

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

HELIBERTO GONÇALVES

**MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE MANDIOCA COM MISTURA DE ANIDRIDO-
ACÉTICO E ÁCIDOS ORGÂNICOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2016

HELIBERTO GONÇALVES

**MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE MANDIOCA COM MISTURA DE ANIDRIDO-
ACÉTICO E ÁCIDOS ORGÂNICOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo.

CAMPO MOURÃO

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Departamento Acadêmico de Alimentos
Curso de Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

MODIFICAÇÃO DO AMIDO DE MANDIOCA COM MISTURA DE ANIDRIDO-
ACÉTICO E ÁCIDOS ORGÂNICOS

por

HELIBERTO GONÇALVES

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 15 de junho de 2016 às 16:30 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo
Orientador

Prof. Msc. Alexandre Santa Barbara Azevedo
Membro da banca

Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior
Membro da banca

Nota: O documento original assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Campus* Campo Mourão.

Dedico aos meus pais e irmã por acreditarem em mim.

Em memória do meu querido e saudoso avô José Pedro Gonçalves (*in memorian*) e também de um amigo Irineu Willian Petsch (*in memorian*).

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelo dom da vida, por estar presente em meu dia-a-dia e também por me dar força e coragem nos momentos que mais precisei e por nunca me abandonar.

Agradeço aos meus pais Antonio Gonçalves Sobrinho e Neuza Aparecida Gonçalves por nunca desistirem de mim e me apoiarem em todas as decisões, além de serem meus exemplos. Se sou essa pessoa hoje, devo tudo a vocês. A minha irmã Tarsila Gonçalves por me ajudar mesmo de longe, a superar obstáculos ajudando com uma palavra amiga. Aos meus Tios Dirceu, Ana Carmem e Amélia, minha madrinha Laudina Padovani e meu primo Ademir Vieira, sem o incentivo de vocês, com certeza não teria chegado aqui.

A minha namorada Sabrina Aguiar, por ser sempre amiga, companheira, incentivadora e por me fazer rir mesmo em meio aos momentos difíceis, você foi essencial. A Arnaldo Silva, Simone Aguiar, Diego Aguiar e Santa Nunes Aguiar, obrigado por me deixarem ser da família de vocês e por me apoiarem sempre.

Aos amigos Carlos Ciola, Renan Simões, Donizeti Junior, Rodolfo Possani, Ângelo Michel, Renan Marangoni, Bruno Santos, Paulo Henrique, Thaysa, Marina, Bruna, Cristovão, Wedisley pessoas as quais conheci durante todo o percurso da graduação e que fizeram a distância de casa parecer que ela não existia. Obrigado pelas risadas, almoços, tardes e noites de estudo, tererés, jogatinas nas madrugadas e todo apoio e ajuda que me proporcionaram. Vocês foram a minha família aqui em Campo Mourão. Também não poderia esquecer os amigos de Macaubal, que assim que saí, nunca deixaram que a distância fosse empecilho da amizade, são eles Anderson Gimenes, Israel, André, Luciano, Breno, João Vitor, Fernando e Vinícius. Um agradecimento especial aos amigos que tenho em Engenheiro Beltrão e Quinta do Sol, são muitos que por medo de esquecer alguém, não vou citar nomes mas quero agradecê-los.

Ao meu orientador Prof. Dr. Manuel, pelos ensinamentos, paciência e ajuda durante todo o desenvolvimento desse trabalho, mesmo nas férias,

estava sempre disposto a ajudar. E também à Jacqueline Florio de Almeida, por toda ajuda nas análises, esclarecimentos e apoio.

Um agradecimento também aos professores: Dra. Marianne Ayumi Shirai, Dr. Bogdan Demczuk Junior e Dr. Alexandre Santa Barbara Azevedo.

A UTFPR, todos os professores e profissionais que diretamente ou indiretamente fizeram parte da graduação e ajudaram pra que eu chegasse até aqui.

Enfim, a todos, meu sincero muito obrigado!

RESUMO

GONÇALVES, H. **Modificação do amido de mandioca com mistura de anidrido-acético e ácidos orgânicos**. 38 f. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2016.

Os amidos nativos não suportam condições extremas de processo, como forte agitação mecânica ou pH ácido e naturalmente retrogradam. Com isso, as modificações químicas são realizadas para que o amido possa suportar essas condições. O objetivo desse trabalho foi modificar o amido nativo de mandioca com misturas de anidrido acético e ácidos orgânicos (cítrico, málico e tartárico) e avaliar suas propriedades como a característica aniônica, temperatura de formação de pasta, viscosidade dos géis, claridade e turbidez de pasta além de avaliar os espectros no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A microscopia com corante azul de metileno indicou modificação do amido, a temperatura de formação de pasta indicou que o amido modificado com mistura de anidrido acético e ácido cítrico (AAC) apresentou baixa temperatura na formação de pasta. A viscosidade aparente em meio ácido sugere intercruzamento nos amidos modificados com os ácidos orgânicos, enquanto que a claridade e a turbidez das dispersões desses amidos informam baixa tendência à retrogradação, associado à esterificação do amido. A análise do FTIR possibilitou a observação de pico na região de 1740 cm^{-1} que sugere que os amidos foram esterificados. Conclui-se que todos os ácidos orgânicos foram capazes de esterificar o amido nativo de mandioca.

Palavras-chave: *Manihot esculenta*, amido esterificado, anidrido acético, ácidos orgânicos, acetilação.

ABSTRACT

GONÇALVES, H. **Modification of the cassava starch with acetic anhydride-mix and organic acids.** 38 f. 2016. Completion of Course Work (Bachelor's Degree in Food Engineering), Federal Technological University of Paraná, Campo Mourão, 2016.

The native starches do not support extreme conditions, such as strong mechanical agitation or acidic pH and naturally retrogrades. Given that, the chemical modifications are made so that the starch is able to withstand these conditions. The objective of this work was to modify the native cassava starch with mixtures of acetic anhydride and organic acids (citric, malic and tartaric acid) and then evaluate its properties such as anionic characteristics, paste formation temperature, viscosity of the gels, clarity and turbidity of the paste and its spectra in Fourier transform infrared (FTIR). Methylene blue dye microscopical analysis indicated modification of the starch. The paste formation temperature indicated that the starch modified with a mixture of acetic anhydride and citric acid (EAC) presented low paste formation temperature. The apparent viscosity when in acidic medium suggests intercrossing between the modified starch and the organic acids, while its clarity and turbidity report low tendency to downgrading, associated to the starch esterification. FTIR analysis made it possible to observe a peak in 1740 cm^{-1} region that suggests the starches have been esterified. It is concluded that all the organic acids were able to esterify the native cassava starch.

Keywords: *Manihot esculenta*, esterified starch, acetic anhydride, organic acid, acetylation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da estrutura da amilose	4
Figura 2 – Representação da estrutura da amilopectina	5
Figura 3 – Reação de acetilação	6
Figura 4 – Estrutura química do ácido cítrico	6
Figura 5 – Estrutura química do ácido málico	7
Figura 6 – Estrutura química do ácido tartárico	8
Figura 7 – Obtenção do amido esterificado	10
Figura 8 – Amidos vistos através do microscópio com aumento de 100 vezes.....	14
Figura 9 – Espectros no FTIR do amido nativo e dos amidos esterificados com anidrido acético e ácidos orgânicos	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios obtidos para temperatura de formação de pasta..	15
Tabela 2 – Valores médios para viscosidade em pH ácido	16
Tabela 3 – Claridade de pasta do amido nativo e dos amidos modificados ...	18
Tabela 4 – Valores de turbidez dos géis de amidos estocados por tempos de 1 e 10 dias	19

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	3
2.1	OBJETIVO GERAL	3
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3	REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1	Amido.....	4
3.2	Amidos modificados quimicamente.....	5
3.3	Ácido Cítrico	6
3.4	Ácido Málico	7
3.5	Ácido Tartárico.....	7
4	MATERIAL E MÉTODOS	9
4.1.1	Matéria-prima.....	9
4.1.2	Preparação da solução de anidrido acético com o ácido orgânico	9
4.1.3	Reação de Esterificação	9
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS ESTERIFICADOS	11
4.2.1	Microscopia dos grânulos	11
4.2.2	Temperatura de formação de pasta.....	11
4.2.3	Viscosidade Aparente	11
4.2.4	Clareza da pasta.....	12
4.2.5	Turbidez.....	12
4.2.6	Espectroscopia – FTIR	13
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	14
5.1	Microscopia.....	14
5.2	Temperatura de formação de pasta.....	15
5.3	Viscosidade em pH ácido	16
5.4	Clareza de pasta.....	18
5.5	Turbidez.....	19
5.6	Espectroscopia – FTIR	20
6	CONCLUSÃO	22
7	REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

O amido é constituído de duas frações: amilose, que é feita de unidades de glucose, e estão interligadas por ligações α (1,4) quase por um todo (cerca de 99%) e por poucas ligações α (1,6) (1%) e amilopectina, que é altamente ramificada, possuindo também as ligações α (1,4) (95%), porém, mais ramificações α (1,6) (5%) (BILIADERIS, 1998; MEIRA, 2012; AMARAL et al. 2007).

Industrialmente o amido é amplamente empregado devido sua característica de poder ser usado como grânulo. Ele pode ser usado em sopas instantâneas, em caldos, ser usado como espessante, ser ligante para embutidos de carne e até estabilizante para molhos de salada (CEREDA et al., 2003).

O amido nativo é insolúvel em água, devido a ligações de hidrogênio presentes entre amilopectina e cadeias de amilose, isso faz com que o amido apresente-se regiões com maior teor de amilopectina (regiões cristalinas) e outras regiões com teores maiores de amilose (regiões amorfas) (MEIRA, 2012).

As modificações feitas em amido podem ser divididas em 4 grupos, sendo eles: modificações físicas, químicas, enzimáticas ou biológicas, sendo que as modificações mais usadas, segundo Daramola e Osanyinlusi (2006) são as modificações químicas.

Segundo Bartz et al. (2012), a acetilação do amido tem sido usada para conferir maior estabilidade e resistência à retrogradação. Outros pontos levantados, que são favorecidos pela acetilação e que podem ser citados são: o aumento na claridade de pasta, uma maior capacidade de absorção de água e também redução da temperatura de gelatinização.

Os amidos nativos por si só não satisfazem todas as necessidades da indústria, eles não suportam condições extremas de processo, como forte agitação mecânica ou pH ácido. Com isso, as modificações químicas são realizadas para que o amido possa suportar essas condições. A acetilação

produz uma diminuição da temperatura de gelatinização e também na tendência de retrogradar (AČKAR et al. 2012).

Segundo Luo et al. (2009), quando grupos acetila são colocados em amidos, há uma tendência menor de sinerese em baixas temperaturas, e também uma probabilidade muito baixa que estes percam textura da pasta, pois eles diminuem a capacidade de rompimento da amilopectina do amido.

A retrogradação é um fenômeno que ocorre durante o processo de gelatinização, as cadeias de amilose se unem mais rapidamente que as de amilopectina, expulsando a água, se estiver em um gel ou solução, o que faz com que seja prejudicial em diversos alimentos. A inibição da retrogradação faz com que alguns alimentos, por exemplo iogurtes, não percam água (WALTER et al. 2005).

Dentro desse contexto, o objetivo do trabalho foi modificar o amido de mandioca para que esse apresentasse as propriedades específicas citadas, e também poder averiguar se estas estiveram presentes através das análises propostas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Modificar o amido de mandioca com uma mistura de anidrido-acético e diferentes ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido málico e ácido tartárico), visando caracterizar as propriedades físico-químicas e funcionais dos amidos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Modificar o amido de mandioca utilizando uma mistura de anidrido acético e ácidos orgânicos.
- Avaliar a modificação por espectroscopia FTIR.
- Avaliar a modificação utilizando microscopia, visando determinar o formato dos grânulos após a modificação.
- Avaliar as propriedades dos géis dos amidos modificados através de turbidez, claridade e viscosidade.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Amido

Amidos são denominados nativos quando são extraídos das plantas sem nenhuma alteração podendo ser aplicados em diversos setores como indústria têxtil, papel, farmacêutica, plástica e também a alimentícia (LEONEL et al., 1998).

O amido é constituído de dois polímeros, a amilose e a amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose, unidas por ligações α -1,4, que a deixam com uma estrutura de cadeia linear. Já a amilopectina é formada por ligações α -1,4 e α -1,6, que formam uma estrutura ramificada (TESTER et al., 2004).

A proporção de cada um desses polímeros é o que diferencia e dá as características de cada um dos amidos (WUZZBURG, 2006).

As estruturas dessas moléculas são representadas na figura 1 (amilose) e na figura 2 (amilopectina).

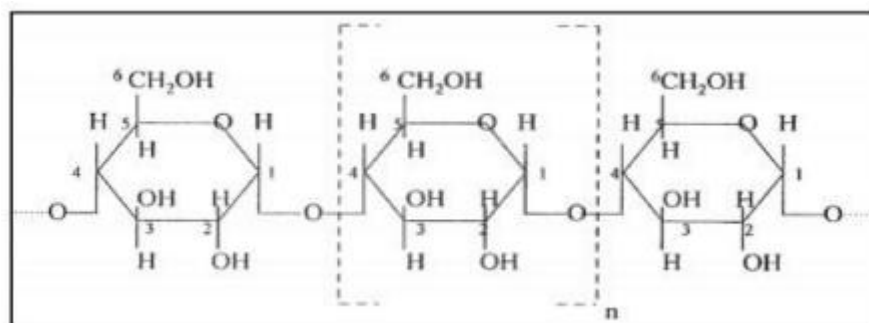


Figura 1 – Representação da estrutura da amilose

Fonte: THOMAS; ATWELL, (1997).

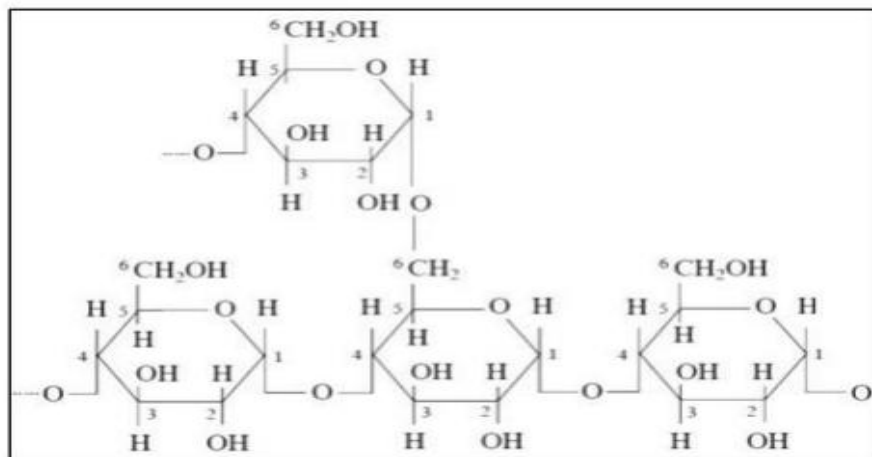


Figura 2 – Representação da estrutura da amilopectina

Fonte: THOMAS; ATWELL, (1997).

3.2 Amidos modificados quimicamente

Os amidos nativos não possuem todas as características desejáveis, por isso modificações no amido são feitas para que propriedades específicas sejam adquiridas e seu uso na indústria seja maximizado. Como exemplo dessas modificações, podem ser citadas a diminuição da retrogradação, aumento da estabilidade das pastas no resfriamento e descongelamento, melhora na transparência das pastas ou géis e sua respectiva textura (LEONEL et al., 1998; WURZBURG, 2006).

As reações químicas que podem ser citadas e que produzem modificações nos amidos são intercruzamento, termoconversão e substituição (WURZBURG, 2006).

A reação de acetilação é uma reação de esterificação que proporciona ao amido um retardo na retrogradação, é uma reação utilizada para que haja um aumento na característica espessante do amido que foi modificado (MORIKAWA, 2000).

Na figura 3 é mostrada a reação de acetilação.

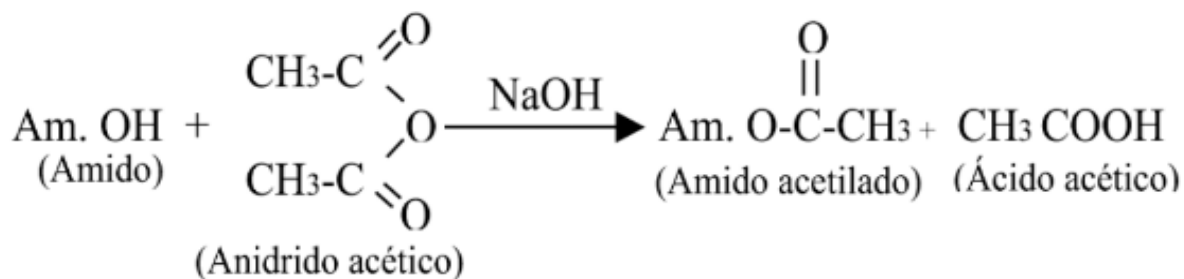


Figura 3 – Reação de acetilação.

Fonte: SWINKELS, 1996.

3.3 Ácido Cítrico

Este ácido também pode ser conhecido como citrato de hidrogênio. Ele é o ácido mais utilizado pela indústria alimentícia e de bebidas já que apresenta uma diversidade de propriedades, dentre elas: antioxidantes, acidulantes, flavorizantes e reguladoras de acidez. Tem como função, de modo geral, preservar o sabor de bebidas e alimentos industrializados além de regular o pH, neutraliza o paladar doce e acidifica o sabor do produto em questão (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2012).

Na figura 4 é representada a estrutura química do ácido cítrico.

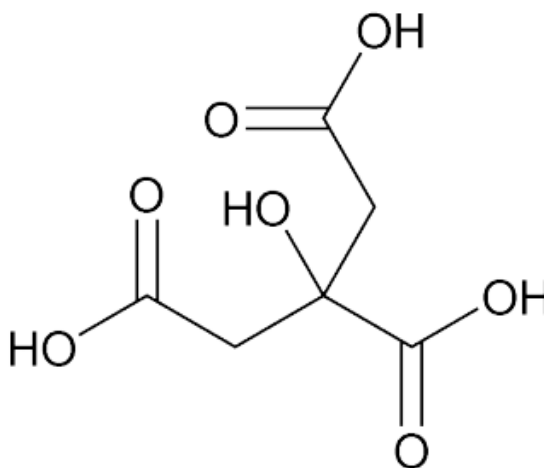


Figura 4 – Molécula de ácido cítrico.

Fonte: UNITED STATES PHARMACOPEIAL COVENTION, (2012).

3.4 Ácido Málico

O ácido málico é um ácido orgânico largamente encontrado na natureza, em diversas frutas e bagas, mais do que o ácido cítrico. É o principal ácido encontrado em marmelo, melancia, caqui, ameixa e maçã. O ácido málico é conhecido largamente como o ácido da maçã por apresentar 97,2% dos ácidos contidos neste fruto. Apresenta um sabor ácido limpo, maduro e suave. Como ele é essencial no metabolismo dos carboidratos, tem função na produção de energia para o ciclo celular. Seu uso na indústria é para mascarar o gosto desagradável da sacarina e também como agente tamponante. Se for comparado com o ácido cítrico, o ácido málico tem um maior potencial realçador do chamado flavour nos alimentos, com isso seu uso é bem comum como acidulante em pó para refrescos, sucos de frutas, bebidas e sobremesas (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2012).

A figura 5 tem a estrutura química do ácido málico.

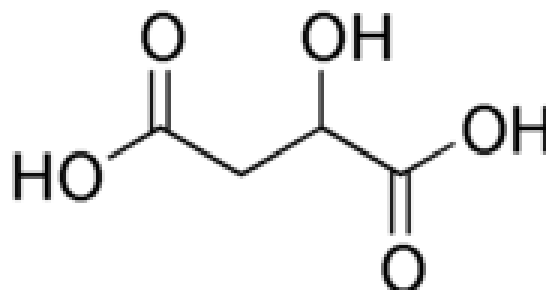


Figura 5 – Molécula de ácido málico

Fonte: USBERCO; SALVADOR, (2006).

3.5 Ácido Tartárico

O ácido tartárico, ainda chamado de ácido diidroxibutanéico, é um subproduto da fermentação do vinho, mas também pode ser obtido da extração da polpa de tamarindo. Cerca de 80% do ácido tartárico ingerido pelos seres humanos é destruído pela flora intestinal e a parte absorvida pela corrente sanguínea é excretada na urina. O ácido e seus sais são sólidos incolores facilmente dissolvidos em água, o que ajuda na sua aplicação na indústria, por

mais que ele não seja usado em escala ampla como o cítrico e o málico, ele tem seu uso porque pode ser classificado como agente inativador de metais, agindo provavelmente por inativação do efeito catalítico em reações de oxidação por traços de metais (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2012).

Na figura 6 é mostrada a estrutura química do ácido tartárico.

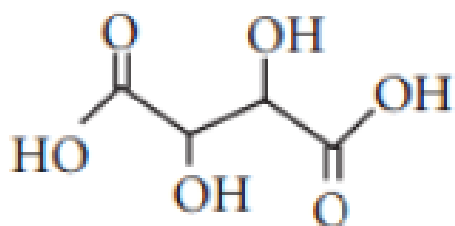


Figura 6 – Molécula de ácido tartárico

Fonte: YUN et al. (2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1.1 Matéria-prima

O amido de mandioca utilizado foi doado pela empresa Amafil, da cidade de Cianorte (PR). Os ácidos orgânicos e demais reagentes, grau analítico, utilizados foram comprados pela Universidade.

4.1.2 Preparação da solução de anidrido acético com o ácido orgânico

Em um tubo do tipo falcon com tampa foi pesado usando a proporção 1/30 (m/m) de ácido orgânico (málico, tartárico ou cítrico – Marca VETEC Pureza 99%) para anidrido acético (Marca Nuclear 95% PA). A mistura uma vez tampada foi solubilizada por aquecimento por 40 minutos, com agitação manual, em um banho de água em ebulição.

4.1.3 Reação de Esterificação

A esterificação do amido de mandioca foi realizada seguindo a metodologia de Ackar (2012).

Preparou-se uma dispersão contendo 116 gramas de amido (base seca) e 134 mL de água destilada e sob constante agitação mecânica, adicionou-se uma solução de NaOH 3% para regular o pH no intervalo de 8,5 a 8,8 após 5 minutos de agitação, e com auxílio de uma bureta de 25 mL gotejou-se, em tempo de 25 minutos, a solução de anidrido acético e o ácido orgânico na dispersão de amido regulando o pH entre 8,2 e 8,5 pela adição de NaOH 3%.

Terminada a adição da mistura esterificante, o pH foi regulado para 8,0 e mantido por 15 minutos. Finalmente, com uso de HCl 0,3 M, abaixou-se o pH para 6,0.

O amido recuperado por filtração a vácuo foi lavado com 3 porções de 150 mL de água destilada. A seguir, o amido foi seco em estufa com circulação forçada de ar (Marca CIENLAB) a temperatura de 47° C por 10 horas.

A seguir é apresentado o fluxograma resumindo as etapas da reação de esterificação (Figura 7).

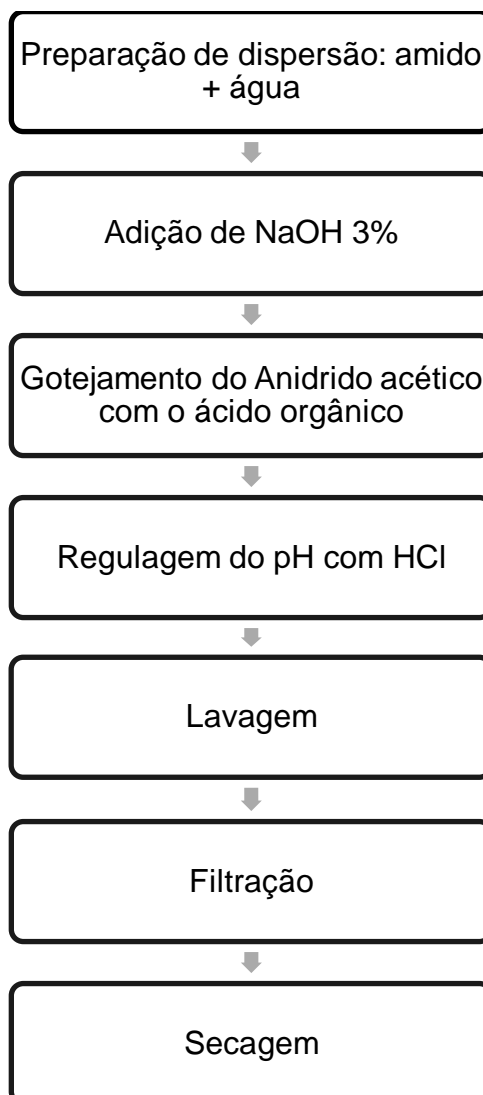


Figura 7 – Obtenção do amido esterificado

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS ESTERIFICADOS

4.2.1 Microscopia dos grânulos

Através da metodologia de Christianson et al. (1969) e Snyder (1984), os grânulos de amido foram analisados por microscopia óptica com coloração diferencial utilizando azul de metileno. Foram preparadas amostras contendo 200 mg de amido e estas suspensas em 20 mL de solução de azul de metileno 0,1% (m/v) e agitadas por 10 minutos. Decorrido o tempo, as amostras foram lavadas com água destilada e recuperadas por centrifugação. As amostras foram colocadas em lâminas e sua observação foi feita usando um microscópio acoplado a uma câmera digital, as imagens foram obtidas utilizando um aumento de 100 vezes, através do programa ScopePhoto.

4.2.2 Temperatura de formação de pasta

Foi preparada uma dispersão de 6% de amido (3,6 g de amido/56,4 g de água) que foi aquecida em um banho de água, no intervalo de temperatura de 50 a 70°C. Utilizou-se um termômetro digital para poder registrar a temperatura inicial de formação de pasta.

4.2.3 Viscosidade Aparente

A análise foi executada com base na metodologia de Aristizábal e Sanchez (2007), onde misturou-se 16,8 g (base seca) de amido e 120 mL de água destilada com pH regulado a 2,0 com ácido cítrico. Aqueceu-se a dispersão a 100 °C por 30 min. Sendo que o peso final do gel foi de 120 gramas. Os amidos foram gelatinizados por aquecimento em banho térmico (100 °C por 30min) e resfriados em banho de água fria até 25 °C. Para medir a viscosidade, o viscosímetro Brookfield modelo RVT teve a velocidade ajustada em 20 rpm e as determinações foram realizadas no dia (logo após o

resfriamento), após 1 dia e após 4 dias. Ressaltando que o valor da viscosidade aparente (expressa em cP), foi calculado utilizando a tabela de correção em função da velocidade e da agulha utilizada que é disponibilizada pelo do manual do equipamento.

4.2.4 Claridade da pasta

Com base no método descrito por Craig et al. (1989), uma dispersão de amido (1 g/100 mL de água) foi aquecida em banho térmico na temperatura de 95 °C por 30 minutos, com agitação a cada 5 minutos. A seguir a água evaporada foi repostada de tal maneira de obter uma dispersão de amido a 1% (m/v). As amostras foram resfriadas em um banho de água a 25 °C a dispersão teve a transmitância determinada em espectrofotômetro a 650 nm. As dispersões foram armazenadas a temperatura de 4-5 °C e a claridade foi avaliada na temperatura de 25 °C após 3, 6 e 9 dias de armazenamento em refrigeração. Os resultados foram expressos em porcentagem de transmitância (%T).

4.2.5 Turbidez

Em triplicata, 1 g (base seca) de amido foi disperso em 100 g de água destilada e gelatinizado em um banho térmico a 95 °C por 30 minutos com agitação manual. A seguir a água evaporada foi repostada de tal maneira de obter uma dispersão de amido a 1% (m/m), imediatamente as amostras foram resfriadas em um banho de água a 25 °C e subsequentemente armazenadas a temperatura de 4-5 °C. As análises de turbidez foram realizadas após o 1º e o 10º dia de armazenamento, à temperatura de 15 °C usando um turbidímetro da marca Hanna, modelo HI98703 (*fast tracker*) e os resultados foram expressos em NTU (Unidade nefelométrica de turbidez).

4.2.6 Espectroscopia – FTIR

Primeiramente, as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 48 horas. A seguir fabricaram-se pastilhas contendo 100 mg de brometo de potássio (KBr) e 2 mg de amostra seca. As pastilhas, prensadas em prensa hidráulica manual (8 Kgf por 5 minutos) tiveram seus espectros coletados e analisados utilizando espectrômetro na região do infravermelho com transformada de Fourier (*Perkin Elmer* - modelo *Frontier*), num comprimento de onda de 4000-500 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} e 32 varreduras para cada leitura.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Microscopia

A figura 8 tem a representação das microfotografias obtidas por microscópio com câmera digital acoplada com uso lente objetiva de 10, dos amidos nativos de batata (A), mandioca (b), do amido esterificado de mandioca com anidrido acético/ ácido cítrico (c), do amido esterificado de mandioca com anidrido acético/ ácido málico (D), do amido esterificado de mandioca com anidrido acético/ ácido tartárico (E) e do amido esterificado de mandioca com anidrido acético (F).

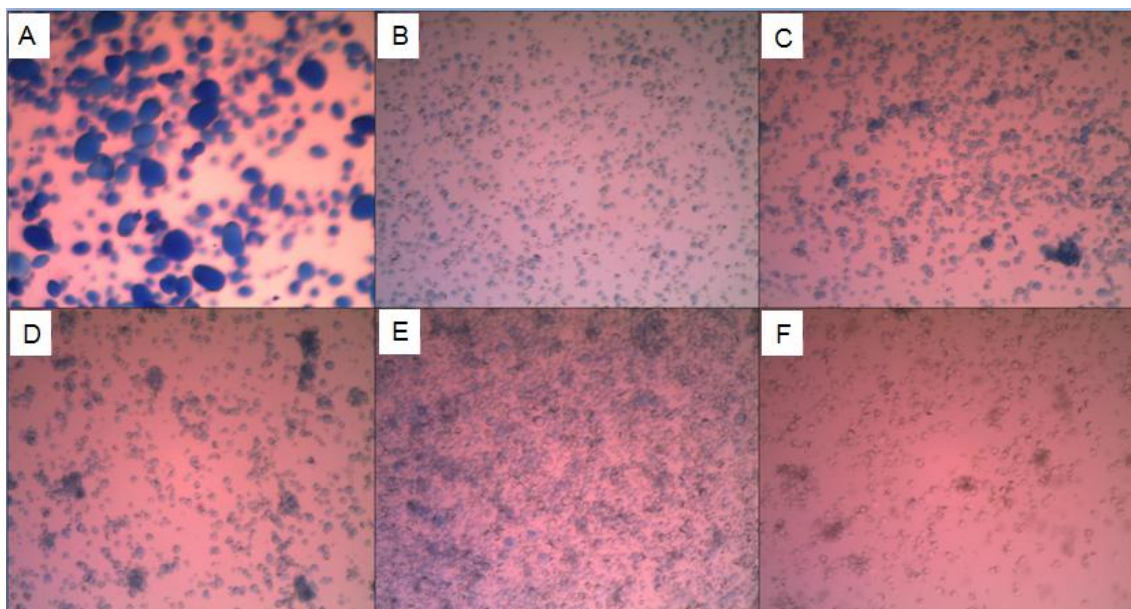


Figura 8 – Amidos visto no microscópio com aumento de 100 vezes

O amido de batata (Figura 8A) naturalmente apresenta grupos fosfatos que são responsáveis pela característica aniônica desse amido, e quando tratado com azul de metileno (corante catiônico), os grânulos ficam tingidos de azul. Este teste informa qualitativamente se um amido apresenta cargas negativas (SCHOCH; MAYWALD, 1956; TAKIZAWA et al., 2004).

Por outro lado, o amido nativo de mandioca (Figura 8B) foi levemente tingido pelo corante. Quando esse amido foi esterificado com anidrido

acético/ácido cítrico (Figura 8C), anidrido acético/ácido málico (Figura 8D), anidrido acético/ácido tartárico (Figura 8E) observou-se que uma grande quantidade dos grânulos ficaram tingidos de azul contrastando com o amido esterificado com anidrido acético (Figura 8F) que não apresentou grânulos tingidos; esses resultados (fotografias 8C, 8D e 8E) sugerem que houve a introdução de cargas negativas que podem ser explicadas pela monoesterificação do amido pelos ácidos orgânicos cítrico, málico e tartárico. Essa carga negativa corresponde ao grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$) livre que não reagiu com o grupo hidroxila do amido.

5.2 Temperatura de formação de pasta

Tabela 1 – Valores médios obtidos para temperatura de formação de pasta.

Amido	Média (°C)
Nativo (AN)	63,7 ^b ± 0,57
Esterificado com anidrido acético/ ácido málico (AAM)	57,0 ^c ± 2,00
Esterificado com anidrido acético/ ácido tartárico (AAT)	56,0 ^c ± 1,73
Esterificado com anidrido acético/ ácido cítrico (AAC)	78,0 ^a ± 1,00
Acetilado (AA)	57,3 ^c ± 1,15

Nota: As médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Observa-se na Tabela 1, que os amidos AAM, AAT e AA apresentaram temperaturas iniciais de formação de pasta, que não diferiram entre si ($p > 0,05$), e inferior a temperatura do amido nativo. Esta característica é informada por diferentes autores em amidos de diferentes fontes quando esterificados com anidrido acético (XIE et al., 2005). Os amidos modificados por acetilação apresentam baixa temperatura de gelatinização e tendência à retrogradação quando comparados com o amido nativo (SINGH et al., 2006). Segundo Lee et al. (2015), a introdução de grupo acetil no amido causa um enfraquecimento da estrutura molecular por interromper as ligações de hidrogênio e a estrutura helicoidal no interior do grânulo de amido.

O amido AAC apresentou na temperatura de 64 °C um gel fluído de baixa viscosidade que se manteve durante o tempo de aquecimento até atingir

a temperatura de 78 °C formando um gel de viscosidade média, não encorpado, considerando-se esta temperatura como a temperatura inicial de formação de pasta.

Este aumento de temperatura de gelatinização tem sido informada por Xia, Li e Gao (2016) em amidos de batata esterificados com ácido cítrico por tratamento térmico em alta temperatura e baixa umidade e em amido de batata esterificado com a mistura de anidrido acético e ácido adípico. Este incremento na temperatura de gelatinização é característico de amidos que foram tratados com agentes químicos polifuncionais que formam ligações ésteres com grupos hidroxilas localizados em segmentos diferentes dentro do amido, o que genericamente é chamado de ligação cruzada. Portanto, o amido AAC contém duas modificações: acetilação e intercruzamento, sendo então um amido polifuncional para aplicações alimentícias estando apto a suportar ambientes de alimentos refrigerados e obtidos por processos de fabricação considerados agressivos para os amidos (LUO et al., 2009).

5.3 Viscosidade em pH ácido

Tabela 2 – Valores médios de viscosidade em pH ácido.

Amido	1ª Leitura (cP)	2ª Leitura (cP)	3ª Leitura (cP)	% Incremento da Viscosidade
Nativo (AN)	3500 ^d ± 0,00	11000 ^d ± 0,00	12000 ^d ± 0,00	242,8
Esterificado com anidrido acético/ ácido málico (AAM)	8000 ^c ± 0,00	13400 ^c ± 547	14600 ^c ± 547	82,5
Esterificado com anidrido acético/ ácido tartárico (AAT)	10400 ^b ± 894	18700 ^b ± 678	18200 ^b ± 400	75,0
Esterificado com anidrido acético/ ácido cítrico (AAC)	28800 ^a ± 447	31000 ^a ± 0,00	31000 ^a ± 0,00	7,6
Acetilado (AA)	3900 ^d ± 223	7500 ^e ± 500	8000 ^e ± 547	105,2

Nota: As médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

A primeira leitura foi realizada no dia do preparo dos géis, com os amidos a temperatura ambiente (25 °C). O pH ácido (2,0) do meio tem a função de avaliar a resistência do gel de amido à hidrólise. Observa-se que os géis dos amidos nativo e o acetilado (AA) apresentaram os menores valores de viscosidades, que não diferiram entre si ($p \geq 0,05$), enquanto os outros géis amidos mostraram maiores valores de viscosidade na seguinte ordem: AAM>AAT>AAC. Essa maior viscosidade dos amidos esterificados com os ácidos málico, tartárico e cítrico indica a formação de ligações cruzadas que fortaleceram a estrutura do grânulo de amido suportando a agressividade do pH ácido.

Após 24 horas de repouso foi observado um aumento da viscosidade dessas pastas. Todos os amidos tiveram esse aumento, e isso se deve a retrogradação do amido decorrente do resfriamento onde as moléculas de amilose e amilopectina tentam se rearranjar ficando mais próximas e aumentando assim a viscosidade. Essa característica foi intensa do amido nativo por ter sofrido hidrólise o que aumenta a tendência a retrogradar (SANDHU et al., 2007). Nos géis dos amidos modificados, o aumento da viscosidade foi menor colocando em evidência que os amidos apresentam grupos químicos (acetil, malato, tartarato, citrato) que inibem a associação dos segmentos lineares do amido. Na 3ª leitura (48 horas) o comportamento da viscosidade dos géis de amido foi similar aos da 2ª leitura (24 horas).

Para avaliar a tendência à retrogradação dos géis de amido, foi feita uma comparação entre a viscosidade na 3ª leitura diminuída da viscosidade da 1ª leitura e expressa em percentual. Observa-se (Tabela 2) que o incremento da viscosidade (indicador de retrogradação) aumentou na ordem AAC<AAT<AAM<AA<NA. A baixa tendência a retrogradação das amostras dos amidos modificados pode ser explicado pela introdução de grupos químicos volumosos, cargas negativas e contendo grupos hidroxilas (carboxilas do malato, tartarato, citrato), sendo que após a gelatinização do amido a reassociação das moléculas de amilose com a presença de grupos carboxilas tendem a diminuir resultando em amidos com baixo teor de retrogradação como pode ser observado em todas as amostras.

Gonzalez e Perez (2002) citam que amidos modificados por acetilação possuem declínio na temperatura de gelatinização, uma melhoria na claridade de pasta e um aumento significativo da viscosidade. É o que acontece em todas as amostras. Segundo Ackar et al. (2012), nos amidos acetilados as cadeias de amido são menos propensas a formarem ligações de hidrogênio e re-associarem-se, sendo assim são menos propensos a retrogradação.

5.4 Claridade de pasta

Tabela 3 – Claridade de pasta do amido nativo e dos amidos modificados.

Amido	Claridade de Pasta			
	T0 (1 dia) %T*	T3 (3 dias) %T*	T6 (6 dias) %T*	T9 (9 dias) %T*
Nativo (AN)	21,9 ^a ± 0,42	28,95 ^d ± 1,06	15,70 ^c ± 0,28	7,45 ^c ± 0,07
Esterificado com anidrido acético/ ácido málico (AAM)	16,45 ^b ± 0,35	45,25 ^b ± 0,07	42,85 ^b ± 2,05	43,10 ^{ab} ± 0,7
Esterificado com anidrido acético/ ácido tartárico (AAT)	13,15 ^c ± 0,21	39,65 ^c ± 1,62	43,15 ^b ± 1,62	36,55 ^b ± 0,77
Esterificado com anidrido acético/ ácido cítrico (AAC)	3,4 ^d ± 0,28	30,60 ^d ± 1,13	7,8 ^c ± 2,5	7,45 ^c ± 2,65
Acetilado (AA)	21,15 ^a ± 0,07	52,65 ^a ± 0,07	51,85 ^a ± 1,48	49,30 ^a ± 1,55

Nota: As médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Segundo Cereda (2002) A transparência de uma pasta de amido é um atributo importante de qualidade do produto. Maiores teores de amilose no amido resultam em pastas mais opacas enquanto teores menores propiciam pastas mais claras.

No dia do preparo, nota-se que não há diferença significativa entre o amido nativo AN e o amido AA, ao nível de significância de 5%, enquanto todos os outros diferem-se entre si. Na segunda análise realizada 3 dias após o preparo, todos os amidos apresentaram aumento da transmitância, e também observa-se que agora os amidos que não se diferem são amido nativo e amido

AAC, enquanto os outros se diferem. O amido AA foi o que apresentou maior valor de transmitância nessa leitura. Ačkar et al. (2012) cita em seu trabalho que a acetilação proporciona um aumento da claridade de pastas, comportamento que justifica a mudança de valores entre T0 e T3.

A terceira leitura, realizada seis dias após o preparo, mostra que os amidos NA e o amido AAC tiveram um declínio na transmitância, e não diferiram entre si ao nível de significância adotado. A última leitura, realizada após nove dias, mostrou que o AN apresentou baixo percentual de transmitância (7,45) sugerindo tendência à retrogradação do referido amido. O amido AAC também apresentou ao longo do período da estocagem os menores valores de transmitância devido ao intercruzamento com o ácido cítrico que impediu a gelatinização total produzindo pastas opacas. Evidências do intercruzamento ficam claras na análise de viscosidade aparente em meio ácido o qual desenvolveu a maior viscosidade; funcionalmente uma característica dos amidos intercruzados.

Mali e Grossmann (2001) relataram que um adipato dissustituído acetilado teve maior clareza de pasta, durante 15 dias de armazenamento a 10 °C.

5.5 Turbidez

Tabela 4 – Valores de turbidez dos géis de amidos estocados por tempos de 1 e 10 dias.

Amido	Turbidez (NTU*)	
	T0 (1 dia)	T10 (10 dias)
Nativo (AN)	159 ^a ± 2,82	242 ^a ± 7,07
Esterificado com anidrido acético/ ácido málico (AAM)	155,5 ^a ± 2,12	170,5 ^b ± 12
Esterificado com anidrido acético/ ácido tartárico (AAT)	105,5 ^c ± 0,70	156 ^b ± 7,07
Esterificado com anidrido acético/ ácido cítrico (AAC)	4,90 ^d ± 1,29	76,8 ^c ± 1,83
Acetilado (AA)	115 ^b ± 0,00	180 ^b ± 2,82

Nota: As médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

A turbidez é causada pela presença de partículas em suspensão em uma dispersão, no caso de amidos, o aumento da turbidez pode ser interpretada como o aumento do tamanho de partículas agregadas devido ao fenômeno da retrogradação. Os resultados do primeiro dia apontam menor tendência a retrogradar dos amidos AAT, AAC e AA. No décimo dia, todos os amidos apresentaram aumento da turbidez final, porém, sendo ela menor para todos os amidos em relação ao AN, mostrando que a esterificação do amido com os ácidos orgânicos foram eficientes na diminuição da retrogradação.

5.6 Espectroscopia – FTIR

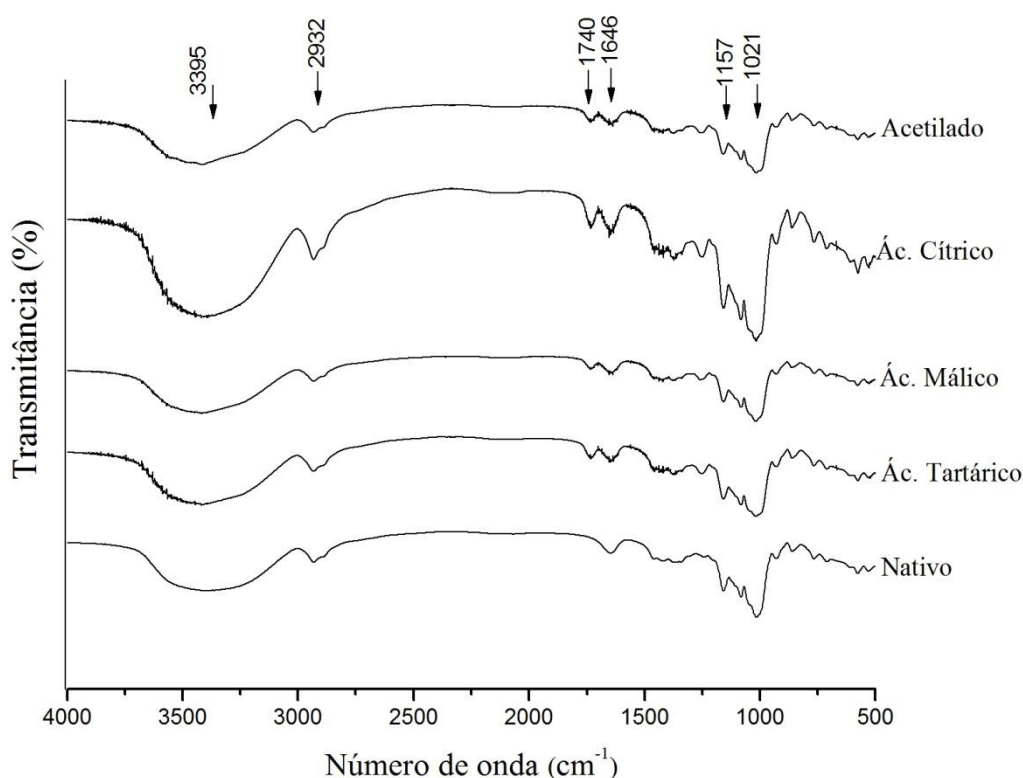


Figura 9 – Espectros no FTIR do amido nativo e dos amidos esterificados com anidrido acético e ácidos orgânicos

Os espectros do FTIR do amido nativo e dos amidos esterificados mostrados na Figura 9 apresentaram alguns picos característicos, onde no espectro do amido nativo na região de 3395 cm⁻¹ há a presença dos grupos

hidroxilas O-H, em 2932 cm^{-1} e 1646 cm^{-1} há picos que pode ser relacionados à ligação C-H e também à água, respectivamente (DIOP et al., 2011).

Em 1157 cm^{-1} também há um pico, que refere-se à posição de alongamento de C-O-C. Em 1021 cm^{-1} , apresenta-se um pico que faz referência à ligação C-O (DIOP et al., 2011; ZUO et al., 2013).

O pico que aparece na região de 1740 cm^{-1} é atribuído a carbonila (C=O) do grupo éster (DIOP et al., 2011). O aparecimento desse pico sugere que houve a esterificação do amido pelo anidrido acético e pelas misturas de anidrido acético e ácidos orgânicos. Os autores Jochym et al. (2012), modificaram amido de batata com ácido tartárico e obtiveram um pico na região de 1746 cm^{-1} .

Zuo et al. (2013) modificaram amido de milho com anidrido maléico e observaram o aparecimento de uma banda de absorção na região de 1720 cm^{-1} que eles atribuíram ser à carbonila do grupo éster.

6 CONCLUSÃO

Todos os ácidos orgânicos esterificaram o amido nativo de mandioca, visto que a microscopia revelou grânulos corados na presença do corante catiônico, sendo esta evidência confirmada pela banda em 1740 cm^{-1} dos espectros FTIR desses amidos.

A esterificação diminuiu a temperatura de formação de pasta, exceto a do amido esterificado com anidrido acético/ácido cítrico. O aumento da viscosidade aparente em meio ácido dos amidos modificados com os ácidos orgânicos sugere o inter cruzamento do amido tornando-os resistentes à hidrólise ácida.

Os resultados da claridade de pasta e da turbidez indicam que o amido acetilado e os esterificados com anidrido acético e ácidos orgânicos mostraram menor tendência a retrogradar.

Os amidos esterificados com anidrido acético e ácidos orgânicos podem ser indicados para uso em alimentos obtidos em condições de estresse para amidos (pH baixo e cisalhamento) e estocados em temperaturas de refrigeração ou de congelamento.

7 REFERÊNCIAS

ADITIVOS & INGREDIENTES, Os ácidos alimentícios, **Revista Aditivos & Ingredientes**, nº 93, p.26-35, 2012.

AMARAL, L. I. V.; GASPAR, M.; COSTA, P. M. F.; AIDAR, M. P. M.; BUCKERIDGE, M.S.; Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais, **Hoehnea**: 425-431, 2007.

ARISTIZÁBAL, J., SÁNCHEZ, T.; Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca - ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN, **Boletín de Servicios Agrícolas de La FAO**, Roma, 2007.

AČKAR, Đ.; ŠUBARIĆ, D.; BABIĆ, J.; PILIŽOTA, V.; LENDIĆ, K. V.; JAŠIĆ, M. Modification of Wheat Starch with Adipic Acid/Acetic Anhydride and Glutaric Acid/Acetic Anhydride Mixtures. FTB-2829, 2012.

BARTZ, J.; MADRUGA, K. M., KLEIN, B., PINTO, V. Z., DIAS, A. R. G., Propriedades de pasta de amidos de arroz nativo e acetilados. **Braz. J. Food Technol.**, IV SSA, p. 78-83, 2012.

BILIADERIS, C. G., Structures and phase transitions of starch polymers. In R. H. Walter (Ed.), **Polysaccharide association structures in food**, New York: Marcel-Dekker, Inc, 1998.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.; TAKAHASHI, M., Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. **Editora Fundação Cargil**, v. 3, cap. 3, 2003.

CHRISTIANSON, D. O.; NIELSEN, H. C.; KHOO, U.; WOLF, M. J.; WALL, J. S. Isolation and chemical composition of protein bodies and native proteins in corn endosperm. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 46, p. 372-381, 1969.

CRAIG, S. A. S.; MANINGAT, C. C.; SEIB, P. A.; HOSENEY R. C. Starch Paste Clarity. **Cereal Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 173-182, 1989.

DARAMOLA, B; OSANYINLUSI, S. A., Investigation on modification of cassava starch using active components of ginger roots, **African journal of Biotechnology**, 5 (10), 917-920, 2006.

DIOP, C. I. K.; LI, H. L.; XIE, B. J.; SHI, J. Effects of acetic acid/acetic anhydride ratios on the properties of corn starch acetates. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1662–1669, 2011

GONZALEZ, Z., PEREZ, E., Effect of acetylation on some properties of rice starch. **Starch**, 54, 2002.

JOCHYM, K.; KAPUSNIAK, J.; BARCZYNSKA, R.; SLIZEWSKA, K. New starch preparations resistant to enzymatic digestion. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 886–891, 2012.

LEE, S. J.; HONG, J.Y.; LEE, E. J.; CHUNG, H.-J.; LIM, S. T., Impact of single and dual modifications on physicochemical properties of japonica and indica rice starches. **Carbohydrate Polymers**, 122, 2015.

LEONEL, M. JACKEY, S.; CEREDA, M. P. Processamento industrial de fécula de mandioca e batata doce – um estudo de caso. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 343-345, 1998.

LUO, F.; HUANG, Q.; FU, X.; ZHANG, L.; YU, S. Preparation and characterisation of crosslinked waxy potato starch. **Food Chemistry**, n. 115, p. 563–568, 2009.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Preparation of acetylated distarch adipates by extrusion, **Food Science and Technology** n. 34, p. 384–389, 2001.

MEIRA, V. C. R. S., Preparação e caracterização de filmes de amido modificado por reticulação, acetilação e com adição de lipídio e celulose bacteriana. **Tese para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos**, UFSC – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2012.

MORIKAWA, K.; NISHINARI, K. Effects of concentration dependence of retrogradation behaviour os dispersions for native and chemically modified potato starch. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 395-401, 2000.

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. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 9, p.1527-1536. 2007.

SCHOCH, T. J.; MAYWALD, E. C., Microscopic examination of modified starches. **Analytical Chemistry**, 28, p. 382-387, 1956.

SINGH, J.; KAUR, L.; McCARTHY, O. J., Factors influencing the physicochemical, morphological, thermal, and rheological properties of some chemically modified starches for food aplicantions. **Food Hydrocolloids**, 2006.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. . Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

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

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

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. Starches, practical guides for the food industry. **Eagan Press**, St. Paul, MN, USA, 1997.

USBERCO, J.; SALVADOR, E. **Química Geral**. 12^a.ed. São Paulo: Saraiva, 2006.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL COVENTION, **Anhydrous Citric Acid**. Stage 6, 2012.

WALTER, M.; PICOLLI, L.; EMANUELLI, T.; Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, Santa Maria, n. 4, jul-ago, 2005, p.974-980.

WURZBURG, O. B. Modified starch. In: STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. (Ed.). **Food Polysaccharides and their applications**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, p.86-118, 2006.

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

XIE, S. X.; LIU, Q.; CUI, S. T. Starch Modification and Applications. **Food Carbohydrates**. Cap. 8, T & F Group, 2005.

YUN, Y. H; NA, Y. H; YOON, S. D. Mechanical properties with the functional group of additives for starch/PVA blend film. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 14, n. 1, p. 71-78, 2006.

ZUO, Y.; GU, J.; YANG, L.; QIAO, Z.; TAN, H.; ZHANG, Y. Synthesis and characterization of maleic anhydride esterified corn starch by the dry method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 62, p. 241–247, 2013.