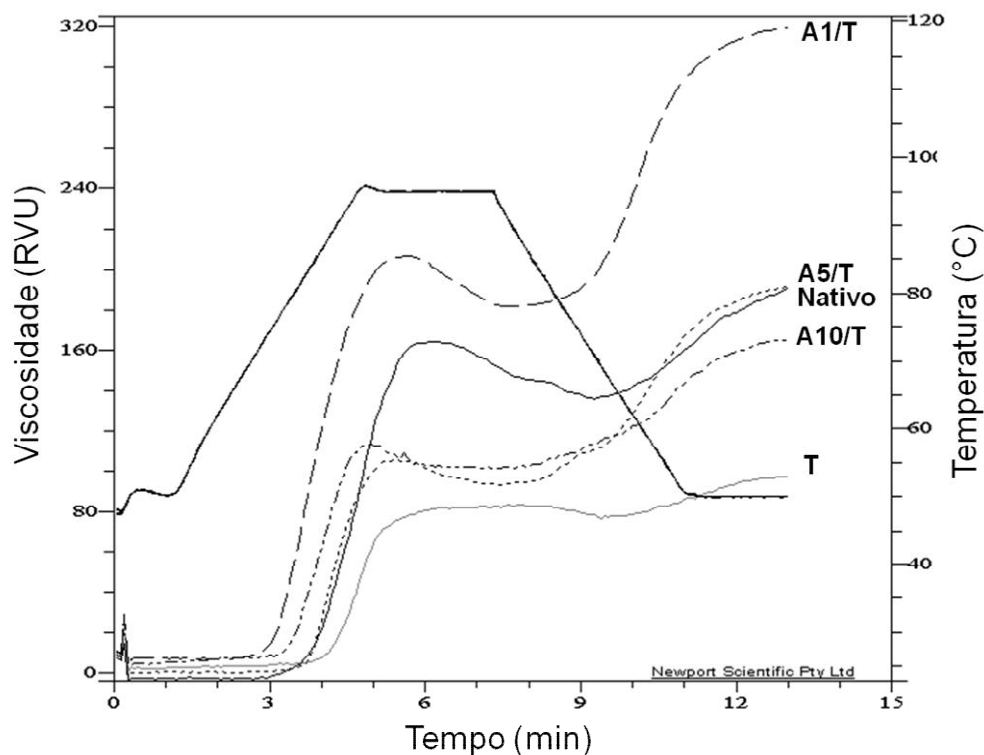


Figura 18 - Viscoamilograma dos amidos de capim-arroz nativo e modificados por TTBU e por acetilação seguida de TTBU.

Os valores para a quebra foram reduzidos ou mantidos, sugerindo grânulos mais resistentes à ruptura por cisalhamento.

Os valores de SB foram maiores em todos os tratamentos, indicando uma maior tendência à retrogradação nesses amidos, ainda que a viscosidade final (a qual indica a tendência dos constituintes presentes na pasta quente em se reassociar) tenha sido maior apenas no tratamento com 5mM de iodo. O aumento na tendência à retrogradação está de acordo com o enfraquecimento das forças associativas na região amorfa dos grânulos em decorrência da maior lixiviação de amilose e inchamento granular em relação aos amidos nativo e modificado apenas por TTBU.

Nos tratamentos em que o TTBU foi realizado previamente à acetilação, em todos os níveis de substituição, os amidos obtiveram reduções não apenas nos valores de PV, Vi, Q, Vf e SB, como também os mesmos foram significativamente inferiores ao obtido para o amido modificado apenas por TTBU (exceto o SB em T/A1 e T/A5) (Fig. 20). Maior estabilidade de pasta após o TTBU é consistente com a maior TP e menor quebra durante o

aquecimento e cisalhamento das pastas. Do mesmo modo, as pequenas quantidades de amilose lixiviada, a qual desempenha um importante papel na formação da rede, resultou na diminuição constante dos valores de SB.

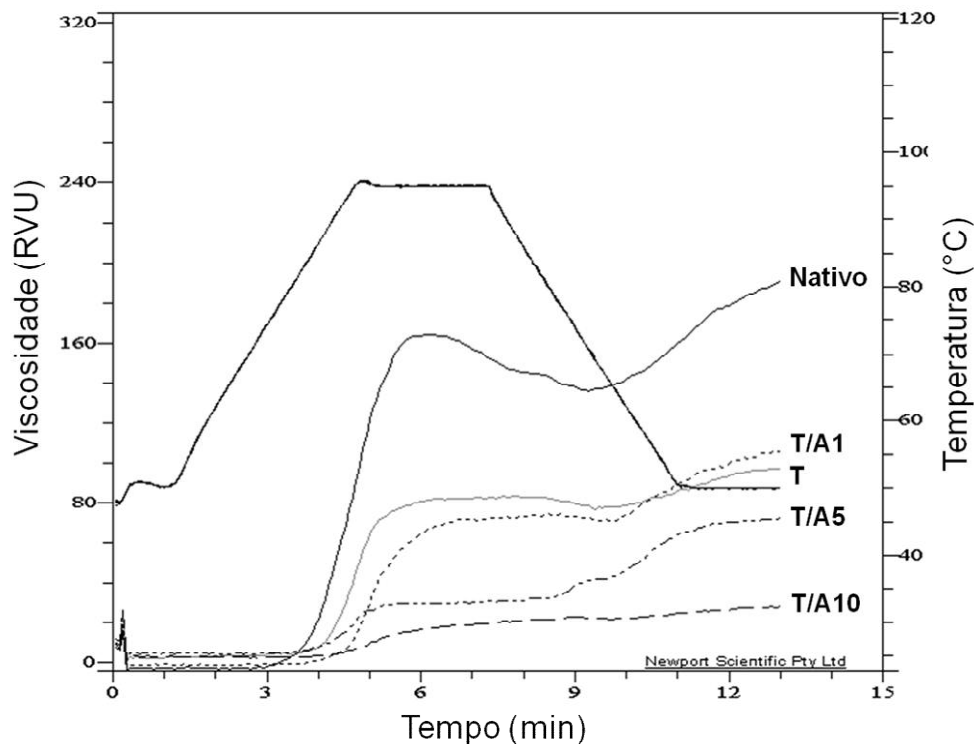


Figura 19 - Viscoamilograma dos amidos de capim-arroz nativo e modificados por TTBU e TTBU seguido de acetilação.

A intensificação do efeito do TTBU sobre as propriedades viscoamilográficas dos amidos foi potencializada com o aumento do GS. Ao contrário do observado quando o TTBU foi realizado posteriormente à acetilação, o efeito dos grupos acetila introduzidos provavelmente fortaleceram a estrutura granular, tal como evidenciado pela menor lixiviação de amilose e poder de inchamento, além de ter dificultado o acesso de água à grupos hidroxila e, conseqüentemente, reduzido o poder de inchamento e viscosidade da pasta.

Além disso, a redução na quebra e na retrogradação após o TTBU pode estar relacionada com a manutenção granular durante aquecimento e cisalhamento da pasta. Watcharatewinkul et al. (2009) estudaram a morfologia de géis de amido de cana nativo e modificados por TTBU (15 a 25% de

umidade, 100°C, 16h). Os géis, corados com solução de iodo, foram examinados em microscópio de luz, revelando que os grânulos dos amidos nativos foram completamente rompidos, ao passo que o grau de desintegração dos grânulos modificados foi substancialmente reduzido após o TTBU. O efeito foi mais pronunciado quando maiores umidades de tratamento (22-25%) foram utilizadas.

4.10 Propriedades térmicas

Os amidos de capim-arroz modificados apresentaram acentuadas diferenças no comportamento térmico, tanto em relação ao amido nativo quanto entre si (tab. 6). Após a acetilação, os valores de T_o , T_p , T_c e ΔH foram reduzidos e a faixa de temperatura de gelatinização (T_c-T_o) ampliada. Diminuição das temperaturas de gelatinização após a acetilação é reportada com estudos anteriores (CHOI et al., 2009; SANCHEZ-RIVERA et al., 2010; SODHI; SINGH, 2005) e representa o enfraquecimento dos grânulos após a introdução de grupos acetila, os quais conduzem à ruptura precoce das duplas hélices de amilopectina durante o aquecimento (LAWAL, 2004).

Sánchez-Rivera et al. (2010), observaram que a redução nas temperaturas de gelatinização e entalpia em amido de milho foi mais acentuada do que em amido de banana, e associaram tal efeito à menor proporção de cadeias ramificadas curtas no amido de banana em relação às longas cadeias encontradas na molécula de amilopectina do amido de milho. Bello-Pérez et al. (2010) observam que a abrangência da redução em ambos os parâmetros (temperaturas de gelatinização e entalpia) são dependentes de outros fatores extrínsecos à reação, tais como o formato e tamanho de grânulo, proporção de amilose e amilopectina, organização dos cristais, dentre outros.

Tabela 7 - Propriedades de térmicas dos amidos de capim arroz modificados

Parâmetro		Nativo	TTBU	Quantidade de iodo (mM)		
				1	5	10
To (°C)*	A**			56,48	59,13	59,55
	A/T	65,13	67,15	63,19	64,59	64,07
	T/A			65,91	62,52	73,78
Tp (°C)	A			65,44	64,85	67,43
	A/T	71,04	83,90	80,98	77,22	81,62
	T/A			81,87	82,37	89,76
Tc (°C)	A			72,93	72,60	74,00
	A/T	76,86	88,38	85,24	81,50	85,45
	T/A			87,22	87,54	93,88
Tc-To (°C)	A			16,45	14,47	14,45
	A/T	11,73	21,23	22,05	16,91	21,38
	T/A			21,08	25,02	20,10
ΔH (J.g ⁻¹)	A			5,46	4,81	6,77
	A/T	8,05	6,27	3,03	3,28	3,84
	T/A			2,61	2,91	3,67

*To = temperatura de início; Tp = temperatura de pico; Tc = temperatura de conclusão. Tc-To = diferença entre temperatura de conclusão e temperatura de início ΔH = entalpia. ** A: acetilação; A+T: acetilação seguido de TTBU; T+A: TTBU seguido de acetilação.

Nos amidos somente acetilados, a redução nas propriedades térmicas foi inversamente proporcional ao GS dos amidos. O amido mais substituído (A10) apresentou os menores decréscimos em todos os parâmetros comparados ao amido nativo. Este comportamento pode estar relacionado com interações adicionais entre cadeias, tal como evidenciado pela menor lixiviação de amilose.

As curvas da análise diferencial de varredura (DSC) estão apresentadas na Fig. 21. Em todos os amidos ocorreu uma ampliação da endoterma (Tc-To) em comparação com o amido nativo. Em A1, essa diferença foi superior ao observado para os amidos de maior GS (A5 e A10). Esse comportamento nas propriedades térmicas de A1, assim como observada nas propriedades viscoamilográficas (onde o amido apresentou dois picos de viscosidade), reforça a ideia de que parte dos grânulos permaneceu inalterada

durante a acetilação com 1mM de iodo, ao passo que outros grânulos foram parcialmente modificados.

Enquanto que para os amidos acetilados, T_p e T_c foram reduzidos, para os amidos modificados por TTBU, de forma isolada ou em conjunto com a acetilação, essas variáveis apresentaram aumentos. Segundo Varatharanjan et al. (2010) e Hoover (2010), aumentos de T_p e T_c após TTBU está relacionado com a formação de novos cristais pela interação entre cadeias de amilose-amilopectina e amilopectina-amilopectina. Nos amidos modificados por acetilação previamente ao TTBU, o acréscimo dessas variáveis não foi tão pronunciado quanto para os demais amidos submetidos ao TTBU.

Conforme Perera et al. (1997), uma diminuição dos parâmetros de gelatinização é devido a ruptura das ligações de hidrogênio entre as cadeias de amido na fase amorfa pelos grupos substituintes. Essa substituição poderia aumentar a mobilidade das cadeias de amido, o que diminuiria a temperatura de transição vítrea (T_g) e indiretamente, a temperatura de fusão dos cristais de amido.

Em todos os tratamentos em que foi aplicado TTBU observa-se um alargamento das endotermas de gelatinização (T_c - T_o), o qual foi acompanhado pelo aparecimento de dois picos de gelatinização. Para T, A10/T e T/A10, ambos os picos são acentuados, enquanto que para A1/T, A5/T, T/A1 e T/A5, o pico à esquerda do pico principal apareceu apenas como um leve ombro.

A transição bifásica tem sido reportada em outros amidos submetidos ao TTBU (HORMDOK; NOORMDOK, 2007; VARATHARANJAN et al., 2010; JIRANUNTAKUL et al., 2011). As propriedades térmicas dos amidos são influenciadas pela organização estrutural dos aglomerados *clusters* de amilopectina. O aparecimento de transição bifásica tem sido atribuído à formação de novos cristais diferentes estabilidades ao aquecimento (HOOVER; MANOEL, 1996; LIM; CHANG; CHUNG, 2001). Tang et al. (2006) propôs que existam dois tipos de blocklets em um mesmo amido, um normal e um defeituoso, os quais são diferentemente suscetíveis ao TTBU, e resultam em duas regiões cristalinas com temperaturas de fusão diferentes.

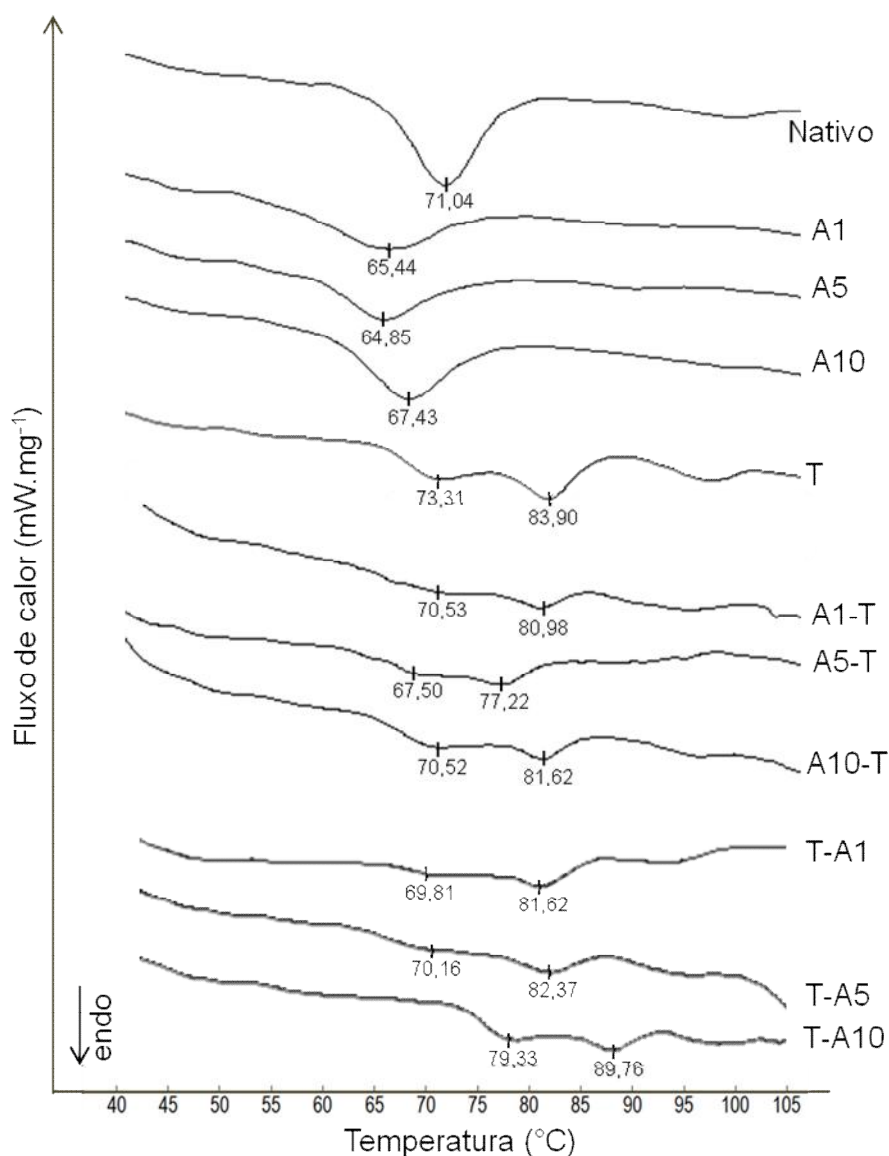


Figura 20 - Curvas de DSC dos amidos de capim-arroz nativo e modificados.

A entalpia de gelatinização apresentou decréscimos nos amidos submetidos ao TTBU, sendo mais expressiva nos amidos modificados de forma combinada. Embora o aparecimento das endotermas bifásicas seja um indicativo da formação de novos cristais, a drástica redução nos valores de entalpia aponta para uma perda parcial de duplas hélices. Nos tratamentos combinados a necessidade energética para a gelatinização dos amidos reduziu em torno de 2-3 vezes comparados ao amido nativo, assim como observado pela redução dos picos das endotermas nas curvas de DSC.

Muito tem sido sugerido em relação aos acontecimentos que decorrem do TTBU e proporcionam as modificações no comportamento térmico de amidos. Gunaratne e Hoover (2002) e Hoover e Vasanthan (1996) afirmam que o TTBU permite que a amilose localizada nas regiões amorfas reaja com segmentos ramificados de amilopectina nas regiões cristalinas, reduzindo a mobilidade das cadeias e conduzindo a um aumento da temperatura de gelatinização. Além disso, interações entre cadeias de amilose e entre amilose e lipídios também tem sido referidos (VERMEYLEN; GODERIS; DELCOUR, 2006; HOOVER, 2010). No entanto, nos estudos de Jiranunthakul et al. (2011) ocorreu aumento da temperatura de gelatinização tanto em amido de batata normal e ceroso após o TTBU. Os autores sugeriram que as mudanças ocorridas no comportamento térmico após o TTBU sejam devido à formação de uma camada superficial, a qual restringe a penetração de água nos grânulos.

Uma transformação da superfície pela exposição dos grânulos ao calor poderia envolver a separação de fases de componentes minoritários, como proteínas e lipídios, formar complexos entre amilose e lipídios, além de promover um rearranjo estrutural das frações de amilose e amilopectina na superfície granular. Além disso, os decréscimos observados nos valores de entalpia e cristalinidade podem refletir a perda da orientação radial de algumas das duplas hélices presentes tanto nas regiões cristalinas quanto amorfas, o que segundo Horndok e Noomhorm (2007), é um indício de que possa ter ocorrido gelatinização parcial de moléculas menos estáveis ao calor.

O comportamento observado nos amidos tratados hidrotérmicamente anterior a acetilação, sobretudo em T/A10 ($T_p = 18,72^\circ\text{C}$) em relação ao amido nativo, pode ser consequência da barreira encontrada pelos grupos acetila na superfície granular, os quais teriam ocasionada uma gelatinização superficial nos grânulos, tornando-o mais resistente à entrada de água, tal como observado pela menor viscosidade, lixiviação de amilose e poder de inchamento.

Outro fator que pode estar relacionado ao aumento da T_p é a possível formação de novos cristais. Cristais mais perfeitos e/ou maiores e/ou mais numerosos são, segundo Van Soest et al. (1996) fatores que podem contribuir para aumentos tanto da temperatura de gelatinização quanto da cristalinidade relativa em polímeros. Neste estudo, a maior T_p e mudança no padrão de

difração de raios-X com o aparecimento de pequenos novos picos (item 4.6) em T/A10, vão ao encontro do sugerido por estes autores. Conforme destacado por Bao e Bergman (2004), não apenas o percentual de cristalinidade, mas também a arquitetura molecular da região cristalina influencia a temperatura de gelatinização.

5 CONCLUSÕES

O capim-arroz apresenta potencial para extração de amido com baixo residual de impurezas.

As diferentes quantidades de iodo como catalisador, assim como a acetilação e o TTBU realizados de forma isolada ou combinada, propiciam acentuadas diferenças nas características do amido de capim-arroz.

Na acetilação de amido de capim-arroz, o grau de substituição de grupos acetila (GS) é afetado pela quantidade de iodo como catalisador, sendo crescente com o aumento na quantidade utilizada. A acetilação realizada após o TTBU propicia redução no GS dos amidos em todos os níveis de adição de iodo enquanto que o TTBU anterior a acetilação não interfere no GS.

O TTBU ocasiona o aparecimento de pontos escuros no centro de alguns grânulos de amido, com redução na cristalinidade relativa.

O poder de inchamento e a lixiviação de amilose aumentam após a acetilação realizada de forma isolada e anteriormente ao TTBU, mas decresce nos amidos modificados por TTBU isolado e previamente à acetilação.

A temperatura de pasta reduz após a acetilação e acetilação seguida de TTBU, mas aumenta após o TTBU e TTBU seguido de acetilação. A acetilação sob 1 e 5 mM de iodo, bem como a acetilação com 1 mM de iodo seguida de TTBU ocasionam acréscimos nas viscosidades, mas após acetilação sob 10 mM e acetilação seguida de TTBU sob 5 e 10 mM de iodo promovem reduções de viscosidade. O TTBU e TTBU seguido de acetilação reduz as viscosidades da pasta, sendo mais intensa com o aumento da quantidade de iodo adicionada.

As modificações por acetilação e TTBU modificam as propriedades térmicas do amido de capim-arroz com redução da entalpia e ampliação da faixa de gelatinização. A acetilação reduz as temperaturas de gelatinização,

enquanto que o TTBU e tratamentos combinados ocasionam acréscimos nas mesmas.

6 REFERÊNCIAS

ABERTO, J., ALRIC, I., THIEBAUD, S., BORREDON, E., BIKIARIS, D., PRINOS, J.; PANAYIOTOU, C. Synthesis, characterization, and biodegradability of fatty-acid esters of amylose and starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v.74, p.1440–1451, 1999.

ADEBOWALE, K. O.; HENLE, T.; SCHWARZENBOLZ, U.; DOERT, T. Modification and properties of African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa* Hochst. Ex A. Rich.) Harms starch I: Heat moisture treatments and annealing. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.1947-1957, 2009.

ALTOP, E. K.; MENNAN, H. Genetic and morphologic diversity of *Echinochloa crus-galli* populations from different origins. **Phytoparasitica**, v.39, p.93-102, 2011.

ANDRES, A.; CONCENÇÃO, G.; MELO, P. T. B. S.; SCHMIDT, M.; RESENDE, R. G. Detecção da resistência de capim-arroz (*Echinochloa* sp.) ao herbicida quinclorac em regiões orizícolas do sul do Brasil. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.221-226, 2007.

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of Analysis. 16 ed., Washington, DC, 2007.

BELLO-PÉREZ, L. A.; AGAMA-ACEVEDO, E.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; MENDEZ-MONTEALVO, G.; RODRIGUEZ-AMBRIZ, S. L. Effect of low and high acetylation degree in the morphological, physicochemical and structural characteristics of barley starch. **LWT – Food Science and Technology**, v.43, p.1434-1440, 2010.

BILLIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents, **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.69, n.1, p.60-78, 1991.

BISWAS, A.; SHOGREN, R. L.; WILLETT, J. L. Solvet-free process to esterify polysaccharides. **Biomacromoles**, v.6, p. 1843-1845, 2005.

BISWAS, A.; SHOGREN, R. L.; SELLING, G.; SALCH, J.; WILLETT, J. L.; BUCHANAN, C. M. Rapid and environmentally friendly preparation of starch esters. **Carbohydrate Polymers**, v.74, p.137-141, 2008.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, (Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-americanas, v. 1), 2002. 221p.

CHEN, Z.; HUANG, J.; SUURS, P.; SCHOLS H. A.; VORAGEN, A. G. J. Granule size affects the acetyl substitution on amylopectin populations in potato and sweet potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.333-337, 2005.

CHEN, Z.; SCHOLS H. A.; VORAGEN, A. G. J. Differently sized granules from acetylated potato and sweet potato starches differ in acetyl substitution pattern of their amylose populations. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p.219-226, 2004.

CHEN, Y.; ZHENG, W.; WANG, L-M.; CUI, H-L.; LI, G-X.; LIU, X-G.; HAN, C-C.; ZENG, R-S. Effect of toxins isolated from *Exserohilum monoceras* (Drechsler) leonard and suggs on *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. **Agricultural Science in China**, v.8, n.8, p.972-978, 2009.

CHI, H.; XU, K.; WU, X.; CHEN, Q.; XUE, D.; SONG, C.; ZHANG, W.; WANG, P. Effect of acetylation on the properties of corn starch. **Food Chemistry**, v.106, p.923-928, 2008.

CHOI, H-S.; KIM, H-S.; PARK, C-S.; KIM, B-Y.; MAIK, M-Y. Ultra high pressure (UHP)-assisted acetylation of corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v.78, p.862-868, 2009.

CHUNG, H-J.; LIU, Q; HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. **Carbohydrate Polymers**, n.75, n.436-447, 2009.

CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Avaliação da safra agrícola 2010/2011. Brasília, 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_05_12_10_34_30_gr_aos_-_boletim_maio-2011..pdf>. Acesso em: 14 jul. 2011.

DEETAE; P.; SHOBSNGOB, S.; VARANYANOND, W.; CHINACHOTI, P.; NAIVIKUL, O.; VARAVINIT, S. Preparation, pasting properties and freeze-thaw stability of dual modified crosslink-phosphorylated rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.73, p.351-358, 2008.

DIOP, C. I. K.; LI, H. L.; XIE, B. J.; SHI, J. Impact of the catalytic of iodine on the granule morphology, crystalline structure, thermal properties and water solubility of acetylated corn (*Zea mays*) starch synthesized under microwave assistance. **Industrial Crops and Products**, v.33, p.302-309, 2011.

FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de β -glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p.116-120, 2003.

GIBSON, K. D.; FISCHER, A. J.; FOIN, T. C.; HILL, J. E. Implication of delayed *Echinochloa* spp. Germination and duration of competition for integrated weed management in water-seeded rice. **Weed Research**, v.42, p.351-358, 2002.

GIDLEY, M. J.; BULPIN, P. V. Crystallisation of malto-oligosaccharides as models of the crystalline forms of starch: minimum chain-length requirement for the formation of double helices. **Carbohydrate Research**, n.161, p.291-300, 1987.

GOESAERT, H.; BRIJS, K.; VERAVERBEKE, W. S.; COURTIN, C. M.; GEBRUERS, K.; DELCOUR, J. A. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science & Technology**, n.16, p.12-30, 2005.

GONÇALVES, M. B. F.; SACCOL, A. G. de F. **Alimentação animal com resíduo de arroz**. Brasília, Embrapa, 1997. 70p.

GONZÁLEZ, Z.; PÉREZ, E. Effect of acetylation on some properties os rice starch. **Starch/Stärke**, v.54, p.148-154, 2002.

GOPALAN, C.; RAMASASTRI, B. V.; BALASUBRAMANIAN, S. C. **Nutritive value of Indian Foods**. National Institute of Nutrition, (ICMR), Hyderabad, 2002. 47p.

GUNARATNE, A.; CORKE, H. Influence of prior acid treatment on acetylation of wheat, potato and maize starches. **Food Chemistry**, v.105, p.917-925, 2007.

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

HIZUKURI, S. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. **Carbohydrate Research**, n.141, p.295–306, 1985

HOLM, L. G.; PLUCKNETT, D. L.; PANCHO, J. V.; HERBERGER, J. P. **The world's worst weeds: distribution and biology**, The University Press of Hawaii, Malabar, Florida, 1991. 609p

HOOVER, R. the impact of heat-moisture treatment on molecular structures and properties of starches isolated from different botanical sources. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.50, p.835-847, 2010.

HOOVER, R.; MANOEL, H. The effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull

waxy maize and amylo maize V starches. **Journal of Cereal Science**, n.23, p.153-162, 1996.

HOOVER, R.; RATNAYAKE, W. **Determination of total amylose content of starch**. In: R. E. Wrolstad, Current protocols of food analytical chemistry. Unit E2.3. John Wiley and Sons, USA. 2001.

HORMDOK, R.; NOOMHORM, A. Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.40, n.10, p.1723-1731, 2007.

HUANG, J. SCHOLS, H. A.; JIN, Z.; SULMANN, E.; VORAGEN, A. G. L. Pasting properties and (chemical) fine structure of acetylated yellow pea starch is affected by acetylation reagent type and granule size. **Carbohydrate Polymers**, v.68, p.397-406, 2007.

JACOBS, H.; DELCOUR, J. A. Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.8, p.2895-2905, 1998.

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

KAWABATA, A.; TAKASE, N.; MIYOSHI, E.; SAWAYAMA, W.; KIMURA, T.; KUDO, K. Microscopic observation and X-ray diffractometry of heat/moisture-treated starch granules. **Starch/Stärke**, v.46, p.463-469, 1994.

KASAOKA, S.; OH-HASHI, A.; MORITA, T. Nutritional characterization of millet protein concentrates produced by a heat-stable α -amylase digestion. **Nutrition Research**, v.19, n.6, p.899-910, 1999.

KAUR, B.; ARIFFIN, F.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Progress in starch modification in the last decade. **Food Hydrocolloids**, n.26, p.398-404, 2012.

KHUNAE, P.; TRAN, T.; SIRIVONGPAISAL, P. Effect of heat-moisture treatment on structural and thermal properties of rice starches differing in amylose content. **Starch/Stärke**, v.59, p.593-599, 2007.

KIM, J. Y.; JANG, K. C.; PARK, B-R.; HAN, S-I.; CHOI, K-J.; KIM, S-Y.; OH, S-H.; RA, J-E.; HA, T J.; LEE, J. H.; HWANG, J.; KANG, H. W.; SEO, W. D. Physicochemical and antioxidative properties of selected barnyard millet (*Echinochloa utilis*) species in Korea. **Food Science and Biotechnology**, v.20, n.2, p.461-469, 2011.

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

LEACH, H.W.; McCOWEN, L.D.; SCHOCH, T.J. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v.36, n.6, p.534-544, 1959.

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

LIN, J.H., WANG, S.W., CHANG, Y.H. Impacts of acid-methanol treatment and annealing on the enzymatic resistance of corn starches. **Food Hydrocolloids**, n.23, p.1465-1472, 2009.

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

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

LIU, H.; RAMSDEN, L.; CORKE, H. Physical properties and enzymatic digestibility of acetylated ae, wx, and normal maize starch. **Carbohydrate Polymers**, v.34, p.283-289, 1997.

McGRANCE, S. J.; CORNELL, H. J.; RIX, C. J. A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products. **Starch/Stärke**, n.50, p.158-163, 1998.

MARK, A. M.; MEHLTRETTER, C. L. Facile preparation of starch triacetates. **Starch/Stärke**, v.24, p.73-76, 1972.

OLIVO, C. J.; BRUM, A. E. S.; RITTER, H. Componentes e composição química do resíduo de limpeza do arroz e sua utilização na alimentação de novilhas leiteiras. **Ciência Rural**, v.21, n.2, p.257-266, 1991.

OZCAN, S.; JACKSON, D. S. The impact of thermal events on amylose-fatty acid complexes. **Starch/Stärke**, v.54, p.593-602, 2002.

PERERA, C.; HOOVER, R.; MARTIN, A. M. The effect of hydroxypropylation on the structure and physicochemical properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. **Food Research International**, v.30, p.235-247, 1997.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structure of starch components and their contribution to the architecture of starch granule: a comprehensive review. **Starch/Stärke**, n.62, p.389-420, 2010.

RABEK, J. F. Applications of wide-angle X-ray diffraction (WAXD) to the study of the structure of polymers, In: **Experimental Methods in Polymer Chemistry** (1^o ed., 505-508), Chichester: Wiley-Interscience, 1980.

RADOSAVLJEVIC, M.; JANE< J.; JOHNSON, L. A. Isolation of amaranth starch by diluted alkaline-protease treatment. **Cereal Chemistry**, v.75, p.212-216, 1998.

RAINA, C. S.; SINGH, S.; BAWA, A. S.; SAXENA, D. C. A comparative study of Indian rice starches using different modification model solutions. **LWT – Food Science and Technology**, v.40, p.885-892, 2007.

RAMÍREZ-ARREOLA, D. E.; ROBLEDO-ORTIZ, J. R.; ARELLANO, M; GONZÁLEZ-NÚÑEZ, R.; RODRIGUE, D. Rapid starch acetylation at low temperature using iodine as catalyst. **Macromolecular Symposia**, v.283-284, p.174-180, 2009.

RATNAYAKE, W. S., HOOVER, R., SHAHIDI, F., PERERA, C., JANE, J. Composition, molecular structure and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v.74, p.189–202, 2001.

SÁNCHEZ-RIVERA, M. M.; FLORES-RIVERA, I.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; GONZÁLEZ-SOTO, R. A.; RODRÍGUEZ-AMBRÍZ, S. L.; BELLO-PÉREZ, L. A. Acetylation of banana (*Musa paradisiaca* L.) and maize (*Zea mays* L.) starches using a microwave heating procedure and iodine as catalyst: partial characterization. **Starch/Stärke**, v.62, p.155-164, 2010.

SANDHU, K. S.; SINGH, N.; LIM, S. T. A comparison of native and acid thinned normal and waxy corn starches: physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, n.40, p.1527-1536, 2007.

ŠANDULA, J.; KOGAN, G.; KAČURÁKOVÁ, M.; MACHOVÁ, E. Microbial (1→3)-β-D-glucans, their preparation, physico-chemical characterization and immunomodulatory activity. **Carbohydrate Polymers**, v.38, p.247-253, 1999.

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

SINGH, J.; KAUR, L. SINGH, N. Effect of acetylation on some properties of corn and potato starches. **Starch/Stärke**, v.56, p.586-601, 2004.

SODHI, N. S.; SINGH, N. Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. **Journal of Food Engineering**, v.70, p.117-127, 2005.

TANG, H., MITSUNAGA, T., KAWAMURA, Y. Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. **Carbohydrate Polymers**, v.63, n.4, p.555–560, 2006.

TANG, J.; XIE, J.; CHEN, X.; YU, L. Can rice genetic diversity reduce *Echinochloa crus-galli* infestation? **Weed Research**, v.49, p.47-54, 2009.

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

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amilopectin, amylose, and lipids. **Cereal Chemistry**, n.67, p.551-557, 1990.

THATHOLA, A.; SRIVASTAVA, S. Suitability of foxtail millet (*Setaria italic*) and barnyard millet (*Echinochloa frumentacea*) for development of low glycemic index biscuits. **Malaysian Journal of Nutrition**, v.16, n.3, p.361-368, 2010.

THATHOLA, A.; SRIVASTAVA, S. Physicochemical properties and nutritional traits of millet-based weaning food suitable for infants of the Kumaon hills, Northern India. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.11, n.1, p.28-32, 2002.

UGARE, R. **Health benefits, storage quality and value addition of barnyard millet (*Echinochloa frumentacea* Link)**. 2008. 100f. Thesis (Master of Home Science in Food Science and Nutrition) – Department of Food Science and Nutrition, University of Agricultural Sciences, Dharwad.

VARATHARAJAN, V.; HOOVER, R.; SEETHARAMAN, K. The impact of heat-moisture treatment on the molecular structure and physicochemical properties of normal and waxy potato starches. **Carbohydrate Polymers**, n.81, p.466-475, 2010.

VARATHARAJAN, V.; HOOVER, R.; JIHONG, L.; VASANTHAN, T.; NANTANGA, K. K. M.; SEETHARAMAN, K.; LIU, Q.; DONNER, E.; JAISWAL, S.; CHIBBAR, R. N. Impact of structural changes due to heat-moisture treatment at different temperatures on the susceptibility of normal and waxy potato starches towards hydrolysis by porcine pancreatic alpha amylase. **Food Research International**, v.44, p.2594-2606, 2011.

VASANTHAN, T.; SOSULSKI, F. W.; HOOVER, R. The reactivity of native and autoclaved starches from different origins towards acetylation and cationization. **Starch/Stärke**, v.47, p.135-143, 1995.

VEENA, B.; CHIMMAD, B. V.; NAIK, R. K.; SHANTHAKUMAR, G. Development of barnyard millet based traditional foods. **Karnataka Journal of Agricultural Science**, v.17, n.3, p.522-527, 2004.

VEENA, B.; CHIMMAD, B. V.; NAIK, R. K.; SHANTHAKUMAR, G. Physico-chemical and nutritional studies in barnyard millet. **Karnataka Journal of Agricultural Science**, v.18, n.1, p.101-105, 2005.

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

WATANABE, M. Antioxidative phenolic compounds from Japanese barnyard millet (*Echinochloa utilis*) grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.4500-4505, 1999.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v.38, n.4, p.1184-1192, 2008.

WATCHARATEWINKUL, Y.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; UTTAPAP, D. Pasting properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v.75, p.505-511, 2009.

WILSON, J. R. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. **Journal of Agricultural Science**, v.122, p. 173-182, 1994.

WÜRZBURG, O.B. **Modified starches: properties and uses**. Boca Ratón: CRC Press, 1986. 277p.

XU, Y.; MILADINOV, V.; HANNA, M. A. Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. **Cereal Chemistry**, n.81, p.735-740, 2004.

YABUNO, T. Japanese barnyard millet (*Echinochloa utilis*, Poaceae) in Japan. **Economic Botany**, v.41, n.4, p.484-493, 1987.

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

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

ZOBEL, H. F. Starch crystal transformation and their industrial importance. **Starch/Stärke**, n.40, p.1-7, 1988.