

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
UNICAMP



Faculdade de Engenharia de Alimentos



Departamento de Engenharia de Alimentos

**COMPORTAMENTO REOLÓGICO E TÉRMICO DE
SISTEMAS AMIDO DE AMARANTO-CASEINATO DE
SÓDIO: EFEITO DA ADIÇÃO DE AÇÚCAR E TEMPO
DE ACIDIFICAÇÃO.**

Angela Maria Gozzo

Mestre em Engenharia de Alimentos (UNICAMP-SP)

Prof. Dr^a. Florência Cecília Menegalli

Orientadora

Prof. Dr^a. Rosiane Lopes da Cunha

Co-orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP – como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Campinas
Fevereiro – 2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

G749c Gozzo, Angela Maria
Comportamento reológico e térmico de sistemas amido de
amaranto-caseinato de sódio: efeito da adição de açúcar e
tempo de acidificação / Angela Maria Gozzo. – Campinas, SP:
[s.n.], 2008.

Orientador: Florência Cecília Menegalli
Co-orientador: Rosiane Lopes da Cunha
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Amido de amaranto. 2. Caseinato de sódio. 3.
Reologia. 4. Microestrutura. 5. Calorimetria diferencial de
varredura. I. Menegalli, Florência Cecília. II. Cunha, Rosiane
Lopes da. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

(ckn/fea)

Titulo em inglês: Rheological and thermal behavior of amaranth starch - sodium
caseinate systems: effect of sugar addition and acidification time

Palavras-chave em inglês (Keywords): Amaranth starch, Sodium caseinate,
Rheology, Microstructure , Differential
scanning calorimetry

Titulação: Doutor em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora: Florência Cecília Menegalli

Cesar Francisco Ciacco

Izabel Cristina Freitas Moraes

Alessandra Faria Baroni

Delia Rita Tapia Blácido

Ângelo Luiz Fazani Cavallieri

Programa de Pós-Graduação: Programa em Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Florência Cecília Menegalli
(Orientadora)

Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha
(Co-orientadora)

Prof. Dr. Cesar Francisco Ciacco
(Membro)

Profa. Dra. Izabel Cristina Freitas Moraes
(Membro)

Profa. Dra. Alessandra Faria Baroni
(Membro)

Dra. Delia Rita Tapia Blácido
(Membro)

Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri
(Membro)

DEDICO

À minha filha ... Maria Carolina!!!

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde, graça e pela força divina do universo.

À Prof. Dra. Florência Cecilia Menegalli, de coração, por sua valiosa orientação, pela confiança, pelos ensinamentos, pela liberdade de decisão.

À Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha, por sua valiosa orientação, incentivo e apoio.

Aos membros da Banca Examinadora, Profa. Dra. Isabel Moraes, Profa. Dra. Alessandra Baroni, Dra. Délia Tápia, Prof. Dr. César Francisco Ciacco e Dr. Angelo Cavallieri, pelas valiosas correções e sugestões que contribuiram muito para aperfeiçoar este trabalho.

Aos queridos professores e funcionários da FEA, pela cooperação e contribuição à minha formação. Em especial à Joyce, Ana Maria (LEP) e Alessandra (Cereais).

Ao pessoal do laboratório de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Biologia.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos por fornecer a infra-estrutura para a realização desta pesquisa.

Aos meus queridos amigos da FEA, pelas inúmeras contribuições, pelas orientações no manuseio de alguns equipamentos. Muito obrigada...

À Kelly, minha amiga, pelas horas felizes, tristes, pelo apoio, pelas visitas... por tudo. À Seve, minha querida, pelo carinho, risadas e alegria.

À Delia, pelo carinho, pela força, você é muito especial para mim, muito. É mais que uma amiga, é uma referência.

Ao Cosme da secretaria de Pós-Graduação, pela preocupação e dedicação.

Aos meus pais maravilhosos, pelo incentivo e orações.

À minha família e a do meu marido, por todo o carinho que recebo... Amo demais vocês...

Ao meu marido, Roberto, por ter me dado o meu maior “presente” e me fazer feliz, você é muito especial pra mim...

Ao CNPq pela bolsa de doutorado inicial.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de doutorado (processo Nº 03/06946-1).

À todos os meus amigos....

“Abençoemos aqueles que se preocupam conosco, que nos amam, que nos atendem as necessidades... Valorizemos o amigo... A amizade é uma dádiva de Deus”

SUMÁRIO

RESUMO.....	xxv
1.1. INTRODUÇÃO	3
1.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. Amido.....	12
2.1.1. Estrutura do grânulo	12
2.1.2. Índice de inchamento do amido.....	13
2.1.3. Variáveis que influenciam o processo de gelatinização do amido.....	14
2.1.4. Efeito da sacarose na gelatinização de suspensões de amido	16
2.1.5. Retrogradação do amido	18
2.2. Caseínas.....	20
2.2.1. Processo de acidificação da caseína.....	23
2.2.2. Efeito da sacarose em suspensões de biopolímeros	25
2.3. Interação amido-proteína	27
2.4. Caracterização Reológica	29
2.4.1. Viscosidade extensional (Compressão Biaxial Imperfeita com Lubrificação)	31
2.5. Principais características que ocorrem nas interações proteína-polissacarídeo	34
2.5.1. Separação de fases.....	34
2.5.2. Capacidade de Retenção de água.....	34
2.5.3. Sinerese	35
2.6. Microestrutura de géis constituintes de alimentos.	36
2.7. Características térmicas.....	37
2.8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	39
RESUMO.....	56

3.1. INTRODUÇÃO	56
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3.2.1. Matéria prima	58
3.2.2. Extração do amido de amaranto	58
3.2.3 Caracterização do amido	60
3.2.3.1. Determinação do teor de umidade.....	60
3.2.3.2. Determinação do teor de cinzas	60
3.2.3.3. Determinação do teor de lipídeos	60
3.2.3.4. Determinação do teor de proteínas.....	60
3.2.3.5. Determinação do teor de amilose	61
3.2.3.6. Microscopia eletrônica de varredura	61
3.2.3.7. Determinação do poder de inchamento e da solubilidade.....	62
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
3.3.1. Determinação da umidade	63
3.3.2. Determinação do teor de cinzas do amido	64
3.3.3. Determinação do teor de lipídios totais	64
3.3.4. Determinação do teor de proteínas	64
3.3.5. Determinação do teor de amilose.....	65
3.3.6. Análises Microscópicas	66
3.3.7. Poder de inchamento e solubilidade do grão de amido.	67
3.4. CONCLUSÃO.....	70
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
RESUMO.....	79
4.1. INTRODUÇÃO	80
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	83
4.2.1. Matéria prima	83
4.2.2 Métodos de Preparação dos Sistemas Mistos.....	83

4.2.2.1	Preparação do caseinato de sódio.....	83
4.2.2.2	Preparação das amostras.....	83
4.2.3	Cinética de acidificação.....	86
4.2.4	Ensaio reológico sob cisalhamento.....	87
4.2.4.1	Ensaio de gelatinização e gelificação (Realizados no reômetro).....	88
4.2.4.2	Caracterização Reológica dos Géis Gelatinizados	89
4.2.5	Ensaio reológico realizado em escoamento extensional.....	90
4.2.6	Análise estrutural	91
4.2.7	Análise estatística dos resultados	91
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
4.3.1	Preparação das amostras	91
4.3.2	Ensaio de cinética de pH.....	95
4.3.3	Ensaio de gelatinização e gelificação	100
4.3.3.1	Efeito da concentração de amido na gelatinização das suspensões.....	102
4.3.3.2	Efeito do caseinato de sódio na gelatinização de suspensões de amido	106
4.3.3.3	Efeito do GDL nos géis de amido e caseinato de sódio	109
4.3.4	Caracterização reológica dos géis gelatinizados.....	112
4.3.4.1	Curvas de escoamento de suspensões de amido.....	113
4.3.4.2	Curvas de escoamento das suspensões de amido e caseinato (Ensaio estacionário)	115
4.3.4.3	Influência do modo de preparação dos géis	118
4.3.4.4	Modelagem das curvas de escoamento (Equações constitutivas)	122
4.3.5	Espectros mecânicos (Ensaio oscilatório).....	125
4.3.5.1	Efeito do caseinato de sódio nas suspensões de amido.....	126
4.3.5.2	Espectros mecânicos comparando o efeito da concentração dentro de um mesmo processo.....	129
4.3.5.3	Espectros mecânicos comparando os processos	131

4.3.6. Compressão biaxial.....	133
4.3.6.1. Parâmetros reológicos dos géis analisados por compressão biaxial.....	140
4.3.7. Análise estrutural	143
4.3.7.1. Microscopia eletrônica de varredura	143
4.3.7.2. Microscopia eletrônica de transmissão	155
4.4. CONCLUSÃO.....	167
4.5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	170
RESUMO.....	184
5.1. INTRODUÇÃO	185
5.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	187
5.2.1. Matéria prima	187
5.2.2. Métodos de preparação dos sistemas mistos.....	187
5.2.2.1. Preparação do caseinato de sódio.....	187
5.2.2.2. Preparação das amostras de caseinato de sódio e amido.....	188
5.2.3. Análises de cinética de acidificação e turbidez.....	191
5.2.4. Ensaio reológico	191
5.2.5. Análise estrutural	193
5.2.6. Análise estatística dos resultados	193
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	193
5.3.1. Efeito na velocidade de acidificação na preparação das amostras.....	193
5.3.2. Cinéticas de pH.....	195
5.3.3. Cinéticas de turbidez.....	200
5.3.3.1. Amostras sem sacarose	200
5.3.3.2 Amostras com sacarose	203
5.3.4. Efeito do açúcar no comportamento reológico de misturas de caseinato de sódio e amido	207
5.3.5. Análise estrutural	213
5.4. CONCLUSÃO.....	216

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	217
RESUMO.....	224
6.1. INTRODUÇÃO	224
6.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	228
6.2.1. Matéria Prima.....	228
6.2.2. Métodos de Preparação dos Sistemas Mistos:.....	229
6.2.2.1. Preparação do caseinato de sódio:.....	229
6.2.2.2. Preparação das amostras de caseinato de sódio e amido :.....	229
6.2.3. Análises de Calorimetria.	230
6.2.3.1. Ensaio de Gelatinização	230
6.2.3.2. Ensaio de retrogradação:.....	231
6.2.4. Análises de Retenção de Água.	232
6.2.5. Análises de Sinerese.	232
6.2.6. Análise estatística dos resultados	233
6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	233
6.3.1. Ensaio de gelatinização (Realizadas no calorímetro)	233
6.3.1.1. Influência da concentração de amido e do caseinato na gelatinização do amido (Realizados no DSC)	233
6.3.1.2. Efeito do açúcar nos sistemas modelo.....	240
6.3.2. Ensaio de retrogradação.	244
6.3.3 Influência da interação dos biopolímeros na capacidade de retenção de água (WHC) e sinerese	252
6.3.3.1. Ensaio de Capacidade de Retenção de Água.....	252
6.3.3.2. Ensaio de sinerese.	257
6.4. CONCLUSÃO.....	261
6.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	262
7.1. CONCLUSÃO GERAL	271

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Esquema-modelo(secção transversal) de uma micela de caseína (WALSTRA, 1999).	23
Figura 2.2: Esquema de uma geometria Imperfeita onde a placa de fundo é substituída por um recipiente largo (CAVALLIERI, 2003).	33
Figura 3.1: Curva padrão com diferentes concentrações de amilose.	65
Figura 3.2: Microscopia do amido de amaranto " <i>Amarantus cruentus</i> " (3500X)	66
Figura 3.3: Microscopia do amido de amaranto " <i>Amarantus cruentus</i> " (6000X)	66
Figura 3.4: Efeito da temperatura no P.I. dos amidos de milho e amaranto	68
Figura 3.5: Efeito da temperatura na Solubilidade dos amidos de milho e amaranto.	68
Figura 4.1: Comparação de cor dos dois processos de preparação.....	93
Figura 4.2: Cinética de acidificação das amostras (a) Ag5Ca4 e (b) TJA5C4 variando a razão de GDL.	98
Figura 4.3: Cinética de acidificação da amostra (a) Ag5Ca8 e (b) TJA5C8 variando a razão de GDL.	98
Figura 4.4: Cinética de acidificação da amostra (a) Ag10Ca4 e (b) TJA10C4 variando a razão de GDL.	99
Figura 4.5: inética de acidificação da amostra (a) Ag10Ca8 e (b) TJA10C8 variando a razão de GDL.	99
Figura 4.6: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido (5 e 10%)..	103
Figura 4.7: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 5% sem e com caseinato (4 e 8%)..	107
Figura 4.8: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 10% sem e com caseinato (4 e 8%)..	109

Figura 4.9: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 5% comparando amostras com e sem GDL.	110
Figura 4.10: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 10% comparando amostras com e sem GDL.	111
Figura 4.11: (a) Curvas de escoamento e (b) Comparativo de viscosidades de géis de amido, realizados a 10 °C.	114
Figura 4.12: (a) Curvas de escoamento e (b) Comparativo de viscosidades de suspensões de amido dos sistemas não acidificados mistos com caseinato (0, 4 e 8% p/p) e concentração de amido (5% p/p).	117
Figura 4.13: (a) Curvas de escoamento e (b) Comparativo de viscosidades de suspensões de amido dos sistemas não acidificados mistos com caseinato (0, 4 e 8% p/p) e concentração de amido (10% p/p).	118
Figura 4.14: (a) Curva de escoamento e (b) Viscosidade <i>versus</i> taxa de deformação comparando o modo de preparação dos géis contendo 5% de amido, medida a 10°C.	119
Figura 4.15: (a) Curva de escoamento e (b) Viscosidade <i>versus</i> taxa de deformação comparando o modo de preparação dos géis contendo 10% de amido, medida a 10 °C.	121
Figura 4.16: (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência dos géis de amido (5%) puro e géis de mistura amido-caseinato sem acidificar, realizados a 10°C.	127
Figura 4.17: (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência dos géis de amido (10%) puro e géis de mistura amido com caseinato sem acidificar, realizados a 10°C.	127
Figura 4.18: (a) Espectros mecânicos (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência comparando a concentração de amido (5% e 10% p/p) e caseinato (4% e 8% p/p).	129
Figura 4.19: (a) Espectros mecânicos (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência comparando a concentração de amido (10% p/p) e caseinato (4% e 8% p/p).	130

Figura 4.20: (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas de tan (δ) em função da frequência comparando os métodos de preparação para amido 5%, realizados a 10°C..	132
Figura 4.21: (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas de tan (δ) em função da frequência comparando os métodos de preparação para amido 10% realizados a 10°C..	132
Figura 4.22: Curvas típicas de escoamento extensional.	135
Figura 4.23: Curvas de log F <i>versus</i> log H,	135
Figura 4.24: Curvas típicas de escoamento extensional..	136
Figura 4.25: Curvas log F <i>versus</i> log H.....	136
Figura 4.26: Curvas típicas de escoamento extensional.	137
Figura 4.27: Curvas de log F <i>versus</i> log H,	137
Figura 4.28: relação entre a viscosidade extensional (Pa.s) e a taxa de deformação (s^{-1}) das suspensões neutras de amido puro 5% (p/p) e de sistemas contendo caseinato de sódio (4% e 8% p/p).	140
Figura 4.29: Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido antes da gelatinização com aumento de 3500 x.....	143
Figura 4.30: Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido após a gelatinização a 90°C por 15 minutos com aumento de 3000 x.	143
Figura 4.31: Microscopia eletrônica de varredura de amostras de caseinato acidificado sem aquecimento (aumento de 3000 x).....	145
Figura 4.32: Microscopia eletrônica de varredura de caseinato acidificado com aquecimento (aumento de 3000x).....	145
Figura 4.33: Microscopia eletrônica de varredura das amostras (a) Ag5Ca4, (b) TJA5C4, (c) Ag5Ca8 e (d) TJA5C8 (aumento de 3000 x).....	147
Figura 4.34: Microscopia eletrônica de varredura das amostras (a) Ag10Ca4, (b) TJA10C4. (c) Ag10Ca8, (d) TJA10C8 (aumento de 3000 x).....	149

Figura 4.35: Microscopia eletrônica de varredura das amostras (a) A10C8 e (b) TJA10C8 (aumento de 6000 x).....	153
Figura 4.36: Microscopia eletrônica de transmissão de amostras de caseinato puro. Aumento de (a) 7750 x e (b) 12930 x.....	157
Figura 4.37: Microscopia eletrônica de transmissão de amostras das amostras (a) Ag5Ca4 (aumento de 1670 x), (b) Ag5Ca4 (aumento de 2784 x), (c) de Ag5Ca4 (aumento de 3865 x) e (d) Ag5Ca4 (aumento de 4646 x).....	159
Figura 4.38: Microscopia eletrônica de transmissão das amostras (a) Ag10Ca4 (aumento de 2784 x), (b) Ag10Ca4 (aumento de 3000 x), (c) Ag10Ca8 (aumento de 16700 x) e (d) Ag10Ca8 (aumento de 35970 x).....	161
Figura 4.39: Microscopia eletrônica de transmissão das amostras (a) Ag10Ca8 (aumento de 2156 x), (b) Ag10Ca8 (aumento de 3597 x) e (c) Ag10Ca8 (aumento de 7750 x).....	165
Figura 5.1: Aspecto visual dos géis mistos A) amido (10%) gelatinizado e acidificado com caseinato (8%); B) amido (10%) pré-gelatinizado misturado com caseinato e GDL (8%); C) amido (10%) gelatinizado e acidificado com açúcar (5%) e caseinato (8%); D) amido (10%) pré-gelatinizado e misturado com açúcar (5%) e caseinato mais GDL (8%). A) e C) Acidificação rápida e B) e D) Acidificação lenta.	193
Figura 5.2: Cinética de acidificação das amostras a) Ag5Ca4a5 e Ag5Ca4a10 e b) TJA5C4a5 e TJA5C4a10	196
Figura 5.3: Cinética de acidificação das amostras a) Ag5Ca8a5 e Ag5Ca8a10 e b) TJA5C8a5 e TJA5C8a10.....	197
Figura 5.4: Cinética de acidificação das amostras a) Ag10Ca4a5 e Ag10Ca4a10 e b) TJA10C4a5 e TJA10C4a10..	198
Figura 5.5: Cinética de acidificação das amostras a) Ag10Ca8a5 e Ag10Ca8a10 e b) TJA10C8a5 e TJA10C8a10.	199
Figura 5.6: Cinéticas de a) turbidez e b) pH do caseinato de sódio acidificado em função do tempo.	201
Figura 5.7: Cinéticas de a) turbidez e b) pH do amido acidificado em função do tempo.....	201

Figura 5.8: Cinéticas de turbidez em função do tempo para as amostras a) A5C4, b) A5C8, c) A10C4 e d) A10C8.....	202
Figura 5.9: Cinética de gelificação do caseinato de sódio com sacarose e sem sacarose acidificado a 10°C e 90°C.	204
Figura 5.10: Cinética de gelificação dos sistemas mistos contendo 5% de amido e acidificados lenta (Ag) e rapidamente (TJ). a) Com 4% de caseinato e 5% de sacarose, b) Com 4% de caseinato e 10% de sacarose, c) Com 8% de caseinato e 5% de sacarose e d) com 8% de caseinato e 10% de sacarose.	205
Figura 5.11: Cinética de gelificação dos sistemas mistos contendo 10% de amido e acidificados lenta (Ag) e rapidamente (TJ). a) Com 4% de caseinato e 5% de sacarose, b) Com 4% de caseinato e 10% de sacarose, c) Com 8% de caseinato e 5% de sacarose e d) com 8% de caseinato e 10% de sacarose.	206
Figura 5.12: Curvas de a) G' e b) G'' em função da temperatura para suspensões de amido 5% p/p verificando o efeito do açúcar..	208
Figura 5.13: Curvas de a) G' e b) G'' em função da temperatura para suspensões de amido 10% p/p verificando o efeito do açúcar..	208
Figura 5.14: Curvas de a) G' e b) G'' em função da temperatura para suspensões de amido 5% p/p verificando o efeito do açúcar..	210
Figura 5.15: Microscopia eletrônica de varredura das amostras a) Ag5Ca8 e b) Ag5Ca8a10 (aumento de 3000 x).....	213
Figura 6.1: Exemplo de um termograma de amido de amaranto	234
Figura 6.2: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito da concentração de caseinato na gelatinização do amido.	236
Figura 6.3: Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito da concentração de caseinato na gelatinização do amido..	236
Figura 6.4: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito da concentração de caseinato acidificado na gelatinização do amido.....	236

Figura 6.5: Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito da concentração de caseinato acidificado na gelatinização do amido.....	236
Figura 6.6: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito da adição de GDL na gelatinização do amido.	237
Figura 6.7: Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito da adição de GDL na gelatinização do amido.	237
Figura 6.8: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito do açúcar na gelatinização do amido..	240
Figura 6.9: Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito do açúcar na gelatinização do amido.	240
Figura 6.10: Termograma das suspensões de amido 5% comparando as amostras acidificadas com as amostras “branco” na gelatinização do amido na presença de açúcar..	241
Figura 6.11: Termograma das suspensões de amido 10% comparando as amostras acidificadas com as amostras “branco” na gelatinização do amido na presença de açúcar..	241
Figura 6.12: Efeito da concentração de açúcar nas T_o , T_p e T_f da amostra TJA5C8.....	243
Figura 6.13: Valores de entalpia de gelatinização e retrogradação dos géis amido/caseinato/sacarose.	249
Figura 6.14: Valores de %R das amostras durante 30 e 45 dias.....	249
Figura 6.15: Capacidade de retenção de água de amostras contendo 5% de amido.....	255
Figura 6.16: Capacidade de retenção de água de amostras contendo 10% de amido.....	255
Figura 6.17: Porcentagem de sinerese de amostras contendo 5% de amido.....	259
Figura 6.18: Porcentagem de sinerese de amostras contendo 10% de amido.....	259

INDICE DE TABELAS

Tabela 2.1: Peso molecular e pH isoelétrico das caseínas (WALSTRA, 1990; WONG <i>et al.</i> , 1996).	21
Tabela 3.1: Características físico-químicas do amido de amaranto	63
Tabela 4.1: Concentrações dos componentes e métodos de acidificação utilizados para o preparo das amostras estudadas.....	85
Tabela 4.2: pH final das razões de GDL/caseína utilizadas nas amostras após cinética de 72 horas.	96
Tabela 4.3: Temperaturas de início de gelatinização do amido puro (5% e 10% p/p) e dos sistemas mistos contendo caseinato de sódio (4 e 8% p/p) e GDL a 90°C e 10°C, considerando os dois métodos de preparação.....	101
Tabela 4.4: Valores de G' e G'' do amido puro (5% e 10% p/p) a 90°C e 10°C, considerando os dois métodos de preparação.....	102
Tabela 4.5: Parâmetros de ajuste dos modelos reológicos lei da potência e Herschel-Bulkley aos dados experimentais obtidos em cisalhamento estacionário a 10°C.	124
Tabela 4.6: Valores de G' e G'' determinados na frequência.....	126
Tabela 4.7: Parâmetros reológicos de ajuste aos dados obtidos em compressão biaxial dos géis caseinato – amido..	141
Tabela 5.1: Razão de GDL para o pH das amostras contendo 5% p/p de amido, caseinato (4 e 8% p/p) e sacarose (5 e 10% p/p) chegar próximo ao pl do caseinato (pl=4,6-4,7) no equilíbrio.	189
Tabela 5.2: Razão de GDL para o pH das amostras contendo 10% p/p de amido, caseinato (4 e 8% p/p) e sacarose (5 e 10% p/p) chegar próximo ao pl do caseinato (pl=4,6-4,7) no equilíbrio.	190
Tabela 6.1: Valores Médios e seus respectivos desvios para as respostas de T_o , T_p , T_f e ΔH dos ensaios realizados em triplicatas.....	238
Tabela 6.2: Valores médios T_o , T_p , T_f e ΔH dos ensaios contendo açúcar.....	242

Tabela 6.3: T_o , T_p , T_c e ΔH para as diferentes amostras em 15, 30 e 45 dias de armazenamento.....	246
Tabela 6.4: Valores de entalpia e porcentagem de retrogradação de sistemas	248
Tabela 6.5: Média da capacidade de retenção de água e da sinerese.....	253

NOMENCLATURA

A - área (mm^2).

A- amido

Ag- amido for pré-gelatinizado

b- as amostras não foram acidificadas com GDL (branco)

b.s. - base seca (g de água/g sólido seco).

C- caseinato

Ca- caseinato é acidificado antes da mistura com o amido pré-gelatinizado.

DSC - calorímetro diferencial de varredura.

et al. - termo latim "e colaboradores".

F - força de escoamento (N).

FEA - Faculdade de Engenharia de Alimentos.

G' - Módulo elástico

G'' - Módulo viscoso

H- a altura momentânea

K- índice de consistência do fluido

m - massa (g).

n- índice de comportamento do fluido

Pa - Pascal.

pH - potencial hidrogeniônico.

pI - ponto isoelétrico.

R- raio da geometria (m),

S%- Porcentagem de sinerese

SEM – Microscopia eletrônica de varredura

T - temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

t - tempo (horas).

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão

Tf - temperatura final de gelatinização (°C).

TJ- as amostras foram preparadas com todos os seus componentes juntos

To – temperatura inicial de gelatinização (°C).

Tp - temperatura de pico de gelatinização (°C).

UR - umidade relativa.

V-, a taxa de deslocamento

WHC – Capacidade de retenção de água

RESUMO

Os amidos são adicionados freqüentemente aos alimentos devido as suas propriedades espessantes e de retenção de água, como estabilizantes coloidais e agentes gelificantes. O amaranto é uma cultura de baixo custo, e seu amido, um novo ingrediente com potencial uso industrial. O caseinato de sódio é um sal derivado da caseína amplamente utilizado como emulsificante em alimentos. O estudo de misturas de proteínas e polissacarídeos é de grande interesse, pois tais combinações podem levar a um intervalo de propriedades mais amplo que os géis puros de proteína ou de polissacarídeo. Neste trabalho, as características físico-químicas do amido e as interações entre amido de amaranto/caseinato de sódio, adicionados ou não de sacarose, foram estudadas em sistemas mantidos a 10 °C e pH no ponto isoelétrico. Estas interações foram estudadas através de análises térmicas (gelatinização e retrogradação), de capacidade de retenção de água, sinerese, análise estrutural e comportamento reológico (em cisalhamento oscilatório e em compressão biaxial) da mistura dos biopolímeros e sacarose, durante e após a gelificação. Foram comparados dois métodos de acidificação, um lento, realizado a 10°C e outro rápido, a 90°C. O caseinato de sódio contribuiu para favorecer a característica elástica e viscosa dos sistemas analisados, principalmente na acidificação lenta, porém, o comportamento reológico foi governado principalmente pela velocidade de acidificação, pois os géis formados pelo processo lento apresentaram G' e G'' superiores aos sistemas formados por acidificação rápida. Géis de caseinato - amido formaram estruturas pouco agrupadas, com cadeias ramificadas, cuja rede ficou mais estruturada com o aumento da concentração dos polímeros, sendo que, a porosidade dos géis formados por acidificação lenta foi maior e mais uniformemente distribuída que dos géis formados por acidificação rápida. A sacarose atuou como um agente anti-retrogradante, sendo que, este efeito foi mais importante para a interação sacarose-amilopectina do que para a sacarose-amilose. Apesar de retardar o

envelhecimento, a sacarose não atuou fortemente sobre as interações, sendo que as propriedades dos géis mostraram ser mais fortemente dependentes da concentração de biopolímeros e, principalmente, da temperatura de acidificação. Amostras contendo maiores concentrações de amido/caseinato apresentaram maior capacidade de retenção de água (WHC) e menor sinerese. A retrogradação do amido de amaranto não foi elevada, no entanto, valores de ΔH (re-gelatinização) aumentaram com a concentração de sacarose e tempo de armazenamento e decresceram com a adição de caseinato de sódio.

Palavras-chave: Amido de amaranto, caseinato de sódio, reologia e microestrutura.

SUMMARY

The starches are frequently added to the foods owed their properties and water retention, as colloidal emulsion-stabilizing agents. The amaranth is a low cost culture, and his starch, a new ingredient with potential industrial use. The caseinato of sodium is a salt derived of the casein thoroughly used as emulsion in foods. The study proteins and polysaccharide mixtures is of great interest, because such combinations can take the a wider interval of properties than the pure gels of protein or polysaccharide. In this work, the physiochemical characteristics of the starch and the interactions among amaranthus starch-sodium caseinate, added or not of sucrose, were studied in systems maintained at 10 °C and pH in the isoelectric point. These interactions were studied through thermal analyses, water holding capacity, syneresis, structural analysis and behavior rheologic of the biopolymers-sucrose mixture, during and after the gelation. Two acidification methods were compared, one performed at 10 °C (slow) and other, at 90 °C (fast). The sodium caseinate contributed to favor the elastic and viscous characteristic of the analyzed systems, mainly in the slow acidification, however, the rheologic behavior was governed mainly by the acidification speed, because the gels formed by the slow process presented G' and G'' superiors to the systems formed by the fast acidification. Starch-caseínato gels formed structures low contained, with ramified chains, whose net was more structured with the increase of the polymeric concentration, and, the gels porosity formed by slow acidification was larger and more evenly distributed that of gels formed by fast acidification. The sucrose acted as an anti-retrogradation agent, and, this effect went more important for the sucrose- amylopectin interaction than for the sucrose- amylose. In spite of delaying the aging, the sucrose didn't act strongly about the interactions, and the gels properties showed to be more strongly dependent of the biopolymers concentration and, mainly, of the acidification temperature. Samples containing larger starch-

caseinate concentrations presented larger water holding capacity (WHC) and smaller syneresis. The retrogradation of the amaranth starch was not elevated, however, values of ΔH increased with the sucrose concentration and time of storage and they decreased with the addition of sodium caseinate.

Keywords: Amaranth starch, sodium caseinate, rheology microstructure, differential scanning calorimetry.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. INTRODUÇÃO

Misturas de proteínas e polissacarídeos são freqüentemente encontradas em sistemas alimentares, sendo que ambos os biopolímeros contribuem para a textura e a vida-de-prateleira do produto. As proteínas podem exercer várias funções nos alimentos, como espessante de soluções, agente gelificante, espumante ou emulsificante, além do aspecto nutricional (SGARBIERI, 1996). Os polissacarídeos são adicionados a produtos alimentícios, para atuar como espessantes e estabilizantes, podendo inclusive formar géis (SYRBE *et al.*, 1998). Estes hidrocolóides são geralmente utilizados em produtos com redução total ou parcial de gordura, de forma a minimizar as alterações da textura do produto e evitar a separação de fases em emulsões. A influência dos hidrocolóides na textura do produto pode depender das interações entre os mesmos e também entre outros biopolímeros e/ou outros componentes do alimento. Conseqüentemente, é importante identificar as condições ótimas nas quais o polissacarídeo pode ser mais efetivo para as propriedades desejadas no produto, caracterizando, desta forma, os diferentes tipos de aplicação. Dentre os inúmeros polissacarídeos utilizados em alimentos, o amido vem sendo largamente usado na indústria de alimentos, inclusive em produtos lácteos.

Dentre os diferentes tipos de amido, tem-se o amido de amaranto que está recebendo grande aceitabilidade no mercado (AMAYA-FARFAN *et al.*, 2005). O interesse despertado recentemente pelo amaranto na Europa, Estado Unidos, Canadá e Japão, pode ser atribuído às suas propriedades nutricionais como alto teor de proteínas, fibras e vitaminas. Diferente da maioria das outras culturas de produtos alimentícios, o amaranto se desenvolve sob condições desfavoráveis aos cereais e às leguminosas, como são as altas planícies e os sertões da América do Sul. Uma característica agrônômica do amaranto, valiosa para o Brasil, é a capacidade da planta se desenvolver e frutificar em ambientes com luminosidade intensa, altas temperaturas (35 a 45°C) e restrição hídrica. Isto explica a adaptabilidade das espécies ao Cerrado e aos Sertões apresentando um crescimento rápido, em apenas três meses (USO & OKORIE, 1983 e AMAYA-FARFAN *et al.*, 2005).

O uso do amido na indústria de alimentos implica no conhecimento do comportamento dos géis produzidos, bem como das mudanças de estrutura produzidas pela interação do amido com os diversos ingredientes das formulações (proteínas, açúcares, ácidos, etc.). A adição de proteínas e hidrolisados protéicos em amido promove alterações significativas em suas propriedades ampliando a faixa de aplicações. Dentre estas, as proteínas do leite

possuem elevado valor nutricional, além de estar presentes em uma gama de produtos e análogos de produtos lácteos que demandam a utilização de espessantes e estabilizantes. O caseinato de sódio, um ingrediente obtido a partir da principal proteína do leite, forma soluções estáveis em pH neutro e gelifica quando o sistema é levado ao ponto isoelétrico, o que é característico de produtos lácteos acidificados como o iogurte.

As propriedades viscoelásticas de géis mistos e puros de biopolímeros diferem consideravelmente por causa das interações intermoleculares entre os diferentes componentes da mistura com a possível formação de uma rede tridimensional interpenetrante. Ensaio dinâmico, realizados por compressão biaxial, aplicados sob condições de pequena deformação, em baixas frequências, são convenientes para o estudo do grau de organização estrutural de sistemas poliméricos e das ligações inter e intramoleculares, podendo classificar em géis fortes e fracos (ROSS-MURPHY, 1998).

Misturas de proteínas, polissacarídeos e sacarose são freqüentemente encontradas em sistemas alimentares, contribuindo para a viscosidade e a vida-de-prateleira do produto. Em soluções aquosas, a adição de sacarose pode alterar as propriedades termodinâmicas das proteínas e polissacarídeos, através de interações diretas entre o co-soluto e o polissacarídeo ou através de modificações na estrutura e disponibilidade da água. Essas mudanças modificam as interações dos biopolímeros e conseqüentemente alteram propriedades dos sistemas, inclusive as interações com o solvente.

Conseqüentemente, as interações entre os biopolímeros, sacarose e água são de grande interesse no entendimento das propriedades de um alimento, influenciando no comportamento reológico, térmico, sensorial e vida de prateleira. A capacidade das proteínas e polissacarídeos, quando em solução, de formar géis estáveis através do aquecimento e resfriamento é uma importante propriedade funcional (MORR & HA, 1993). Porém, durante o processo de gelificação, tanto a proteína quanto o polissacarídeo, durante o arranjo da estrutura tridimensional, podem levar à exclusão de parte da água inicial. Este processo de exsudação, a que chamamos sinerese, pode continuar ao longo do tempo de existência do gel e ocorre principalmente em baixas temperaturas.

A capacidade de retenção de água é uma das principais propriedades funcionais desejáveis em um gel, pois está associada a problemas práticos como sinerese, textura sensorialmente arenosa, aumento de rendimento e automação dos processos (HINRICHS, 2003). A água é retida na estrutura do gel por forças de capilaridade ou, simplesmente, é

aprisionada na malha gelificada. Na maior parte dos estudos efetuados, a capacidade de retenção de água foi avaliada recorrendo a técnicas de centrifugação e quantificando a água expelida do gel por diferença de peso. Neste tipo de ensaios, convém salientar, as amostras são sujeitas a forças centrífugas relativamente elevadas e a quantidade de água que sai da amostra vai depender, não só da capacidade intrínseca do gel reter a água, mas também da compressibilidade do próprio gel, sendo que, maior compressibilidade implicará em menor quantidade de água retida (RESIO et al., 1999 e 2000).

As interações entre biopolímeros é um bom indicativo do quão forte é a rede tridimensional formada, a qual influencia nas características finais do produto. Quando um polissacarídeo, como o amido, é adicionado a sistemas contendo proteínas, as interações entre estes biopolímeros são influenciadas pelas condições do sistema, tais como: pH, força iônica e temperatura. Como essas misturas de biopolímeros são muito importantes em sistemas alimentícios, modificando e enriquecendo as características dos produtos, justifica-se o estudo das interações formadas entre eles.

O objetivo geral deste trabalho foi analisar o comportamento reológico sob cisalhamento e compressão biaxial, de sistemas-modelo contendo amido de amaranto, caseinato de sódio e sacarose em diferentes concentrações e utilizando duas velocidades de acidificação, de forma a entender os mecanismos de interação entre os componentes.

O comportamento de interação entre os biopolímeros, a sacarose e o solvente foi analisado através de ensaios térmicos (gelatinização e retrogradação), capacidade de retenção de água e sinerese. A tese consta dos seguintes capítulos:

Capítulo 2: Revisão bibliográfica dos assuntos abordados.

Capítulo 3: Estudo das propriedades físico-químicas do amido de amaranto.

Capítulo 4: Estudo da influência da velocidade de acidificação nas propriedades reológicas, pH e estruturais de sistemas modelo contendo amido de amaranto - caseinato de sódio. Comparou-se dois métodos de preparação, utilizando, um lento, realizado a 10°C e um rápido, a 90°C. Foram avaliadas as propriedades reológicas em cisalhamento oscilatório, curvas de escoamento e compressão biaxial, além de análises de microestrutura por microscopia eletrônica de varredura (SEM) e transmissão (TEM).

Capítulo 5: Avaliação das interações entre os diferentes componentes (amido de amaranto-caseinato de sódio-sacarose), verificando a influência da taxa de acidificação na cinética de pH e de gelificação, através da turbidez, e ensaios reológicos.

Capítulo 6: Análise do gel, no equilíbrio, e da intensidade de retrogradação dos sistemas em diferentes tempos de armazenamento, através de ensaios de calorimetria diferencial de varredura, medidas de sinerese e capacidade de retenção de água.

Capítulo 7: Conclusões gerais.

1.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMAYA-FARFAN, J.; MARCÍLIO, R.; SPEHAR, C. R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para sua alimentação? A proposta do amaranto (*Amaranthus sp.*). *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 12, n. 1, p. 47-56, 2005.

HINRICHS, R.; GOTZ, J.; WEISSER, H. Water-holding capacity and structure of hydrocolloid-gels, WPC-gels and yogurts characterized by means NMR. immobilized proteinase on thermal gelation properties of β -lactoglobulin B. *Journal of Dairy Research*, v. 67, p. 597-608, 2000.

MORR, C. V.; HA, Y. W. Whey protein concentrates and isolates processing and functional properties. *Food Science and Nutrition*, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.

RESIO, A. C. Almidón de amaranto: Obtención y evaluación de sus características fisicoquímicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires / Argentina, 1999.

RESIO, A. N. C.; TOLABA, M. P.; SUAREZ, C. Algunas propiedades físicas y térmicas del almidón de amaranto. *Food Science and Technology Internacional*, v. 6, n. 5, p. 371-378, 2000.

ROSS-MURPHY, S. B. Reversible and irreversible biopolymer gels-structure and mechanical properties. *Berichte der Bunsen-Gesellschaft – Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 102, p. 1534-1539, 1998.

SGARBIERI, V. C. *Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradação, modificações*. São Paulo: Varela, 1996, 517 p.

SYRBE, A.; BAUER, W. J.; KLOSTERMEYER, N. Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, v.8, n.3, p. 179-193, 1998.

USO, J. O.; OKORIE, A. U. *Amaranthus hybridus*, a potential grain crop for West Africa. *Nutrition Reports International*, v. 27, n. 3, p. 519 – 524, 1983.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ÍNDICE

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. Amido.....	12
2.1.1. Estrutura do grânulo	12
2.1.2. Índice de inchamento do amido.....	13
2.1.3. Variáveis que influenciam o processo de gelatinização do amido.....	14
2.1.4. Efeito da sacarose na gelatinização de suspensões de amido	16
2.1.5. Retrogradação do amido	18
2.2. Caseínas.....	20
2.2.1. Processo de acidificação da caseína.....	23
2.2.2. Efeito da sacarose em suspensões de biopolímeros	25
2.3. Interação amido-proteína	27
2.4. Caracterização Reológica	29
2.4.1. Viscosidade extensional (Compressão Biaxial Imperfeita com Lubrificação)	31
2.5. Principais características que ocorrem nas interações proteína-polissacarídeo	34
2.5.1. Separação de fases.....	34
2.5.2. Capacidade de Retenção de água.....	34
2.5.3. Sinerese	35
2.6. Microestrutura de géis constituintes de alimentos.	36
2.7. Características térmicas.....	37
2.8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	39

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Amido

2.1.1. Estrutura do grânulo

O amido constitui uma importante reserva de nutrição de todas as plantas superiores (sementes, tubérculos, rizomas e bulbos). É um dos elementos mais importantes da alimentação humana pelo fato de ser facilmente hidrolisado e digerido. Sua estrutura é formada por dois polímeros, a amilose e amilopectina que são constituídas de cadeias de α -D-glucopiranosose. A amilose é um polissacarídeo linear com peso molecular entre 300 a 10^4 g/mol, formado por unidades de D-glucopiranosose unidas entre si por ligações glicosídicas α (1-4). A amilopectina é a fração altamente ramificada do amido e é formada por várias cadeias constituídas de 20 a 25 unidades de α -D-glucopiranosose, com um peso molecular total da ordem de 10^7 a 10^9 g/mol. As proporções de amilose e amilopectina exercem influência na viscosidade e na capacidade de gelificação do amido (TESTER & MORRISSON, 1990).

O amido constitui de 48 % a 69 % (b.s.) do grão de amaranto, dependendo da espécie, e está armazenado no endosperma da semente. Os grânulos de amido são pequenos (1 – 3 μ m), de forma esférica ou poligonal (SAUNDERS & BECKER, 1984) e se encontram aglutinados com a proteína na forma esférica (ZHAO & WHISTLER, 1994; RESIO et al., 1999). O elevado teor de amilopectina em relação à amilose, o classifica como amido tipo “waxy”, o que lhe confere propriedades funcionais específicas (BELLO-PEREZ et al., 1998).

Durante o aquecimento do amido em excesso de água se dá um processo complexo, gelatinização, que compreende a difusão da água para dentro do grânulo, a lixiviação da amilose e a fusão da amilopectina. Este processo tem sido estudado convencionalmente

pelo perfil amilográfico e por DSC e, recentemente, por reologia dinâmica (QUISPE, 2003 e BROUILLET-FOURMANN, et al., 2003).

A temperatura em que ocorre a gelatinização depende de vários fatores e diversos valores do intervalo de gelatinização do amido de "*Amaranto cruentus*" medidos em um DSC, a uma taxa de 10°C/min, foram reportados: 70,6-82,9°C (RADOSAVLJEVIC et al., 1998), 61,3-73,7°C (PAREDES-LÓPEZ & HERNÁNDEZ-LÓPEZ, 1991), e 64,5-87°C (WU et al., 1999). Deve-se ressaltar, no entanto, que os resultados não são comparativos, pois os teores de água e amido "*Amaranto cruentus*" utilizados na suspensão foram diferentes. O mesmo se aplica para os valores de entalpia reportados: 15,0 J/g (RADOSAVLJEVIC et al., 1998) e 9,07 J/g (WU et al., 1995). PEREIRA (2004) estudou sistemas de *Amaranthus cruentus* contendo 5 -25% de amido e encontrou o intervalo de temperatura de gelatinização entre 67,7 e 69,8°C e entalpia de gelatinização de 13,76 J/g de amido seco.

2.1.2. Índice de inchamento do amido.

Durante a gelatinização, o grânulo de amido se rompe, liberando as cadeias curtas de amilose, gerando espaços vazios dentro do grânulo, que passam a ser ocupados pela água, resultando assim em um sistema formado por uma fase rica em amilose (dispersa na solução) e grânulos inchados de amido (parcialmente desintegrados), constituídos principalmente de cadeias de amilopectina (CONDE-PETIT et al., 1998). O grânulo do amido de amaranto apresenta uma elevada capacidade de ligação com a água, quando comparado ao de milho, ou seja, um alto poder de inchamento se deve à uma menor concentração de amilose (RESIO et al., 2000).

A gelatinização de grãos de amido, por aquecimento, é facilitada em amidos com elevado poder de inchamento. A separação dos dois polímeros de amido é favorecida pelo fato da amilose estar localizada nas regiões amorfas do amido e por ela ser um polímero menor que a amilopectina (TESTER & MORRISON, 1990).

Em presença de água e calor, os grânulos de amido irão inchar até que a pressão osmótica gerada pelos grânulos (dependente diretamente da afinidade do solvente com o amido) se iguale à firmeza da rede de gel gerada pelo inchamento dos mesmos. Torna-se claro portanto, que se as características do solvente ou processo forem alteradas, como por exemplo pelo aumento da temperatura, aplicação de um cisalhamento ou a adição de outros componentes com elevada afinidade com as cadeias de amido, haverá um aumento do inchamento dos grânulos (PARKER & RING, 2001).

O poder de inchamento do grânulo de amido é essencialmente uma propriedade da amilopectina. A amilose age somente como um diluente mas pode ter essa ação inibida pela ligação com outros componentes acrescentados na suspensão (ex: lipídeos, outros polímeros) o que conseqüentemente pode dificultar o inchamento do grão de amido (ZOBEL, 1998; TESTER & MORRISON, 1990; BLANSHARD, 1987).

2.1.3. Variáveis que influenciam o processo de gelatinização do amido

Quando uma solução de amido gelatinizada é resfriada haverá a formação de gel ou de precipitados microcristalinos, dependendo da concentração das soluções e da velocidade do resfriamento (CALZETTA et al., 1999). Esses precipitados cristalinos são formados devido à tendência de formação de ligações intermoleculares da fração linear, o que não acontece com a amilopectina, na qual essa associação é dificultada pelas ramificações. Diversos fatores influenciam a formação do gel (HERMANSSON et al., 2004):

a) Composição do amido: dependendo da concentração da amilose e de amilopectina será formado um gel firme com grande capacidade de retrogradar (amilose) ou um gel de difícil formação, com textura gomosa e coesiva (amilopectina).

b) Efeito da temperatura: Em amidos com alto conteúdo de amilopectina, a temperatura exerce pouca influência, sendo mais importante o conteúdo de sólidos e pH.

c) Efeito do açúcar: Dependendo da sua concentração, pode formar géis mais transparentes e macios, em concentrações específicas pode aumentar a retenção de água, hidratando os grânulos de amido ou pode competir pela água presente. A adição de um sólido solúvel como a sacarose, diminui a atividade de água e conseqüentemente, a quantidade de água livre disponível para solvatar o polissacarídeo, aumentando as interações hidrofóbicas entre os grupos éster-metilícos.

d) Efeito do ácido: Quando o ácido é utilizado, nem sempre o produto se torna espesso ou se gelatiniza apropriadamente. A redução do pH provoca a protonação dos grupos carboxílicos das amilopectinas, diminuindo a repulsão eletrostática entre as cadeias e aumentando a formação das pontes de hidrogênio (ZOBEL, 1984).

O mecanismo de formação do gel de amido foi primeiramente discutido por MILES & MORRIS (1985), que postularam a separação em duas fases: uma rica e outra pobre em amilose. As medidas reológicas dinâmicas dos géis obtidos a partir de amido revelam sua natureza viscoelástica, em que o sistema se comporta como um compósito, ou seja, um gel de amilose, reforçado pelos grânulos de amidos hidratados remanescentes, suspensos na rede. As propriedades reológicas dependerão tanto da fração volumétrica dos grânulos parcialmente hidratados, como de sua compressibilidade e da adesão entre a fase dispersa e a contínua. CARNALLI & ZHOU (1996) estudaram as propriedades viscoelásticas de sistemas com amilose e com grânulos isolados livres de amilose e comprovaram o aumento de G' (módulo de armazenamento) quando a fração da fase dispersa é aumentada (HERMANSSON & SVEGMAR, 1996; AVANZA et al., 2003). Sendo que o módulo de armazenamento é uma propriedade relacionada a eventos moleculares de natureza elástica BARNES et al., (1989).

QUISPE (2003) estudou o comportamento reológico de suspensões de amido de amaranto que apresentaram comportamento pseudoplástico na taxa de deformação entre

0,01 e 600 s⁻¹. O comportamento viscoelástico das suspensões foi estudado por reologia dinâmica e variou pouco com a temperatura. As concentrações das amostras variaram de 5 a 15% de amido previamente gelatinizado e estes se comportaram como géis fracos.

2.1.4. Efeito da sacarose na gelatinização de suspensões de amido

Em geral, os açúcares têm efeito protetor em suspensões de amido, adiando a retrogradação do amido, especialmente em temperaturas entre 4 e 25 °C. Entretanto, quando o armazenamento é submetido a temperaturas muito baixas (-20 °C) esta tendência se inverte (KOHYAMA & NISHINARI, 1991). AHAMAD & WILLIAMS (1999) verificaram ainda que diversos açúcares (ribose, frutose, maltose e lactose) interferiram na quantidade de amilose lixiviada e portanto na estrutura do gel formado a partir de amido de sorgo.

Hoje, sabe-se que a gelatinização dos alimentos que contém amido e são submetidos ao aquecimento durante o processamento industrial ou mesmo no seu uso doméstico é grandemente influenciada pela concentração dos demais componentes, como proteínas, lipídios, sais e açúcares presentes. Torna-se, portanto, desejável o entendimento do efeito de cada um destes componentes sobre o comportamento global do amido presente nestes alimentos. Optou-se por estudar o efeito da sacarose em detrimento aos demais açúcares em razão de ser ela utilizada na maioria das formulações de alimentos industrializados ou mesmo caseiros (como pães e derivados).

Não há hoje um consenso sobre o efeito da adição de açúcares na temperatura e entalpia de gelatinização, o que pode ser verificado pelo fato de já ter sido reportado que a adição de açúcares não afeta (ELIASSON, 1992), aumenta (KOHYAMA & NISHINARI, 1991), assim como diminui (CHUNGCHAROEN & LUND, 1987) a temperatura e entalpia de gelatinização do amido.

A temperatura de gelatinização aumenta com a adição de açúcares, o que provavelmente se deve ao fato da hidratação das moléculas de açúcar diminuir a água livre

(o que equivale a ter altas concentrações de amido), ou ainda, à interação das moléculas de açúcar com as cadeias da molécula de amido, estabilizando suas regiões cristalinas (KOHYAMA & NISHINARI, 1991). XU et al. (1986) observaram ainda que para uma mesma concentração de açúcar, o aumento da temperatura de gelatinização é maior para o sistema com adição de sacarose do que aqueles com glicose ou frutose.

Mais recentemente, no entanto, ELIASSON (1992) afirmou que o efeito da sacarose na endoterma de gelatinização depende da proporção de amido:água presente no sistema. Em sistema com excesso de água (o que vai variar de acordo com o tipo de amido), a sacarose causa um aumento das temperaturas de início (T_o), pico (T_p) e fim (T_f) de gelatinização e a faixa de gelatinização (ΔT) não é praticamente afetada. Já para sistemas com uma quantidade limitada de água as temperaturas de gelatinização (T_o e T_p) são maiores e ΔT diminui com a adição de açúcar. Nestes sistemas também pode ocorrer uma dupla endoterma, pois os grânulos hidratados iniciam a gelatinização formando um pico, assim que os outros grânulos, que estão competindo com a sacarose pela água, se hidratam inicia-se uma nova fase de gelatinização, mas que já não corresponde à sua T_{gel} verdadeira (PAREDES-LOPEZ & HERNANDEZ-LOPEZ, 1991).

AHAMAD & WILLIAMS (1999) explicaram o efeito do açúcar sobre as suspensões de amido em termos de inibição da organização das cadeias. As moléculas de açúcar com grupos hidroxilas equatoriais (como a ribose) impedem a reorganização da cadeia, tornando toda a estrutura fraca, enquanto aqueles com grupos hidroxilas axiais (como a frutose) têm efeito contrário (ACQUARONE & RAO, 2003).

SLADE E LEVINE (2002) afirmaram que a água age como um plasticizante, diminuindo a temperatura de transição vítrea (T_g) do amido e com isso a temperatura de fusão das cristalidades. Já o açúcar tem um efeito anti-plasticizante, diminuindo o efeito da água na T_g . Conclui-se daí que, em sistema com excesso de água, a mesma tem um efeito altamente cooperativo na ocorrência da gelatinização (EVANS & HAISMAN, 1982), o que é

perdido a medida que se diminui a quantidade de água no sistema, mas é recuperado quando uma quantidade suficiente de sacarose é adicionada ao sistema (ELIASSON, 1992).

2.1.5. Retrogradação do amido

Após a gelatinização e o resfriamento do sistema, este se reestrutura ao longo do tempo em um processo denominado retrogradação. Neste processo há sempre liberação de moléculas de água anteriormente ligadas às cadeias de amilose, e esse fenômeno é denominado sinerese, com eventual saída de líquido. Tal fenômeno é de grande interesse, pois influencia a qualidade, aceitabilidade e vida de prateleira dos produtos contendo amido (SEOW et al., 2000).

A retrogradação ocorre devido a dois processos cineticamente distintos (KOO et al., 2005):

- a) Gelificação rápida da amilose formando segmentos dupla-hélices na cadeia, seguido de agregações hélice-hélice.
- b) Recristalização lenta da rede de amilopectina.

A retrogradação ocorre principalmente a baixas temperaturas e com altas concentrações de amido (BILIADERIS, 1991; PATON, 1987). YAO et al., (2002) sugeriu que a amilose também pode interagir com cadeias externas de amilopectina e potencializar a formação de cristais durante a retrogradação.

A retrogradação é um processo complexo, no qual as cadeias de amilose solubilizadas durante a gelatinização se agregam formando duplas-hélices cristalinas que são estabilizadas por pontes de hidrogênio. Durante o resfriamento, estas hélices se agregam novamente formando estruturas cristalinas tridimensionais (tipo β), que são altamente estáveis. A retrogradação da amilose é rápida, ocorrendo em poucas horas, enquanto a amilopectina requer tempos mais longos (dias ou semanas) e formam cristais

menos estáveis (ponto de fusão=60°C) que os da amilose (ponto de fusão=150°C). Conclui-se, portanto, que o tempo e a temperatura de armazenamento são fatores importantes no processo de retrogradação (SEOW et al., 2000). Além disso, a taxa de retrogradação é afetada pela relação de amilose e amilopectina, tamanho molecular, temperatura de armazenamento, pH, lipídeos, hidrocolóides, sacarose e outras fontes orgânicas (KOHYAMA et al. 2004).

O DSC foi utilizado pela primeira vez para medir a gelatinização e retrogradação do amido por STEVENS & ELTON (1971) e desde então vem sendo largamente utilizado para quantificar a cristalinidade, determinar a cinética da retrogradação e estudar o efeito de fatores que influenciam ambos fenômenos.

Vários autores estudaram a retrogradação do amido de amaranto na presença de diversos solutos (PAREDES-LOPEZ et al, 1994; PAREDES-LOPEZ & HERNANDEZ-LOPEZ, 1991 e BAKER & RAYAS-DUARTE, 1998a; KOHYAMA & NISHINARI, 1991; ELIASSON & KIM, 1992; CHUNGCHAROEN & LUND, 1987; SINGHAL & KULKARNI, 1990).

Em relação à sua resistência a sucessivos ciclos de congelamento, BAKER & RAYAS-DUARTE (1998a e 1998b) estudaram a estabilidade dos géis de amido de amaranto, milho e trigo, por centrifugação e DSC, bem como a influência da adição de cloreto de sódio e de diversos sacarídeos. Os géis de amaranto foram os mais estáveis após quatro ciclos de congelamento e descongelamento, apresentando uma maior estabilidade quando estocados a uma faixa de temperatura de - 20 a 4°C do que a 25°C. Tais resultados estão de acordo com o que foi reportado por WHITE et al. (1989), que verificaram que amidos mais estáveis à ciclos de congelamento e descongelamento são também mais estáveis à armazenagem refrigerada.

A retrogradação não é uma análise simples de se determinar utilizando o DSC. A transição endotérmica também ocorre durante a varredura de temperatura, no entanto, o pico endotérmico da recristalização da amilopectina (re-gelatinização) não é bem definido como os picos do processo de gelatinização. Essa diferença nas curvas endotérmicas de gelatinização e retrogradação foi mencionada nos estudos de outros autores (GONI et al., 2007 e KOHYAMA et al., 2004).

2.2. Caseínas

Vários estudos têm sido conduzidos com diferentes tipos de proteínas, no sentido de melhorar ou ampliar seu uso como ingrediente funcional. As proteínas do leite são usadas como valiosos ingredientes alimentícios, devido ao seu elevado valor nutricional e funcional, sendo que o leite bovino possui 80% de suas proteínas na forma de caseína e apenas 20% como proteínas do soro (SGARBIERI, 1996). A caseína é essencial na produção de muitos alimentos formulados (EARLY, 1998) como bebidas, queijos processados, produtos de panificação, indústria de chocolates, produtos fermentados, sopas, cereais matinais, pastas e produtos cárneos.

A caseína apresenta quatro frações protéicas: (α _{s1}-, α _{s2}-, β - e κ -caseína). A Tabela 2.1 ilustra a composição protéica das frações de caseína do leite bovino.

Tabela 2.1: Peso molecular e pH isoelétrico das caseínas (WALSTRA, 1990; WONG *et al.*, 1996).

Fração protéica	pH isoelétrico	Peso molecular (Da)
α s1 caseína	4,1	23.614
α s2 caseína	4,1	24.350
β caseína	4,5	23.982
κ caseína	4,1	19.023
γ caseína*	5,8	21.000

* Formada a partir de clivagens ocorridas na estrutura da β caseína.

As caseínas (Cn) são fosfoproteínas, constituídas de quatro frações principais (α s1-, α s2-, β - e κ -caseína), as quais possuem grupos fosfatos esterificados nos resíduos de serina (WONG *et al.*, 1996).

Nas α - e β -caseínas, todos os sítios fosforilados estão localizados em aglomerados na região N-terminal, enquanto que nas κ -caseínas, os poucos resíduos serina disponíveis para a fosforilação, estão no segmento C-terminal e não são encontrados em aglomerados (HOLT & SAWYER, 1988).

As α s1-Cn apresentam estruturas pouco ordenadas e correspondem à fração que apresenta a maior carga iônica. As α s2-Cn são as mais hidrofílicas devido à maior fosforilação e maior quantidade de resíduos catiônicos. As α s1-Cn e α s2-Cn possuem altos teores de fosfato e são muito sensíveis à presença de íons Ca^{2+} , os quais causam a precipitação dessas frações de caseínas. As β -Cn são as que apresentam maior hidrofobicidade, sendo que sua molécula possui uma região N-terminal polar e uma região

C-terminal altamente hidrofóbica. Esta concentração de regiões hidrofílicas e hidrofóbicas nas regiões terminais torna a β -Cn mais surfactante que as outras caseínas.

As β -Cn contêm quantidades intermediárias de fosfato, são moderadamente sensíveis ao cálcio e diferentemente das outras caseínas, a auto-associação da β -Cn é dependente da temperatura. A κ -Cn é a fração que possui o mais baixo teor de fosfato, não precipita em baixos valores de pH, nem em presença de cálcio. As κ -Cn possuem uma região N terminal hidrofóbica e a região C-terminal hidrofílica (BRIGNON *et al.*, 1977). A hidrofobicidade média das quatro frações de caseínas, em ordem decrescente é: β (5,56) > κ (5,37) > α_{s1} (4,89) > α_{s2} (4,64) kJ/mol de resíduo, baseada na energia livre de transferência de cadeias laterais de aminoácidos de um meio orgânico para um meio aquoso (BRIGNON *et al.*, 1977; CHEFTEL *et al.*, 1989) e isso indica os tipos de interações que ocorreram entre as moléculas de proteína.

As diferentes frações da caseína agregam-se através de ligações eletrostáticas ou hidrofóbicas, formando submicelas. Essas submicelas possuem uma parte interna hidrofóbica que é coberta por uma camada hidrofílica formada, em grande parte, por κ -caseína que adquire uma estrutura flexível em água. Por outro lado, essas submicelas associam-se através de pontes de fosfato de cálcio constituindo as “micelas” (WALSTRA, 1999), conforme esquematizado na Figura 2.1.

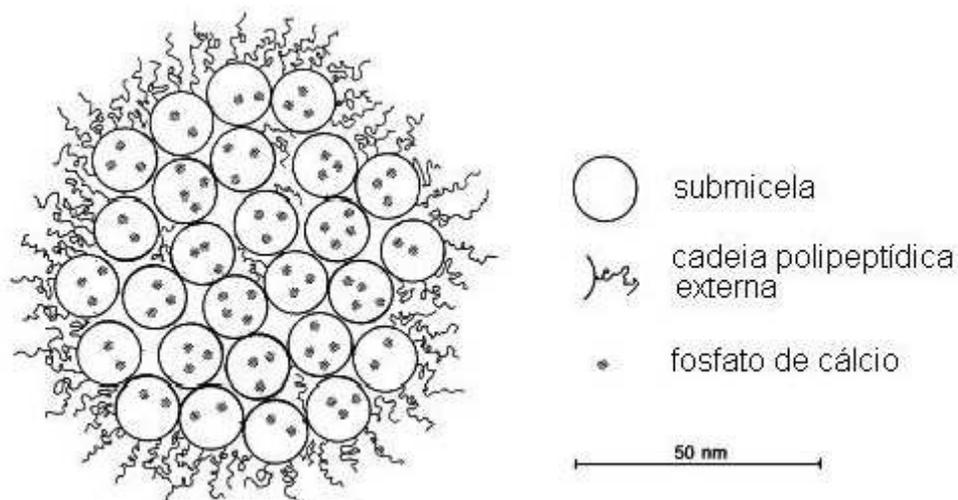


Figura 2.1 Esquema-modelo(secção transversal) de uma micela de caseína (WALSTRA, 1999).

Sais de caseinato são preparados pela dissociação das micelas através da adição de ácidos. No caso do caseinato de sódio, após a lavagem das proteínas precipitadas, estas são re-dissolvidas pela adição de hidróxido de sódio (NaOH) para restaurar a neutralidade. A alta proporção de cadeias de aminoácidos hidrofóbicos em toda a estrutura primária da caseína leva o caseinato de sódio a formar agregados (ou “submicelas”) em soluções aquosas, com a maior parte das regiões não-polares (hidrofóbicas) localizadas no interior de um denso núcleo com pouca água associada (FARREL *et al.*, 1990). A associação subsequente das sub-micelas para formar as grandes micelas de caseína é prevenida devido à remoção da maior parte do cálcio da micela, durante o processo de acidificação (OAKENFULL *et al.*, 1999 e OAKENFULL & SCOTT, 1986).

2.2.1. Processo de acidificação da caseína

A menor solubilidade dos concentrados de caseína é obtida em pH 4,6 (ponto isoelétrico). As micelas de caseína se modificam com a variação de pH, sendo que a partir do pH 5,8 as micelas começam a ficar mais próximas, porém mantêm a forma nativa. Na transição entre o pH 5,5 e 5,0 ocorre uma modificação na natureza e no número de ligações

interpartículas. Quando estudado por reologia dinâmica, observa-se um mínimo em $\tan\delta$ no pH de 5,3, demonstrando um aumento nas propriedades elásticas, apesar do sistema ainda estar na forma líquida, devido à deformação e alongamento das partículas de caseína. No intervalo de pH entre 5,3 e 4,8, a estrutura alongada da caseína se torna mais densa até fragmentar-se em unidades menores. As partículas de caseína não adquirem imediatamente a forma esférica, permanecendo nesta etapa até o pH 4,7. Esta etapa de agregação é caracterizada pela reincorporação das β e κ -caseínas na estrutura micelar, pelo decréscimo da solvatação e pelo aumento na razão entre G' e G'' , o que leva a um gel mais fraco. O pH afeta os valores dos módulos indiretamente pela modificação da estrutura das partículas e diretamente pela alteração do número de ligações entre elas (KRUIF, 1997).

A última etapa do processo de acidificação é a gelificação que ocorre quando o pH atinge o valor de 4,6 (ROEFS & VAN VLIET, 1990). Alterando o pH da solução na direção do ponto isoelétrico (pI) das proteínas, conduz para gelificação a frio pela redução de repulsão eletrostática entre os agregados de proteína (CAVALLIERI & CUNHA, 2008). Este processo leva a géis de estrutura particulada, que consiste de filamentos de caráter heterogêneo com áreas de alta densidade de partículas de caseína e regiões sem esta proteína. Estas regiões são grandes cavidades, entre os conglomerados e os filamentos, ocupada por material líquido (ROEFS & VAN VLIET, 1990).

A proteína do leite pode ser acidificada pela ação de culturas bacterianas através da fermentação da lactose com ácido láctico, pela adição de ácidos inorgânicos como HCl (acidificação direta), ou ainda pelo uso de glucona-delta-lactona (GDL), cuja hidrólise resulta na redução lenta do pH. Muitos estudos sobre a formação de géis ácidos tem sido realizados com GDL, pois a lenta diminuição do pH é similar ao que ocorre com culturas lácteas (LUCEY & SINGH et al., 1997).

O GDL é um éster que espontaneamente se hidrolisa formando ácido glucônico. Seu uso evita algumas dificuldades associadas ao uso das bactérias, como atividade variável e alterações no produto final dependendo do tipo de cultura utilizada. Além disso, o processo de acidificação utilizando o GDL é mais facilmente controlado; durante a gelificação com GDL, o pH final do sistema depende da quantidade de lactona adicionada, sendo que as bactérias produzem ácido até que estas sejam inibidas pelo baixo pH (BRAGA, 2002; BRAGA & CUNHA, 2005). A velocidade de acidificação está diretamente ligada com a temperatura do processo, as partículas que constituem géis ácidos de caseína são unidas essencialmente através de duas interações físico-químicas: ligações eletrostáticas e hidrofóbicas. A elevação da temperatura induz o aumento das forças hidrofóbicas promovendo maiores interações entre as partículas o que leva a um encolhimento das moléculas de caseína, este fenômeno requer junções mais fracas entre as partículas promovendo uma diminuição na viscosidade do sistema (HOUZÈ, et al, 2005).

2.2.2. Efeito da sacarose em suspensões de biopolímeros

A transição conformacional e a associação intermolecular de biopolímeros podem ser freqüentemente promovidas pela adição de açúcares como co-solutos. Este fenômeno pode ser explicado, em parte, pela redução no conteúdo de água (HATAKEYAMA *et al.*, 1988). A água é um solvente eficaz para os biopolímeros devido a sua habilidade de formar ligações de hidrogênio com grupos hidroxila e outros substituintes polares das cadeias dos polímeros. A introdução de um material (água+sacarose) com menos capacidade de se ligar ao hidrogênio promove uma associação polímero-polímero, reduzindo as interações polímero-solvente (OAKENFULL & SCOTT, 1986). O mesmo efeito foi observado em emulsões estabilizadas por caseinato, pois a presença de açúcares aumentou o número efetivo e a força das interações entre as partículas, levando a um maior grau de interconectividade da microestrutura do gel. Possivelmente, a contribuição da sacarose em

favorecer a característica elástica dos sistemas analisados pode estar relacionada ao fato desta influenciar fortemente as interações entre as proteínas (DICKINSON & MERINO, 2002).

A avaliação das interações entre biopolímeros e sacarose pode ser avaliada através da análise do estado da água nestes sistemas complexos. BRAGA (2002) relatou que os géis de caseína-xantana-sacarose apresentaram um grau muito elevado de sinerese que foi atribuído principalmente ao efeito da sacarose. Este co-soluto influenciou positivamente a fração de água não-congelável e estes sistemas apresentaram um teor reduzido de água congelável-ligada, que é característico de sistemas coacervados. A adição de sacarose nestes géis levou a um aumento de elasticidade até um valor crítico, cujo ponto variou com a temperatura de tratamento térmico. As interações co-soluto-água determinaram indiretamente as propriedades gerais do sistema, devido à competição com as interações polissacarídeo-sacarose. Entretanto, apesar da sacarose apresentar uma função importante na formação da rede estrutural, as propriedades mecânicas foram governadas pelas fortes interações entre os dois biopolímeros.

Quando ocorre um aumento na concentração de açúcar, em sistemas contendo biopolímeros, tem-se uma redução nos valores de viscosidade aparente, inclusive interagindo com outros componentes de maneira negativa. Isto pode indicar que os açúcares permitem uma maior mobilidade das cadeias moleculares, sendo que o efeito específico da sacarose adicionada sobre as propriedades reológicas de gomas depende do intervalo de taxa de deformação analisado (FREITAS, 2002).

LAUNAY & PASQUET (1982) mostraram que a adição de sacarose (10%) à uma solução de amido-guar 2% aumentou significativamente a viscosidade no intervalo de 50-100s⁻¹, entretanto em baixas deformações, a viscosidade relativa decresceu na presença de sacarose. Outros açúcares diferentes, entretanto, não apresentam a mesma influência,

embora sua eficácia em diferentes biopolímeros seja frequentemente a mesma. Por exemplo, a glucose, a frutose e a sacarose estabilizam as junções existentes nos géis de gelatina, carragena e agarose, mas o grau de estabilização segue a ordem frutose<glucose<sacarose. Estas diferenças são atribuídas, geralmente, à modificação da estrutura da água devido ao grau de modificação promovido pelos açúcares e por sua compatibilidade com as ligações de hidrogênio (moléculas de água) (EVAGELIOU et al., 2000a e 2000b) .

2.3. Interação amido-proteína

A gelatinização do amido é influenciada pela presença de outros ingredientes que, direta ou indiretamente, interferem na atividade de água e na sua microestrutura (BAKER & RAYAS-DUARTE, 1998a). Alguns ingredientes como sacarose, sal e proteínas competem com o amido pela água disponível no sistema afetando sua gelatinização.

Como já foi dito, o amido é formado por dois polissacarídeos principais: a amilose é essencialmente linear e a amilopectina é formada por cadeias ramificadas, possuindo uma distribuição irregular, além disso, a amilopectina possui uma fosforilação limitada fornecendo-lhe características poli-eletrolíticas. TAKEUCHI (1969) foi o primeiro pesquisador a estudar as interações de sistemas contendo proteínas e amido e verificou que a presença dos grupos funcionais da amilopectina fornece estruturas de fosfato aleatórias permitindo que as proteínas formem complexos com estas moléculas. ZALESKA et al., 2001 e KAPUSNIAK et al., 1999 estudaram sistemas acidificados de amido ceroso e caseína e observaram a formação de fortes interações envolvendo as hidroxilas e o grupo funcional fosfato do amido com as aminas e grupos carboxílicos das proteínas, concluindo que o amido ceroso (rico em amilopectina) é o mais recomendado para sistemas mistos, principalmente os que contém proteínas.

O efeito do pH no comportamento da mistura de proteína-amido em solução depende da natureza do polímero e se este é neutro ou carregado eletricamente; neste último caso, também depende do grupo iônico do polissacarídeo (TOLSTOGUZOV, 2003 e 1997). Num sistema com proteína e polissacarídeo aniônico, o pH tem efeito na auto-associação das proteínas e também na associação entre proteína e polissacarídeo. Um complexo coacervado é observado em valores de pH abaixo do pI das proteínas, em que os dois polímeros (proteína-polissacarídeo) possuem cargas opostas. Em valores de pH acima do pI das proteínas, ambos os polímeros possuem cargas predominantemente negativas. No caso de alguns polissacarídeos pode ocorrer a formação de complexos solúveis nessas condições, devido à atração entre as regiões positivamente carregadas na molécula da proteína com o polissacarídeo aniônico (PARK et al, 1992).

FERRERO (2002) verificou que a interação entre amido de batata-proteína do leite-açúcar diminuiu a retrogradação do amido e, conseqüentemente, a sinerese. Além disso, as proteínas interagem com a amilopectina que está fora do grânulo produzindo uma matriz complexa na qual se dispersam os grânulos de amilose gelatinizados, com conseqüente modificação das propriedades reológicas.

SUKHA et al. (2003) estudaram as mudanças reológicas e estruturais em géis amido-açúcar-gelatina em água. Antes de iniciar a mistura, o amido foi pré gelatinizado simulando a produção da maioria dos produtos de confeitaria. Os géis apresentaram um comportamento predominantemente elástico e análises microscópicas revelaram a separação de fases entre a gelatina e amido-açúcar (DICKINSON & ELIOT, 2003). Estes estudos mostraram que, apesar de apresentarem efeitos benéficos, alguns biopolímeros possuem características altamente hidrofílicas diminuindo a disponibilidade da água e causando dificuldades na dispersão e gelatinização do amido.

2.4. Caracterização Reológica

Reologia é o estudo da relação que existe entre as forças externas que atuam sobre um corpo e a deformação ou escoamento que as mesmas produzem (STEFFE, 1996). A importância do estudo desta relação se justifica pelo fato de que diferentes materiais respondem de forma diferente às forças externas a que são submetidos.

A caracterização reológica de biopolímeros (como o amido e o caseinato) pode ser realizada através de ensaios estacionários ou dinâmicos, dependendo da informação que se deseja obter. Ensaio estacionários são úteis em cálculos de tubulações, dimensionamento de equipamentos, desenvolvimento e otimização de processos (MORESI & SPINOSE, 1980), ou seja, são adequados quando se deseja entender o comportamento de fluidos durante aplicações industriais do mesmo. Já os ensaios oscilatórios são particularmente úteis para se caracterizar conformação macromolecular e as interações intermoleculares em solução (BARNES et al., 1989).

A faixa de deformação aplicada durante os estudos reológicos é um parâmetro muito importante, pois se a deformação ou taxa de deformação é pequena, as respostas obtidas refletem a estrutura molecular, como por exemplo, os arranjos envolvidos no processo de gelificação.

No entanto, quando as deformações são altas, os parâmetros obtidos são relevantes no desenvolvimento de processos ou na avaliação sensorial. A viscosidade obtida em cisalhamento ou em fluxo extensional são importantes parâmetros que estão associados à textura, porém o último mostra uma melhor correlação com o ato de deglutir (CAVALLIERI, 2003). Além disso, a orientação molecular causada pelo estiramento devido ao escoamento extensional, juntamente com o cisalhamento, podem produzir comportamento e produtos únicos (BARONI et al., 1999). Assim, a viscosidade extensional pode estar relacionada com a natureza polimérica dos constituintes alimentícios e este

parâmetro pode ser aplicado no desenvolvimento de novas formulações, controle de qualidade e desenvolvimento e modelagem de processos (PADMANABHAN, 1995; CAVALLIERI, 2003).

A análise de um material viscoelástico é bastante simples quando a razão entre a tensão e a deformação, em qualquer instante ou frequência, é independente da magnitude de tensão ou deformação aplicada, sendo apenas função do tempo. Nestas condições o material encontra-se dentro do intervalo de viscoelasticidade linear, pois se trabalha com deformações muito pequenas e a estrutura molecular praticamente não é afetada.

Ensaio de varredura de frequência ou espectros mecânicos são realizados com temperatura e tensão fixas, dentro do intervalo linear, obtendo-se como resposta os componentes do módulo complexo (G^*) em função da frequência (ROSS-MURPHY, 1998). O modelo mecânico de Maxwell, que contém amortecedores viscosos em série com molas elásticas, tem sido amplamente utilizado na caracterização do comportamento viscoelástico de líquidos ou sólidos poliméricos, dentro do intervalo de viscoelasticidade linear. O modelo generalizado de Maxwell está representado na Equação (2.1):

$$G^*(\omega) = \sum_{j=0}^n \frac{g_j i\omega \lambda_j}{1 + i\omega \lambda_j} \quad (2.1)$$

e seu componentes relativos às características elástica e viscosa nas Equações 2.2 e 2.3:

$$G'(\omega) = \sum_{j=0}^n \frac{g_j \omega^2 \lambda_j^2}{1 + \omega^2 \lambda_j^2} \quad (2.2)$$

$$G''(\omega) = \sum_{j=0}^n \frac{g_j \omega \lambda_j}{1 + \omega^2 \lambda_j^2} \quad (2.3)$$

onde, g é o módulo de relaxação, λ é o tempo de relaxação e ω é a frequência angular de oscilação.

Experimentos em reologia dinâmica também são adequados para monitorar o processo de gelificação e definir a estrutura do gel. Este processo pode ser observado tanto em ensaios de cura, a uma temperatura constante, quanto em ensaios com aumento e/ou redução da temperatura. Em ensaios de rampa de temperatura, a dificuldade experimental está na escolha da taxa de aquecimento adequada, sendo que geralmente, é utilizada a taxa de 1 °C/min (WIUM & QVIST, 1997). Entretanto, esta taxa pode ser muito alta para permitir que o equilíbrio do módulo complexo seja atingido em uma temperatura próxima do ponto de gel. A transição sol-gel pode ser observada verificando o decréscimo de $\tan \delta$ com a temperatura ou a partir do aumento brusco de G^* (AVANZA et al., 2003).

2.4.1. Viscosidade extensional (Compressão Biaxial Imperfeita com Lubrificação)

Os procedimentos de compressão axial podem ser realizados, num texturômetro, de diversas formas; utilizando-se geometrias perfeitas ou imperfeitas, em condição de volume ou área de compressão constante, aplicando em força de deslocamento (teste de creep) ou taxas de deslocamentos constantes no monitoramento da relação força momentânea de compressão e altura de amostra em análise (CAMPANELLA & PELEG, 2002; PADMANABHAN, 1995).

Os autores (CAMPANELLA & PELEG, 2002) também consideram que nos procedimentos reológicos usuais, a manipulação da amostra, no trajeto até o texturômetro, promove uma ruptura parcial da estrutura do alimento o que modifica suas propriedades reológicas. Como não é possível quantificar o grau de destruição no manuseio das amostras, existe sempre um elemento de incerteza nas medidas realizadas no que se refere à completa caracterização do comportamento reológico do produto. Este problema é

agravado quando este rompimento estrutural é irreversível, uma solução seria a formação da amostra na própria geometria de medida, o que em muitos casos é uma limitação prática (BARONI et al. 1999).

O “perfect lubricated squeezing flow” (compressão biaxial perfeita com lubrificação) está baseado na compressão de um produto por duas placas que devem estar lubrificadas com o objetivo de diminuir ao máximo o cisalhamento no produto, que neste caso é a superfície do alimento. Sem lubrificação, este experimento resulta no conhecido escoamento de Stefan, que é uma combinação de cisalhamento e compressão (SUWONSICHON & PELEG, 1999a, 1999b, 1999c).

Na compressão imperfeita, a amostra é colocada em recipientes de grande diâmetro como, por exemplo, uma placa de Petri. Uma grande vantagem desse método é que o material a ser testado pode ser introduzido na placa sem passar por condições que possam perturbar a estrutura da amostra. Com o intuito de evitar os efeitos de borda é necessário o uso de sondas de diâmetro superior a 10 vezes a altura da amostra na placa (CAMPANELLA & PELEG, 2002).

No caso do “imperfect squeezing flow “ (Figura 2.2), a força momentânea medida, $F(H)$, contém outros componentes que refletem a contribuição do escorregamento, efeito de entrada, fluxo anular e efeitos de saída. Porém, se as geometrias são suficientemente grandes e com uma abertura ampla, estes efeitos podem ser desconsiderados (HOFFNER et al., 1997).

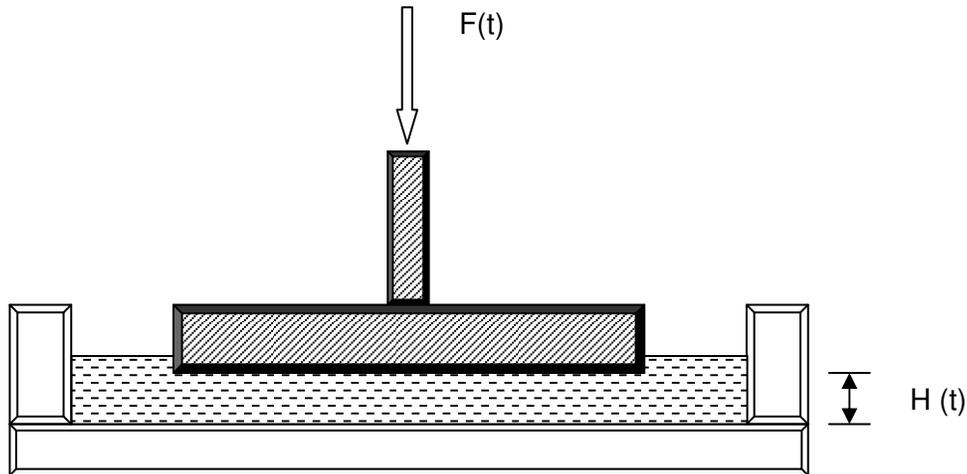


Figura 2.2: Esquema de uma geometria Imperfeita onde a placa de fundo é substituída por um recipiente largo (CAVALLIERI, 2003).

A força resultante do escoamento realizado sob “compressão biaxial com lubrificação” de um fluido que segue a lei de potência pode ser descrito pela Equação 2.4 (CAMPANELLA & PELEG, 1987, CAMPANELLA et al., 1987; CAMPANELLA & PELEG, 2002; GUNASEKARAN, 1996; HOFFNER, et al., 1997; LEE & PELEG, 1992; LORENZO et al., 1997; RAMIREZ-WONG et al., 1996; SUWONSICHON & PELEG et al., 1999a, 1999b).

$$F(H) = \pi R^2 K 3^{\frac{(n+1)}{2}} \left(\frac{V}{H}\right)^n \quad (2.4)$$

Onde F é a força momentânea, H , a altura momentânea, R , o raio da geometria, V , a taxa de deslocamento e K e n representam o índice de consistência do fluido e índice de comportamento do fluido, respectivamente.

Em ensaios de compressão biaxial com lubrificação, quando os dados de força e de altura da amostra são avaliados em coordenadas logarítmicas, o resultado obtido é uma reta com coeficiente angular $-n$. Uma vez determinado n , o valor de K pode ser calculado pela Equação 2.4.

2.5. Principais características que ocorrem nas interações proteína-polissacarídeo

2.5.1. Separação de fases

Muitos aspectos sobre as estruturas e propriedades dos biopolímeros formadores de géis são desconhecidos, apesar dos benefícios e da praticidade do uso dessas misturas em alimentos. Em princípio existem 3 situações de equilíbrio:

- Incompatibilidade: as interações são repulsivas, ocorrendo a segregação entre os biopolímeros e formando fases aquosas imiscíveis concentradas com somente um dos biopolímeros envolvidos.
- Coacervação complexa: ocorre atração entre as moléculas dos biopolímeros causando a formação de complexos. Neste caso também ocorre a formação de duas fases distintas, sendo que uma delas está concentrada com os biopolímeros enquanto a outra fase contém somente o solvente.
- Miscibilidade ou coacervação simples: o sistema é homogêneo e os biopolímeros estão distribuídos no solvente (SYRBE et al., 1998; TOLSTOGUZOV, 2002).

A partir do diagrama de fases pode-se determinar as regiões de estabilidade ou de uma fase (miscibilidade dos componentes) e de duas fases (incompatibilidade entre os biopolímeros) dependendo da concentração dos componentes (MORRIS, 1990 e TOLSTOGUZOV, 1995).

2.5.2. Capacidade de Retenção de água

A capacidade de retenção de água é uma das principais e desejáveis propriedades funcionais de um gel. A água é retida na estrutura do gel por forças de capilaridade ou, simplesmente, é aprisionada na malha gelificada. Na maior parte dos estudos efetuados, a capacidade de retenção de água foi avaliada recorrendo a técnicas de centrifugação e quantificando a água expelida do gel por diferença de peso. Neste tipo de ensaios, convém

salientar, as amostras são sujeitas a forças centrífugas relativamente elevadas e a quantidade de água que sai da amostra vai depender, não só da capacidade intrínseca do gel reter a água, mas também da compressibilidade do próprio gel, sendo que, maior compressibilidade implicará em menor quantidade de água retida (OTTE *et al.* 2000).

A análise de capacidade de retenção de água é uma ferramenta poderosa na tentativa de resolver problemas práticos como sinerese, textura sensorialmente arenosa, aumento de rendimento e automação dos processos (HINRICHS *et al.*, 2003).

2.5.3. Sinerese

A capacidade das proteínas e polissacarídeos, quando em solução, de formar géis estáveis através do aquecimento e resfriamento é uma importante propriedade funcional (MORR *et al.*, 1993). Porém, durante o processo de gelificação, tanto na proteína quanto no polissacarídeo, o arranjo da estrutura tridimensional pode levar à exclusão de parte da água inicial. Este processo de exsudação, a que chamamos sinerese, pode continuar ao longo do tempo de existência do gel e ocorre principalmente em baixas temperaturas.

Nas proteínas, a reação inicial do processo de gelificação envolve o enfraquecimento e quebra das pontes de hidrogênio e dissulfídicas desestabilizando a estrutura conformacional. Posteriormente, durante o resfriamento, ocorre polimerização das moléculas produzindo uma estrutura tridimensional, através de ligações dissulfídicas intermoleculares, interações hidrofóbicas e iônicas, capaz de imobilizar fisicamente grande parte do solvente (MANGINO *et al.*, 2002). A integridade física do gel de proteína é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas e destas com o solvente circundante, porém em muitos casos, parte da água é expelida espontaneamente devido a própria reorganização tridimensional de uma estrutura altamente móvel (ZIEGLER *et al.*, 1990).

A sinerese, em sistemas acidificados de caseinato de sódio, ocorre devido às características dinâmicas da rede e principalmente devido a contrações do gel (BRAGA & CUNHA, 2005 e MERINO et al., 2004), que pode ocorrer mesmo sem a aplicação de forças externas (LUCEY et al., 1997 e LUCEY & SINGH, 1998). Durante a acidificação da proteína ocorre um rearranjo na sua rede contribuindo para o processo de encolhimento, principalmente durante a acidificação lenta.

Quando se aumenta a quantidade de polissacarídeos hidrofóbicos em sistemas contendo proteína, podem ocorrer variações nos valores de água expelida espontaneamente (sinerese) devido a ligações que estes polímeros realizam diretamente com a proteína ou por mudanças nas suas conformações, devido a modificação no ambiente.

Apesar dos amidos, durante a gelificação e/ou armazenamento (sob refrigeração ou congelamento), apresentarem sinerese devido a interação das cadeias de amilose e amilopectina (FUNAMI et al., 2007a e 2007b), o sinergismo entre este polissacarídeo e a proteína modifica suas propriedades funcionais e estruturais reduzindo a sua sinerese (BRAGA & CUNHA, 2005).

2.6. Microestrutura de géis constituintes de alimentos.

De acordo com AGUILERA & STANLEY (1990), define-se como microestrutura de alimentos a organização dos componentes de um alimento e suas interações o que resulta em uma distribuição espacial. Ao sofrer processamento, a microestrutura do alimento é destruída e reconstituída, o que poderia ser entendido como uma série de operações e reestruturação e reorganização (KALÁB et al., 1995).

A estrutura do alimento é de grande importância em todos os aspectos de funcionalidade. Realmente, a organização microscópica da água e outros componentes do

alimento governam as informações macroscópicas que estão sendo observadas através de instrumentação, isto é, podem ser criadas áreas muito heterogêneas no interior do alimento fazendo que ocorram grandes modificações na estrutura e textura do produto final (DAVIS et al., 1980; KITAJIMA, 1999; AGUILERA & STANLEY, 1990). Os parâmetros que influenciam grandemente tais propriedades são a retenção de água e a distribuição da mesma; aumentando o conteúdo de água e, conseqüentemente, sua retenção pode-se criar mudanças drásticas no estado físico dos alimentos. A migração de água é governada pelas diferenças de potenciais químicos de água entre duas zonas diferentes do produto. Esta migração pode ser limitada pela porosidade do material, a viscosidade da matriz sólida e pelas interações múltiplas nas quais a água é envolvida. Depende também do coeficiente de difusão, temperatura, pressão, composição, fatores geométricos, etc. (CORNILLON & SALIM, 2000).

Nos últimos anos, a microestrutura de alimentos vem sendo reconhecida como um pré requisito necessário para entender as propriedades e funcionalidades dos alimentos. Todos aqueles que têm interesse em descrever, prever e controlar o comportamento de materiais alimentícios reconhecem a importância do conhecimento estrutural dos componentes e a forma como estão organizados, já que existe uma conexão causal entre estrutura e funcionalidade. Desse modo, técnicas de análise de microestrutura são necessárias para entender as relações estrutura-propriedades (AGUILERA & STANLEY, 1990), inclusive em sistemas contendo misturas de biopolímeros (TOLSTOGUZOV, 2003)

2.7. Características térmicas

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma técnica em que um diferencial de energia é medido entre uma substância e um material de referência como função da temperatura, quando ambos os materiais são sujeitos a um aquecimento ou resfriamento programado (HIGUCHI & IJIMA, 1985).

Quando uma transição térmica ocorre, a energia absorvida ou liberada pela amostra é suprida por um aumento, ou decréscimo, da energia fornecida à mesma pelo calorímetro, para manter o balanço de temperatura. Como esta energia fornecida é diretamente equivalente, em magnitude, à energia consumida na transição, um registro deste balanço de energia produz uma medição calorimétrica da transição de energia, a qual é registrada na forma de um pico. A área sob o pico é diretamente proporcional à mudança na entalpia (ΔH) e a sua direção indica se o evento térmico é endotérmico ou exotérmico (KARIM et al, 2000).

Uma cápsula de referência vazia é geralmente utilizada para que se consiga determinar a capacidade calorífica da amostra. Deve-se notar que, como as amostras são seladas hermeticamente dentro das cápsulas, o processo de gelatinização provavelmente ocorre sob uma pressão levemente elevada (2 a 3 atm) (SCHIRALDI et al, 1996) causado pelo aumento na pressão de vapor quando as amostras são aquecidas.

Na análise térmica por DSC, efetua-se uma varredura de temperatura nas cápsulas de referência e com amostra e, simultaneamente, o calor adicionado à amostra em relação à referência é medido. Qualquer mudança induzida termicamente, que ocorra na amostra é registrada na forma de um pico no termograma, quando se trata de uma transição de primeira ordem. Em alguns equipamentos, a energia extra requisitada para aquecer a amostra (processo endotérmico) é apresentada convencionalmente, como um pico negativo, enquanto que um pico positivo no termograma indica um processo com liberação de energia (processo exotérmico).

No DSC, a diferença no fluxo de calor entre a amostra e a referência inerte é medida em função do tempo e temperatura, tanto da amostra como da referência, estando sujeitas a um ambiente controlado (pressão, purga do gás). O programa de temperatura pré-estabelecido pode ser isotérmico ou variar linearmente em função do tempo.

O DSC possui algumas limitações como a dificuldade de interpretação dos resultados de fluxo de calor se múltiplos processos estão ocorrendo em uma mesma faixa de temperatura. Em um material com um único componente pode ocorrer a sobreposição de diferentes tipos de transições, tais como fusão e recristalização, se o material for semi-cristalino e mudanças na capacidade calorífica durante a reação de cura exotérmica. No caso de materiais multicomponentes, transições de diferentes componentes podem se sobrepor. Além disso, nem sempre é trivial identificar a natureza de uma transição: um pico de relaxação entálpica sobreposto à variação da capacidade calorífica na temperatura de transição vítrea pode ser confundido com uma fusão (HATAKEYAMA *et al.*, 1988; YOSHIDA *et al.*, 1990, 1992).

A calorimetria diferencial de varredura é uma técnica de análise térmica que é aplicável a vários materiais incluindo polímeros, produtos farmacêuticos e alimentos. As medidas realizadas em um calorímetro diferencial de varredura (DSC) fornecem informações qualitativas e quantitativas em função do tempo e temperatura, considerando as transições em materiais que envolvem processos endotérmicos e exotérmicos, ou ainda mudanças na capacidade calorífica. Algumas das vantagens que contribuíram para a ampla utilização do DSC são: a fácil preparação da amostra, aplicabilidade em sólidos e líquidos, rápido tempo de análise e ampla faixa de temperatura (WUNDERLICH, 2000).

2.8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ACQUARONE, V. M.; RAO, M. A. Influence of sucrose on the rheology and granular size of cross-linked waxy maize dispersions heated to two temperatures. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, p. 451-458, 2003.

AGUILERA, J. M.; STANLEY, D. W. *Microstructural Principles of Food & Engineering*. 1. ed. Cambridge: *Elsevier Applied Science*, 1990, 343 p.

- AHAMAD, F. B.; WILLIAMS, P. A. Effect of sugars on the thermal and rheological properties of sago starch. *Biopolymers*, v. 50, p. 401-412, 1999.
- AVANZA, V.; PUPPO, C.; AÑÓN, C. Rheological properties of amaranthus protein gel. 3RD *International Symposium on Food Rheology and Structure*, p. 525-526, 2003.
- BAKER, L. A.; RAYAS-DUARTE, P. Retrogradation of amaranth starch at different storage temperatures and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry*, v.75, n.3, p.308-314, 1998a.
- BAKER, L.A.; RAYAS-DUARTE, P. Freeze-thaw stability of amaranthus starch and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry*, v.75, n.3, p. 301-307, 1998b.
- BARNES, H. A.; HUTTON, J. F.; WALTERS, K. *An introduction to rheology*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1989, p. 199.
- BARONI A. F.; CUNHA, R. L.; FREITAS, I. C. HUBINGER, M. D.; MENEGALLI, F. C. Caracterização reológica de requeijão cremoso tradicional e com teor reduzido de gordura: viscosidade extensional e em cisalhamento. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v.2, n.1, p. 21-29, 1999.
- BELLO-PEREZ, L. A.; LÉON, Y. P.; E.; PAREDES-LÓPEZ, O. Isolation and partial characterization of amaranth and banana starch. *Starch/Stärke*, v. 50, n. 10, p. 409-413, 1998.
- BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of resistant starch with food constituents. *Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 69, p. 60-78, 1991.
- BLANSHARD, J. M. V. *Starch granule structure and function: a physicochemical approach*. In: Galliard, T. *Starch: Properties and potential*. Chichester: John Wiley & Sons, p. 16-54, 1987.

-
- BRAGA, A. L. M. Caracterização das interações macromoleculares em géis ácidos de caseína-xantana-sacarose: análises reológicas e térmica. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002.
- BRAGA, A. L. M.; CUNHA, R. L. The effect of sucrose on unfrozen water and syneresis of acidified sodium caseinate–xanthan gels. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 36, n. 1-2, p. 33-38, 2005.
- BRIGNON, G.; RIBADEAU-DUMAS, B.; MERCIER, J. C.; PELISSIER, J. P. Complete amino acid sequence of bovine κ s2-casein. *FEBS Letters*, v. 76, p. 274- 279, 1977.
- BROUILLET-FOURMANN, S.; CARROT, C.; MIGNARD, N. Gelatinization and gelation of corn starch followed by dynamic mechanical spectroscopy analysis. *Rheologica Acta*, v. 42, p. 110-117, 2003.
- CALZETTA R. A.; AGUERRE, R. J; SUAREZ, C. Analysis of the sorptional characteristics of amaranth starch. *Journal of Food Engineering*, v. 42, p. 51-57, 1999.
- CAMPANELLA, O. H.; PELEG, M. Squeezing flow viscometry for nonelastic semiliquid foods – theory and applications. *Critical Review in Foods Science and Nutrition*, v. 42, n. 3, p. 241-264, 2002.
- CAMPANELLA, O. H.; PELEG, M. Squeezing flow viscosimetry of peanut butter. *Journal of Food Science*, v. 52, n. 3, p. 180-184, 1987.
- CAMPANELLA, O. O.; PELEG, M.; POPPLEWELL L. L.; ROSENAU, J. J. Elongation viscosity measurement of melting American processed cheese. *Journal Food Science*, v. 52, p. 1249 – 1251, 1987.
- CARNALLI, J. O.; ZHOU, Y. An examination of the composite model for starch gels. *Journal of Rheology*, v. 40, n. 2, p. 221-234, 1996.

- CAVALLIERI, A. L. F.; Influencia da desnaturação térmica e do pH sobre as propriedades reológicas da proteína do soro e sua compatibilidade com a xantana. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2003.
- CAVALLIERI, A. L. F.; CUNHA, R. L. The effects of acidification rate, pH and ageing time on the acidic cold set gelation of whey proteins. *Food Hydrocolloids*, v. 22, n.3, p. 439-448, 2008.
- CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. *Proteínas alimentarias: bioquímica, propiedades funcionales, valor nutritivo, modificaciones químicas*. Editorial Acribia, Zaragoza, p. 179-220, 1989.
- CHUNGCHAROEN, A.; LUND, D. B. Influence of solutes and water on rice starch gelatinization. *Cereal Chemistry*, v. 64, p. 240 – 243, 1987.
- CONDE-PETIT, B.; NUSSLI, J.; HANDSCHIN, S.; ESCHER, F. Comparative characterisation of aqueous starch dispersions by light microscopy, rheometry and iodine binding behaviour. *Starch/Stärke*, v. 50, n. 5, p. 184-192, 1998.
- CORNILLON P.; SALIN, L.C. Characterization of water mobility and distribution in low-and intermediate-moisture food systems. *Magnetic Resonance Imaging*, v. 18, p. 335-341, 2000.
- DAVIS, E.; GORDON, J. Structural studies of carrots by SEM. *Scanning Electron Microscopy*, v. 3(1) p. 601-611, 1980.
- DICKINSON, E.; ELIOT, C. Aggregated casein gel: interactions, rheology and microstructure. *3RD International Symposium on Food Rheology and Structure*, p. 37-44, 2003.
- DICKINSON, E.; MERINO, L.M. Effect of sugars on the rheological properties of acid caseinate-stabilized emulsions gels. *Food Hydrocolloids*, v. 16, p. 321-331. 2002.

-
- EARLY, R. The technology of dairy products. 2 ed. *Blackie Academic & Professional*, 213 p., 1998.
- ELIASSON, A. C. A calorimetric investigation of the influence of sucrose on gelatinization of starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 18, p. 131-138, 1992.
- ELIASSON, A. C.; KIM, H.R. Changes in Rheological properties of hydroxipropil potato starch pastes during freeze-thaw treatments. *Journal Texture Studies*, v. 23, p. 279-295, 1992.
- EVAGELIOU, V.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Effect of pH, sugar type and thermal annealing on high-methoxyl pectin gels. *Carbohydrates Polymers*, v. 42, p. 245–259. 2000a.
- EVAGELIOU, V.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Effect of sucrose, glucose and fructose on gelation of oxidized starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 42, p. 261-272, 2000b.
- EVANS, I. D.; HAISMAN, D. R. The effect of solutes on the gelatinization temperature range of potato starch. *Starch/Stärke*, v. 34, p. 224-231, 1982.
- FARREL, Jr. H. M.; PESSEN, H.; JOHNDRO, K. Structure and performance of commercial casein extracts I. Structure analysis. *Food Hydrocolloids*, v. 15, p. 441-452, 1990.
- FERRERO, M. N. Molecular distribution and viscosity of amylopectin in dilute solution. *Cabohydrate Polymers*, v. 41, p. 207 – 217, 2002.
- FREITAS, I. C. Estudo das interações entre biopolímeros e polpas de frutas tropicais em cisalhamento estacionário e oscilatório. Campinas, 259 p. Dissertação (Doutor em Engenharia de Alimentos) – FEA, Universidade Estadual de Campinas, 2002.
- FUNAMI, T.; KATAOKA, Y.; NODA, S.; HIROE, M .; ISHIHARA, S.; ASAI, I.; TAKAHASHI, R.; INOUCHI, N.; NISHINARI, K. Functions of fenugreek gum with various molecular weights on the gelatinization and retrogradation behaviors of corn starch. 2:

Characterizations of starch and investigations of corn starch/fenugreek gum composite system at a relatively low starch concentration 5w/v%. *Food Hydrocolloids*. Disponível on line: <http://www.sciencedirect.com/science>. Acesso em 31/12/2007a.

FUNAMI, T.; KATAOKA, Y.; NODA, S.; HIROE, M. ; ISHIHARA, S.; ASAI, I.; TAKAHASHI, R.; INOUCHI, N.; NISHINARI, K. Functions of fenugreek gum with various molecular weights on the gelatinization and retrogradation behaviors of corn starch. 1: Characterizations of starch and investigations of corn starch/fenugreek gum composite system at a relatively low starch concentration 15w/v%. *Food Hydrocolloids*. Disponível on line: <http://www.sciencedirect.com/science>. Acesso em 31/12/2007b.

GONI, O.; ESCRIBANO, M.I.; MERODIO, C. Gelatinization and retrogradation of native starch from cherimoya fruit during ripening, using differential scanning calorimetry. *LWT* – Article in Press. Disponível on line www.sciencedirect.com. Acesso em 13/06/2007.

GUNASEKARAN, S. Evaluating rheological properties of mozzarella cheese by squeezing flow method. *Journal Texture Studies*, v. 26, p. 695-711, 1996.

HATAKEYAMA, T.; NAKAMURA, K.; HATAKEYAMA, H. Determination of bound water-content in polymers by DTA, DSC and TG. *Thermochimica Acta*, v. 123, p. 153-161, 1988.

HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. *Trends in Food Science and Technology*, v. 7, p. 345-353, 1996.

HERMANSSON, N. M.; RICHARDSON, G.; KIDMAN, S.; LANGTON, M. Differences in amylose aggregation and starch gel formation with emulsifiers. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, n. 1, p. 7-13, 2004.

-
- HINRICHS, R.; GOTZ, J.; WEISSER, H.; Water-holding capacity and structure of hydrocolloid-gels, WPC-gels and yogurts characterized by means NMR. *Food Hydrocolloids*, v. 23, n. 2, p. 234-237, 2003.
- HOFFNER, B.; GERHARDS, C.; PELEG, M. Imperfect lubrication squeezing flow viscometry for foods. *Rheologica Acta*, v. 36, p.686-693, 1997.
- HOLT, C.; SAWYER, L. Primary and predicted secondary structures of the casein in relation to their biological functions. *Protein Engineering*, v. 2, p. 241-259, 1988.
- HOUZÈ, G.; CASES, E.; COLAS, B.; CAYOT, P. Viscoelastic properties of acid milk gel as affected by fat nature at low level. *International Dairy Journal*, v. 15, n. 10, p. 1006-1016, 2005.
- KALÁB, M.; ALLAN-WOJTAS, P.; MILLER, S. S. Microscopy and other imaging techniques in food structure analysis. *Trends in Food Science & Technology*, v. 6, p. 250-281, 1995.
- KAPUSNIAK, J.; KOZIOL, J.; TOMASIK, P. Starch based depressors for selective flotation of metal sulfide ores. *Starch/Die Staerke*, v. 51, p. 416–421, 1999.
- KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, v. 71, p. 9-36, 2000.
- KITAJIMA, E. W. *Microscopia Eletrônica de Varredura*. Instituto de Biologia – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 1999, 89 p.
- KOHYAMA, K.; MATSUKI, J.; YASUI, T.; SASAKI, T. A differential thermal analysis of the gelatinization and retrogradation of wheat starches with different amylopectin chain lengths. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, p. 71-77, 2004.
- KOHYAMA, K.; NISHINARI, K. Effect of soluble sugars in gelatinization and retrogradation of sweet potato starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 39, p. 1406 – 1410, 1991.

- KOO, H.J.; PARK, S.R.; JO, J.S.; KIM, B.Y.; BAIK, M.Y. Gelatinization and retrogradation of 6-year-old Korean ginseng starches studied by DSC. *LWT – Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, v. 34, p. 59-65, 2005.
- KRUIF, C.G. Skim milk acidification. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 185, p. 19-25, 1997.
- LAUNAY, L. K.; PASQUET, Y. F. *Viscoelastic and flow in polymers melts and concentrated solutions*. Physical properties of polymers. Washington, D.C. American Chemical Society. p. 97-153, 1982.
- LEE, S. S.; PELEG, M. Imperfect squeezing flow viscosimetry with a wide plate and shallow container. *Journal Texture Studies*, v. 23, p. 267-278, 1992.
- LORENZO, M. M.; GERHARDS, C.; PELEG, M. Imperfect squeezing flow viscosimetry of selected tomato products. *Journal Texture Studies*, v. 28, p. 543-567, 1997.
- LUCEY, J.A.; TAMEHANA, M.; SINGH, H.; MUNRO, P. A. A comparison of the formation, rheological properties and micro-structure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or glucone-delta-lactone. *Food Research International*, v. 31, p. 147-155, 1998.
- LUCEY, J.A.; VAN VLIET, T.; GROLLE, K.; GEURTS, T.; WALSTRA, P. Properties of acid casein gels made by acidification with glucono- δ -lactone: *Rheological Properties*. *International Dairy Journal*, v.7, p. 381-388, 1997.
- LUCEY, J.A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: A review. *Food Research International*, v.30, n.7, p.529-542, 1997.
- MANGINO, M.E. Gelation of whey protein concentrates. *Food Technology*, v. 46, n. 1, p. 114-117, 2002.

-
- MERINO, L.M.; LAU, K.; DICKINSON, E. Effects of low-methoxyl amidated pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels. *Food Hydrocolloids*, v. 18, p. 271-281, 2004.
- MILES, M. J.; MORRIS, P. D. Gelation of amylose. *Carbohydrate Research*, v. 135, p. 257 – 269, 1985.
- MORESI, M.; SPINOSE, M. Engineering factors in the production of concentrates fruit juices. *Journal of Food Technology*, v. 15, p. 265-276, 1980.
- MORR, C.V.; HA, Y.W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Food Science and Nutrition*, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.
- MORRIS, E.R. Mixed polymer gels: Phase separation. In HARRIS, P. Food gels. *Elsevier Science*, London, p. 305-308, 1990.
- OAKENFULL, D.; SCOTT, A. Stabilisation of gelatin gels by sugars and polyols. *Food Hydrocolloids*, v. 1, p. 163–175, 1986.
- OAKENFULL, D.; MIYOSHI, E.; NISHINARI, K.; SCOTT, A. Rheological and thermal properties of milk gels formed with k-carrageenan. I. Sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, v. 13, p. 525-533, 1999.
- OTTE, J.; LOMHOLT, S. B.; IPSEN, R.H.; QVIST, K. B. Effect of partial hydrolysis with an differential scanning calorimetry of oat starch pastes. *Cereal Chemistry*, v. 64, p. 394-399, 2000.
- PADMANABHAN, R. Measurement of extensional viscosity of viscoelastic liquid foods. *Journal of Food Engineering*, v.25, n. 3, p. 311-327, 1995.
- PAREDES-LOPEZ, O.; BELLO-PEREZ, L. A.; LÓPEZ, M. G. Amylopectin: structural, gelatinization and retrogradation studies. *Food Chemistry*, v. 50, p. 411-417, 1994.

- PAREDES-LOPEZ, O.; HERNANDEZ-LOPEZ, D. Application of differential scanning calorimetry to amaranth starch gelatinization - influence of water, solutes and annealing. *Starch/Stärke*, v. 43, n. 2, p. 57-61, 1991.
- PARK, J. M.; MUHOBERAC, B. B.; DUBIN, P. L.; XIA, J. Effects of protein charge heterogeneity in protein-polyelectrolyte complexation. *Macromolecules*, v. 25, p. 290-295, 1992.
- PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemical of starch. *Journal of Cereal Science*, v. 34, p. 1-17, 2001.
- PATON, D. Differential scanning calorimetry of oat starch pastes. *Cereal Chemistry*, v. 64, p. 394-399, 1987.
- PEREIRA, L. B. Caracterização de suspensões e géis de amido de amaranto: efeito da adição de sacarose e NaCl nas propriedades reológicas e térmicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2004.
- QUISPE, N. B. P. Estudo do comportamento reológico em cisalhamento estacionário e oscilatório de suspensões de amido de amaranto. Campinas. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) – FEA, Universidade Estadual de Campinas, 2003, 88 p.
- RADOSAVLJEVIC, M.; JANE, J.; JOHNSON, L. A. Isolation of amaranth starch by diluted alkaline– protease treatment. *Cereal Chemistry*, v. 75, p. 212 – 216, 1998.
- RAMIREZ-WONG, B.; SWEAT V. V.; TORRES, P. P.; ROONEY, L. L. Evaluation of rheological properties of fresh corn masa using squeezing flow viscometry: biaxial extensional viscosity. *Journal Texture Studies*, v. 27, p. 185-198, 1996.

- RESIO, A. C. Almidón de amaranto: obtención y evaluación de sus características fisicoquímicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires / Argentina, 1999.
- RESIO, A. N. C.; TOLABA, M. P.; SUAREZ, C. Algunas propiedades físicas y térmicas del almidón de amaranto. *Food Science and Technology Internacional*, v. 6, n. 5, p.371-378, 2000.
- ROEFS, S. P. F. M.; VAN VLIET, T. Structure of acid casein gels: dynamic measurements and type of interaction forces. *Colloids and Surfaces*, v. 50, p.161-175, 1990.
- ROSS-MURPHY, S. B. Reversible and irreversible biopolymer gels-structure and mechanical properties. *Ber Bunsens Physical Chemical*, v. 102, p. 1534-1539, 1998.
- SAUNDERS, R.M.; BECKER, R. Amaranthus: A potential food and feed resource. *Advances in Cereal Science Technology*, p. 357-396, 1984.
- SCHIRALDI, A.; PIAZZA, L.; RIVA, M. Bread staling? A calorimetric approach. *Cereal Chemistry*, v. 73, n. 1, p. 32-39, 1996.
- SEOW, C. C.; KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, v. 71, p. 9-36, 2000.
- SGARBIERI, V.C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradação, modificações. São Paulo: Varela, 1996, 517 p.
- SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Some properties of *Amaranthus paniculatas* (Rajgeera) starch pastes. *Starch/Stärke*, v. 42, n. 1, p. 5-7, 1990.
- SLADE, L.; LEVINE, H.; PERRY, P. A.; DONALD, A. M. The effect of sugars on the gelatinisation of starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 49, p. 155-165, 2002.

- STEFFE, J. F. Rheological methods in food process engineering. Michigan: 2^a Ed.; Freeman Press, 1996a, 418 p.
- STEVENS, D.J.; ELTON, G.A.H. Thermal properties of starch/water system. Measurement of heat of gelatinization by differential scanning calorimetry. *Starch/Stärke*, v. 23, p. 8-11, 1971.
- SUKHA, P.R.; RUTGERS, R.; BHANDARI, B.; SCUDERI, M. Rheological and microstructural changes of starch/sugar/gelatine gels as a function of processing. 3RD International Symposium on Food Rheology and Structure, p. 595-596, 2003.
- SUWONSICHON, T; PELEG, M. Imperfect squeezing flow viscosimetry for commercial refried beans. *Food Science Thechnology International*, v. 5, n. 2, p. 159-166, 1999c.
- SUWONSICHON, T; PELEG, M. Imperfect squeezing flow viscosimetry mustards with suspend particules. *Journal of Food Engineering*, v. 39, p. 217-226, 1999b.
- SUWONSICHON, T.; PELEG, M. Rheological characterization of almost intact and stirred yogurt imperfect squeezing flow viscometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 79, n. 6, p. 911-921, 1999a.
- SYRBE, A.; BAUER, W.J.; KLOSTERMEYER, N. Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interation. *International Dairy Journal*, v.8, n.3, p. 179-193, 1998.
- TAKEUCHI, K. Interaction between protein and starch. *Cereal Chemistry*, v. 46, 570–579, 1969.
- TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. Effects of amylopectins, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, v. 67, n. 6, p. 551 – 557, 1990.
- TOLSTOGUZOV, V. Some physico-chemical aspects of protein processing in foods. Multicomponents Gels. *Food Hydrocolloids*, v. 9, p. 317-322, 1995.

-
- TOLSTOGUZOV, V. Some thermodynamics considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*, v. 17, n. 1, p. 1-23, 2002.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamic considerations of starch functionality in foods. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, p. 99-111, 2003.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamics aspects of dough formation and functionality. *Food Hydrocolloids*, v. 11, n. 2, p. 181-193, 1997.
- WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*, v. 9, p. 189-192, 1999.
- WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. *International Journal of Dairy Science*, v. 73, n. 8, p. 1965-1979, 1990.
- WHITE, P. J.; ABBAS, I. R.; JOHNSON, L. A. Freeze – thaw stability and refrigerated – storage retrogradation of starches. *Starch/Stärke*, v. 41, p. 176 – 180, 1989.
- WIUM, H.; QVIST, K.B. Rheological properties of UF-Feta cheese determined by uniaxial compression and dynamic testing. *Journal of Texture Studies*, v. 28, n. 4, p. 435-454, 1997.
- WONG, D. W. S; CAMIRAND, W. M.; PAVLATH, A.E. Structures and functionalities of milk proteins. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, v. 36, n. 8, p. 807-844, 1996.
- WU, H.; CORKE, H. Genetic diversity in physical properties of starch from a world collection of amaranthus. *Cereal Chemistry*, v. 76, n. 6, p. 877-883, 1999.
- WU, H.; YUE, S.; SUN, H.; CORKE, H. Physical properties of starch from two genotypes of *A. cruentus* of agricultural significance in China. *Starch/Stärke*, v. 47, p. 295 – 297, 1995.

- WUNDERLICH, B. Temperature-modulated calorimetry in the 21st century. *Thermochimica Acta*, v. 355, p. 43-57, 2000.
- XU, S. Y.; SHOEMAKER, C. F.; LUH, B. S. Effect of break temperature on rheological properties and microstructure of tomato juices and pastes. *Journal of Food Science*, v. 51, n. 2, p. 399-402, 1986.
- YAO, Y.; ZHANG, J.; DING, X. Structure-retrogradation relationship of rice starch in purified starches and cooked rice grains: A statistical investigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 7420-7425, 2002.
- YOSHIDA, H.; HATAKEYAMA T.; HATAKEYAMA, H. Phase-transitions of the water xanthan systems. *Polymer*, v. 31, n. 4, p. 693-698, 1990.
- YOSHIDA, H.; HATAKEYAMA, T.; HATAKEYAMA, H. Characterization of water in polysaccharide hydrogels by DSC. *Journal of Thermal Analysis*, v. 40, p. 483-489, 1992.
- ZALESKA, H.; RING, S.; TOMASIK, P. Electrosynthesis of potato starch-casein complexes. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 36, n. 5, p. 509-515, 2001.
- ZHAO, J.; WHISTLER, R.L. Isolation and characterization of starch from amaranth flour. *Cereal Chemistry*, v. 71, p. 392-393, 1994.
- ZIEGLER, G.R.; FOEGEDING, E.A. The gelation of proteins. *Advances in Food and Nutrition Research*, v. 34, p. 203-298, 1990.
- ZOBEL, H. F. Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch/Stärke*, v. 40, n. 2, p. 44-50, 1998.
- ZOBEL, H. Gelatinization of starch and mechanical properties of starch pastes. In: Whistler, R.L.; 1984. *Starch chemistry and technology* (2nd ed.). Academic Press Inc.; London, p. 285-309, chapter IX, 1984.

CAPÍTULO 3

Propriedades Físico-Químicas do Amido de Amaranho

ÍNDICE

RESUMO.....	56
3.1. INTRODUÇÃO	56
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3.2.1. Matéria prima	58
3.2.2. Extração do amido de amaranto	58
3.2.3 Caracterização do amido	60
3.2.3.1. Determinação do teor de umidade.....	60
3.2.3.2. Determinação do teor de cinzas	60
3.2.3.3. Determinação do teor de lipídeos	60
3.2.3.4. Determinação do teor de proteínas.....	60
3.2.3.5. Determinação do teor de amilose	61
3.2.3.6. Microscopia eletrônica de varredura	61
3.2.3.7. Determinação do poder de inchamento e da solubilidade.....	62
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
3.3.1. Determinação da umidade	63
3.3.2. Determinação do teor de cinzas do amido	64
3.3.3. Determinação do teor de lipídios totais	64
3.3.4. Determinação do teor de proteínas	64
3.3.5. Determinação do teor de amilose.....	65
3.3.6. Análises Microscópicas	66
3.3.7. Poder de inchamento e solubilidade do grão de amido.....	67
3.4. CONCLUSÃO.....	70
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

RESUMO

O amido possui algumas propriedades importantes que o tornam um componente fundamental em muitos alimentos. Possui a capacidade de gelatinizar na presença de calor e água e gelificar durante o resfriamento, porém, algumas características podem influenciar nestes processos, como: teor de cinzas, umidade, relação amilose/amilopectina, lipídeos, proteínas e poder de inchamento. Neste trabalho, foram determinadas as características físico-químicas do amido de amaranto que apresentou 2,42% (b.s) de teor de cinzas, 0,08% (b.s) de lipídeos, 0,58% (b.s) de proteínas e 11,4% (b.s) de amilose.

Palavras-chave: amido de amaranto, propriedades físicas, microestrutura.

3.1. INTRODUÇÃO

O amido constitui uma importante reserva de nutrição de todas as plantas superiores (sementes, tubérculos, rizomas e bulbos). É um dos elementos mais importantes da alimentação humana pelo fato de ser facilmente hidrolisado e digerido. Sua estrutura é formada por dois polímeros, a amilose e amilopectina que são constituídas de cadeias de α -D-glucose. A amilose é um polissacarídeo linear com peso molecular entre 300 a 10^4 g/mol, formado por unidades de D-glucopiranoose unidas entre si por ligações glicosídicas α (1-4). A amilopectina é a fração altamente ramificada do amido e é formada por várias cadeias constituídas de 20 a 25 unidades de α -D-glucopiranoose, com um peso molecular total da ordem de 10^7 a 10^9 g/mol. As proporções de amilose e amilopectina exercem influência na viscosidade e na capacidade de gelatinização e gelificação do amido (TESTER & MORRISON, 1990).

Durante o aquecimento do amido em excesso de água (gelatinização) se dá um processo complexo que compreende a difusão da água para dentro do grânulo, a lixiviação da amilose e a fusão da amilopectina (BROUILLET-FOURMANN et al., 2003). Durante o

resfriamento, o amido gelatinizado inicia o processo de gelificação (formação de gel ou de precipitados microcristalinos, dependendo da concentração das soluções e da velocidade do resfriamento) (CALZETTA et al., 1999).

Após a gelatinização e o resfriamento do sistema, este se reestrutura ao longo do tempo em um processo denominado retrogradação. Tal fenômeno é de grande interesse, pois influencia a qualidade, aceitabilidade e vida de prateleira dos produtos contendo o amido (SEOW et al., 2000).

O conhecimento destes três fenômenos (gelatinização, gelificação e retrogradação) são fundamentais para a utilização do amido em alimentos. Porém, alguns fatores influenciam estes processos, sendo que parte deles podem ser características do próprio polissacarídeo, como umidade, cinzas, relação amilose/amilopectina, teor de lipídeos e proteína, microscopia do grão e o poder de inchamento dos grânulos.

A umidade interfere na quantidade de amilose lixiviada e, portanto, na estrutura do gel formado. Quanto maior a umidade no amido, menor será a quantidade de água necessária para sua gelatinização, além disso, a umidade está estreitamente relacionada às pontes de hidrogênio que se formam durante a cristalização, influenciando, desta forma, seu comportamento reológico.

O teor de lipídeos inibe a ação da amilose, que atua como diluente durante o intumescimento do grão de amido (ZOBEL et al., 1984 e 1998; TESTER & MORRISON, 1990; BLANSHARD, 1987).

A relação amilose/amilopectina atuará no desenvolvimento de um gel firme com grande capacidade de retrogradar (amilose) ou um gel de difícil formação, com textura gomosa e coesiva (amilopectina). A taxa de retrogradação é afetada pela relação de amilose e amilopectina, tamanho molecular, lipídeos e outras fontes orgânicas (KOHYAMA & NISHINARI, 1991). Além disso, o amido com maior quantidade de amilopectina “amido

ceroso” é mais recomendado para sistemas mistos com proteína (BAKER & RAYAS-DUARTE, 1998a).

As proteínas contidas ou adicionadas ao amido podem interagir com a amilose que está fora do grânulo (após a gelatinização) formando uma matriz complexa, na qual se dispersam os grânulos de amilopectina gelatinizados, promovendo modificações das propriedades reológicas.

Uma vez que conhecimento do polissacarídeo que se deseja estudar é de grande importância, o objetivo desta etapa será estudar as características físico-químicas (umidade, cinzas, teor de amilose e amilopectina, de lipídeos, de proteínas, tamanho molecular e o poder de inchamento dos grânulos) do amido de amaranto.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Matéria prima

O amido foi extraído da semente do amaranto da variedade “*Amaranthus cruentus*” (safra de 2003 fornecido pela Embrapa e pela UFSC) pela tecnologia de moagem úmida (PAMPA, 2003). Para isso se preparam várias bateladas de matéria prima, sendo que uma proporção de 50 % destes amidos foi utilizada na preparação das amostras.

3.2.2. Extração do amido de amaranto

O amido foi isolado pelo método proposto por PAMPA (2003). A extração foi feita com soluções alcalinas de NaOH (0,25%) a 5°C. Segue-se abaixo a descrição detalhada do procedimento experimental.

Imergiram-se 250 g de grão em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,25% p/v e manteve-se à temperatura de refrigeração (5°C) durante 24 horas. Ao final do período citado, lavou-se os grãos com água destilada. Agregou-se ao material original um pequeno volume de solução de hidróxido de sódio (0,25% p/v), sendo este então moído

num processador (modelo S5, marca Arno) por cerca de dois minutos na potência máxima. O material resultante foi filtrado através de uma peneira ou malha de aço inoxidável. O resíduo que não passou pela peneira voltou ao processador para ser reprocessado. Este processo foi repetido quatro vezes até a completa trituração do grão, consumindo um volume total de solução hidróxido de sódio de cerca de 1000ml.

A solução de NaOH (0,25% p/v) foi adicionada durante o processamento em quantidades suficientes para assegurar que a moagem se realizasse sem elevação da temperatura no material; o qual foi filtrado sucessivamente através de três peneiras com aberturas de diâmetros de 80, 200 e 270 Mesh (177, 74 e 53 μm). O filtrado foi centrifugado a 3.000 g durante 20 minutos. Finalizada esta etapa, verificou a formação de um sobrenadante de consistência mucilaginosa, de alto conteúdo protéico (cuja quantidade de proteínas foi previamente determinada pelo grupo de estudo) e cor ocre, sendo este extraído do amido sedimentado, por raspagem, utilizando uma espátula.

O amido precipitado foi novamente suspenso com água destilada, repetindo a centrifugação e raspagem a quantidade de vezes necessária à obtenção de um sobrenadante claro (sem presença de pigmentos).

Finalizada a etapa de centrifugação, a suspensão foi neutralizada com uma solução de ácido clorídrico (0,2N) até pH = 7,0. O material foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C por 24 horas.

Os flocos de amido de amaranto foram moídos em moinho laboratorial Quadrumat Sênior (Brabender AG, Duisburg, Alemanha) e peneirados, com o objetivo de homogeneizar a granulometria da matéria-prima. O amido, já peneirado, foi homogeneizado e armazenado em frascos escuros, fechados hermeticamente e mantidos em ambiente refrigerado a 5°C até seu uso.

O amido proveniente da safra de 2001 foi utilizado apenas como comparativo na análise de poder de inchamento e solubilidade.

3.2.3 Caracterização do amido

3.2.3.1. Determinação do teor de umidade

O conteúdo de umidade foi determinado pelo método gravimétrico n° 92510 sugerido pela AOAC (1997), que consiste na permanência de 5g de amido em uma estufa com circulação de ar a 105°C, por cerca de 4 horas (ou até que o peso da amostra não apresente mais variação), sendo posteriormente pesado em balança analítica.

3.2.3.2. Determinação do teor de cinzas

A determinação do teor de cinzas foi feita segundo a técnica n° 923.03 sugerida pela AOAC (1997). Foram pesados 3g de amido de amaranto em cápsulas de cerâmica não poroso, (previamente pesadas em balança analítica) e levadas à mufla, onde ficaram a 550°C por cerca de 2 horas (até a completa incineração da amostra). Após o que, as cápsulas contendo a amostra foram colocadas em um dessecador contendo sílica, onde ficaram até que chegassem à temperatura ambiente, sendo então pesadas novamente em balança analítica. Tal análise foi feita em triplicata.

3.2.3.3. Determinação do teor de lipídeos

O teor de lipídeos foi determinado por método Soxhlet (AOAC, 1997) utilizando-se éter de petróleo como solvente.

3.2.3.4. Determinação do teor de proteínas

O teor de proteínas da amostra de amido foi determinado pelo método de micro Kjeldahl, n° 979.09 sugerido pela AOAC (1997).

3.2.3.5. Determinação do teor de amilose

Na determinação do teor de amilose foi utilizado o método colorimétrico do iodo simplificado, que se baseia na transmissão de luz através de um complexo colorido que a amilose forma ao reagir com o iodo (JULIANO, 1971) modificado por MARTÍNEZ e CUEVAS (1989). O preparo da solução de iodo encontra-se no apêndice III.

Leitura no espectrofotômetro:

A leitura das absorbâncias dos balões da curva padrão, branco e amostra foi feita em espectrofotômetro digital modelo Micronal B342 (Brasil), no intervalo de luz visível a 610nm. Os valores fornecidos pelo equipamento foram o resultado da média de 8 leituras. O teor de amilose foi obtido a partir da curva padrão construída com amilose de batata comercial.

3.2.3.6. Microscopia eletrônica de varredura

A análise microscópica dos grãos de amaranto e de amido de amaranto isolado a partir do grão foi feita através de Microscopia Eletrônica de Varredura (M.E.V.) de marca Leica e modelo LEO440i, sob aceleração de voltagem de 10 kV.

Os grãos inteiros foram congelados rapidamente em nitrogênio líquido (-196°C) e então fracionados longitudinalmente com uma espátula e posteriormente aderidos a superfícies circulares autocolantes (“stubs”) onde foram recobertos com uma camada de ouro de 92 angstroms.

O amido de amaranto foi acondicionado nos “stubs” da mesma forma que o grão e recoberto de ouro sem, no entanto que fosse necessário o congelamento em nitrogênio líquido. A metodologia detalhada da microscopia eletrônica de varredura se encontra no Apêndice III.

3.2.3.7. Determinação do poder de inchamento e da solubilidade

O poder de inchamento (P.I.) e a solubilidade do amido de amaranto foram determinados pelo método de JENG-YUNE & AN-I (2001). Para efeito comparativo, a mesma análise foi feita com o amido de milho como base de comparação.

Foram preparadas (em triplicata) suspensões contendo 1% (p/p) de amido de milho ou de amido de amaranto (safras 2001 e 2003), as quais foram aquecidas em banho térmico, por 30 minutos em cinco temperaturas diferentes na faixa de gelatinização do amido (50, 60, 70, 80 e 90°C), sendo agitadas manualmente a cada 5 minutos, para evitar a formação de grumos.

Depois de gelatinizadas, as suspensões foram centrifugadas por 10 minutos a 8000 x g em uma centrífuga de marca Beckman, modelo **J2-21**. Foi medido o volume de sobrenadante, do qual foi retirada uma alíquota (de volume conhecido) que foi seca em estufa a 100°C até que atingisse massa constante. A partir do volume de sobrenadante e da massa da alíquota seca obteve-se a massa de sobrenadante seco (M_{SOB}) das amostras em cada uma das cinco temperaturas. O material que ficou aderido nos tubos da centrífuga foi pesado, obtendo-se assim a massa de precipitado (M_{PREC}). O poder de inchamento (P.I.) dado em g H₂O/g de amostra seca e a solubilidade (S) das amostras, dada em porcentagem de amostra solúvel foram obtidos a partir das Equações (3.1) e (3.2), respectivamente:

$$S = (M_{SOB} / M_{AMIDO}) \times 100 \quad (3.1)$$

$$PI = M_{PREC} / [M_{AMIDO} (100 - S)] \quad (3.2)$$

Com M_{AMIDO} = massa seca de amido utilizada na análise

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas (umidade, teor de cinzas, lipídeos totais, proteínas e amilose) realizadas nas amostras de amido de amaranto estão descritos na Tabela 3.1 e serão discutidos no decorrer dos itens 3.3.1 a 3.3.6.

Tabela 3.1: Características físico-químicas do amido de amaranto

Análises físico-químicas	Amido de amaranto
Umidade	8,23±0,25%
Teor de cinzas	2,42±0,9 %
Lipídeos totais	0,08±0,01%
Teor de proteínas	0,58±0,18 %
Teor de amilose	11,4±0,57%
Índice de inchamento (80 °C)	14 gH ₂ O/gamido
Solubilidade (80 °C)	79%

3.3.1. Determinação da umidade

Foi obtido um teor de umidade no amido de 8,23±0,25% em base úmida, valor próximo ao reportado por PAMPA (2003), SAUNDERS & BECKER (1984) para o *Amarantus cruentus* e por BAKER & RAYAS-DUARTE (1998a) para o *Amaranthus hypochondriacus* que encontraram respectivamente, 10,8; 8 e 10,9% de umidade. O valor é superior ao encontrado por PEREIRA (2004) que foi de 6,17%, sendo que tal fato pode ser explicado pelas diferenças entre os processos de secagem do amido durante a extração, pois a autora liofilizou o amido, enquanto que neste trabalho o material foi seco em estufa. Dependendo da quantidade de água contida no grânulo de amido, esta pode influenciar as propriedades reológicas.

3.3.2. Determinação do teor de cinzas do amido

O teor de cinzas obtido foi de $2,42 \pm 0,9$ % em base seca, valor este que encontra-se um pouco abaixo do reportado na literatura para o *Amarantus cruentus* por SAUNDERS & BECKER (1984), URIYAPONGSON & RAYAS-DUARTE, (1994) e PAMPA (2003); que encontraram respectivamente 3,1; 3,46 e 2,91 % de cinzas em base seca de amido. O valor encontrado foi superior ao (1,66%) determinado por PEREIRA (2004).

3.3.3. Determinação do teor de lipídios totais

O teor de lipídios totais encontrado no amido de amaranto não foi um valor significativo ($0,08 \pm 0,01$ % em base seca), sendo um pouco inferior ao determinado por PEREIRA (2004) e PAMPA (2003), com um teor de lipídios de 0,09%.

Este teor tão baixo de lipídios no amido se deve provavelmente ao fato de que quando retiramos o sobrenadante de cor mucilaginosa (rico em pigmentos e proteínas) durante o isolamento, retiramos com ele grande parte dos lipídios que encontravam-se complexados com a proteína, que também foi retirada.

3.3.4. Determinação do teor de proteínas

O teor de proteína encontrado para o amido de amaranto foi de $0,58 \pm 0,18$ % em base seca; tal valor embora seja baixo ainda encontra-se acima do valor encontrado por BAKER & RAYAS-DUARTE (1998b), que foi de 0,43 % em base seca, o que deve-se provavelmente a alguma diferença com relação às variedades de *Amaranthus cruentus* argentina e a brasileira. O resultado também foi superior ao encontrado por PAMPA (2003) com um valor de 0,4% e inferior ao encontrado por PEREIRA (2004) com um resultado de 1,2%.

3.3.5. Determinação do teor de amilose

Para a obtenção do teor de amilose foi utilizada uma curva padrão construída com diferentes concentrações de amilose de batata (Figura 3.1).

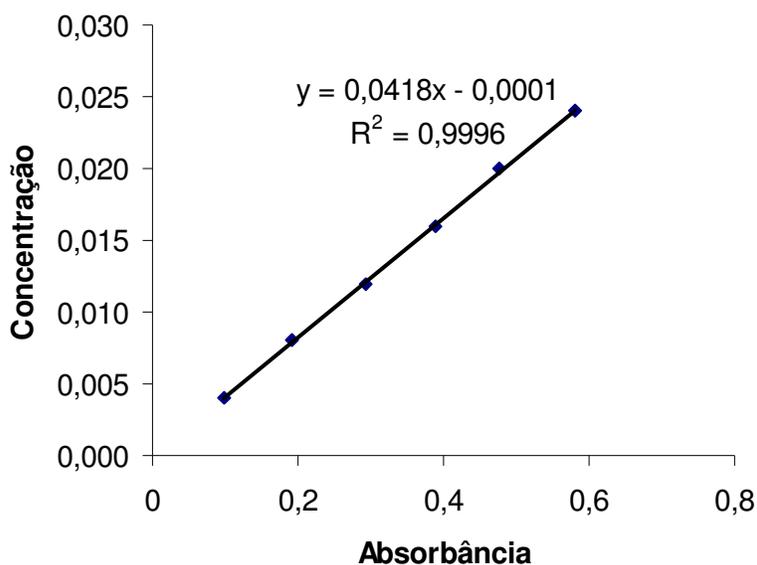


Figura 3.1: Curva padrão com diferentes concentrações de amilose.

O teor de amilose encontrado foi de $11,4 \pm 0,57\%$, valor que está abaixo do reportado por WU & CORKE, (1999) para duas variedades diferentes de *Amaranthus cruentus* (22,0% e 19,5%, para as variedades Beijing e Wuhan, respectivamente) e acima do obtido por PEREZ et al. (1993) para a variedade R-149 do *Amaranthus cruentus* (10,08%).

Há, no entanto, uma grande variação dos valores reportados para o teor de amilose do *Amaranthus cruentus* na literatura, uma vez que foram também encontrados teores de 3,9 e 5,7% de amilose (HOOVER & MANUEL, 1996 e HOOVER et al., 1998) e 5,8% (PAMPA, 2003). Essa divergência entre os teores de amilose encontrados para diferentes variedades de uma mesma espécie de amaranto também foi encontrada por SUGIMOTO et al. (1981), para duas variedades de *Amaranthus hypochondriacus*. Valores

de teores de amilose variando entre 0 e 14%, foram atribuída a efeitos do meio ambiente de plantio revelando, portanto, que tanto amidos cerosos (ricos em amilopectina) como não-cerosos ocorrem em uma mesma espécie de amaranto. Tal teoria explica portanto, a diferença encontrada por WU E CORKE (1999) para os valores do teor de amilose de variedades de *Amaranthus cruentus* plantadas em Beijing e Wuhan e a diferença entre os teores de amilose encontrada por PEREIRA (2004) e PAMPA (2003) para grãos de uma mesma variedade (BRS Alegria) de *Amaranto cruentus*, que foram, plantados em diferentes locais (Distrito Federal e Paraná, respectivamente) e pertenciam a safras distintas (2001 e 2002, respectivamente).

3.3.6. Análises Microscópicas

Nas Figuras 3.2 e 3.3, as imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (M.E.V.) do grão de *Amaranthus cruentus* fracionado longitudinalmente, são apresentadas com os aumentos de 3500 x e de 6000 x, respectivamente.

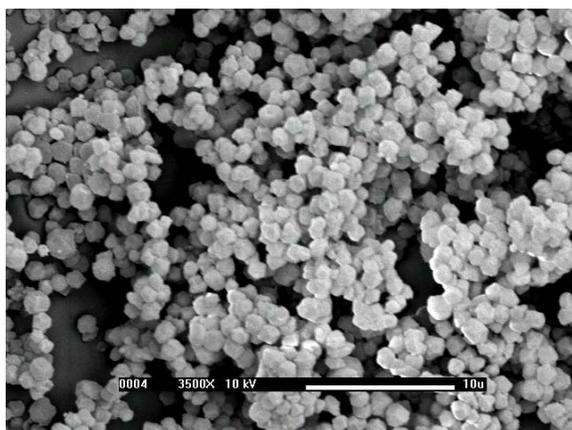


Figura 3.2: Microscopia do amido de amaranto "*Amaranthus cruentus*" (3500X)

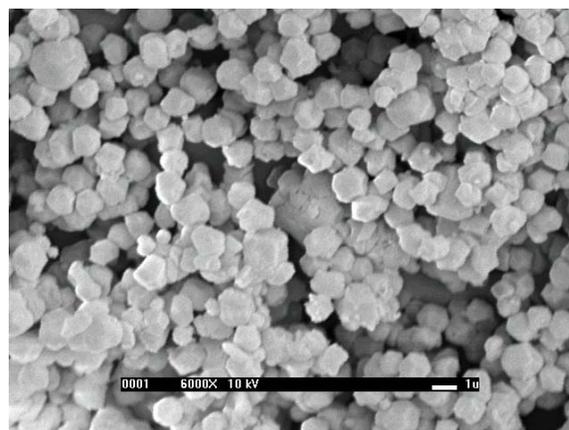


Figura 3.3: Microscopia do amido de amaranto "*Amaranthus cruentus*" (6000X)

Os grânulos de amido apresentaram um diâmetro médio de 1 µm, em formato poligonal (Figuras 3.2 e 3.3). Esse tamanho dos grânulos de amido de amaranto é

reduzido quando comparado aos grânulos de amidos da maioria dos cereais, com diâmetros superiores a 5 μm (como o trigo e a aveia, como diâmetros de 6,5 e 7,9 μm , respectivamente), conferindo ao mesmo características funcionais únicas (HOOVER et al., 1998; ZHAO & WHISTLER, 1994, SAUNDERS & BECKER, 1984).

3.3.7. Poder de inchamento e solubilidade do grão de amido.

A influência da temperatura no poder de inchamento (P.I.) e na solubilidade do *Amaranthus cruentus* na faixa de temperatura de gelatinização, estão ilustrados nas Figuras 3.4 e 3.5.

A influência da temperatura no P.I. do amido de amaranto foi mais pronunciada no intervalo entre 60 e 80°C, o que pode ser explicado pela ruptura do grânulo de amido neste intervalo de temperatura. O valor da temperatura de ruptura do grânulo está certamente bem próximo à temperatura de início da gelatinização, que foi de 68,50°C para a suspensão com 5% de amido (determinada experimentalmente por calorimetria diferencial de varredura).

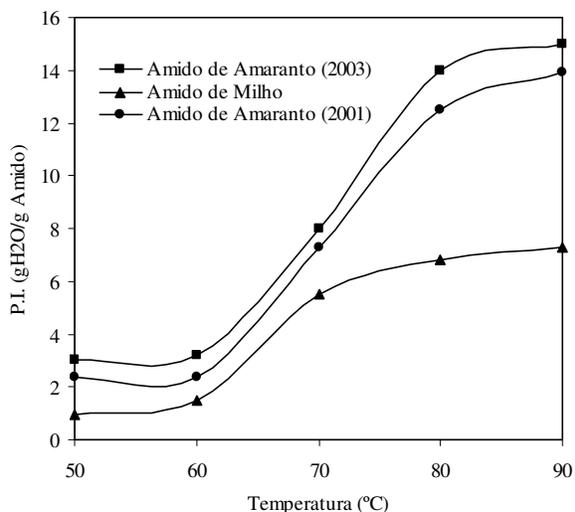


Figura 3.4: Efeito da temperatura no P.I. dos amidos de milho e amaranto

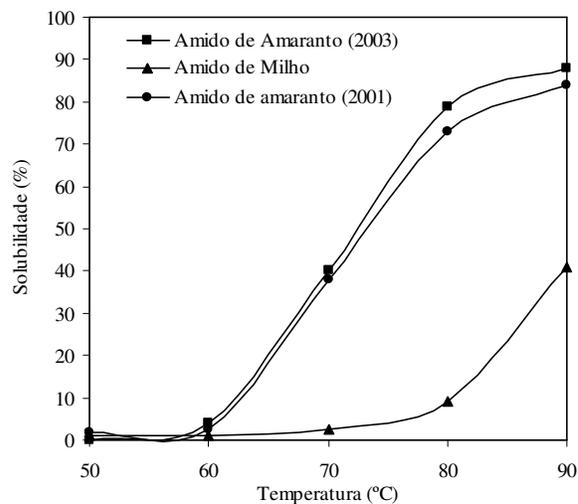


Figura 3.5: Efeito da temperatura na Solubilidade dos amidos de milho e amaranto.

Observa-se, da Figura 3.4, que o amido de amaranto apresentou um poder de inchamento muito superior ao do amido de milho e que o amido de amaranto da safra de 2003 apresentou um índice de inchamento levemente maior que o da safra de 2001, mostrando a diferença que ocorre entre os grãos de uma mesma região, mas de safras diferentes. As diferenças entre os amidos de milho e amaranto já eram esperadas uma vez que o inchamento é uma propriedade da amilopectina (TESTER & MORRISON, 1990), a qual está presente em maior quantidade no amido de amaranto ($\cong 86,5\%$) do que no amido de milho ($\cong 73\%$). Além disso, o reduzido tamanho do grão de amido amaranto (cerca de $1 \mu\text{m}$) faz com que o mesmo tenha uma área superficial por massa muito superior à do amido de milho, sendo que este apresenta grânulos de tamanho cerca de dez vezes maior do que o primeiro (RESIO, 1999).

O maior índice de inchamento do amido de amaranto em relação ao de milho está de acordo ainda com o que foi reportado por TOLSTOGUZOV (2003) e STONE E LORENZ (1984) que afirmaram que a amilose age como um diluente no inchamento do

grânulo de amido, uma vez que a mesma, disposta entre as camadas semi-cristalinas da amilopectina, age como “grampos rígidos”, diminuindo a elasticidade das camadas amorfas, que têm sua entropia diminuída, limitando assim o inchamento do grânulo.

Nota-se, no entanto, uma grande variação entre os valores reportados na literatura para o poder de inchamento e a solubilidade do amido de amaranto, o que pode ser atribuído a diferenças na composição do grão, nos métodos de isolamento do amido ou ainda a condições de plantio (STONE & LORENZ, 1984).

Os valores reportados para o P.I. estão de acordo com aqueles reportados por STONE E LORENZ (1984) e RESIO et al. (2000) que mediram os valores do poder de inchamento do amido de *Amaranthus cruentus* e de milho a 70°C, encontrando, respectivamente, 9,24 e 8,85g água/g amido de amaranto e 5,83g água/g amido de milho (para ambos os autores). PAMPA (2003) determinou também valores semelhantes de poder de inchamento (9 e 6 g água/g amido) a 70°C e de solubilidade (5 e 18%) a 80°C para o amido de amaranto e de milho, respectivamente.

Como já era esperado, a solubilidade dos amidos aumentou com a temperatura, alcançando, porém valores muitos maiores para o amido de amaranto (Figura 3.5). Os valores de solubilidade, encontrados neste trabalho, estão de acordo com aqueles reportados por RESIO et al. (2000) para os amidos de milho e amaranto e por PEREIRA (2004).

Assim como verificado neste estudo, FREDRIKSSON et al. (1998) verificou que, embora o teor de amilopectina do amido de amaranto (77,41%) seja superior àquele do amido de milho (57,64%), o que certamente não favorece a solubilização do grânulo de amido, o amaranto possui um elevado P.I., que acelera a entrada de água no grânulo e, conseqüentemente, a solubilização do mesmo, além do grânulo de amido de amaranto mostrar diâmetro muito inferior aos demais cereais (WHILHELM et al., 2002; WU &

CORKE, 1999; HOOVER et al., 1998; ZHAO & WHISTLER, 1994), o que faz com que 1g de amido de amaranto tenha um número muito maior de grânulos de amido do que 1g de amido de milho, ligando-se mais rapidamente à água e resultando, assim, em uma proporção muito maior de grânulos de amido solúveis (o dobro a 90°C, por ex.) do que na suspensão com amido de milho.

3.4. CONCLUSÃO

O amido de amaranto apresentou 2,42% (b.s) de teor de cinzas, 0,08% (b.s) de lipídeos, 0,58% (b.s) de proteínas e 11,4% de amilose, valores que estão próximos aos encontrados na literatura. Os grânulos de amido de amaranto apresentaram um tamanho médio de 1µm, um valor muito menor que os amidos encontrados em outras fontes.

A influência da temperatura no P.I. do amido de amaranto foi mais pronunciada no intervalo entre 60 e 80°C, o que pode ser explicado pela ruptura do grânulo de amido neste intervalo.

O amido de amaranto apresentou um poder de inchamento muito superior ao do amido de milho e o amido de amaranto da safra de 2001 apresentou um índice de inchamento levemente superior ao da safra de 2003, mostrando que ocorre uma diferença entre os grãos de uma mesma região, mas de safras diferentes.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, eddited by Sidney Williams [16 ed.] Arlington, 1997.
- BAKER, L. A.; RAYAS-DUARTE, P. Retrogradation of amaranth starch at different storage temperatures and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry*, v.75, n.3, p.308-314, 1998a.
- BAKER, L. A.; RAYAS-DUARTE, P. Freeze-thaw stability of amaranth starch and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry*, v.75, n.3, p. 301-307, 1998b.
- BLANSHARD, J. M. V. *Starch granule structure and function: a physicochemical approach*. In: Galliard, T. Starch: Properties and Potential. Chichester: John Wiley & Sons, p. 16-54, 1987.
- BROUILLET-FOURMANN, S.; CARROT, C.; MIGNARD, N. Gelatinization and gelation of corn starch followed by dynamic mechanical spectroscopy analysis. *Rheologica Acta*, v. 42, p. 110-117, 2003.
- CALZETTA, R. A.; AGUERRE, R. J.; SUAREZ, C. Analysis of the sorptional characteristics of amaranth starch. *Journal of Food Engineering*, v. 42, p. 51-57, 1999.
- FREDRIKSSON, H.; SILVERIO, J.; ANDRESON, R.; ELIASSON, A. C.; AMAN, P. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 35, p. 119-134, 1998.

- HOOVER, R.; MANUEL, H. The effect of heat-moisture treatment on the structure and physico-chemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylo maize V starches. *Journal of Cereal Science*, v. 23, p. 153-162, 1996.
- HOOVER, R.; SINNOTT, A. W.; PERERA, C. Physicochemical characterization of starches from *Amaranthus cruentus* grains. *Starch/Stärke*, v. 50, n. 11-12, p. 456-463, 1998.
- JENG-YUNE, L.; AN-I, Y. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *Journal of Food Engineering*, v. 50, p. 141-148, 2001.
- JULIANO, J. O. A simplified assay for milled-rice amylose, *Cereal Science Today*, v. 6, p. 334–340, 1971.
- KOHYAMA, K.; NISHINARI, K. Effect of soluble sugars in gelatinization and retrogradation of sweet potato starch. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, v. 39, p. 1406 – 1410, 1991.
- MARTÍNEZ, C & CUEVAS, F. *Evaluación de la calidad culinaria y molinaria del arroz* (75p). *Guia de estudio*. Cali, CIAT, 1989.
- PAMPA, N. B. Q. Estudo do comportamento reológico em cisalhamento estacionário e oscilatório de suspensões de amido de amaranto. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2003.
- PEREIRA, L. B. Caracterização de suspensões e géis de amido de amaranto: efeito da adição de sacarose e NaCl nas propriedades reológicas e térmicas. Dissertação

de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2004.

PEREZ, E.; BAHNASSEY, Y. A.; BREENE, W. M. A simple laboratory scale method for isolation of amaranth starch. *Starch/Stärke*, v. 45, n. 6, p. 211-214, 1993.

RESIO, A. C. Almidón de amaranto: Obtención y evaluación de sus características fisicoquímicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires / Argentina, 1999.

RESIO, A. N. C.; TOLABA, M. P.; SUAREZ, C. Algunas propiedades físicas y térmicas del almidón de amaranto. *Food Science and Technology International*, v. 6, n. 5, p. 371-378, 2000.

SAUNDERS, R. M.; BECKER, R. Amaranthus: a potential food and feed resource. *Advances in Cereal Science Technology*, cap. 6, p. 357-396, 1984.

SEOW, C.C.; KARIM, A.A.; NORZIAH, M. H. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, v. 71, p. 9-36, 2000.

STONE, L.A.; LORENZ, K. The starch of amaranthus-physico-chemical properties and functional characteristics. *Starch/Stärke*, v. 36, p. 232-237, 1984.

SUGIMOTO, Y.; YAMADA, K.; SAKAMOTO, S. Some properties of normal and waxy-type starches of *Amaranthus Hypochondriacus*. *Starch/Stärke*, v. 33, p. 112-116, 1981.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. Effects of amylopectins, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, v. 67, n. 6, p. 551 – 557, 1990.

- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamic considerations of starch functionality in foods. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, p. 99-111, 2003.
- URIYAPONGSON, J.; RAYAS-DUARTE, P. Comparison of yield and properties of amaranth starches using wet and dry – wet milling processes. *Cereal Chemistry*, v. 71, n. 6, p. 571-577, 1994.
- WHILHELM, E.; ABERLE, T.; BURCHARD, W.; LAUNDERS, R. Peculiarities of aqueous amaranth starch suspensions. *Biomacromolecules*, v. 3, p. 17-26, 2002.
- WU, H.; CORKE, H. Genetic diversity in physical properties of starch from a world collection of amaranthus. *Cereal Chemistry*, v. 76, n. 6, p. 877-883, 1999.
- ZHAO, J.; WHISTLER, R. L. Isolation and characterization of starch from amaranthus flour. *Cereal Chemistry*, v. 71, p. 392-393, 1994.
- ZOBEL, H. F. Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch/Stärke*, v. 40, n. 2, p. 44-50, 1998.
- ZOBEL, H. *Gelatinization of starch and mechanical properties of starch pastes*. In: Whistler, R.L.; Editor, 1984. *Starch chemistry and technology* (2nd ed.), Academic Press Inc.; London, p. 285–309, chapter IX, 1984.

CAPÍTULO 4

**Propriedades Reológicas e Estruturais de Sistemas
Acidificados Amido de Amaranto – Caseinato de Sódio**

ÍNDICE

RESUMO.....	79
4.1. INTRODUÇÃO	80
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	83
4.2.1. Matéria Prima.....	83
4.2.2 Métodos de Preparação dos Sistemas Mistos:.....	83
4.2.2.1 Preparação do caseinato de sódio:.....	83
4.2.2.2. Preparação das amostras:.....	83
4.2.3. Cinética de acidificação.....	86
4.2.4. Ensaio Reológicos sob Cisalhamento:	87
4.2.4.1. Ensaio de Gelatinização e Gelificação (Realizados no Reômetro).....	88
4.2.4.2. Caracterização Reológica dos Géis Gelatinizados	89
4.2.5. Ensaio reológicos realizados em escoamento extensional.	90
4.2.6. Análise estrutural	91
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
4.3.1. Preparação das amostras:	91
4.3.2. Ensaio de Cinética de pH	95
4.3.3. Ensaio de Gelatinização e Gelificação	100
4.3.3.1. Efeito da Concentração de Amido na Gelatinização das suspensões.....	102
4.3.3.2. Efeito do Caseinato de Sódio na Gelatinização de Suspensões de amido	106
4.3.3.3. Efeito do GDL nos Géis de Amido e Caseinato de Sódio	109
4.3.4. Caracterização Reológica dos Géis Gelatinizados.....	112
4.3.4.1. Curvas de Escoamento de Suspensões de Amido	113
4.3.4.2. Curvas de Escoamento das Suspensões de Amido e Caseinato (Ensaio Estacionários)	115
4.3.4.3. Influência do Modo de Preparação dos Géis	118
4.3.5. Espectros Mecânicos (Ensaio Oscilatórios).....	124

4.3.5.1. Efeito do Caseinato de Sódio nas Suspensões de amido.....	126
4.3.5.2. Espectros mecânicos comparando o efeito da concentração dentro de um mesmo processo.....	129
4.3.5.3. Espectros Mecânicos Comparando os Processos	131
4.3.6. Compressão biaxial.....	133
4.3.6.1. Parâmetros reológicos dos géis analisados por compressão biaxial.....	140
4.3.7. Análise Estrutural.....	143
4.3.7.1. Microscopia eletrônica de Varredura	143
4.3.7.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	155
4.4. CONCLUSÃO.....	167
4.5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	170

RESUMO

As propriedades reológicas a baixas deformações de sistemas amido de amarantho - caseinato de sódio foram avaliados em cisalhamento oscilatório, curvas de escoamento e compressão biaxial. Ensaio de microscopia complementaram as análises reológicas, contribuindo para o entendimento das interações entre os diferentes biopolímeros. Foram avaliados os efeitos da velocidade de acidificação (lenta e rápida) e pH final (neutro e no ponto isoelétrico da caseína) nas interações entre os biopolímeros e sua consequente influência nos parâmetros reológicos. Observou-se que nos sistemas onde o amido é pré-gelatinizado antes de se realizar a mistura com o caseinato mais GDL (acidificação lenta) apresentam um gel mais forte e com comportamento reológico semelhante às amostras formadas dentro deste processo. Dentro deste processo, concentrações maiores de caseinato e amido apresentaram maiores valores de G' e G'' , sendo o comportamento conduzido pelo caseinato. Comportamento diferente é encontrado nas misturas onde o caseinato é acidificado juntamente com a gelatinização do amido (acidificação rápida). Neste caso, o caseinato não apresenta uma influência tão grande, sendo o comportamento reológico governado pela rápida queda do pH. Todas as amostras apresentaram comportamento pseudoplástico, no entanto, a adição de caseinato de sódio nas suspensões de amido, em pH neutro, promoveu um efeito negativo sobre a viscosidade aparente. Sistemas contendo proteína - amido formaram estruturas com cadeias ramificadas, cuja rede se estrutura conforme se aumenta a concentração dos biopolímeros, sendo que, a porosidade dos géis formados por acidificação lenta se apresenta maior e mais uniformemente distribuído do que os géis formados por acidificação rápida.

Palavras chave: Reologia, caseinato de sódio, amido de amarantho, microscopia.

4.1. INTRODUÇÃO

Misturas de proteínas e polissacarídeos são freqüentemente encontradas em sistemas alimentares, sendo que ambos os biopolímeros contribuem para a textura e a vida-de-prateleira do produto. As proteínas podem exercer várias funções nos alimentos, como espessante de soluções, agente gelificante, espumante ou emulsificante, além do aspecto nutricional (SGARBIERI, 1998). Os polissacarídeos são adicionados a produtos alimentícios, para atuar como espessantes e estabilizantes, podendo até formar géis (SYRBE *et al.*, 1998). Estes hidrocolóides são geralmente utilizados em produtos com redução total ou parcial de gordura, de forma a minimizar as alterações da textura do produto e evitar a separação de fases em emulsões (KATZBAUER, 1998). A influência dos hidrocolóides na textura do produto pode depender das interações entre os mesmos e também entre outros biopolímeros e/ou outros componentes do alimento. Conseqüentemente, é importante identificar as condições ótimas nas quais o polissacarídeo pode ser mais efetivo para as propriedades desejadas no produto. Dentre os inúmeros polissacarídeos utilizados em alimentos, o amido vem sendo largamente usado na indústria de alimentos, inclusive em produtos lácteos.

Dentre os diferentes tipos de amido, tem-se o amido de amaranto que está recebendo grande aceitabilidade no mercado. Proveniente da variedade "*Amaranthus cruentus*", uma planta dicotiledônea, cuja cultura é provavelmente originária do México e América Central. A implantação da cultura no Brasil está sendo desenvolvida pela Embrapa que iniciou um plantio em escala e tem como vantagem um cultivo rústico que se adequa a vários tipos de clima. O amaranto é um pseudocereal com sementes de 1,0 mm – 1,5 mm de diâmetro, cujo valor nutritivo é superior ao leite, carne ou ovos. Além do elevado conteúdo protéico, o grão de amaranto também possui um alto teor de amido, aproximadamente 65% b.s (WU & CORKE, 1999). O amido tem sido utilizado tradicionalmente na indústria de alimentos não só

como uma fonte de carboidratos, mas especificamente por seu poder ligante, espessante, aglutinante ou estabilizante em diversas formulações alimentares. O amido de amaranto possui características especiais: grânulo de pequeno diâmetro, faixa ampla de viscosidade, resistência ao cisalhamento e estabilidade do gel ao congelamento (CALZETTA et al., 1999; WU & CORKE, 1999).

O uso do amido na indústria de alimentos implica no conhecimento do comportamento dos géis produzidos, bem como das mudanças de estrutura produzidas pela interação do amido com os diversos ingredientes das formulações (proteínas, açúcares, ácidos, etc.). A adição de proteínas e hidrolisados protéicos em amido promove alterações significativas em suas propriedades ampliando a faixa de aplicações. Dentre estas, as proteínas do leite possuem elevado valor nutricional, além de estar presentes em uma gama de produtos e análogos de produtos lácteos que demandam a utilização de espessantes e estabilizantes. O caseinato de sódio forma soluções estáveis em pH neutro e gelifica quando o sistema é levado ao ponto isoelétrico, o que é característico de produtos lácteos acidificados como o iogurte. Atualmente, o éster glucona-delta-lactona (GDL) vem sendo muito utilizado para acidificar as proteínas do leite, sua hidrólise resulta na redução lenta do pH.

As propriedades viscoelásticas de géis mistos e puros de biopolímeros diferem consideravelmente por causa das interações intermoleculares entre os diferentes componentes da mistura e possível formação de uma rede tridimensional interpenetrante. Ensaio dinâmico aplicado sob condições de pequena deformação, em baixas frequências, são convenientes para o estudo do grau de organização estrutural de sistemas poliméricos e das ligações inter e intramolecular em redes entrelaçadas, de géis fortes e físicos fracos (ROSS-MURPHY, 1995). Os dados obtidos a partir de varreduras de frequências podem ser usados para caracterizar ou classificar uma dispersão.

Sistemas com mais de um biopolímero exibem comportamentos mais complexos que sistemas puros ou de misturas de polímeros sintéticos. Isto se deve ao fato de que os biopolímeros possuem um equilíbrio relacionado ao estado de ordem – desordem de conformação, além de apresentar transições e separações de fase em determinadas situações (CÈSARO *et al.*, 1999). A força do gel, textura e estabilidade de produtos lácteos gelificados são importantes fatores relacionados à sua qualidade, justificando a necessidade de identificar as interações entre os ingredientes presentes nestes produtos.

O estudo de sistemas-modelo tem grande importância para elucidar as alterações micro e macroscópicas pelas quais os ingredientes passam quando são alteradas as condições de processo (pH, temperatura, força iônica, etc.). No caso de sistemas lácteos, o estudo utilizando leite tornaria difícil a compreensão dos resultados, pois este ingrediente pode ser considerado uma emulsão coloidal de partículas de caseína, associadas em uma forma micelar.

Portanto, muitos estudos em sistemas-modelo lácteos são realizados com caseinato de sódio, que além de apresentar, predominantemente, submicelas agregadas (CHU *et al.*, 1995) vêm sendo muito utilizados em produtos lácteos análogos. Assim, as interações entre o amido, caseinato de sódio e Glucona-delta-lactona (GDL) foram analisadas de forma a entender como a concentração destes componentes influencia nos parâmetros reológicos a baixas deformações, nas propriedades mecânicas em compressão biaxial e nas suas microestruturas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Matéria prima

Os ingredientes utilizados nos sistemas foram amido de amaranto, caseína e gluconato- δ -lactona (GDL). O amido foi extraído da semente do amaranto da variedade “*Amaranthus cruentus*” (fornecido pela Embrapa e pela UFSC) pela tecnologia de moagem úmida (PAMPA, 2003). A caseína e o GDL foram adquiridos da Sigma-Aldrich Corporation (Inglaterra).

4.2.2 Métodos de Preparação dos Sistemas Mistos

4.2.2.1 Preparação do caseinato de sódio

A caseína foi dissolvida em água deionizada sob agitação magnética, a uma temperatura inferior a 40°C. O pH da solução foi ajustado para 6,7 com adição de solução de NaOH 40 e 20% p/v (para ajuste fino), até completa hidratação da caseína e formação do caseinato de sódio.

4.2.2.2. Preparação das amostras

Foram estudados três métodos de preparação diferentes, baseados na forma de adição do precursor ácido (GDL). No primeiro caso não houve adição de GDL, no segundo, as condições de processo levaram a uma taxa de acidificação denominada de lenta e no terceiro, a taxa de acidificação foi bastante elevada (chamado de acidificação rápida). Em todos os sistemas foram utilizadas duas concentrações de amido (5 e 10% p/p) e de caseinato de sódio (4 e 8% p/p), considerando 100g de água deionizada. Nos sistemas acidificados, a quantidade de GDL adicionada foi em uma razão GDL/proteína suficiente para se chegar ao pl da proteína ($4,6 < \text{pH} < 4,7$) ao final do processo, sendo os valores usados determinados em ensaios preliminares. A Tabela 4.1 apresenta concentrações e os métodos de acidificação utilizados.

As concentrações de amido e caseinato nas suspensões estão simbolizadas por maiúsculas, onde “A” significa amido, utilizando “Ag” quando o amido for pré-gelatinizado, sendo seguido pela concentração dos mesmos na suspensão. A letra “C” significa caseinato, seguido pela concentração de caseinato na mesma, sendo que “Ca” é utilizado quando o caseinato é acidificado antes da mistura com o amido pré-gelatinizado. O modo de preparação das amostras também está simbolizada por letras, as amostras que foram preparadas com todos os seus componentes juntos possuem as letras “TJ”. Quando as amostras não forem acidificadas com GDL (branco) será seguida pela letra minúscula “b” (sem GDL).

Tabela 4.1: Concentrações dos componentes e métodos de acidificação utilizados para o preparo das amostras estudadas.

Amostras	Concentração de amido (p/p)	Concentração de caseinato (p/p)	Razão de GDL (GDL/Caseína)	Método de acidificação
A5	5	0	0	Não acidificado
A5C4b	5	4	0	Não acidificado
A5C8b	5	8	0	Não acidificado
Ag5Ca4	5	4	0,162	Lenta
Ag5Ca8	5	8	0,167	Lenta
TJA5C4	5	4	0,160	Rápida
TJA5C8	5	8	0,155	Rápida
A10	10	0	0	Não acidificado
A10C4b	10	4	0	Não acidificado
A10C8b	10	8	0	Não acidificado
Ag10Ca4	10	4	0,220	Lenta
Ag10Ca8	10	8	0,175	Lenta
TJA10C4	10	4	0,200	Rápida
TJA10C8	10	8	0,170	Rápida

O método de preparo dos três tipos de sistemas é descrito a seguir:

1) Sem acidificação: as suspensões de amido foram gelatinizadas em banho termostático a 90°C sob suave agitação durante 15 minutos. Imediatamente após a gelatinização do polissacarídeo, o caseinato de sódio, à temperatura de 25°C, foi misturado

à suspensão de amido sob constante agitação até formar uma suspensão homogênea (aproximadamente 3 minutos), sendo esta rapidamente resfriada em banho de gelo para posterior armazenamento.

2) Acidificação lenta: as suspensões de amido foram gelatinizadas a 90°C, como no preparo das amostras não acidificadas. Após a sua gelatinização, a solução de amido foi resfriada até 60°C para, então, acrescentar o caseinato de sódio mais GDL. Quantidades diferentes de GDL foram dissolvidas previamente no caseinato (a 25°C) antes deste ser misturado com o amido pré-gelatinizado. Após esta mistura, as suspensões foram rapidamente resfriadas em banho de gelo e armazenadas a 10°C por 48 horas, ou seja, até suposto equilíbrio, onde começa a ocorrer variações mínimas nas propriedades.

3) O resfriamento da suspensão de amido de 90°C para 60°C foi necessária para evitar a exposição da mistura caseinato de sódio- GDL às altas temperaturas, evitando deste modo a aceleração da acidificação da proteína.

4) Acidificação rápida: Os componentes (amido, caseinato de sódio e GDL) foram misturados previamente à gelatinização que ocorreu a 90°C por 15 minutos sob suave agitação. As suspensões foram rapidamente resfriadas em banho de gelo e armazenadas a 10°C por 48 horas.

4.2.3. Cinética de acidificação

As amostras foram preparadas conforme o item 4.2.2.2. sendo que foram adicionadas várias razões de GDL/proteína a fim de se observar o equilíbrio do pH após 48 horas. Os géis foram formados em recipientes tipo “ependorf” e acondicionados por até 72 horas a 10°C afim de se verificar se ocorreu uma queda significativa no valor do pH após as 48 horas. Neste intervalo de tempo foram feitas várias medidas de pH (pHmetro Sentron 2001, Sentron

Inc. – EUA). Esse processo foi realizado para se determinar qual razão de GDL/proteína seria utilizada nos demais procedimentos.

Para as análises de cinética de gelificação por turbidez as amostras foram preparadas de forma semelhante à cinética de pH, porém acondicionadas em cubetas, sendo as leituras visualizadas no espectrofotômetro digital modelo Micronal B342 (Brasil) a 10°C, no intervalo de luz visível a 500nm durante 72 horas.

4.2.4. Ensaios reológicos sob cisalhamento

A medições reológicas foram realizados em um reômetro de tensão controlada, marca Carrimed, modelo 500 CSL², TA Instruments, Inglaterra. A geometria utilizada foi do tipo: cone/placa de diâmetro 4cm ou 6 cm e ângulo de 2°, sendo que o cone utilizado foi de aço inoxidável e truncado na extremidade. Tal reômetro possui um sistema de controle da temperatura de ensaio através da placa Peltier, onde a água circula internamente com temperatura controlada por um banho térmico acoplado ao Peltier.

Nos ensaios de gelatinização e gelificação, com o objetivo de se evitar o ressecamento da suspensão de amido durante a realização do experimento, aplicou-se óleo de silicone na superfície da amostra exposta ao meio externo.

No caso das curvas de escoamento e espectros mecânicos, foram utilizados dois artifícios diferentes para evitar o ressecamento da amostra durante a realização do experimento. Como tais ensaios foram realizados a temperatura constante, utilizou-se óleo de silicone na superfície da amostra exposta ao meio externo somente para os ensaios realizados a uma temperatura superior a 40°C. Nos demais ensaios realizados a temperaturas menores, adicionou-se água no “solvent-trap”, um “compartimento” localizado na parte superior da geometria, a qual foi isolada do meio externo pela colocação de uma espécie de redoma, permitindo que a geometria girasse livremente expondo a amostra a um

ambiente saturado em água, sem risco de ressecamento da suspensão de amido durante o ensaio.

Para se determinar as temperaturas de início de gelatinização, foram realizadas derivadas dos módulos de armazenamento e de dissipação, determinados através das curvas de gelatinização, em relação à temperatura (dG'/dT e dG''/dT). As taxas de aumento de G' com relação ao tempo foram determinadas à partir da derivada do módulo de armazenamento em relação ao tempo (dG'/dt) com o objetivo de se verificar um suposto valor que representasse a velocidade de gelatinização.

4.2.4.1. Ensaios de gelatinização e gelificação (Realizados no reômetro)

As misturas não gelatinizadas foram submetidas a ensaios oscilatórios (a baixas tensões e portanto não destrutivos) cura térmica, em que foram obtidos os valores de G' e G'' em função de rampas de temperatura de 40 a 90°C (gelatinização) e posterior resfriamento de 90 a 10°C (gelificação), a uma taxa de aquecimento ou resfriamento de 2°C/min e uma frequência constante (ω) de 1 Hz. Para efeito de se ter um entendimento mais aprofundado do mecanismo de gelatinização, algumas amostras (em triplicatas) foram mantidas a 90°C por 15 minutos logo após a gelatinização, nas mesmas condições de tensão oscilatória descritas nos itens abaixo.

Para garantir que a tensão aplicada durante as curas térmicas estivesse dentro do intervalo de viscoelasticidade linear, avaliou-se as Figuras de Lissajous da relação tensão-deformação com uma grandeza variando de 10^0 a 10^2 .

4.2.4.2. Caracterização Reológica dos Géis Gelatinizados

4.2.4.2.1. Curvas de escoamento (ensaios estacionários)

Após 48 horas de armazenagem a 10°C, foram determinadas, nesta mesma temperatura, as curvas de escoamento das suspensões gelatinizadas. Para tal foi utilizada a técnica de passos múltiplos de tensão controlada, variando da menor para a maior tensão. O intervalo de tensão em que seria realizado o ensaio foi obtido anteriormente pela varredura das taxas de deformação de 0,01 até 300 s⁻¹, onde se obteve para estes valores de taxa de deformação os valores correspondentes de tensão de cisalhamento que deveriam ser utilizados na obtenção das curvas de escoamento. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

Nas curvas de escoamento foram medidas uma subida (da menor para a maior tensão de cisalhamento), uma descida (sentido contrário) e outra subida, com o objetivo de obter na segunda subida dados de tensão e taxa de deformação isentos de efeitos de estruturas dependentes do tempo.

4.2.4.2.2. Espectros mecânicos

Os géis foram caracterizados pela medição dos espectros mecânicos na zona linear de resposta. Previamente aos ensaios foi determinado o intervalo linear de resposta, através de uma varredura de tensão, a frequência constante de 1 Hz. Os espectros mecânicos das diversas amostras foram determinados pela varredura de frequência entre 0,005 e 12 Hz, a uma tensão constante (contida no intervalo linear) à temperatura de 10°C. Neste caso os ensaios foram realizados em duplicatas.

Para comparar estatisticamente os resultados, foram analisados valores de G' e G'' medidos na frequência de 1 Hz.

4.2.5. Ensaaios reológicos realizados em escoamento extensional

Os géis foram preparados conforme ítem 4.2.2.2. e, posteriormente, colocados em placas de Petri com 140 mm de diâmetro ($1,0 \pm 0,1$ cm de espessura da amostra) armazenados a 10°C por 48 horas. As medidas foram feitas em equipamento TA.TX2i Texture Analyser (Micro Stable Systems, UK) com célula de carga de 25 kg. As amostras foram submetidas à velocidade de compressão de 0,2 mm/s até 70% de sua altura inicial utilizando uma geometria (100 mm de diâmetro) lubrificada com silicone. Os dados de força (F) e altura (H) ao longo do tempo foram usados para a obtenção dos parâmetros reológicos. O valor de n (índice de comportamento do fluido) foi determinado pela regressão linear da relação logarítmica entre força e altura ($\log F$ versus $\log H$) e o valor de k (índice de consistência) foi determinado a partir da equação 2.4. Após a compressão, a geometria foi mantida na posição correspondente a 70 % da altura inicial do gel com o objetivo de medir a força de reação da estrutura remanescente após a compressão, sendo este dado convertido em tensão, podendo ser associado à uma eventual componente de tensão residual presente na amostra. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

Uma estimativa relativa da tensão residual também pode ser realizada em ensaios de compressão a uma taxa de deslocamento constante. Neste experimento a amostra é submetida a uma determinada deformação instantânea e posteriormente permite-se que a amostra relaxe a força de compressão durante um tempo de experimento, neste caso 300 s. Um indicativo da tensão residual é a tensão residual aparente após um tempo de decaimento da força de compressão, que pode ser obtida pela equação 4.1..

$$\sigma_{ap300s} = \frac{F_{ap300s}}{\pi R^2} \quad (4.1)$$

Onde σ_{ap300s} é a tensão residual aparente à 300s, F_{ap300s} é a força à 300s e R o raio da geometria. Na técnica Compressão Biaxial Imperfeita de Compressão, a força exercida por fluidos sem tensão residual decai até o valor da força de empuxo quase que instantaneamente. Quanto maior a tensão residual presente no fluido e quanto maior o “caráter” de sólido da estrutura, maior será a magnitude da força residual, ou tensão residual aparente após o tempo de relaxação. Este dado seria um parâmetro do “grau de rigidez” da amostra e seria um indicativo da tensão residual existente (TERPSTRA et al., 2007 e CAVALLIERI, 2003).

4.2.6. Análise estrutural

A análise estrutural foi estudada através de imagens geradas pelo microscópio eletrônico de varredura (SEM) e de transmissão (TEM). A preparação das amostras e o modo como foi desenvolvida a análise está no apêndice III.

As amostras Ag5Ca4 e TJA5C4 mesmo com todos os cuidados, ainda apresentaram “charging up”. Para minimizar este efeito foram feitas varreduras mais rápidas, que apesar de diminuir o “charging up” resultou em um prejuízo ao foco das imagens.

4.2.7. Análise estatística dos resultados

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa STATISTIC 7,0: Basic Statistics and tables. O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para realizar a comparação das médias das propriedades dos sistemas puros e misturas.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Preparação das amostras

Inicialmente concluiu-se que o melhor procedimento para elaboração das amostras seria misturar o “amido gelatinizado” com a mistura “caseinato mais GDL”. Posteriormente

decidiu-se estudar simultaneamente outro processo (gelatinização do amido, caseinato e GDL juntos) devido constatar-se grandes diferenças de cor (Figura 4.1) e pH (ítem 4.3.2) entre os dois procedimentos, que poderiam resultar em propriedades diversas das misturas.

A opção de se estudar dois métodos de acidificação iniciou-se nas análises preliminares, visto as diferenças (cor e viscosidade) claramente perceptíveis entre os dois procedimentos. A partir dos testes iniciais notou-se que o estudos dos dois processos (lento e rápido) enriqueceria o conhecimento destes sistemas, sendo que inicialmente, o processo lento pode promover uma grande variedade de características nos produtos e o processo rápido, além de diversificar estas características, pode ser relevante na diminuição nos tempos de processo promovendo um aumento na produtividade das indústrias alimentícias.

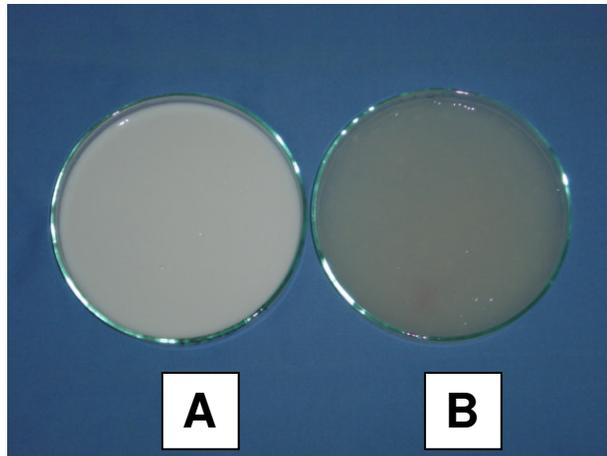


Figura 4.1: Comparação de cor dos dois processos de preparação. A) Amido (10%), caseinato (8%) e GDL gelatinizados todos juntos. B) Amido (10%) pré-gelatinizado misturado com caseinato e GDL (8%).

Na amostra A (Figura 4.1) o caseinato e o GDL foram adicionados ao amido antes da gelatinização, o gel foi branco e opaco e a gelatinização do amido não foi completa, o que foi comprovado posteriormente em análises de microscopia em que se observa partículas esféricas de amido (Figura 4.34b e 4.34d), além disso, logo após a gelatinização este possuía pH próximo ao pI da proteína. Na amostra B o amido foi pré-gelatinizado antes de ser misturado a solução de caseinato e GDL. Logo após a mistura, o gel era transparente, levemente amarelado e seu pH estava em torno de 5,9. Somente após aproximadamente 16 horas seu pH chegou próximo ao ponto isoelétrico do caseinato (pH= 4,6-4,7).

4.3.2. Ensaio de cinética de pH

Um dos objetivos da cinética de acidificação foi identificar a razão de GDL/caseína (p/p) a se utilizar para que o pH das amostras no equilíbrio resultasse em um valor próximo ao pI do caseinato de sódio ($pI \approx 4,6-4,7$). A Tabela 4.1, contida em Material e Métodos, mostrou a razão de GDL (selecionada após a cinética de gelificação) para cada gel e a Tabela 4.2 apresenta algumas razões de GDL estudadas e o valor de pH final de cada cinética.

As concentrações de amido e caseinato nas suspensões estão simbolizadas por letras maiúsculas, onde “A” significa amido, utilizando “Ag” quando o amido for pré-gelatinizado, sendo seguido pela concentração dos mesmos na suspensão. A letra “C” significa caseinato, seguido pela concentração de caseinato na mesma, sendo que “Ca” é utilizado quando o caseinato é acidificado antes da mistura com o amido pré-gelatinizado. O modo de preparação das amostras também estão simbolizadas por letras, as amostras que foram preparadas com todos os seus componentes juntos possui as letras “TJ”.

Tabela 4.2: pH final das razões de GDL/caseína utilizadas nas amostras após cinética de 72 horas.

AMOSTRAS	RAZÃO DE GDL (R = GDL/Caseína)	pH final
Ag5Ca4	0,160	4,75±0,01
Ag5Ca4	0,165	4,67±0,02
Ag5Ca4	0,170	4,49±0,02
Ag5Ca8	0,155	4,76±0,02
Ag5Ca8	0,165	4,65±0,02
Ag5Ca8	0,175	4,54±0,02
Ag10Ca4	0,200	4,79±0,02
Ag10Ca4	0,220	4,68±0,02
Ag10Ca4	0,250	4,49±0,02
Ag10Ca8	0,170	4,74±0,01
Ag10Ca8	0,175	4,63±0,02
Ag10Ca8	0,178	4,42±0,01
TJA5C4	0,155	4,71±0,02
TJA5C4	0,160	4,60±0,02
TJA5C4	0,165	4,52±0,02
TJA5C8	0,155	4,68±0,01
TJA5C8	0,160	4,59±0,02
TJA5C8	0,165	4,53±0,01
TJA10C4	0,190	4,72±0,01
TJA10C4	0,200	4,65±0,02
TJA10C4	0,250	4,53±0,01
TJA10C8	0,165	4,75±0,02
TJA10C8	0,170	4,62±0,02
TJA10C8	0,175	4,52±0,02

Pela Tabela 4.2 pode verificar-se que as amostras onde o amido é gelatinizado junto com o caseinato e GDL, a quantidade de precursor ácido é geralmente menor. Isto ocorre porque, em água, o GDL hidrolisa lentamente formando ácido glucônico, ou seja, íons (H⁺) o que promove a redução do pH. Este fenômeno está diretamente relacionado com a entalpia de hidrólise do GDL (ΔH_{Hidro}), sabe-se que a entalpia tem uma estreita relação com a temperatura, ou seja, um aumento na temperatura promove um aumento na ΔH_{Hidro} , liberando rapidamente uma quantidade grande de íons no sistema conduzindo a coagulação das proteínas. Quando todas as proteínas estão agrupadas inicia-se um fenômeno que funciona com um “efeito tamponante” para a ação do GDL (DE KRUIF, 1997).

As Figuras 4.2 a 4.5 mostram as cinéticas de variação de pH para as amostras Ag5Ca4, TJA5C4, Ag5Ca8, TJA5C8, Ag10Ca4, TJA10C4, Ag10Ca8, TJA10C8, em função do conteúdo de GDL adicionado.

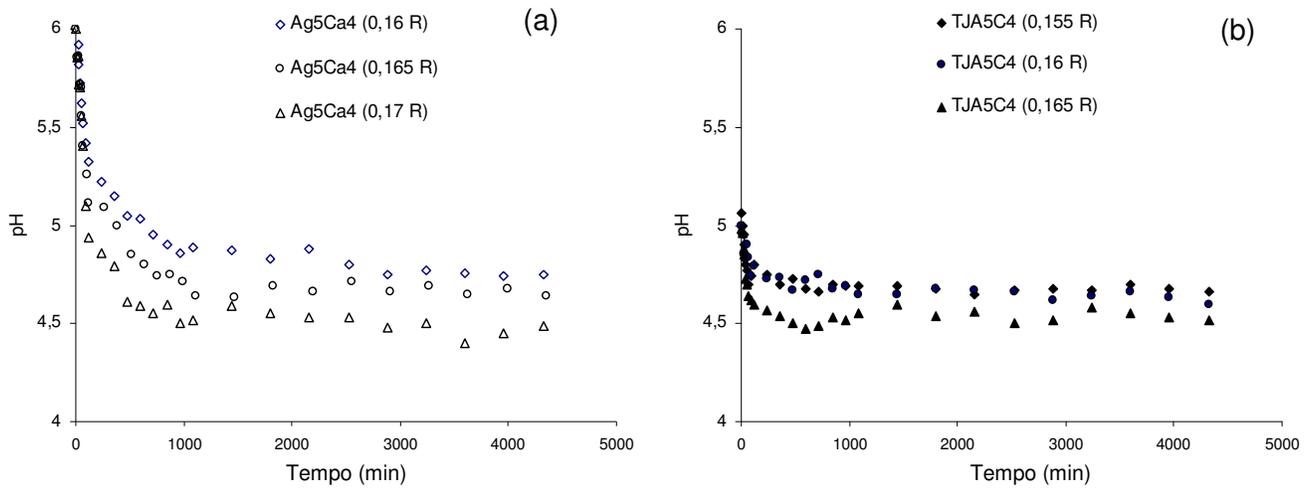


Figura 4.2: Cinética de acidificação das amostras (a) Ag5Ca4 e (b) TJA5C4 variando a razão de GDL. Sendo “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura), “Ca” (o caseinato foi acidificado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos). O número após a letra indica a concentração do componente.

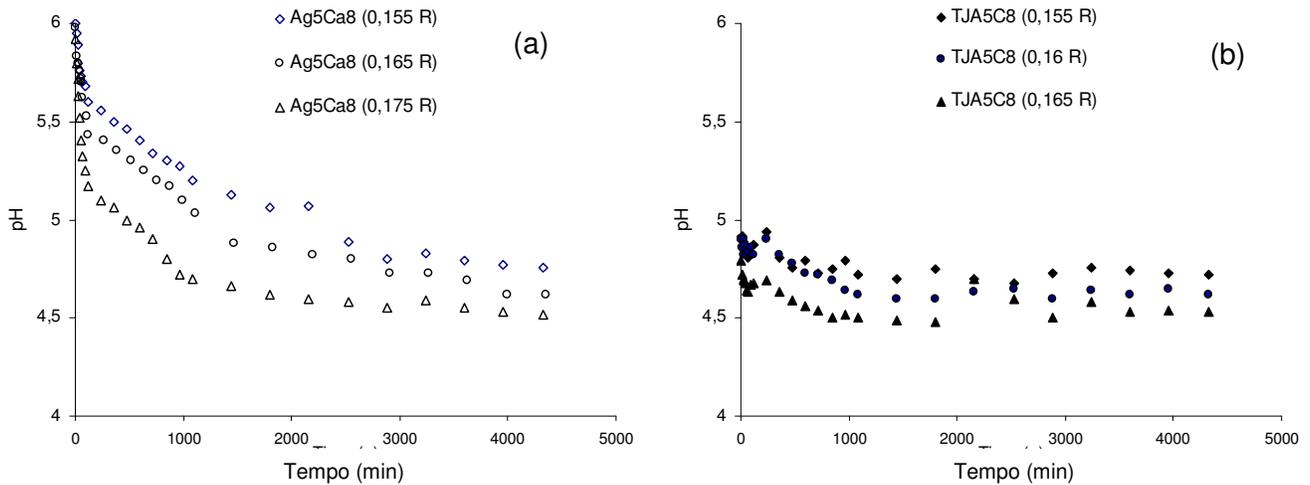


Figura 4.3: Cinética de acidificação da amostra (a) Ag5Ca8 e (b) TJA5C8 variando a razão de GDL. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura), “Ca” (o caseinato foi acidificado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos). O número após a letra indica a concentração do componente.

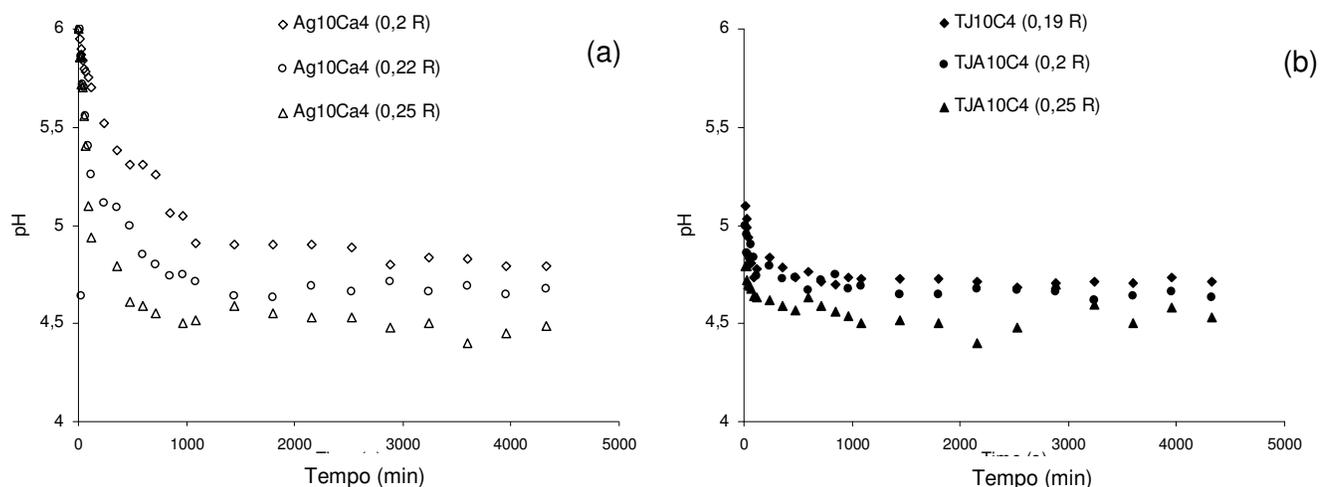


Figura 4.4: Cinética de acidificação da amostra (a) Ag10Ca4 e (b) TJA10C4 variando a razão de GDL. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura), “Ca” (o caseinato foi acidificado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos). O número após a letra indica a concentração do componente.

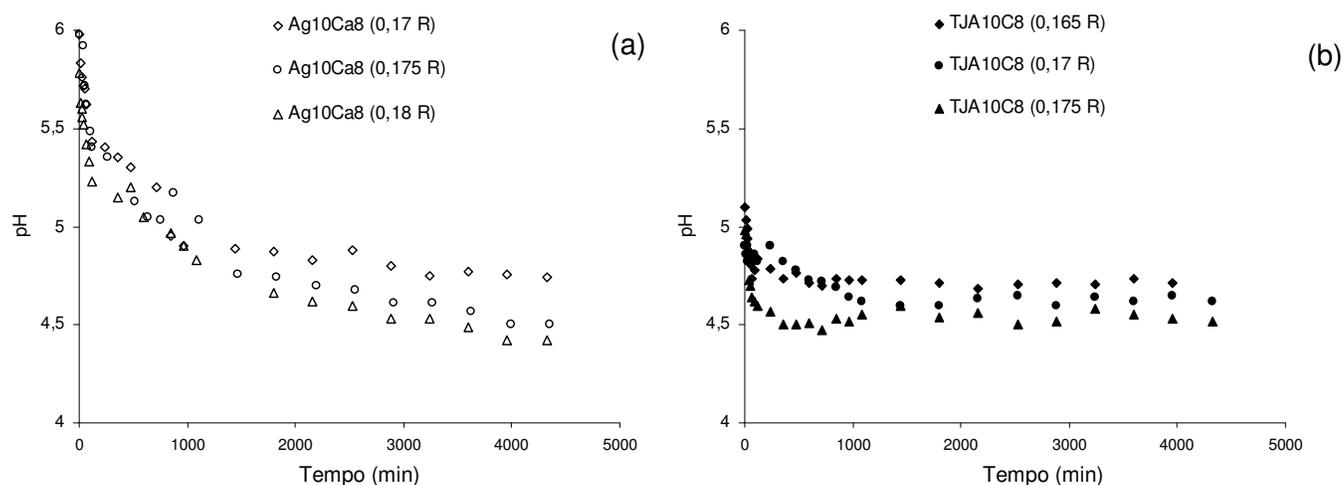


Figura 4.5: inética de acidificação da amostra (a) Ag10Ca8 e (b) TJA10C8 variando a razão de GDL. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura), “Ca” (o caseinato foi acidificado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos). O número após a letra indica a concentração do componente.

Pelas Figuras 4.2b, 4.3b, 4.4b e 4.5b nota-se que as amostras em que o amido foi gelatinizado e acidificado junto com o caseinato, o gel possuía pH próximo ao pI da proteína

logo após a sua preparação, devido à elevada velocidade de hidrólise do GDL a altas temperaturas (acidificação rápida).

As Figuras 4.2a, 4.3a, 4.4a e 4.5a mostram que os géis formados a partir do amido pré-gelatinizado antes de ser misturado ao caseinato mais GDL, em que observou-se pH em torno de 5,9 logo depois do preparo. Somente após aproximadamente 16 horas (acidificação lenta) seu pH chegou próximo ao ponto isoelétrico do caseinato. Nas amostras em que se gelatinizou a mistura de amido/caseinato tudo junto com a acidificação (TJ), verificou-se uma queda rápida do pH inicial para aproximadamente 5,0.

4.3.3. Ensaio de gelatinização e gelificação

Inicialmente, se estudou o efeito da concentração de amido, analisando as curvas de gelatinização e gelificação das suspensões contendo 5 e 10% de amido (item 4.3.3.1). Posteriormente, verificou o efeito do caseinato de sódio na gelatinização e gelificação destas suspensões (item 4.3.3.2).

Misturas de amido de amaranto (nas concentrações de 5 e 10%, tendo como base 100 g de água), caseinato de sódio (4 e 8%, tendo como base 100 g de água) acidificados com GDL foram aquecidas de 40 a 90 °C (gelatinizadas) e depois resfriadas de 90 a 10 °C (gelificadas) a fim de se verificar como a acidificação afetaria os géis. Embora o aquecimento tenha se dado no intervalo de temperatura de 40 a 90 °C, os gráficos foram construídos de 60 a 90 °C, onde foi observada a estruturação das suspensões durante a gelatinização.

A Tabela 4.3 apresenta as temperaturas de início de gelatinização (dG'/dT e dG''/dt) e as taxas de aumento em G' com relação ao tempo (dG'/dt) para o amido puro (5% e 10% p/p) e para os sistemas mistos contendo caseinato de sódio (4 e 8% p/p) mais GDL. A taxa de aumento em G' relativo ao tempo (suposta velocidade de gelatinização) foi determinado como o dG^*/dt , esses valores podem ser observados na Tabela 4.3. A Tabela 4.4 mostra os

valores de G' e G'' do amido puro e dos sistemas mistos contendo caseinato de sódio-GDL a 90°C e 10°C. Estas Tabelas comparam todos os sistemas estudados e foi colocada previamente, neste item, por fazer parte da discussão dos itens abaixo (4.3.3.1 a 4.3.3.3).

Tabela 4.3: Temperaturas de início de gelatinização do amido puro (5% e 10% p/p) e dos sistemas mistos contendo caseinato de sódio (4 e 8% p/p) e GDL a 90°C e 10°C, considerando os dois métodos de preparação.

Amostras	To em G' (°C)*	To em G'' (°C)*	dG'/dt
	dG'/dT	dG'/dT	(Pa)**
A5	70,3±0,1 ^a	69,4±0,1 ^a	0,038 ^a
A5C4b	70,5±0,1 ^a	69,6±0,1 ^a	0,030 ^a
A5C8b	72,0±0,2 ^b	71,1±0,1 ^b	0,003 ^b
TJA5C4	70,8±0,3 ^a	69,3±0,1 ^a	0,170 ^c
TJA5C8	71,9±0,2 ^b	70,4±0,1 ^a	0,860 ^d
A10	70,6±0,1 ^c	69,7±0,1 ^c	0,100 ^c
A10C4b	70,8±0,2 ^c	69,8±0,1 ^c	0,320 ^e
A10C8b	71,7±0,3 ^d	70,5±0,1 ^c	0,020 ^a
TJA10C4	70,8±0,2 ^c	69,5±0,1 ^c	0,300 ^e
TJA10C8	71,1±0,1 ^d	70,0±0,1 ^c	0,350 ^e

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si para $p < 0,05$.

*To: Temperatura de início de gelatinização (°C).

**(dG'/dt): Taxas de aumento em G' com relação ao tempo (representa a velocidade de gelatinização).

Tabela 4.4: Valores de G' e G'' do amido puro (5% e 10% p/p) a 90°C e 10°C, considerando os dois métodos de preparação.

Amostras	Valor de G'	Valor de G''	Valor de G'	Valor de G''
	90°C (Pa)	90°C (Pa)	10°C (Pa)	10°C (Pa)
A5	4,10±0,5 ^a	4,07±0,4 ^a	5,48±0,7 ^a	9,61±0,8 ^a
A5C4b	10,97±1,2 ^b	5,19±1,1 ^a	12,05±0,9 ^b	12,14±1,7 ^a
A5C8b	1,24±0,3 ^c	1,13±0,6 ^b	3,45±0,4 ^c	4,27±0,8 ^b
TJA5C4	13,7±2,9 ^b	10,97±1 ^c	7,15±0,9 ^a	12,05±1,8 ^a
TJA5C8	103,8±10, 2 ^d	15,57±1,1 ^d	203,45±16,4 ^d	16,95±2,0 ^c
A10	28,49±2, ^e	9,11±1,9 ^e	44,67±4,7 ^e	15,55±2,6 ^e
A10C4b	54,44±5,23 ^f	8,82±1,1 ^e	74,05±5,8 ^f	18,92±2,5 ^e
A10C8b	8,35±1,3 ^g	4,96±0,8 ^f	11,67±1,6 ^g	15,61±1,7 ^e
TJA10C4	53,42±3,57 ^f	33,5±5,3 ^g	74,05±6,9 ^f	23,5±1,65 ^f
TJA10C8	73,31±8,26 ^h	16,98±2,1 ^h	1493±97,5 ^h	469±25,7 ^g

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si para p<0,05.

4.3.3.1. Efeito da concentração de amido na gelatinização das suspensões

Visto as características diversas constatadas no amaranto em função do local de plantio e safra, repetiu-se os ensaios realizados por PAMPA (2003) e PEREIRA (2004) para a gelatinização de suspensões do amido podendo utilizá-las como padrão de comparação com as misturas.

Nas Figuras 4.6a e 4.6b, podem ser observadas as curvas de gelatinização (aquecimento) e posterior gelificação (resfriamento) das suspensões de amido (5 e 10%).

O aumento acentuado de G' e G'' durante o estágio inicial da gelatinização pode ser atribuído ao aumento das interações entre os grânulos de amido dispersos e a amilose ou amilopectina, ou seja, a um aumento na adesão entre a fase contínua e os grânulos dispersos de amido (“ghosts”) na suspensão (ORTEGA-OJEDA & ANN-CHARLOTTE, 2001 e FREDRIKSSON et al., 1998).

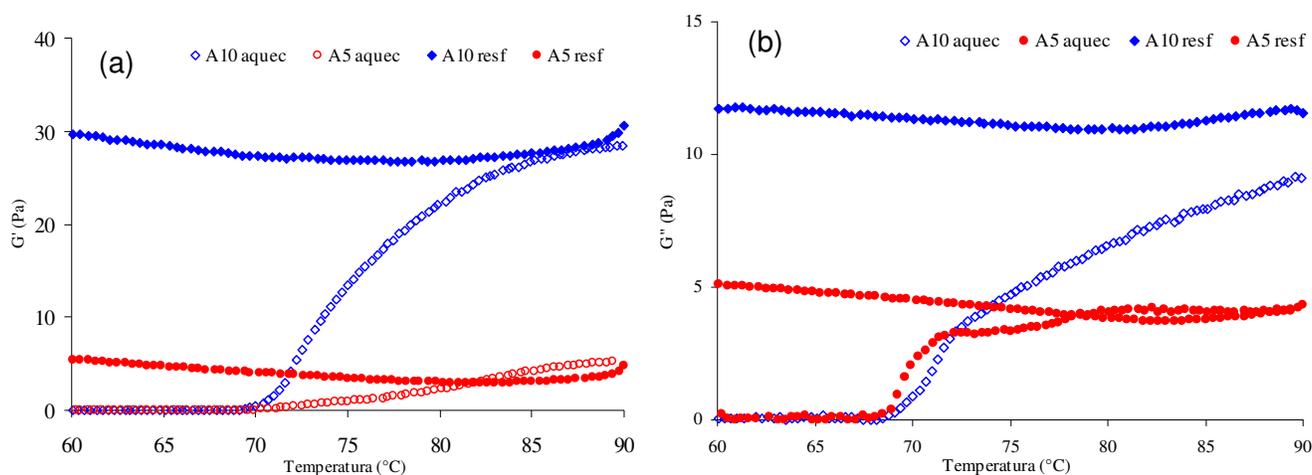


Figura 4.6: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido (5 e 10%). A: amido e o número em seguida representa a concentração. Aquec: aquecimento e resf: resfriamento.

A amilose e amilopectina que saem dos grânulos de amido aumentam a viscosidade da suspensão e, conseqüentemente, os valores de G'' , até atingir o estágio em que todos os grânulos de amido perderam substancialmente a sua estrutura molecular (AVANZA et al., 2003 e JENG-YUNE & AN-I, 2001).

O forte aumento de G'' , para a suspensão contendo amido puro na concentração de 5% e 10% se dá por volta de 69°C (Tabela 4.3). O aumento de G' durante a gelatinização se dá pelo crescente ganho de elasticidade do grânulo de amido com a saída da amilose e

quebra das duplas hélices (ADDO et al., 2001 e MILES & MORRIS, 1985) e isto ocorreu ao redor de 70°C (Tabela 4.3).

Pela Tabela 4.4 nota-se que os valores de G' e G'' aumentam com o aumento da concentração de amido de 5 para 10%, o que mostra a importância deste biopolímero na formação estrutural do gel.

O aumento da concentração de amido na suspensão conduziu a uma aceleração na taxa de aumento de G' (Tabela 4.3), demonstrado pelo aumento na velocidade de perda da cristalinidade e conseqüente desenvolvimento das características elásticas (G') e viscosas (G'') no sistema, o que está demonstrado pela subida mais pronunciada dos valores de G' e G'' (Figuras 4.6a e 4.6b) à medida que se aumentou a concentração de amido no sistema.

O aquecimento de 40 a 90°C, a uma taxa de 2°C por minuto, foi insuficiente para a completa gelatinização das suspensões de amido (Figuras 4.6a e 4.6b), que continuaram apresentando um aumento de G' e G'' , sem a presença do platô ($G' = \text{constante}$), como havia sido reportado por PAMPA (2003), que também realizou ensaios de gelatinização com a mesma variedade brasileira de *Amaranthus cruentus*.

PEREIRA (2004) trabalhou com o amido liofilizado, proveniente da variedade *Amaranthus cruentus*, realizou o mesmo procedimento utilizado neste trabalho, e também não chegou a um platô no final da gelatinização. Comparando os resultados com os de PAMPA (2003) e PEREIRA (2004) chegou à conclusão que a maior velocidade de gelatinização reportada pelo primeiro autor poderia ser atribuída as diferenças no método de isolamento do amido (que foi seco em estufa a 40°C por 48h ao invés de liofilizado). Este fato não se confirmou neste trabalho, pois assim como PAMPA (2003) o amido foi seco em

estufa e chegou-se a resultados mais próximos aos encontrados por PEREIRA (2004), que não alcançou um platô durante a gelatinização.

A presença de platô nos estudos de PAMPA (2003) pode ser devida à menor quantidade de amilose do amido utilizado (5,8%), o que resulta em uma menor quantidade de amilose a ser lixiviada do grânulo de amido durante a fase inicial da gelatinização. Além disso, pode-se supor que em suspensões de amido com maiores conteúdos de amilose, o aumento de G' também reflete o aumento da formação das duplas-hélices da amilose lixiviada do grânulo de amido (BLANSHARD, 2006 e PAREDES-LOPEZ et al., 1994).

O aumento de G' durante o resfriamento das suspensões gelatinizadas, nada mais é do que um indicativo da estruturação que acontece durante a gelificação das suspensões de amido. A etapa de resfriamento das suspensões gelatinizadas de amido caracteriza-se pela associação da amilose por junções do tipo dupla-hélices, e pela recristalização das cadeias de amilopectina suspensas (fenômeno bem mais lento que a gelatinização), responsáveis pela formação das hélices, junção das dupla-hélices, o que resulta no desenvolvimento de turbidez e na formação do gel de amido (PARKER & RING, 2001; EVAGELIOU et al., 2000a; CLARK, 1995; RING et al., 1987; RICHARDSON & GORDON, 2002).

Juntamente com as ligações entre os grânulos de amido na suspensão, ocorreu o aumento no grau de ligações cruzadas dentro do grânulo de amido, provocando o aumento da massa molecular da suspensão, resultando assim em um pequeno aumento da resposta viscosa (G'') durante o resfriamento da suspensão de amido (EVAGELIOU et al., 2000b e RESIO et al., 2006).

Nas Figuras 4.6a e 4.6b notou-se ainda em algumas amostras uma diferença entre os valores finais de aquecimento de G' e G'' e os iniciais de resfriamento dos mesmos, o que se deve ao tempo em que a amostra ficou submetida a 90°C antes que ela começasse a

resfriar. Isso ocorre porque o reômetro, onde os ensaios foram realizados, não permite a realização de ensaios de aquecimento seguidos de ensaios de resfriamento em um único programa, portanto, foram estabelecidos dois programas, um de aquecimento e outro de resfriamento, de modo que o segundo foi iniciado depois do final do primeiro com um comando do operador, o que sem dúvida levou algum tempo.

4.3.3.2. Efeito do caseinato de sódio na gelatinização de suspensões de amido

O efeito da adição de caseinato e GDL na gelatinização e gelificação das suspensões de 5% de amido de amarantho pode ser observado nas Figuras 4.7a e 4.7b.

As concentrações de amido e caseinato nas suspensões estão simbolizadas por letras maiúsculas, onde “A” significa amido, utilizando “Ag” quando o amido for pré-gelatinizado, sendo seguido pela concentração dos mesmos na suspensão. A letra “C” significa caseinato, seguido pela concentração de caseinato, sendo que “Ca” é utilizado quando o caseinato é acidificado antes da mistura com o amido pré-gelatinizado. Os modos de preparação das amostras também estão simbolizadas por letras, as amostras que foram preparadas com todos os seus componentes juntos possui as letras “TJ”. Quando as amostras não forem acidificadas com GDL será seguida pela letra minúscula “b” (branco).

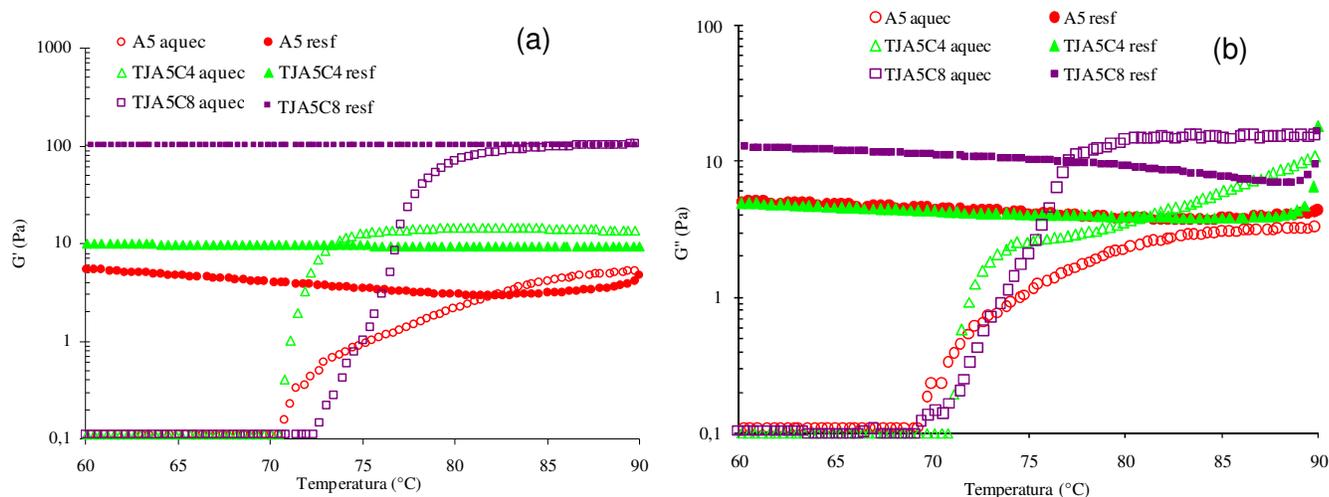


Figura 4.7: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 5% sem e com caseinato (4 e 8%). Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos.

A adição de caseinato à suspensão com 5% de amido retardou levemente o início da gelatinização (Figuras 4.7a e 4.7b e Tabela 4.3), principalmente na concentração de 8% de proteína. Nos sistemas acidificados, a adição de caseinato levou a um aumento na taxa de aumento de G' (velocidade de gelatinização), cujo aumento pode estatisticamente ser comprovado na Tabela 4.3 ou visualizado nas curvas das Figuras 4.7 devido a acentuação da subida de G' e G'' .

O retardo no início da gelatinização pode ser atribuído à hidratação das moléculas de caseinato, o que diminui a água livre do sistema, ou ainda à interação das moléculas de caseinato com as cadeias da molécula de amido, estabilizando as regiões cristalinas do grânulo (BANON et al., 1992 e LUCEY et al., 1997). Isto promove uma menor mobilidade molecular devido à maior concentração de biopolímeros, o que dificulta o processo de acomodação estrutural, não sendo, portanto, possível a visualização dos mesmos efeitos sinérgicos. No entanto, no caso da gelificação, o sistema dispõe de tempo suficiente para permitir a interação destes biopolímeros, sendo, portanto, visualizado o efeito positivo do caseinato na formação do gel.

Nos sistemas com 10% de amido (Figuras 4.8a e 4.8b), a adição de caseinato também retardou levemente o início de gelatinização (Tabela 4.3), principalmente para G' , porém a velocidade não foi maior como ocorreu nas suspensões de amido 5%, o que indica que a influência do caseinato na gelatinização de maiores concentrações de amido é menor. No entanto, durante a gelificação, o caseinato atuou positivamente na formação do gel, o que se deve ao maior número de ligações cruzadas ou pontes de hidrogênio (mais provável) no sistema (BERTOLA et al., 1995 e ROEFS et al., 1990).

Nos sistemas acidificados, o aumento na concentração de proteína ou polissacarídeo provocou um aumento nos valores de G' e G'' (Figuras 4.7a a 4.8b e Tabela 4.4), isto evidencia que a rede envolveu ambos biopolímeros. Géis formados com caseinato mais GDL (acidificação lenta até pl) e polissacarídeo possui uma rede principal de partículas de proteína com estruturas de polissacarídeos envolvidas no seu interior (BRAGA, 2002 e BRAGA & CUNHA, 2005). Tal comportamento não somente reflete a conformação molecular, mas também a distribuição mais homogênea de moléculas de amido na rede de caseinato formada durante a acidificação lenta.

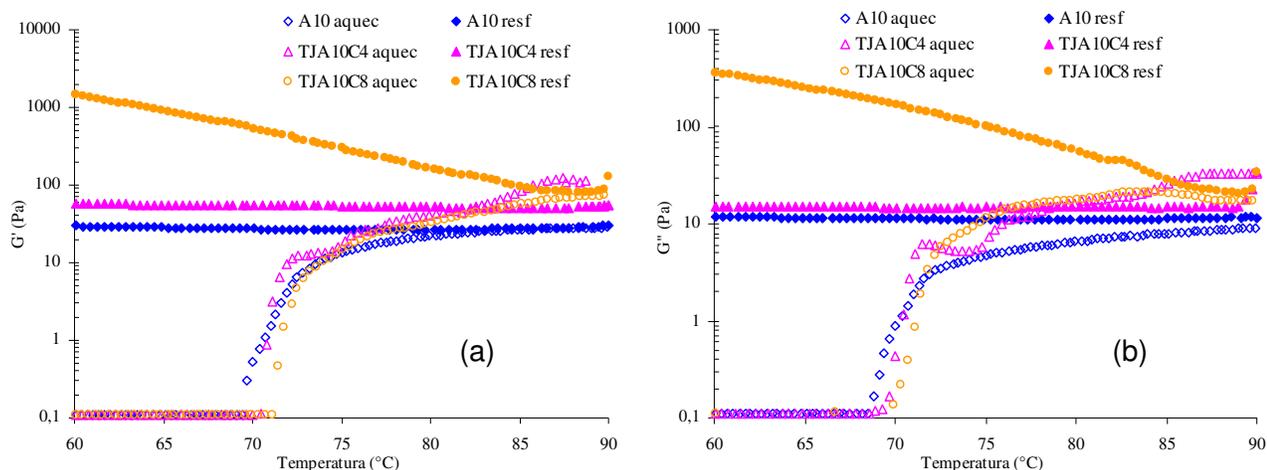


Figura 4.3: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 10% sem e com caseinato (4 e 8%). Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos.

BERTOLINI et al. (2005) verificou que o caseinato de sódio promoveu uma influencia nos géis de amido. Para todos os amidos, com exceção do amido de batata, o caseinato de sódio promoveu um aumento no módulo de armazenamento (G') e na viscosidade. Isto foi mais evidente nas amostras com concentrações mais baixas de amido, evidenciando que as propriedades viscoelásticas do caseinato de sódio são mais importantes nos sistemas com baixa concentração de polissacarídeo. Este efeito foi observado neste trabalho, porém apenas nas amostras acidificadas, nos géis sem GDL, o aumento na concentração de caseinato prejudicou a formação dos géis de amido (Figura 4.9a a 4.10b), provavelmente devido a incompatibilidade termodinâmica que ocorre entre os dois biopolímeros.

4.3.3.3. Efeito do GDL nos géis de amido e caseinato de sódio

O efeito da adição de GDL na gelatinização e gelificação das suspensões de 5% de amido de amaranto pode ser observado nas Figuras 4.9a a 4.10b.

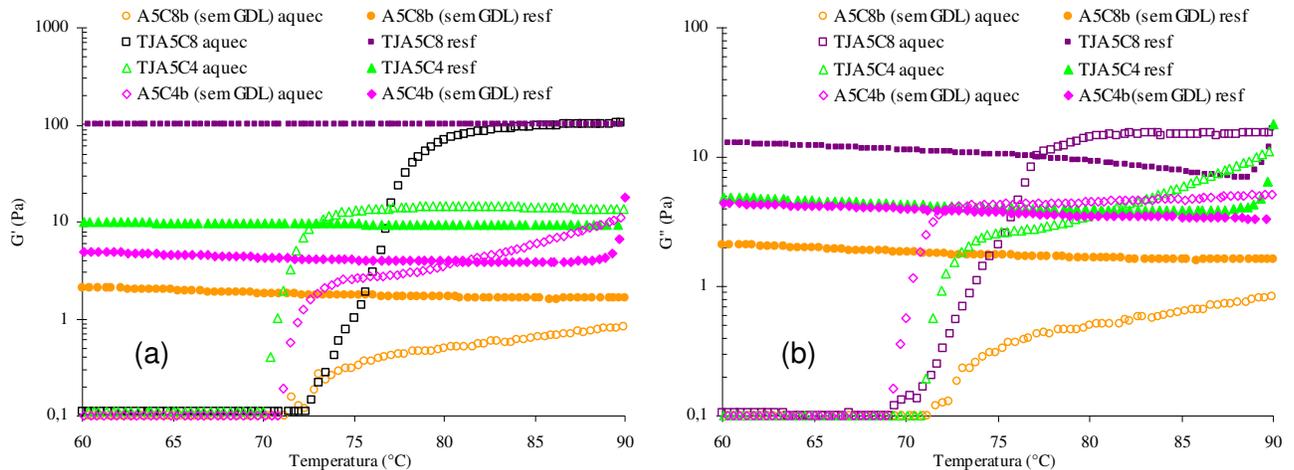


Figura 4.9: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 5% comparando amostras com e sem GDL. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos e “b” é o branco (sem GDL)

Nas soluções de amido 5% pode-se perceber que nas amostras sem GDL, a adição de caseinato dificulta a gelatinização (Figura 4.9a e Tabela 4.3), em altas temperaturas o caseinato (sem acidificar) se torna uma solução “muito fraca”, ou seja, pouco estruturada, o que interfere nos valores de G' e G'' das misturas contendo amido. Já quando se adiciona o GDL numa razão suficiente para se chegar ao pl da proteína, ocorre a formação de géis “mais fortes”.

Além disso, nos sistemas neutros ocorre uma diminuição na velocidade de gelatinização (representada pela taxa de aumento de G') quando se adiciona o caseinato, porém, ocorre um aumento quando se adiciona o GDL no sistema (Tabela 4.3).

Provavelmente, sistemas sem GDL, com altos valores de pH, podem estar mostrando um aumento da incompatibilidade termodinâmica entre o caseinato e o amido, a medida que a concentração de um dos biopolímeros aumenta. Em pH próximo ao pl (amostras com GDL), isto não se observa porque a rede de caseína formada por interações eletrostáticas dificulta a separação dos biopolímeros não apresentando uma macro-

separação de fases e, portanto, forma um gel mais forte, aumentando a medida que se eleva as concentrações de biopolímeros. Além disso, em pH próximo ao pl, pode ter ocorrido uma interação amido-caseinato de sódio, considerando que o amido possui uma tendência levemente aniônica.

As Figuras 4.10a e 4.10b mostram o efeito da adição de GDL na gelatinização e gelificação das suspensões de 10% de amido de amaranto.

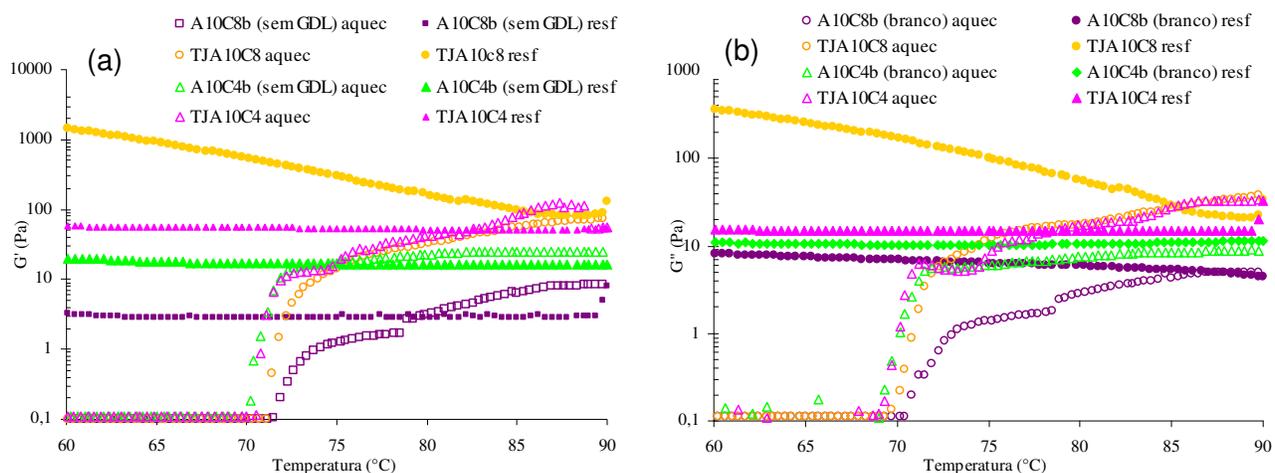


Figura 4.10: (a) Curvas de G' e (b) Curvas de G'' em função temperatura das suspensões de amido 10% comparando amostras com e sem GDL. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos e “b” é o branco (sem GDL).

THEBAUDIN et al. (1998) verificaram uma diminuição no módulo de armazenamento em sistemas contendo água/amido/caseína quando se aumenta a concentração de caseinato (sem acidificar), MARZIN et al. (1995) e LEVIÈVRE et al. (1989) observaram que sistemas água/ amido/ caseinato apresentaram comportamento similar a sistemas água/amido, mas com uma menor elasticidade. Estes resultados vão de encontro aos

estudados neste trabalho para as amostras não acidificadas. Nas soluções de amido 10% (Figuras 4.10a e 4.10b) a influência do caseinato na gelatinização é menor que nas soluções de amido 5%, no entanto, o caseinato ainda dificulta a gelatinização na ausência de GDL.

Da mesma forma que nas soluções de 5% de amido, quando se adiciona o GDL numa razão suficiente para se chegar ao pI da proteína, ocorre a formação de géis “mais fortes” (LUCEY & SINGH, 1997), porém, a diferença entre G' e G'' das misturas com e sem GDL não é tão grande como nas misturas de amido 5%. Provavelmente, o aumento da viscosidade do sistema com o aumento da concentração de amido começa a dificultar a separação de fases.

Da mesma forma, o aumento na velocidade de gelatinização é mais sentido na concentração de 5% de amido, pode-se observar na Tabela 4.3 que nos sistemas acidificados a adição de GDL elevou os valores da velocidade. Porém, nos sistemas neutros a adição de caseinato promoveu uma queda significativa na velocidade de gelatinização, com exceção da amostra A10C4b. Provavelmente, nesta amostra a alta concentração de amido prevaleceu à incompatibilidade termodinâmica entre este polissacarídeo e o caseinato.

4.3.4. Caracterização reológica dos géis gelatinizados

Foram analisados géis previamente gelatinizados e no equilíbrio, ($pH= 4,6 - 4,7$ após 48 h) contendo amido de amaranto nas concentrações de 5 e 10%, caseinato (4 e 8%) e adicionados ou não de GDL.

Inicialmente, se estudou o efeito da concentração de amido, analisando as curvas de escoamento das suspensões contendo 5 e 10% de amido em 100g de água (ítem 4.3.4.1). Posteriormente, verificou o efeito do caseinato de sódio (4 e 8% p/p) sem acidificar nas suspensões (ítem 4.3.4.2), além disso, curvas de escoamento de misturas de amido de

amaranto (nas concentrações de 5 e 10%, tendo como base 100 g de água), caseinato de sódio (4 e 8%, tendo como base 100 g de água) acidificados com GDL foram estudadas nas mesmas concentrações dos sistemas sem acidificação (item 4.3.4.3).

4.3.4.1. Curvas de escoamento de suspensões de amido

Nas Figuras 4.11a e 4.11b pode-se verificar o efeito isolado do teor de amido nas propriedades reológicas das suspensões não acidificadas, em escoamento estacionário. Um efeito positivo da concentração de amido no sistema foi observado sobre a viscosidade aparente das suspensões, sendo também possível notar pelo formato da curva um comportamento tipicamente pseudoplástico, o que se deve provavelmente a uma ruptura estrutural devido à aplicação de tensão (CALZETTA et al., 1999, PAMPA, 2003 e PEREIRA, 2004).

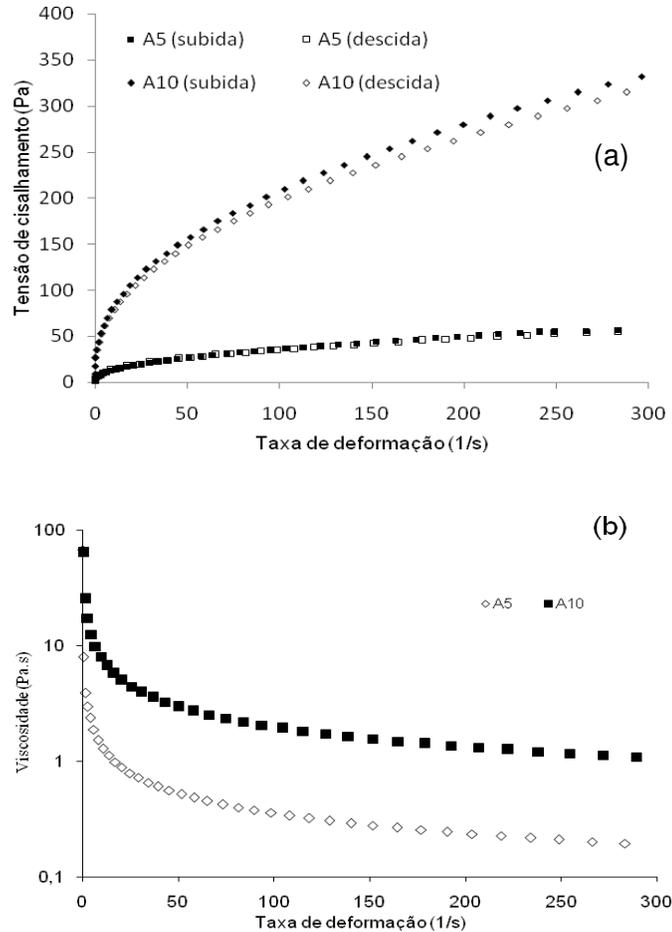


Figura 4.11: (a) Curvas de escoamento e (b) Comparativo de viscosidades de géis de amido, realizados a 10 °C. Sendo “A” Amido) e o número seguinte a concentração de amido.

Os valores de tensão de cisalhamento (Figura 4.11a) e viscosidade aparente correspondentes ao intervalo de taxa de deformação de 0 a 300s⁻¹ (Figura 4.11b) também foram muito semelhantes àqueles reportados por PAMPA (2003) e PEREIRA (2004) para suspensões gelatinizadas da mesma variedade de *Amaranthus cruentus*.

Nota-se, também, que as suspensões de amido apresentaram uma pequena variação no comportamento reológico com o tempo de aplicação da tensão mostrando tixotropia, que foi acentuada pelo aumento da concentração de amido na suspensão. Esta diminuição da viscosidade durante o cisalhamento (demonstrado pela histerese) pode ser

atribuída à ruptura de entrelaçamentos das moléculas, que induz a desestruturação da suspensão durante o experimento (DOLZ et al., 2007). Resultado semelhante foi apresentado por TELI et al.(2007) e BHOSALE & SINGHAL, (2007) que estudaram o comportamento reológico de amido de amaranto indicando uma diminuição da viscosidade com o tempo. No entanto, NUSSLI et al., (2000), TECANTE & DOUBLIER (1999), NAYOUF et al. (2003) e TÁRREGA et al. (2005) observaram comportamento reopético em suspensões de milho “waxy”, assim como PEREIRA (2004) para amido de amaranto. Os dados relativos às curvas de escoamento em ensaios estacionários foram utilizados na obtenção de equações empíricas que melhor se ajustam às suspensões gelatinizadas de amido de amaranto, o que foi apresentado no ítem 4.3.4.4.

4.3.4.2. Curvas de escoamento das suspensões de amido e caseinato (Ensaio estacionários)

Nas Figuras 4.12a e 4.12b são apresentadas as suspensões de amido adicionadas de caseinato de sódio sem adição de GDL, ou seja, com pH em torno de 6,7. Pode-se observar que a adição de caseinato em uma concentração menor (4% p/p), ou mais próxima a da caseína no leite, teve um forte efeito negativo sobre a viscosidade aparente das suspensões gelatinizadas de amido, o que poderia ser associado à incompatibilidade termodinâmica causada pela gelatinização e gelificação do amido antes da mistura com o caseinato de sódio (TOLSTOGUZOV, 2003a e 2003b). No entanto, o aumento da concentração de proteína levou a uma tendência de inversão deste comportamento, que é mais claramente observado na mais elevada concentração de amido. A mesma tendência foi observada por ACHAYUTHAKAN & SUPHANTHARIKA (2008) que estudaram sistemas contendo amido de milho e goma xantana, verificando que suspensões de amido puro e sistemas mistos apresentaram comportamento tixotrópico, principalmente a altas deformações, modificando para reopético com o aumento da concentração do hidrocolóide.

Comportamento contrário foi encontrado pelos autores ABU-JDAYIL et al. (2004) e TÁRREGA et al. (2005) que analisaram suspensões de amido de milho ceroso gelatinizados na presença leite e água. Estes estudos mostraram que as amostras gelatinizadas no leite apresentaram uma viscosidade aparente maior que as que utilizavam apenas água, o que foi atribuído à maior rigidez do amido na presença dos compostos do leite (gorduras, minerais, proteína do soro, etc...). Apesar dos autores utilizarem concentrações de amido (2 e 7% p/p) diferentes das utilizadas neste trabalho (5 e 10% p/p), esta discrepância nos resultados provavelmente ocorre pelas diferenças no processo de preparação das amostras. Neste caso, a gelatinização do amido foi realizada antes da mistura com o caseinato de sódio, enquanto que TÁRREGA et al. (2005) efetuaram a gelatinização do polissacarídeo diretamente no leite. Além disso, a contribuição do caseinato de sódio às propriedades reológicas do amido é fortemente dependente da concentração e origem botânica do amido segundo BERTOLINI et al., (2005).

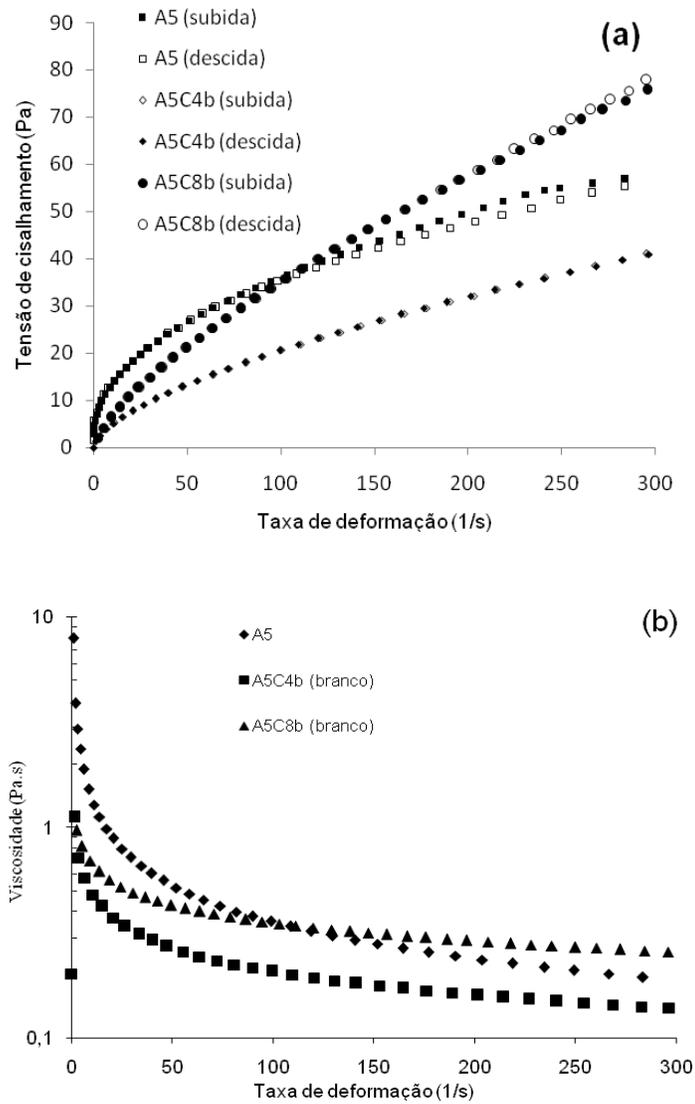


Figura 4.12: (a) Curvas de escoamento e (b) Comparativo de viscosidades de suspensões de amido dos sistemas não acidificados mistos com caseinato (0, 4 e 8% p/p) e concentração de amido (5% p/p).

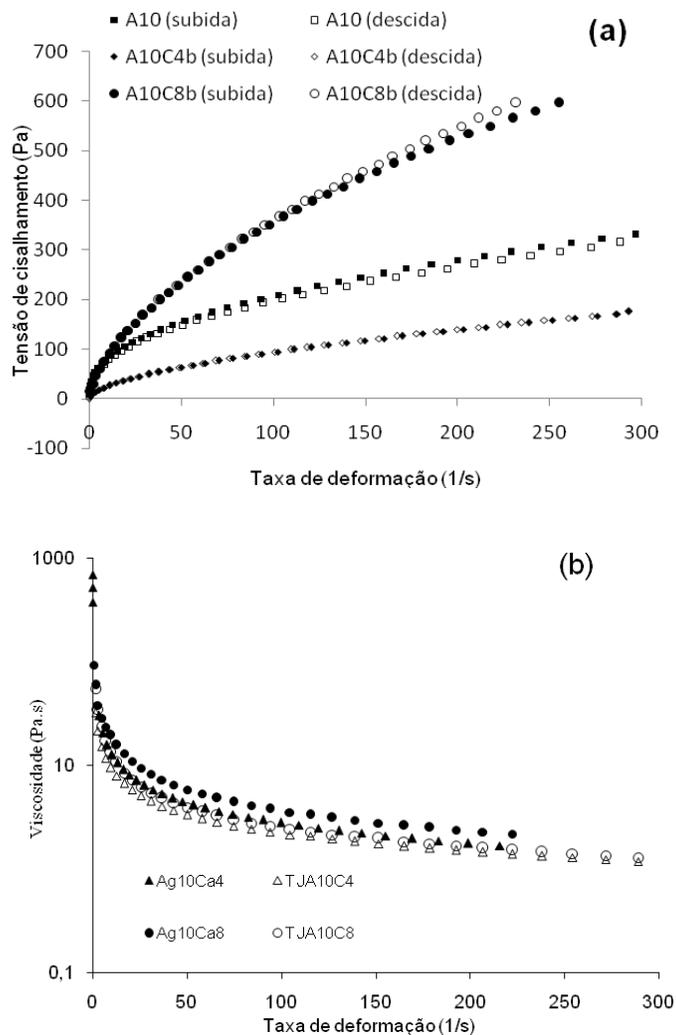


Figura 4.13: (a) Curvas de escoamento e (b) Comparativo de viscosidades de suspensões de amido dos sistemas não acidificados mistos com caseinato (0, 4 e 8% p/p) e concentração de amido (10% p/p).

4.3.4.3. Influência do modo de preparação dos géis

As Figuras 4.14 e 4.15 mostram a diferença nas curvas de escoamento e no comportamento da viscosidade dos sistemas acidificados em diferentes taxas. As misturas contendo 5% e 10% p/p de amido mostraram um efeito positivo da concentração de caseinato sobre a viscosidade aparente independente da taxa de acidificação.

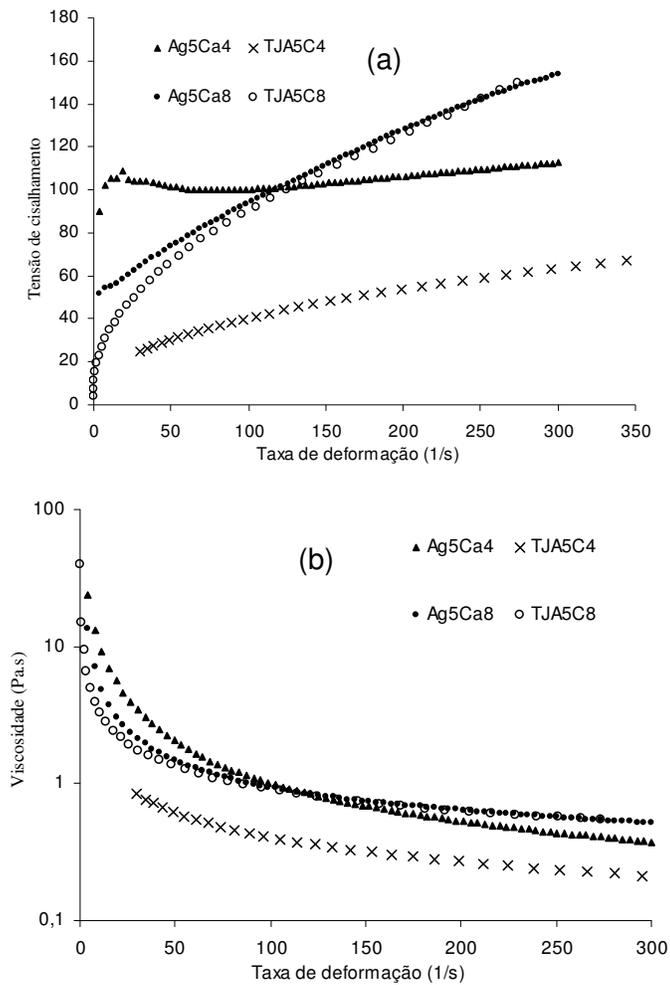


Figura 4.14: (a) Curva de escoamento e (b) Viscosidade *versus* taxa de deformação comparando o modo de preparação dos géis contendo 5% de amido, medida a 10°C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

A maior diferença de viscosidade entre os dois tipos de processos ocorreu para as amostras contendo 5% de amido e 4% de caseinato (ou seja, menor concentração de biopolímeros), sendo esta propriedade reológica maior para amostras em que o amido foi previamente gelatinizado e posteriormente misturado ao caseinato. No entanto, pode-se observar que as amostras contendo 8% de caseinato mostraram viscosidade similar, principalmente acima de 100 s^{-1} , mostrando que houve predomínio do comportamento do gel de amido sobre o de caseinato. No entanto, na maior concentração de amido, a rede de caseinato passou a exercer maior influência no comportamento reológico.

Nas amostras contendo 10% de amido (Figuras 4.15a e 4.15b) observa-se um comportamento semelhante ao do amido 5% quando se compara a mesma preparação, onde concentrações maiores de caseinato promoveram um efeito positivo na viscosidade aparente.

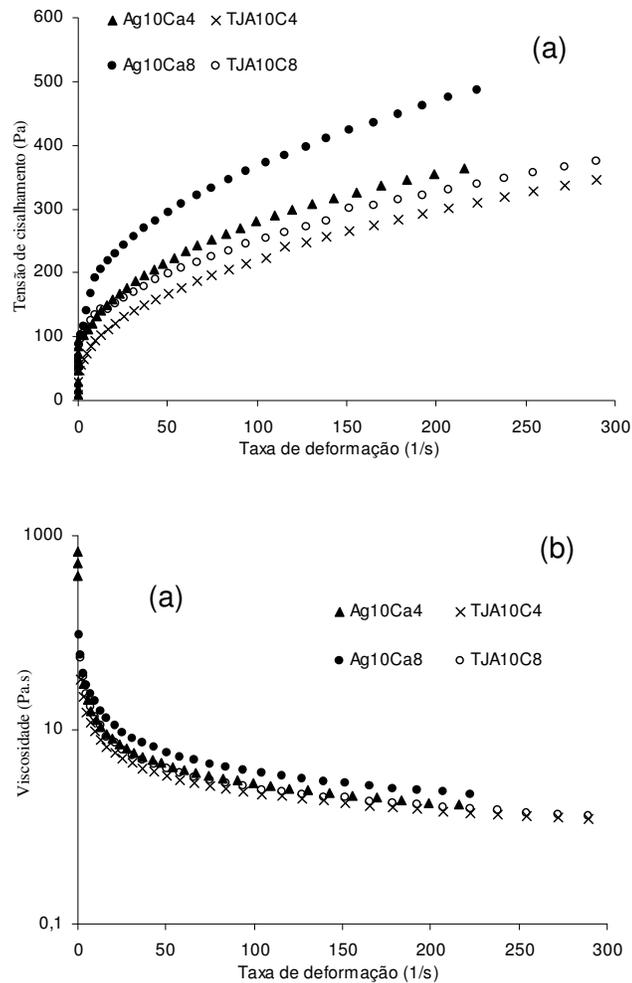


Figura 4.15: (a) Curva de escoamento e (b) Viscosidade *versus* taxa de deformação comparando o modo de preparação dos géis contendo 10% de amido, medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

Porém, nas amostras em que o amido foi pré-gelatinizado antes de se misturar com o caseinato e GDL, a viscosidade se apresenta maior, principalmente no início, enquanto nas amostras onde a mistura foi realizada antes da gelatinização, a viscosidade foi menor ocorrendo uma queda assintótica conforme se aumenta a taxa de deformação.

4.3.4.4. *Modelagem das curvas de escoamento (Equações constitutivas)*

Vários modelos foram testados para avaliar o ajuste dos dados experimentais de tensão de cisalhamento e taxa de deformação das amostras, sendo os que melhor descreveram o seu comportamento foram os da Lei da Potência (LP) e Herschel-Bulkley (HB) (equações constitutivas descritas na Tabela 4.5). Tal ajuste foi realizado por meio da ferramenta *Solver* do software Excel (Microsoft, USA,) e pelo software do programa Origin.

As concentrações de amido e caseinato nas suspensões estão simbolizadas por maiúsculas, onde “A” significa amido, utilizando “Ag” quando o amido for pré-gelatinizado, sendo seguido pela concentração dos mesmos na suspensão. A letra “C” significa caseinato, seguido pela concentração de caseinato na mesma, sendo que “Ca” é utilizado quando o caseinato é acidificado antes da mistura com o amido pré-gelatinizado. O modo de preparação das amostras também está simbolizada por letras, as amostras que foram preparadas com todos os seus componentes juntos possuem as letras “TJ”. Quando as amostras não forem acidificadas com GDL (branco) será seguida pela letra minúscula “b” (sem GDL).

Os dados obtidos para os sistemas não acidificados, em geral, se ajustaram bem aos dois modelos (Lei da Potência e Herschel-Bulkley), com valores de (R^2) muito próximos de 1 e qui-quadrado (χ^2) baixos. Com exceção da suspensão de amido mais concentrada, os sistemas não acidificados poderiam ser representados pelo modelo Lei da potência, uma vez que o valor de tensão residual calculado foi próximo a zero. Estes resultados estão de acordo com o que foi reportado por NGUYEN et al (1998) e CHEN & DICKINSON (2000), que afirmaram que suspensões gelatinizadas de amido de milho normal e ceroso e de amido de mandioca, apresentam um comportamento pseudoplástico sem tensão residual (σ_0). No entanto, a qualidade dos ajustes diminuiu para as amostras acidificadas, provavelmente devido à forte influência da rede de caseinato formada no ponto isoelétrico da proteína sob

cisalhamento, pois esta tende a se romper antes de ocorrer o verdadeiro escoamento, dificultando a análise dos resultados especialmente a altas deformações. Um exemplo deste comportamento é a amostra Ag5Ca4 que não apresentou um bom ajuste estatístico dos resultados, isto porque a amostra apresentava uma estrutura que não permitia o escoamento verdadeiro, podendo ocorrer, inclusive, um escorrendo nas paredes das geometrias do reômetro.

Considerando que o modelo de Herschel-Bulkley é mais generalizado que o da Lei da potência pode-se observar uma grande variação dos índices de consistência (k) (entre 1,11 e 72,6 Pa.sⁿ), e o de comportamento do fluido, n (0,1 a 0,7) bem como da tensão residual (0 a 100 Pa). A partir dos resultados da Tabela 4.5 é possível distinguir mais claramente as diferenças entre os 3 modos de preparo das suspensões mistas. Os géis com adição de caseinato sem acidificação possuem índice de consistência (k) menor que as amostras compostas apenas de amido, bem como mostram menor pseudoplasticidade (maiores valores de índice de comportamento), o que foi estatisticamente comprovado pelo teste de tukey ($p < 0,05$). Estes resultados reforçam que nestas condições de pH (neutralidade) os dois biopolímeros não interagem e devem apresentar uma micro-separação de fases não visível a olho nu, sendo tal comportamento não evidente nas maiores concentrações de macromoléculas. No entanto, em condições de pH próximo ao ponto isoelétrico houve um forte aumento da tensão residual e do índice de consistência, bem como uma queda do valor de n , mostrando que houve um aumento da complexidade da rede formada. Porém, nota-se que as amostras compostas por amido de amaranto gelatinizado previamente possuíam maior valor de índice de consistência (k) e pseudoplasticidade que as amostras em que os componentes foram acidificados e gelatinizados simultaneamente. Este comportamento, característico da acidificação lenta, pode ser atribuído a uma grande quebra estrutural a

baixas deformações e em seguida este sistema resultante se escoar mais facilmente a altas taxas de deformação.

Tabela 4.5: Parâmetros de ajuste dos modelos reológicos lei da potência e Herschel-Bulkley aos dados experimentais obtidos em cisalhamento estacionário a 10°C.

Amostra	Modelo Lei da Potência				Modelo Herschel-Bulkley				
	k (Pa.s ⁿ)	N	χ^2	R ²	σ_0 (Pa)	k (Pa.s ⁿ)	N	χ^2	R ²
A5	5,25 ^a	0,415 ^a	11,821	0,977	1,95 ^a	4,20 ^a	0,449 ^a	0,36	0,977
A10	30,07 ^b	0,431 ^a	18,34	0,821	16,2 ^b	21,56 ^b	0,469 ^a	6,756	0,832
A5C4b	1,12 ^c	0,630 ^b	1,255	0,974	0,07 ^c	1,11 ^c	0,633 ^b	1,153	0,974
Ag5Ca4	91,04 ^d	0,099 ^c	148,32	0,625	100,02 ^d	5,74 ^d	0,099 ^c	90,6	0,633
TJA5C4	6,29 ^a	0,404 ^a	1,712	0,978	1,55 ^a	5,63 ^d	0,419 ^a	0,942	0,999
A5C8b	1,31 ^c	0,713 ^b	1,656	0,999	0	1,31 ^c	0,712 ^b	1,681	0,999
Ag5Ca8	16,72 ^e	0,392 ^f	47,538	0,853	44,64 ^e	15,51 ^e	0,713 ^f	7,035	0,869
TJA5C8	11,53 ^f	0,435 ^a	14,749	0,899	7,47 ^f	8,94 ^f	0,532 ^g	7,577	0,912
A10C4b	6,99 ^a	0,565 ^d	1,056	0,999	0,33 ^g	6,88 ^d	0,568 ^g	0,881	0,991
Ag10Ca4	71,25 ^g	0,286 ^g	52,268	0,897	41,61 ^h	36,25 ^g	0,516 ^g	31,54	0,904
TJA10C4	37,21 ^b	0,382 ^h	40,15	0,898	18,66 ^b	27,04 ^b	0,426 ^a	9,13	0,914
A10C8b	21,62 ^h	0,610 ^d	2,669	0,999	0	20,58 ^b	0,598 ^g	2,668	0,998
Ag10Ca8	85,63 ^d	0,302 ^g	45,34	0,894	88,72 ⁱ	72,57 ^h	0,355 ^a	31,47	0,918
TJA10C8	61,16 ^g	0,267 ^g	67,28	0,883	62,26 ^j	21,98 ^b	0,453 ^a	20,33	0,894

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si para p<0,05.

4.3.5. Espectros mecânicos (Ensaio oscilatórios)

Foram analisados géis previamente gelatinizados e no equilíbrio, (pH= 4,6 - 4,7 após 48 h) contendo amido de amaranto nas concentrações de 5 e 10% em 100g de água, caseinato (4 e 8% em 100 g de água) adicionados ou não de GDL. Inicialmente verificou-se o efeito do caseinato de sódio sem acidificar as suspensões (item 4.3.5.1).

Espectros mecânicos de misturas de amido de amaranto (5 e 10%), caseinato de sódio (4 e 8%) acidificados com GDL foram estudadas considerando o modo de preparação das amostras (item 4.3.5.2).

A Tabela 4.6 apresenta os valores dos módulos de armazenamento e de dissipação para todas as amostras. Os valores de G' e G'' são referentes aos módulos medidos na frequência de 1 Hz. Esta Tabela compara todos os sistemas estudados e foi colocada previamente, neste item, por fazer parte da discussão dos itens abaixo (item 4.3.5.1 a 4.3.5.3).

Tabela 4.6: Valores de G' e G'' determinados na frequência de 1Hz durante a varredura de frequência (espectros mecânicos).

Amostras	G'	G''
A5	8,00±1,10 ^a	6,71±1,24 ^a
A5C4b	14,78±2,41 ^b	9,52±3,23 ^a
A5C8b	1,66±0,25 ^c	4,23±2,24 ^a
TJA5C4	8,21±1,38 ^{aA}	11,29±3,27 ^{bA}
TJA5C8	164,80±5,85 ^{dA}	50,4±5,85 ^{cB}
Ag5Ca4	89,18±4,72 ^{eA}	31,27±3,21 ^{dB}
Ag5Ca8	1848±3,11 ^{fA}	483,6±24,54 ^{eB}
A10	46,15±2,34 ^g	19,34±4,89 ^f
A10C4b	35,03±2,12 ^g	22,67±2,45 ^f
A10C8b	24,61±2,00 ^h	22,57±3,25 ^f
TJA10C4	61,33±3,20 ^{fA}	31,04±2,15 ^{gB}
TJA10C8	59,93±2,34 ^{fA}	33,43±4,12 ^{gB}
Ag10Ca4	234,8±15,94 ^{eA}	64,8±5,05 ^{hB}
Ag10Ca8	2778±57,93 ^{iA}	753,9±29,45 ^{iB}
Caseinato Puro	4.314±123 ^j	946,2±86,8 ⁱ

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si para p<0,05.

**Os testes de Tukey foram realizados nos pares de interesse.

4.3.5.1. Efeito do caseinato de sódio nas suspensões de amido.

As Figuras 4.16 e 4.17 representam o espectro mecânico dos géis puros de amido (5 e 10%) e das misturas de amido pré-gelatinizado e caseinato sem acidificar (branco) que estão simbolizadas pela letra “b”.

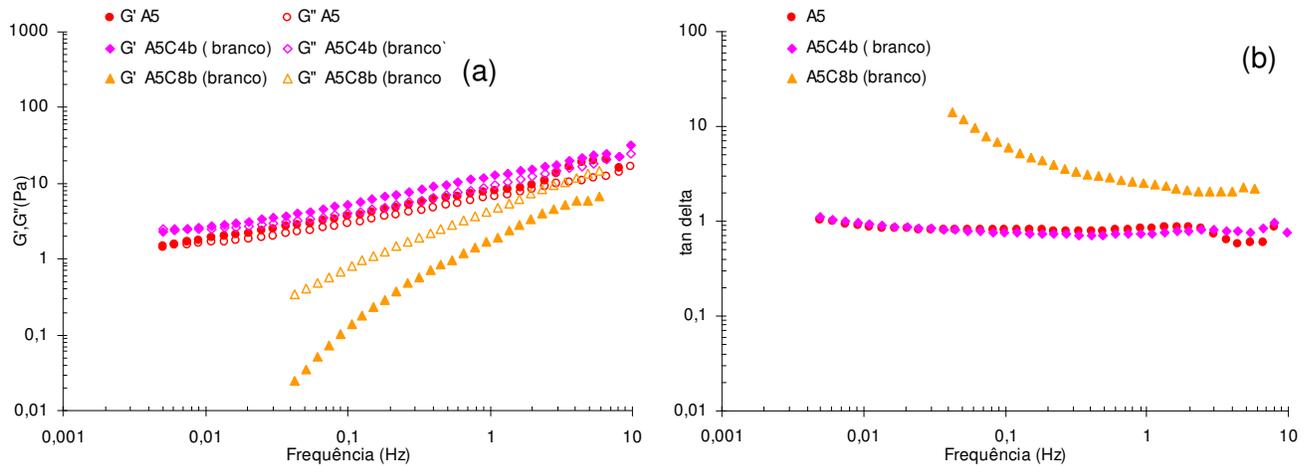


Figura 4.16 (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência dos géis de amido (5%) puro e géis de mistura amido-caseinato sem acidificar, realizados a 10°C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “b” (amostra sem GDL).

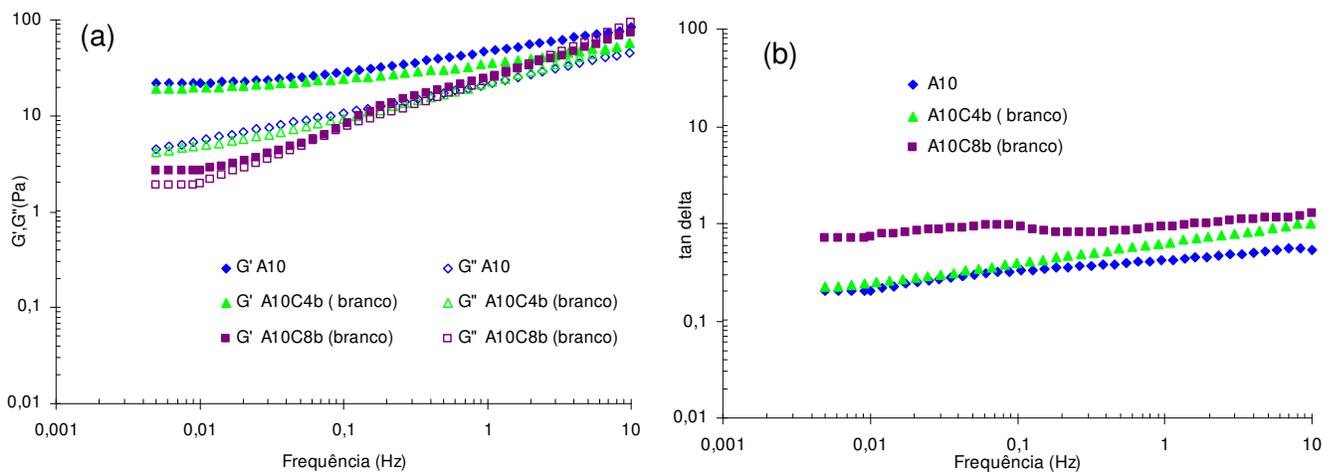


Figura 4.17: (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência dos géis de amido (10%) puro e géis de mistura amido com caseinato sem acidificar, realizados a 10°C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “b” (amostra sem GDL).

Verificou-se, através das Figuras 4.16a, 4.17a e Tabela 4.6 que o aumento na concentração de amido (de 5% para 10%) na suspensão gelatinizada levou a um aumento nos valores de G' e G'' no intervalo de frequência estudado. Comportamento semelhante ao analisado foi encontrado por PEREIRA (2004) e PAMPA (2003) que estudaram a mesma espécie de amido de amaranto.

Pode-se observar ainda que no caso dos géis de amido amaranto puros não se observou uma independência de G' com a frequência, o que está de acordo com o reportado por SASAKI et al. (2002) e LAUNAY & PASQUET, (2002), os autores afirmaram que amidos cerosos apresentam maior dependência com a frequência do que os amidos não-cerosos, os quais apresentam um gel com ligações cruzadas permanentes e uma velocidade de formação de gel muito rápida. Isto ocorre porque a amilose tem um papel fundamental na formação do gel, reduzindo a perda de rigidez dos grânulos de amidos inchados (HERMANSSON & SVEGMARK, 1996), portanto, pequenas diferenças no teor de amilose contribuem grandemente no componente elástico do amido gelatinizado (SAUNDERS & BECKER, 2004).

Na Figura 4.16a, observa-se que a amostra pura de amido 5% e a mistura com caseinato 4% (A5Ca4b) apresentaram um gel mais elástico em todos os valores de frequência estudados ($G' > G''$). Entretanto, um aumento na concentração de caseinato de 4 para 8%, diminuiu as características elásticas do gel que passou a apresentar um comportamento mais viscoso que elástico ($G'' > G'$), isto mostra, neste caso, que o gel se desestrutura com o caseinato. Este comportamento não se repetiu para os géis com 10% de amido (Figura 4.17a) onde todas as amostras apresentaram um comportamento mais elástico ($G' > G''$). Este comportamento pode ser melhor visualizado nas Figuras 4.16b e 4.17b, pois a tangente do ângulo de fase (G''/G') apresentou valores muito baixos em sistemas com maior concentração de amido. No entanto, mesmo a maiores concentrações

de amido, a adição de caseinato ao sistema provocou um aumento de $\tan(\delta)$, indicando uma desestruturação do sistema (BROUILLET-FOURMANN et al., 2003). Assim, o caseinato impediria a associação em duplas hélices pela amilose.

4.3.5.2. Espectros mecânicos comparando o efeito da concentração dentro de um mesmo processo

As Figuras 4.18 a 4.19 representam os espectros mecânicos dos géis acidificados comparando o efeito da concentração de amido e de caseinato de sódio dentro de um mesmo processo.

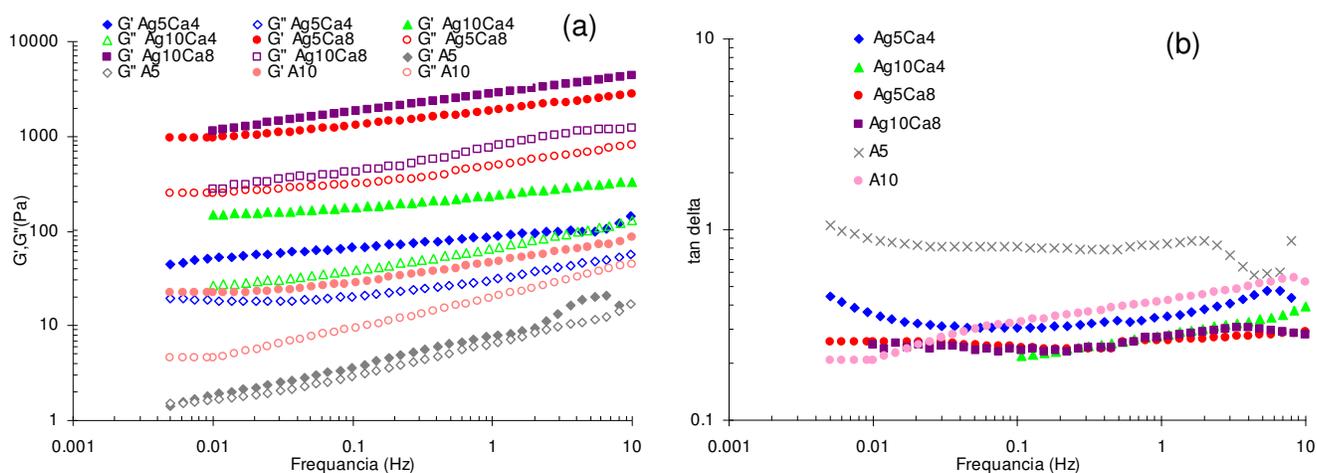


Figura 4.18: (a) Espectros mecânicos (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência comparando a concentração de amido (5% e 10% p/p) e caseinato (4% e 8% p/p). Sendo “A” (amido), “Ca” (caseinato mais GDL), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura com o caseinato).

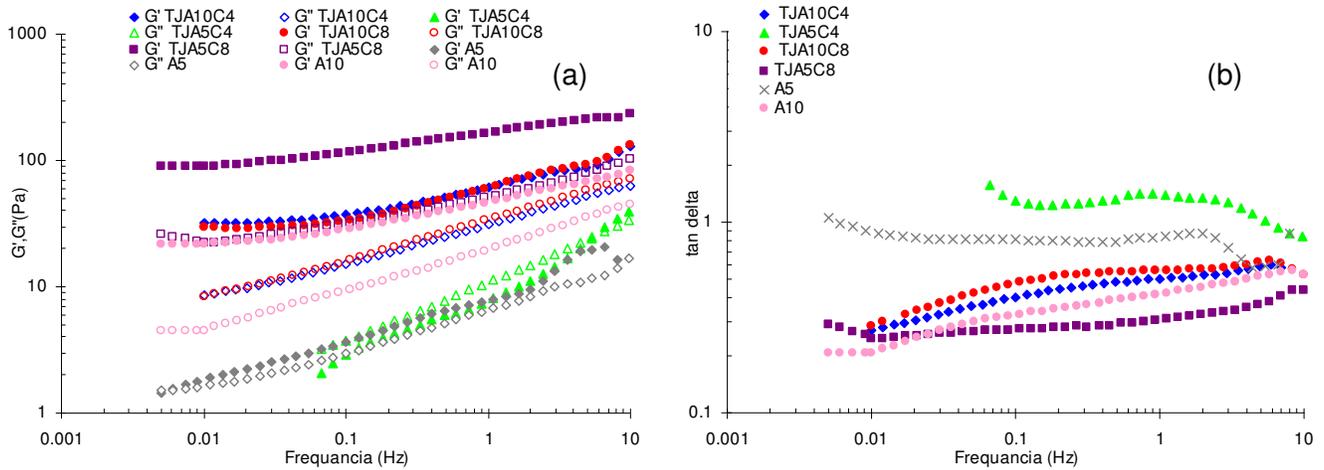


Figura 4.19: (a) Espectros mecânicos (b) Curvas da tangente do ângulo de fase em função da frequência comparando a concentração de amido (10% p/p) e caseinato (4% e 8% p/p). Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

Pela Figura 4.18a e Tabela 4.6 observa-se que nas amostras acidificadas lentamente, o módulo de armazenamento (G') e de dissipação (G'') foram sempre maiores para as misturas de amido-caseinato do que para as amostras contendo amido puro, ou seja, a rede de caseinato foi muito relevante para as propriedades viscoelásticas dos géis. Uma vez que os valores de G' e G'' para o caseinato puro foram extremamente altos, 4.314 Pa e 946,2 Pa, respectivamente (Tabela 4.6).

Pode-se observar, nas Figuras 4.18a e 4.18b pode-se observar que nas amostras com 8% de caseinato e em que o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura (acidificação lenta), apresentaram um gel mais forte, independente da concentração de amido (Tabela 4.6). Sendo assim, a rede de caseinato foi predominante quando o amido foi pré-gelatinizado e a acidificação ocorreu a 10°C, especialmente às maiores concentrações de proteína.

Comportamento diferente foi encontrado nas misturas em que o sistema é acidificado juntamente com a gelatinização do amido. Pelas Figuras 4.19a e 4.19b observa-se que o aumento nos módulos de armazenamento e dissipação conforme se elava a concentração de proteína não é tão evidente como nos sistemas acidificados lentamente, a adição de caseinato ao amido não apresenta uma influência tão grande em sistemas com alta concentração de amido (10% p/p), porém em sistemas com 5% de amido o aumento na concentração de caseinato formou géis mais estruturados com maiores valores de G' e G'' (Tabela 4.6) e menores valores de $\tan \delta$. Nas amostras contendo 10% de amido o caseinato praticamente não apresentou nenhum efeito e as amostras TJA10C4 e TJA10C8 apresentaram praticamente o mesmo comportamento (Tabela 4.6). Isto provavelmente se deve a não formação de uma rede com ligações entre o amido e o caseinato quando a amostra é produzida a altas temperaturas.

Isto também pode ser verificado nas Figuras 4.18b e 4.19b, onde os valores de $\tan \delta$ apresentaram-se quase independentes da frequência para as amostras em que o amido foi pré-gelatinizado antes de ser misturado ao caseinato e ser acidificado (Figura 4.18b), ao contrário das amostras em que o sistema foi acidificado juntamente com a gelatinização do amido (Figura 4.19b), que aumentaram com a frequência.

4.3.5.3. Espectros mecânicos comparando os processos

As Figuras 4.20 a 4.21 representam os espectros mecânicos dos géis acidificados comparando os dois métodos de preparação.

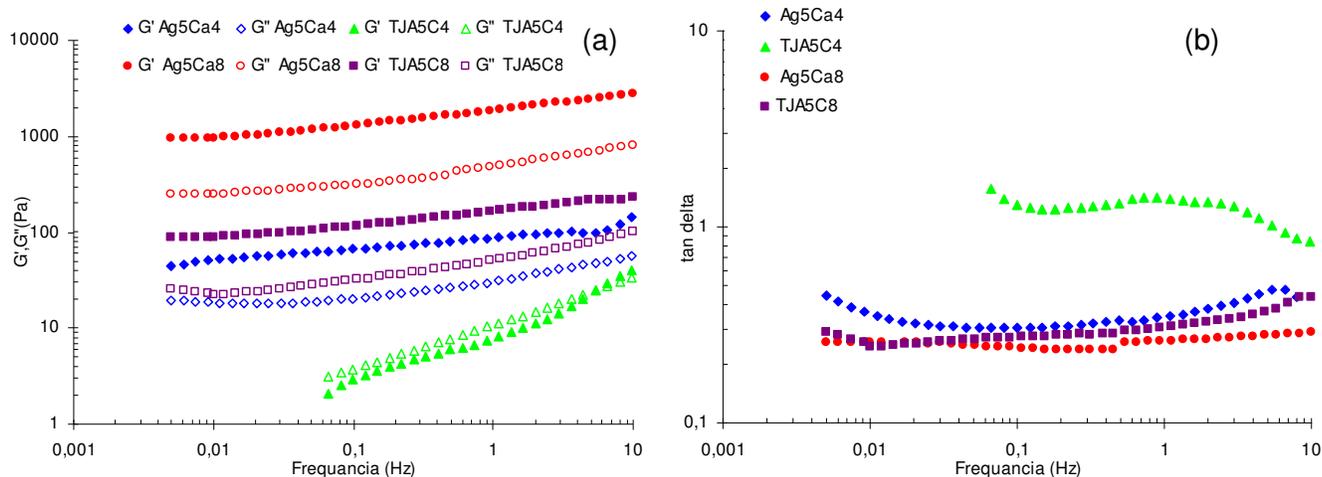


Figura 4.20: (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas de tan (delta) em função da frequência comparando os métodos de preparação para amido 5%, realizados a 10°C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

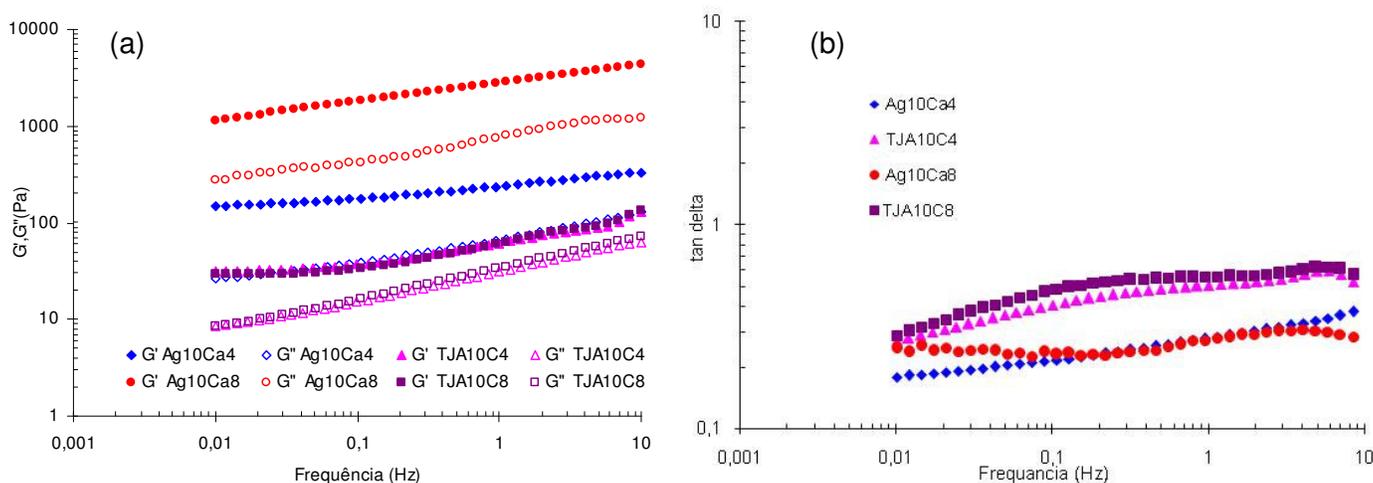


Figura 4.21: (a) Espectros mecânicos e (b) Curvas de tan (delta) em função da frequência comparando os métodos de preparação para amido 10% realizados a 10°C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

O valor de tan delta apresentou-se quase independente da frequência (Figura 4.20b e 4.21b) nos dois métodos de preparação, principalmente para as amostras contendo 5% de

amido. Nota-se também que a gelatinização do amido juntamente com a acidificação promoveu a desestruturação do sistema (Figura 4.21b) pois, apesar de se utilizar a mesma concentração dos componentes, G' e G'' foram sempre maiores para o processo com acidificação lenta (Tabela 4.6). Este fato deve estar associado com a rápida queda do pH a altas temperaturas, o que promoveu a formação de um gel mais desordenado e particulado, pois não há tempo para a formação de uma rede eletrostática mais forte (SINGH et al., 1996).

Nas Figuras 4.20, 4.21 e Tabela 4.6, as amostras apresentaram um comportamento mais elástico que viscoso ($G' > G''$), com exceção da amostra TJA5C4 ($G' \approx G''$). As amostras contendo amido 10% apresentaram um comportamento altamente elástico para as duas concentrações de caseinato (4 e 8%) e os dois métodos de preparo, porém, as amostras onde o amido foi pré-gelatinizado apresentaram valores de G' e G'' bastante elevados, principalmente com a amostra contendo 8%. Esses resultados mostram que a 10% de amido, a pré-gelatinização levou a uma forte rede de polissacarídeos que não foi destruída durante a lenta acidificação. Além disso, como neste caso a rede de proteína foi formada lentamente houve tempo para rearranjos e, provavelmente, a formação de redes acopladas. Isso mostra que a altas concentrações de amido, a velocidade do processo foi o fator determinante nas propriedades viscoelásticas. Por outro lado, com menor concentração de amido, a rede de caseinato foi mais relevante para o comportamento viscoelástico, dado que os géis mais fortes foram os formados com a maior concentração de proteína.

4.3.6. Compressão biaxial

As relações de $F(H)$ versus H e $\log F$ versus $\log H$ de géis contendo amido-caseinato de sódio, foram plotados em coordenadas linear e logarítmica, respectivamente, e são mostradas nas Figuras 4.22 a 4.27. O valor de n (índice de comportamento de fluxo) foi determinado pelo coeficiente angular da parte linear do gráfico $\log F$ em função de $\log H$ e o valor de k (índice de consistência) foi determinado pela Equação 2.4 (Capítulo 02).

Os gráficos logarítmicos tiveram a forma característica esperada e sua parte linear permitiu uma identificação clara da região de “squeezing flow” ou escoamento extensional. Portanto, todos os dados que se encontram fora desta região linear podem ser seguramente descartados para esta análise.

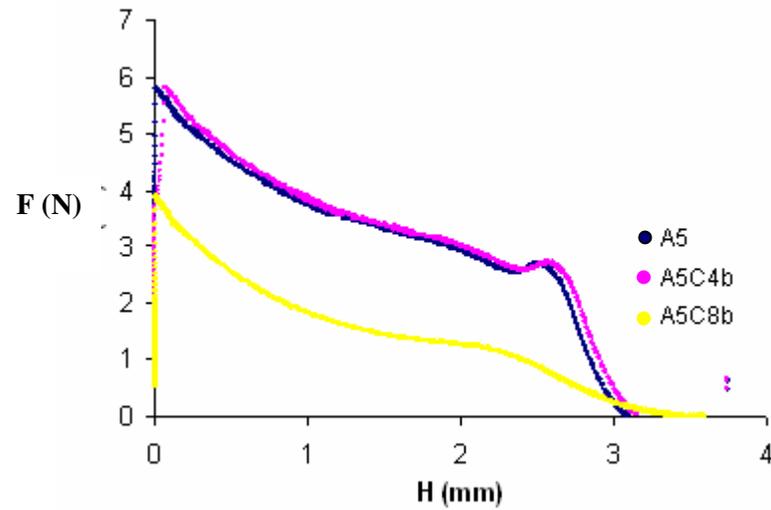


Figura 4.22: Curvas típicas de escoamento extensional. “A” amido, “C” caseinato, “b” amostras não acidificadas com GDL (branco).

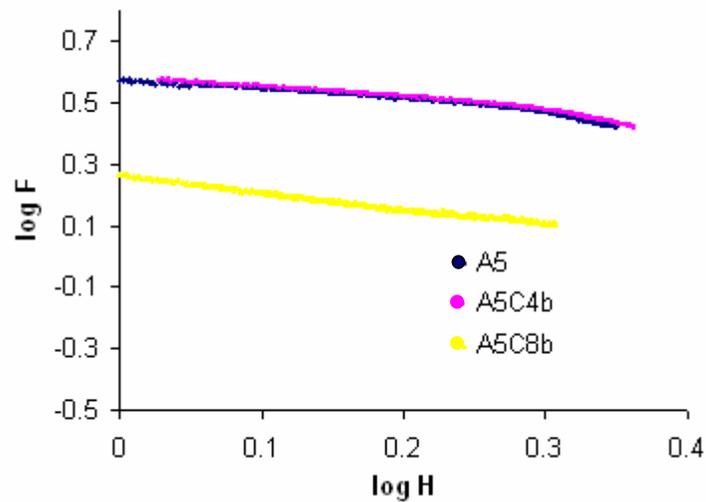


Figura 4.23: Curvas de $\log F$ versus $\log H$, “A” amido, “C” caseinato, “b” amostras não acidificadas com GDL (branco).

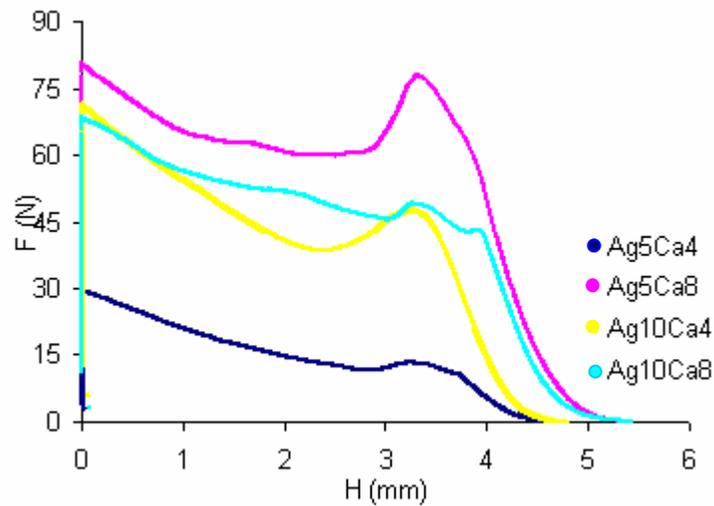


Figura 4.24: Curvas típicas de escoamento extensional. "Ag" amido pré-gelatinizado, "Ca" caseinato mais GDL antes da mistura com o amido gelatinizado.

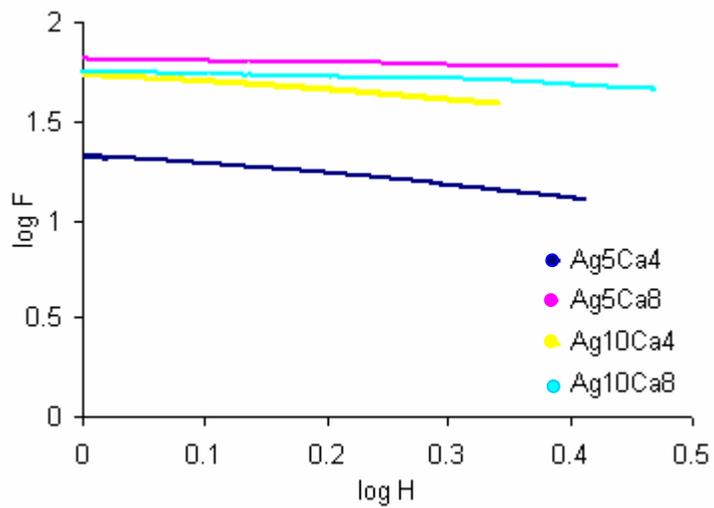


Figura 4.25: Curvas $\log F$ versus $\log H$. "Ag" amido pré-gelatinizado, "Ca" caseinato mais GDL antes da mistura com o amido gelatinizado.

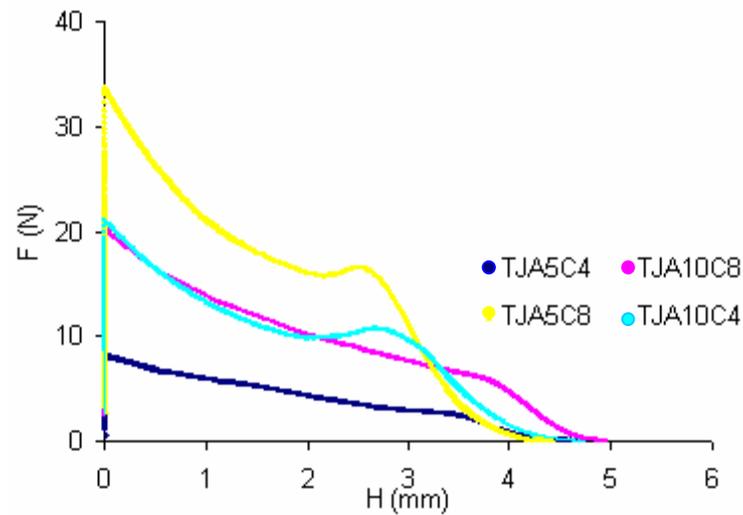


Figura 4.26: Curvas típicas de escoamento extensional. "A" amido, "C" caseinato, as amostras onde a acidificação da caseína foi realizada juntamente com a gelatinização do amido são representados pelas letras "TJ."

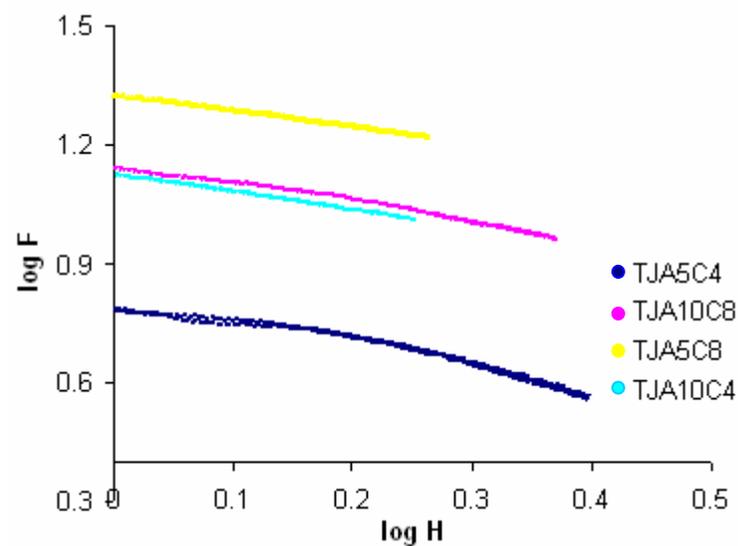


Figura 4.27 Curvas de log F versus log H, "A" amido, "C" caseinato, as amostras onde a acidificação da caseína foi realizada juntamente com a gelatinização do amido são representados pelas letras "TJ".

Pelas Figuras 4.22, 4.24 e 4.26 nota-se que a força aumenta à medida que penetra na amostra, sendo que algumas apresentam um pico que pode ser efeito de alguma ruptura estrutural. Além disso, observa-se que as amostras apresentam um intervalo linear após uma parte não linear inicial. A parte não linear é devida à influência da inércia do equipamento e apresenta os efeitos de entrada e saída, sendo que a parte linear é a que possui o verdadeiro escoamento extensional. Os valores de n foram obtidos a partir da inclinação referente à parte linear da relação entre força e altura (Figuras 4.23, 4.25 e 4.27), valores similares são obtidos a partir da equação básica da lei de potência.

Pela Figura 4.22 pode-se notar que a amostra A5C8b necessita de uma força menor para iniciar o escoamento que a amostra contendo amido puro (A5), isto provavelmente ocorre porque nos sistemas neutros há um aumento da incompatibilidade termodinâmica entre o caseinato e o amido, que se torna maior à medida que a concentração de um dos biopolímeros aumenta.

Pela Figura 4.24 observa-se que nas amostras acidificadas lentamente a força necessária para o escoamento é sempre maior para as amostras contendo concentrações maiores de caseinato, o qual comanda o comportamento reológico. CAMPANELLA et al., (1987) e CAMPANELLA & PELEG (2002) encontraram resultados semelhantes analisando sistemas de proteínas/polissacarídeos, o aumento na concentração das proteínas acarretava na necessidade de uma força maior para ocorrer o escoamento. Nos sistemas estudados, este comportamento também foi observado nas análises de espectro mecânico (Figuras 4.20 e 4.21), com uma única diferença, na compressão biaxial a amostra Ag5Ca8 apresentou um gel ligeiramente mais forte que o Ag10Ca8.

Comportamento semelhante foi encontrado nas misturas onde o caseinato é acidificado juntamente com a gelatinização do amido (Figura 4.25). Apesar dos valores da

força (necessária para realizar o escoamento extensional) serem menores que os das amostras acidificadas lentamente, seu aumento foi significativo nas amostras contendo 5% de amido quando se aumentou a concentração de caseinato. Já nas amostras contendo 10% de amido, o caseinato praticamente não apresentou nenhuma influência e, as amostras TJA10C4 e TJA10C8 apresentaram praticamente o mesmo comportamento, chegando a haver um cruzamento entre seus gráficos. Comportamento semelhante foi observado nas análises de espectro mecânico (Figura 4.21a).

O comportamento ideal para o escoamento extensional lubrificado seria obter propriedades independentes das condições de medida, como por exemplo, velocidade de compressão, assim os declives de F em relação a H de uma mesma amostra devem ser semelhantes para as diferentes condições de ensaio. Supondo que as medidas são completamente lubrificadas, pode se transformar relação F (N) x H (mm) em uma relação entre viscosidade e taxa de deformação biaxial. A Figura 4.28 apresenta a relação da viscosidade pela deformação biaxial para as amostras não acidificadas contendo 5% (p/p) de amido e 4% e 8% (p/p) de caseinato de sódio, em que se observa uma queda da viscosidade com a taxa de deformação, comprovando o comportamento pseudoplástico das amostras (TERPSTRA et al., 2007).

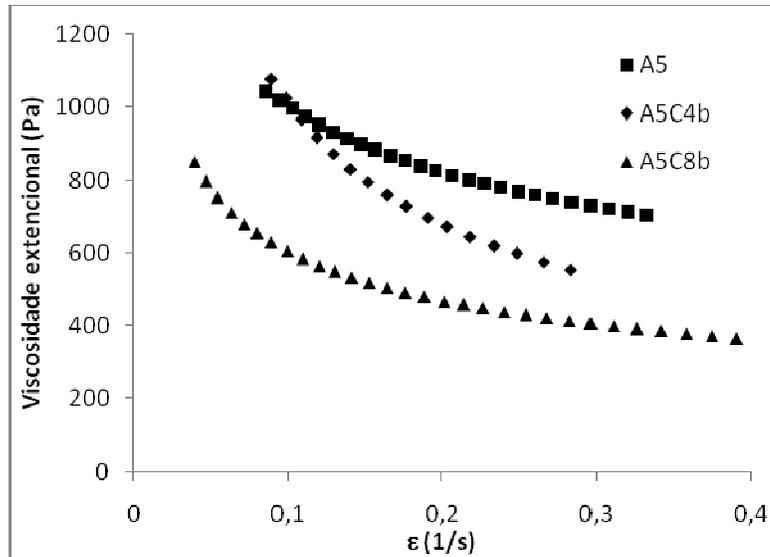


Figura 4.28: relação entre a viscosidade extensional (Pa.s) e a taxa de deformação (s^{-1}) das suspensões neutras de amido puro 5% (p/p) e de sistemas contendo caseinato de sódio (4% e 8% p/p).

4.3.6.1. Parâmetros reológicos dos géis analisados por compressão biaxial

As curvas de compressão biaxial tiveram uma boa repetibilidade e forneceram os diversos parâmetros reológicos que são mostrados na Tabela 4.7 que apresenta o índice de consistência (k) e o índice de comportamento (n) em compressão biaxial.

Tabela 4.7: Parâmetros reológicos de ajuste aos dados obtidos em compressão biaxial dos géis caseinato – amido. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “b” (amostras não acidificadas), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da acidificação) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados e acidificados ao mesmo tempo).

Amostra	n	R ²	k (Pa.s ⁿ)	R ²	σ ₀ (Pa)
A5	0,397 ^a	0,955	16,23 ^a	0,924	0,69 ^a
A10	0,444 ^a	0,997	41,35 ^b	0,919	5,2 ^b
A5C4b	0,415 ^a	0,95	10,12 ^c	0,975	0 ^a
Ag5Ca4	0,358 ^b	0,99	100,36 ^d	0,911	31,2 ^c
TJA5C4	0,569 ^c	0,951	16,95 ^a	0,937	0,83 ^a
A5C8b	0,517 ^c	0,991	10,84 ^c	0,928	0 ^a
Ag5Ca8	0,188 ^d	0,932	101,74 ^d	0,936	13,57 ^d
TJA5C8	0,405 ^a	0,998	21,43 ^f	0,956	1,24 ^a
A10C4b	0,584 ^c	0,944	33,73 ^d	0,953	0 ^{ag}
Ag10Ca4	0,185 ^{de}	0,992	84,85 ^g	0,974	12,36 ^{dh}
TJA10C4	0,449 ^a	0,998	48,94 ^h	0,953	6,21 ^{bi}
A10C8b	0,653 ^c	0,992	16,75 ⁱ	0,969	0 ^{ag}
Ag10Ca8	0,184 ^{de}	0,928	95,75 ^g	0,927	28,47 ^{cj}
TJA10C8	0,488 ^a	0,985	70,84 ^g	0,916	17,81 ^{dh}
Caseinato puro	0,216 ^d	0,988	250,23 ^j	0,963	48,32 ^k

Pode ser observado que o índice de comportamento (n) é sempre menor que um, permitindo caracterizar as suspensões de amido gelatinizado, adicionadas ou não de caseinato, como fluidos pseudoplásticos em escoamento extensional. Comportamento

semelhante foi observado por BARONI et al. (1999), CAMPANELLA & PELEG, (1987) e CAVALLIERI (2003) que analisaram “creamy cheese” , manteiga enriquecida e géis de proteína, respectivamente. Os valores típicos (n) de géis de caseinato- amido gelatinizado acidificados lentamente e de amido gelatinizado juntamente com a acidificação foram aproximadamente 0,18-0,36 e 0,40-0,57, respectivamente, ou seja, uma estrutura de maior complexidade no primeiro caso. De fato, as amostras formadas com o amido pré-gelatinizado possuíam uma consistência mais firme, não se soltando da placa de Petri quando este era invertido. Segundo CAVALLIERI & CUNHA (2008), quando a hidrólise do GDL ocorre à frio (acidificação lenta) há um maior tempo hábil para que ocorra um rearranjo molecular proporcionando um fortalecimento na rede.

Os valores de k apresentados correspondem aos dados calculados a partir da Equação 2.4. A tensão residual foi estimada a partir de ensaios em que a amostra relaxou até uma força constante ($t=300$ s). Pela Tabela 4.7 observa-se que a força necessária para o escoamento é sempre maior para as amostras contendo concentrações maiores de proteína, principalmente nas misturas acidificadas lentamente, comportamento similar foi observado nas curvas de escoamento (Figuras 4.11 a 4.14) e nos parâmetros de ajuste dos dados obtidos em cisalhamento estacionário (Tabela 4.5). CAMPANELLA et al. (1987) e CAMPANELLA & PELEG (2002) verificaram resultados semelhantes analisando sistemas de proteínas/polissacarídeos.

4.3.7. Análise estrutural

4.3.7.1. Microscopia eletrônica de varredura

Nas Figuras 4.29 e 4.30 apresentam imagens de microestruturas de amido e de amido gelatinizado.

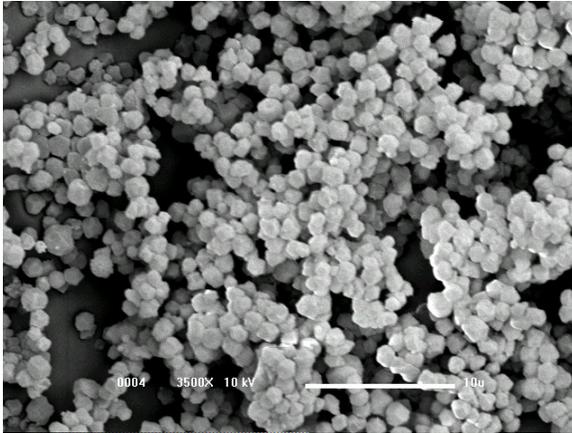


Figura 4.29: Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido antes da gelatinização com aumento de 3500 x.

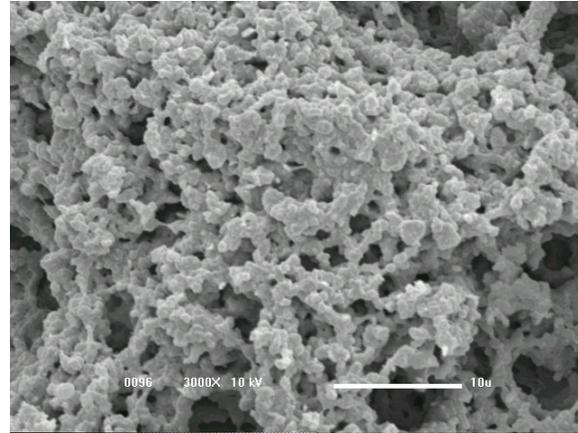


Figura 4.30: Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido após a gelatinização a 90°C por 15 minutos com aumento de 3000 x.

A morfologia e a estrutura do amido muda após a gelatinização (Figura 4.29 e 4.30), isso ocorre porque durante a gelatinização os grânulos sofrem hidratação, inchando (na direção radial e tangencial) e mudando sua viscosidade (CONDE-PETIT et al., 1998). Pela Figura 4.30 nota-se que apesar da amostra estar gelatinizada, o formato dos grânulos do amido é parcialmente mantido.

Além disso, a lixiviação da amilose durante o processo de gelatinização proporciona uma inter-conectividade formando uma rede entrelaçada pelos grânulos amorfs. Quando a suspensão aquosa foi aquecida, as ligações relativamente fracas nas áreas amorfs, entre

moléculas cristalinas, se dissociam ocorrendo expansão, principalmente tangencial, e hidratação progressiva para formar uma rede que se mantém unidas por algumas moléculas ainda persistentes, nessa condição a expansão dos grânulos é irreversível e a ordem estrutural desaparece (Figura 4.29). Caso os grânulos continuem a se expandir a amilose é lixiviada para a fase aquosa, promovendo um aumento na viscosidade (Figuras 4.6).

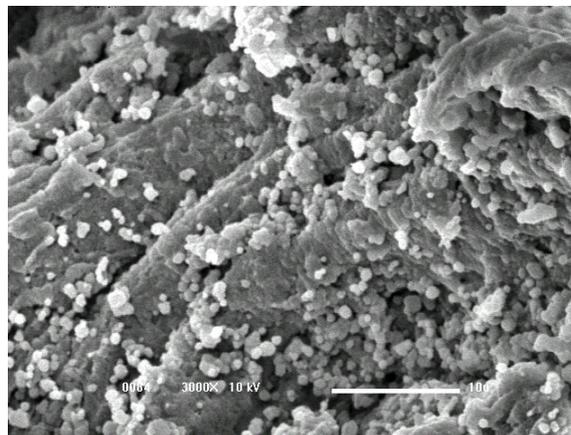
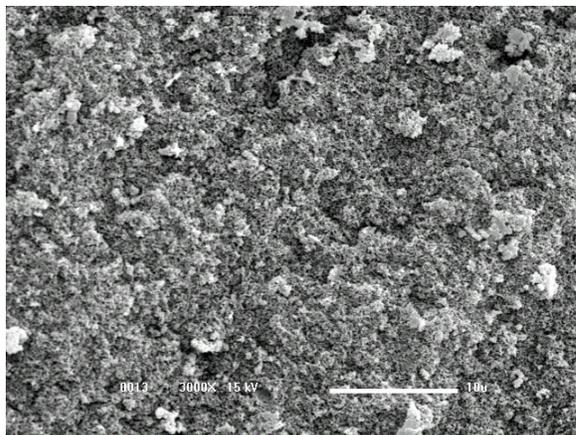


Figura 4.31: Microscopia eletrônica de varredura de amostras de caseinato acidificado sem aquecimento (aumento de 3000 x).

Figura 4.32: Microscopia eletrônica de varredura de caseinato acidificado com aquecimento (aumento de 3000x).

As Figuras 4.31 a 4.34 mostram a microestrutura dos géis de caseína e misturas amido-caseína, pelos dois métodos de preparação com um aumento de 3000 x. Pela Figura 4.31 nota-se que a amostra formada apenas por caseína acidificada (acidificação lenta) formou uma estrutura mais interconectada e homogênea, dando origem a um gel mais duro, entretanto, mais frágil que os demais. A caseína acidificada pelo processo rápido formou um gel mais “fraco” e heterogêneo (Figura 4.32) que o formado por acidificação lenta, sendo inclusive, não auto-sustentável.

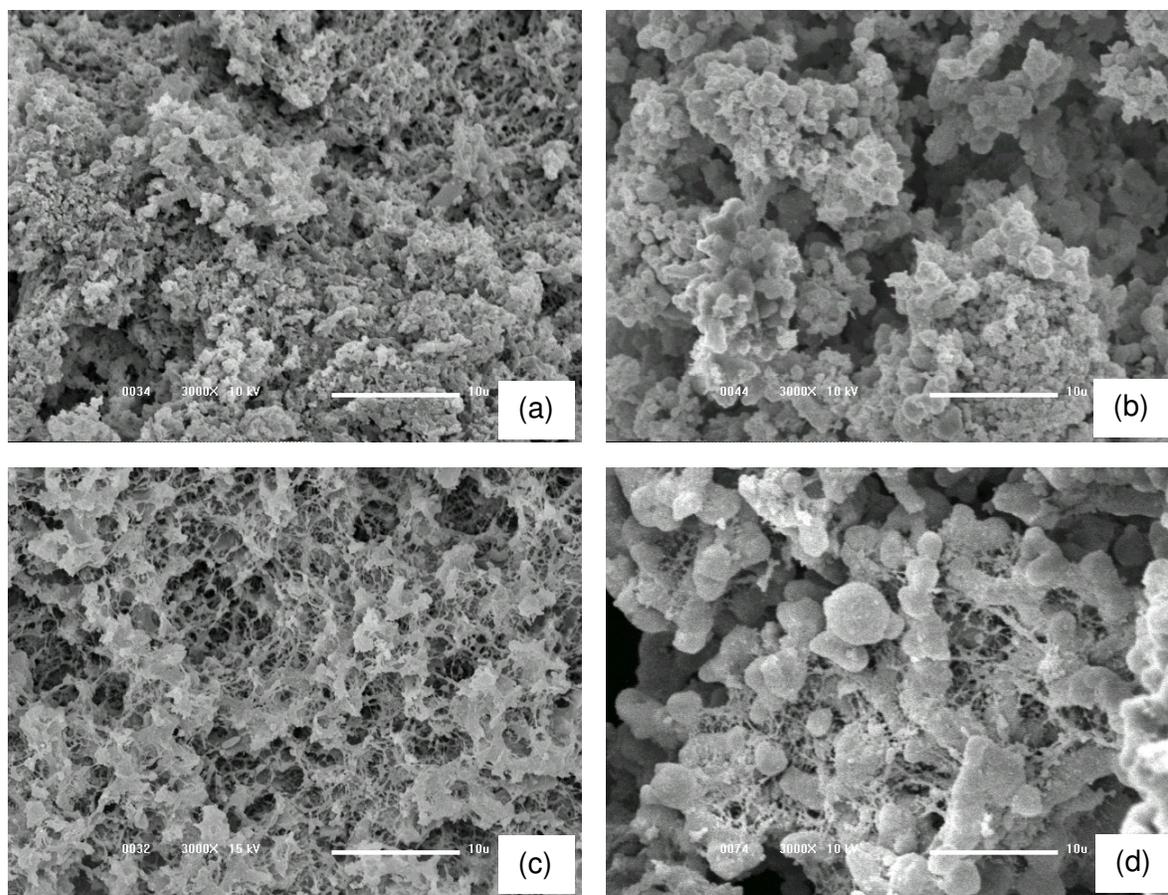


Figura 4.33: Microscopia eletrônica de varredura das amostras (a) Ag5Ca4, (b) TJA5C4, (c) Ag5Ca8 e (d) TJA5C8 (aumento de 3000 x).

Ao analisar os géis preparados através do primeiro método (mistura de amido pré-gelatinizado e caseinato acidificados a 10°C) verifica-se que géis de caseína - amido (Figuras 4.33a, 4.33c, 4.34a e 4.34c) formaram estruturas menos particuladas do que os géis de caseína pura, com cadeias ramificadas e uniformemente distribuídas (formadas de poucas partículas compactas e muitas partículas menores), sua rede se estrutura tornando-se mais filamentosa conforme se aumenta a concentração dos biopolímeros (DAVIS & GORDON, 1980 e DICKINSON & ELIOT, 2003). A porosidade destes géis (Figuras 4.33a, 4.33c, 4.34a e 4.34c) se apresenta maior e mais homogeneamente distribuída no sistema acidificado

lentamente do que os géis onde a caseína foi acidificada juntamente com o amido (Figuras 4.33b, 4.33d, 4.34b e 4.34d). Além disso, nota-se a presença de uma rede mais contínua, especialmente nas maiores concentrações de biopolímeros. Microestruturas muito semelhantes foram observadas em sistemas protéicos contendo caseinato de sódio, FAMELART (1994) e FAMELART et al., (2003) estudaram amostras formadas por caseína pura e sistemas binários de caseinato- lactoglobulina e caseinato-albumina, respectivamente, e assim como neste trabalho observaram a presença de uma rede mais contínua conforme se aumentou a concentração de biopolímeros, principalmente a do caseinato.

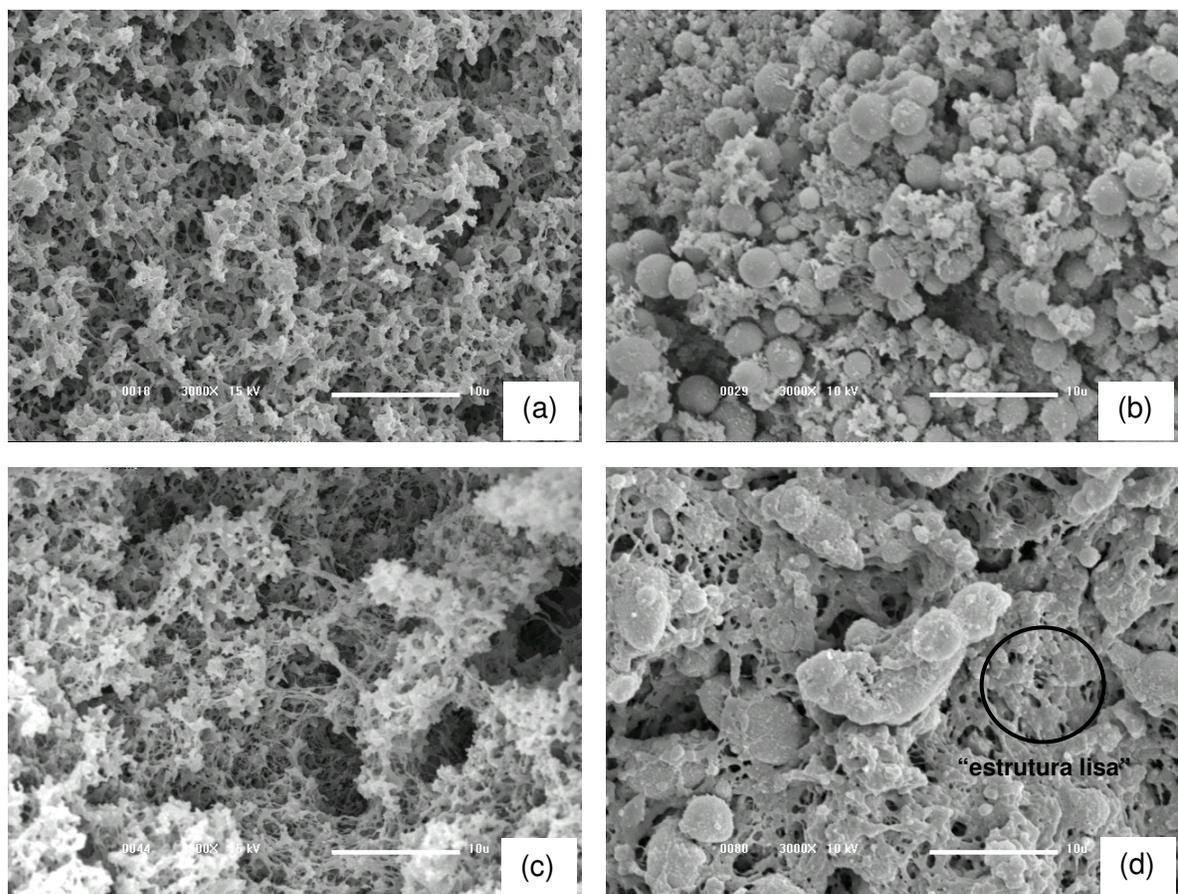


Figura 4.34: Microscopia eletrônica de varredura das amostras (a) Ag10Ca4, (b) TJA10C4. (c) Ag10Ca8, (d) TJA10C8 (aumento de 3000 x).

Provavelmente, os rearranjos durante a gelificação em processo de acidificação lenta (Figuras 4.20a e 4.21a) são responsáveis pelo aumento observado em G' e G'' em relação ao gel formado de amido puro gelatinizado (Figuras 4.16a e 4.17a). Isto também foi conferido por MELLEMA et al. (2001) que analisaram sistemas contendo caseína pura e sistemas caseína-lactoglobulina. Uma das explicações pode ser visualizada analisando a microestrutura do amido puro (Figura 4.30) e das misturas (Figuras 4.33a, 4.33c, 4.34a e 4.34c) onde a adição de caseína promoveu a formação de géis ramificados, formados de redes mais contínuas que os géis puros de amido. Além disso, diversos autores (PUTAUX et al., 2000; HERMANSSON et al., 2004; RICHARDSON et al., 2002 e RICHARDSON & GORTON, 2003) explicam que a forma de ligação da amilose se modifica quando algum composto é adicionado, na Figura 4.33d surge uma “estrutura lisa” que pode ser atribuída à interação entre a amilose lixiviada com a caseína.

BERTOLINI et al. (2005) verificaram que amidos de milho, arroz e trigo possuíam uma matriz heterogênea, porém a adição de caseinato de sódio promoveu a formação de uma matriz mais homogênea. Segundo os autores, a heterogeneidade da matriz destes amidos pode ser devido a sua gelatinização incompleta, como conseqüência da ausência de água ou da alta temperatura de gelatinização. Processo de gelatinização incompleta também parece ter ocorrido no processo de acidificação rápida, pois observa-se algumas partículas esféricas (Figuras 4.33b, 4.33d, 4.34b e 4.34d), especialmente nas amostras com maiores concentrações de amido. Neste caso, deve ser um efeito de competição pela água promovida pela elevada concentração de biopolímeros presentes (Figuras 4.34b e 4.34d).

Pelas Figuras (Figuras 4.33a, 4.33c, 4.34a e 4.34c), também se pode observar que os géis Ag5Ca4, Ag5Ca8, Ag10Ca4 e Ag10Ca8, que possuem o mesmo procedimento de preparação têm microestruturas muito semelhantes entre si apesar de conter concentrações diferentes. O mesmo ocorre com as amostras TJA5C4, TJA5C8, TJA10C4 e TJA10C8

(Figuras 4.33b, 4.33d, 4.34b e 4.34d), indicando que a microestrutura sofre mais influência do procedimento de preparação do que das concentrações de amido e caseinato de sódio. As misturas formadas com aquecimento e sem aquecimento da caseína durante sua acidificação certamente se agregaram de modo diferente.

A agregação da proteína foi induzida pela acidificação com GDL que, durante a mistura, se hidrolisou liberando íons H^+ que neutralizaram as cargas negativas das moléculas de caseína. Durante a acidificação também existe um leve aumento na força iônica e como a carga da proteína está tendendo a igualdade de distribuição e a força iônica está elevada, as forças repulsivas eletrostáticas entre as moléculas são atenuadas, portanto, as interações “molécula- molécula não iônica” se tornam favoráveis e a gelificação é promovida e maximizada no ponto de isoeletrico ($pH=4.6$). Quando a mistura é realizada na temperatura ambiente, o pH do caseinato está praticamente neutro e irá acidificando ao longo do tempo, enquanto que grande parte da proteína se associa com a superfície do amido gelatinizado ocorrendo a formação de uma rede (Figuras 4.33a, 4.33c, 4.34a e 4.34c). Quando a mistura é realizada a $90^{\circ}C$ (Figuras 4.33b, 4.33d, 4.34b e 4.34d), a acidificação é acelerada e o pH cai, imediatamente, ao redor de 4,6 potencializando a agregação entre as moléculas de proteína e entre proteína e amilose lixiviada, cuja associação é tão rápida que além de expulsar a água impede a associação proteína-amido. Além disso, quando a acidificação ocorre em de altas temperaturas, ela acontece tão rapidamente que disponibiliza menos tempo para a formação de uma rede amido-caseína mais estruturada, como ocorre nas amostras em que o amido foi pré-gelatinizado. Desta forma, a rede de caseína acidificada parece estar entremeando e aderindo-se às moléculas de amido ao invés de formar uma rede mista e desenvolver um sistema estruturado (KIRSTY et al., 1997).

Além disso, comparando as Figuras 4.33a, 4.33c, 4.34a e 4.34c e nas Figuras 4.33b, 4.33d, 4.34b e 4.34d pode-se observar que as amostras onde a caseína é acidificada sem

aquecimento são caracterizadas por um número mais alto de ligações cruzadas e transversais, o que promove interações mais fortes entre moléculas individuais produzindo géis mais fortes, enquanto que nas amostras onde a mistura é realizada a 90°C, não se nota estas ligações, isto pode ser atribuído a interações mais fracas alcançadas entre moléculas, formando géis mais fracos e não auto sustentáveis (Figuras 4.20a e 4.21a). Esta visualização fica mais evidente se visualizada no aumento de 6000x (Figura 4.35), onde se tem a impressão que o caseinato acidificado a 90°C inibe a gelatinização do amido, que apresenta, aparentemente, grânulos intactos com uma forma arredondada com o caseinato aderido na sua superfície.

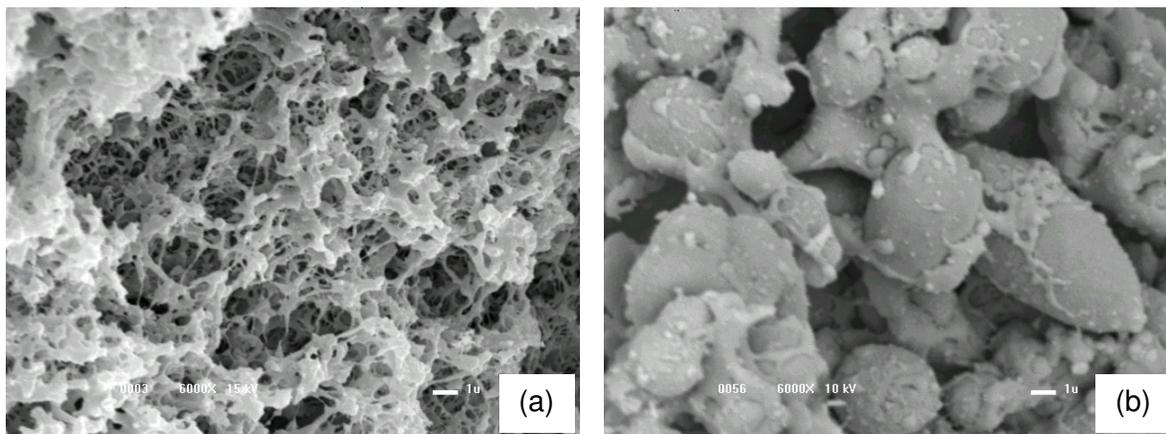


Figura 4.35: Microscopia eletrônica de varredura das amostras (a) A10C8 e (b) TJA10C8 (aumento de 6000 x)

Desta forma, consegue-se entender o comportamento reológico das amostras, pois uma rede mais estruturada apresenta um gel mais forte do que moléculas agregadas sem ligações entre si. O mesmo foi observado nas análises de compressão biaxial (Figuras 4.24 e 4.26) em que as amostras acidificadas a baixas temperaturas e após a gelatinização do amido necessitaram de uma força maior para escoar durante a compressão. Resultados semelhantes foram observados por VAN CAMP & HUYGHEBAERT (1995),

FUNTENBERGER et al. (1997), IAMETTI et al. (1998), TANI et al. (1997) e YOSHINORI (1996). Em proteínas de leite também foi observado uma rede intermolecular entrelaçada por correntes de polipeptídios deixando um espaço vazio, que pode ou não ter sido preenchido pela água (VAN CAMP & HUYGHEBAERT, 1995 e WALSTRA, 1990). Essas estruturas, que formaram uma rede contínua com um número grande de pontos de contato, resultaram em géis mais fortes e estruturados.

4.3.7.2. Microscopia eletrônica de transmissão

Houve muita dificuldade em se analisar alguns sistemas por ensaios de microscopia eletrônica de transmissão devido a dificuldade inicial de se elaborar uma metodologia para as amostras que formavam um gel menos estruturado que se perdia no solvente ao longo das etapas. Para estas amostras, os géis juntamente com o solvente, foram centrifugados após cada etapa, não sendo possível determinar se as centrifugações danificaram as estruturas destes géis. Em uma parte das amostras “não auto-sustentáveis” conseguiu-se chegar até a etapa de inclusão, porém as amostras se encontravam em finas partículas (pó) e se perderam nas etapas de trimagem. As micrografias dos géis (caseinato puro, Ag5Ca4, Ag10Ca4 e Ag10Ca8) são mostradas nas Figuras 4.36 e 4.37.

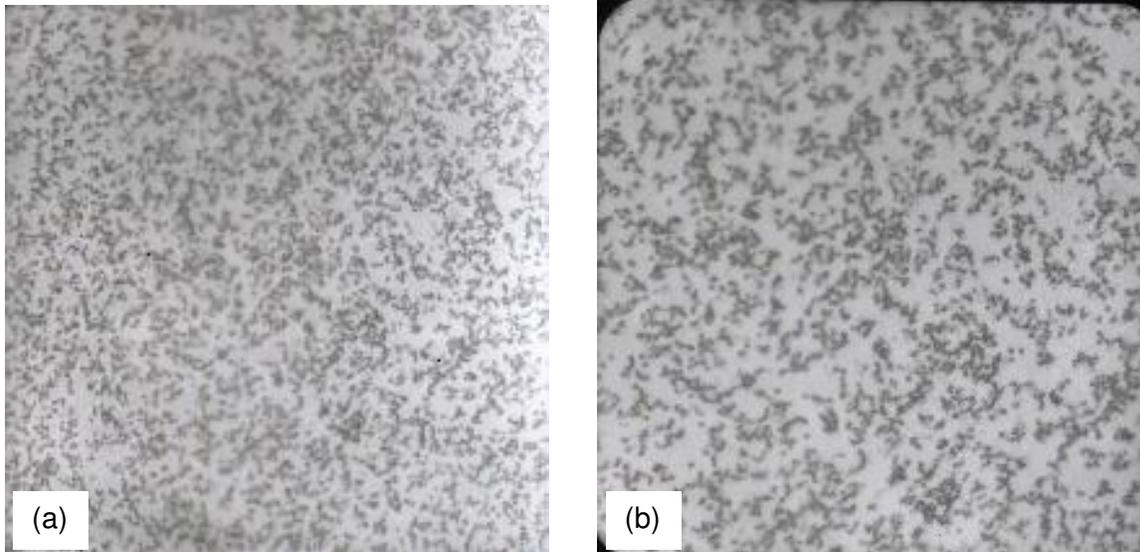


Figura 4.36: Microscopia eletrônica de transmissão de amostras de caseinato puro.

Aumento de (a) 7750 x e (b) 12930 x

Nas Figuras 4.36a e 4.36b observam-se as partículas de caseína (zonas mais escuras), que induzidas pela hidrólise do GDL formam redes de pequenos aglomerados distribuídos homogeneamente. Imagem semelhante foi observada por SANCHEZ et al. (2000) que estudou géis de xantana e proteínas do leite acidificadas e SYRBE et al. (1998) que realizaram uma revisão sobre a proteína do leite em alimentos.

Quando adicionadas ao amido, a distância entre as moléculas de caseína diminui formando aglomerados que se interligam ao amido formando uma rede, sendo os pontos brancos, provavelmente o solvente (água acidificada) ou bolhas de ar (Figuras 4.36a e 4.36b).

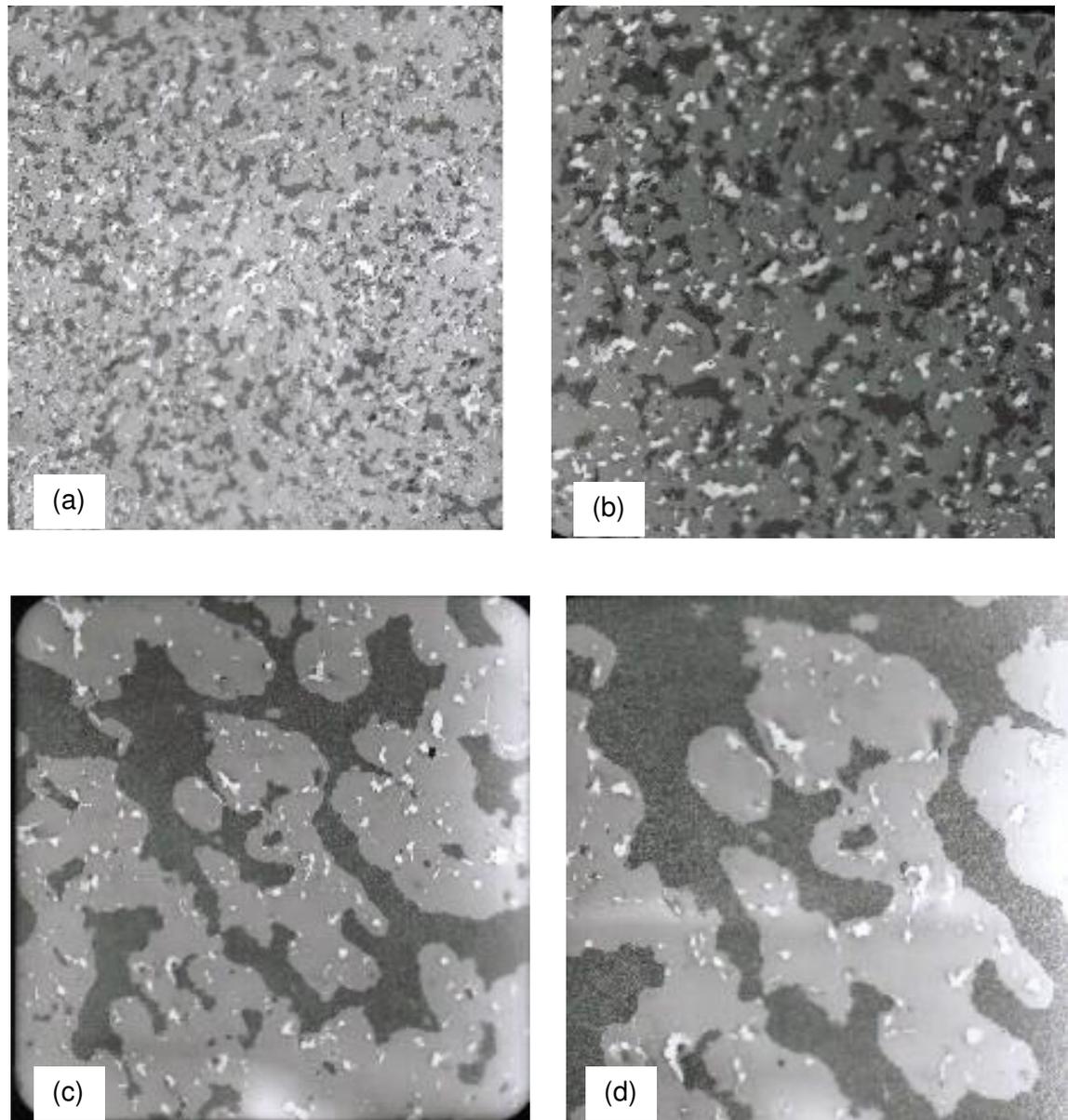


Figura 4.37: Microscopia eletrônica de transmissão de amostras das amostras (a) Ag₅Ca₄ (aumento de 1670 x), (b) Ag₅Ca₄ (aumento de 2784 x), (c) de Ag₅Ca₄ (aumento de 3865 x) e (d) Ag₅Ca₄ (aumento de 4646 x).

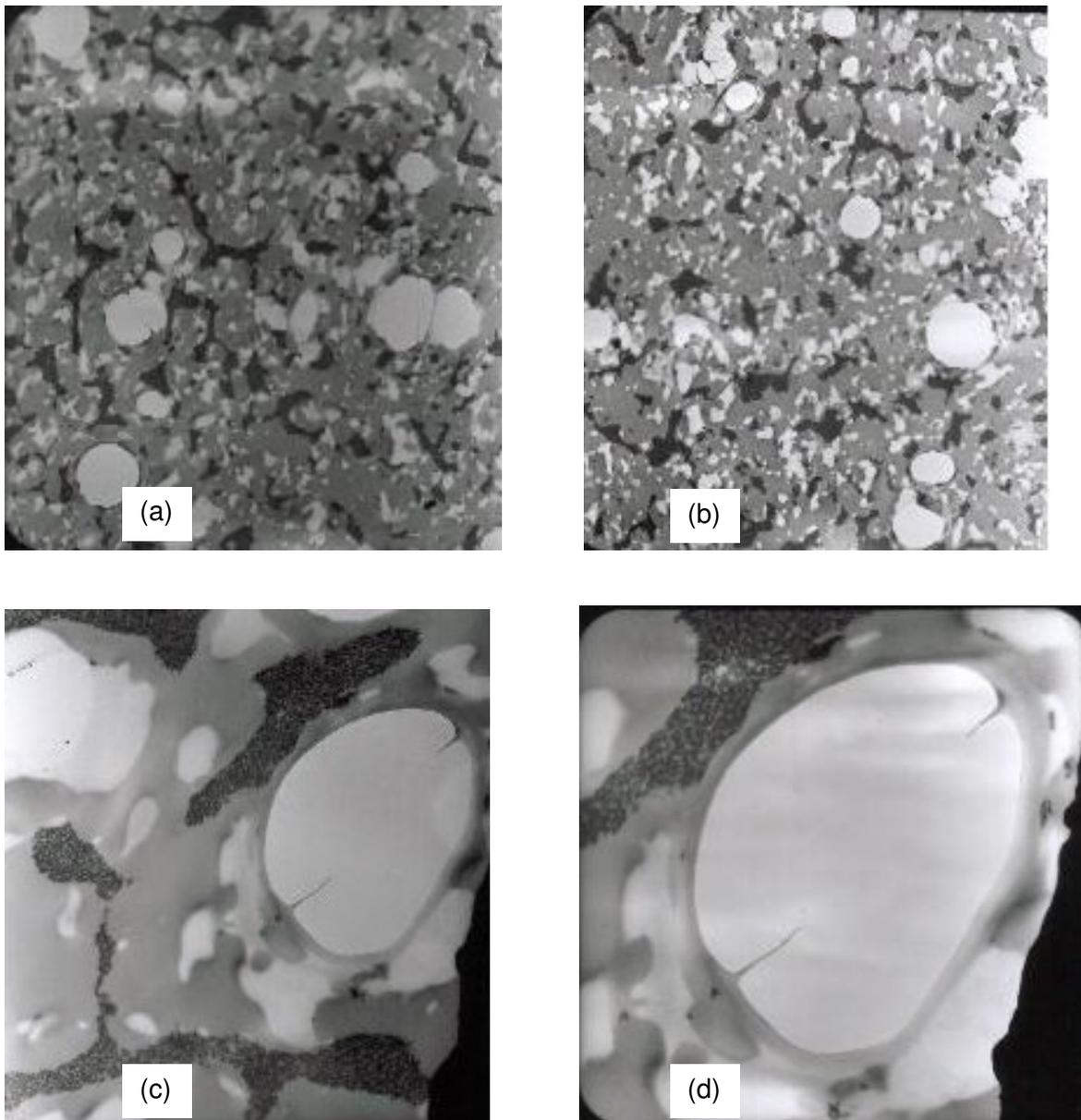


Figura 4.38: Microscopia eletrônica de transmissão das amostras (a) Ag10Ca4 (aumento de 2784 x), (b) Ag10Ca4 (aumento de 3000 x), (c) Ag10Ca8 (aumento de 16700 x) e (d) Ag10Ca8 (aumento de 35970 x).

Uma variação na estrutura da rede pode ser notada (Figura 4.37), houve uma aglomeração de partículas de caseína envolvida por uma fase contínua (conjunto de partículas de amido gelatinizadas), o que pode ter promovido uma rede ramificada, cuja rede também pode ser observada na microscopia eletrônica de varredura (Figuras 4.33a, 4.33c, 4.34a e 4.34c). Além disso, o diâmetro aparente dos poros entre a amostra de caseína pura (Figuras 4.36a e 4.36b) e as misturas (Figuras 4.37a a 4.37d) diminuiu, aumentando sua interconexão.

Pelas Figuras 4.38a e 4.38b nota-se umas estruturas brancas, que inicialmente podem ser o espaço anteriormente ocupado pela umidade da amostra (solvente em excesso, não utilizados na gelatinização do amido que ao desidratar tornaram-se poros) e bolhas de ar. Buscando entender melhor estas estruturas, um aumento foi realizado (Figuras 4.38c e 4.38d) e não se chegou a uma conclusão definitiva. AGUILERA & STANLEY (1990) concluiu que estruturas brancas semelhantes a estas eram bolhas de ar.

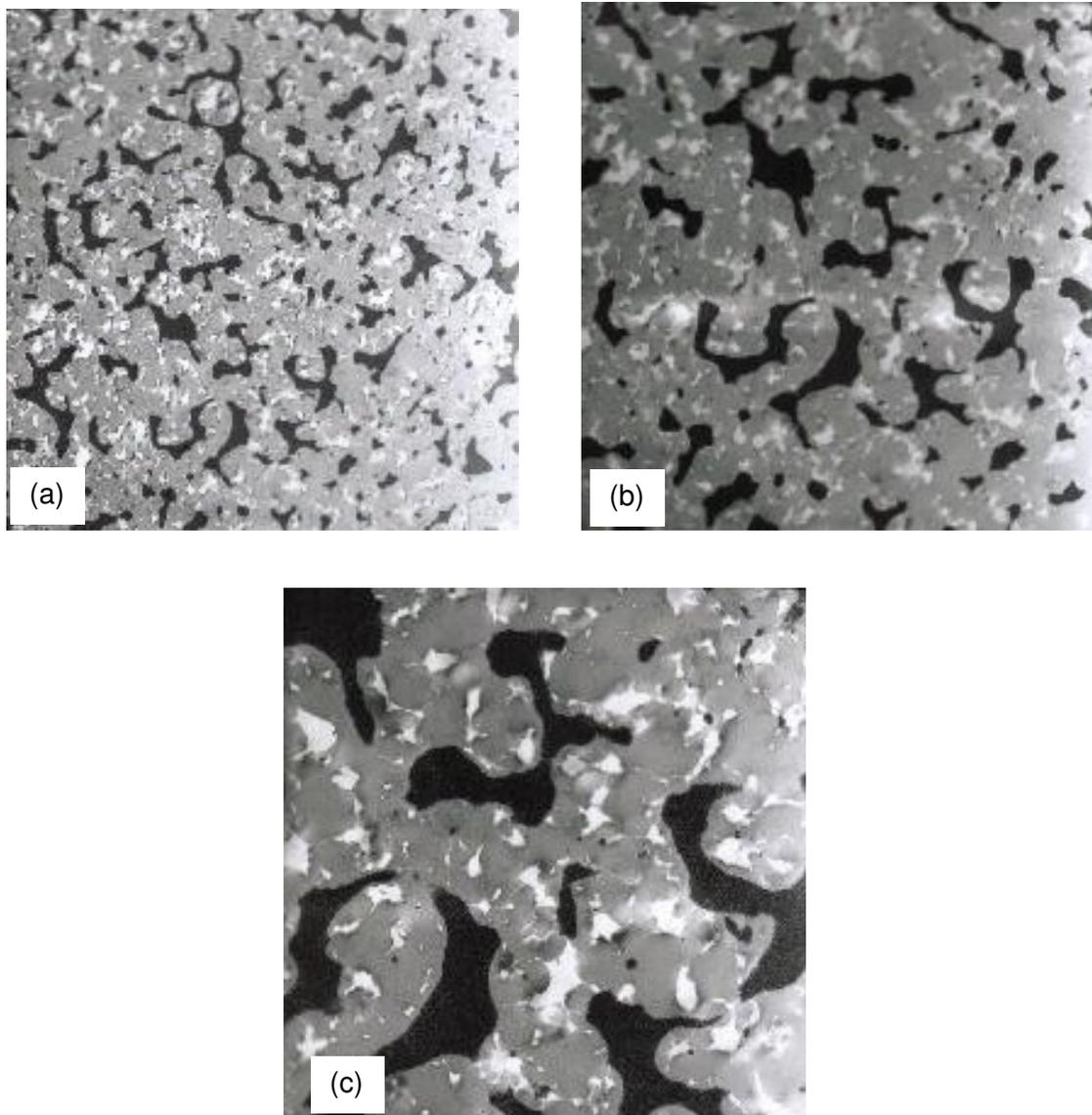


Figura 4.39: Microscopia eletrônica de transmissão das amostras (a) Ag10Ca8 (aumento de 2156 x), (b) Ag10Ca8 (aumento de 3597 x) e (c) Ag10Ca8 (aumento de 7750 x).

As amostras de Ag10Ca4 e Ag10Ca8 (Figuras 4.38a a 4.39c) proporcionaram comportamento semelhante ao explicado para as amostras de Ag5Ca4 (Figuras 4.37a a 4.37d), porém, apresentaram uma maior quantidade da fase contínua (amido gelatinizado) devido ao aumento de 5 para 10% de polissacarídeo.

Com estes estudos, fica evidente que o caseinato de sódio modifica as propriedades reológicas de sistemas contendo amido e este fenômeno se deve em parte à competitividade pela água, principalmente em sistemas contendo baixo teor de amilose. Além disso, em sistemas ternários (amido-proteína-água) ocorre um intercâmbio dinâmico entre as moléculas de água e os biopolímeros, como já foi dito, a proteína limita a hidratação do amido e como a água tem um efeito plasticizante nas regiões amorfas do polissacarídeo a mobilidade fica restringida, assim, a proteína pode ter um efeito anti-plasticizante (TESTER & SOMMERVILLE, 2003 e CORNILLON & SALIN et al.,2000). Este efeito também pode ser observado nas análises de retenção de água e sinerese (Capítulo 06).

4.4. CONCLUSÃO

Nas amostras em que o amido foi gelatinizado juntamente com a acidificação dos sistemas, o gel possuía pH próximo ao pl da proteína, enquanto que nos géis formados a partir do amido pré-gelatinizado antes de ser misturado ao caseinato e GDL têm seu pH em torno de 5, logo após a sua preparação. Somente após aproximadamente 16 horas seu pH chegou próximo ao ponto isoelétrico do caseinato (pH \approx 4,6-4,7).

Nas soluções de amido 10% a influência do caseinato na gelatinização foi menor que nas soluções de amido 5%, no entanto, o caseinato dificultou a gelatinização na ausência de GDL. Quando se adicionou o GDL numa razão suficiente para o gel chegar ao pl da proteína, ocorreu a formação de géis “mais fortes”. Provavelmente, sistemas sem GDL, com altos valores de pH, podem estar mostrando um aumento da incompatibilidade termodinâmica entre o caseinato e o amido, a medida que a concentração de um dos biopolímeros aumenta. Em pH próximo ao pl (amostras com GDL), isto não se observou porque a rede de caseína formada por interações eletrostáticas dificultou a separação dos biopolímeros não

apresentando uma macro-separação de fases e, portanto, formando um gel mais forte, cuja resistência aumentou a medida que se elevou as concentrações de biopolímeros.

Os módulos elástico e viscoso foram sempre maiores para as misturas de amido-caseinato do que para as amostras contendo amido puro, sendo o comportamento conduzido pelo caseinato. Entretanto, nas amostras onde houve a gelatinização do amido juntamente com a acidificação ocorreu a desestruturação do sistema, sendo que neste caso, o caseinato não apresentou uma influência tão grande.

A velocidade de gelatinização foi favorecida pelo aumento da concentração de amido, no entanto, nos sistemas neutros a adição de proteína promove uma diminuição significativa na velocidade.

A amostra formada apenas por caseína acidificada formou uma estrutura compacta, dando origem à um gel mais duro e mais frágil. Entretanto, partículas contidas nos géis de caseína - amido formaram estruturas menos agrupadas do que os géis de caseína pura, com cadeias ramificadas (formadas de poucas partículas compactas e muitas partículas menores) cuja rede se estruturou conforme se aumentou a concentração dos polímeros. A porosidade dos géis de sistemas caseína – amido gelatinizados e acidificados lentamente se apresentou maior e uniformemente distribuído no sistema do que os géis em que a acidificação foi rápida e os géis de caseína pura. Géis que possuíam o mesmo procedimento de preparação tiveram microestruturas muito semelhantes entre si apesar de conter concentrações diferentes, indicando que a microestrutura é mais influenciada pelo procedimento de preparação do que pelas concentrações de amido e caseinato de sódio. Os géis formados com aquecimento e sem aquecimento da caseína durante sua acidificação certamente se agregaram de modos diferentes.

Com estes estudos, fica evidente que o caseinato de sódio modifica as propriedades reológicas de sistemas contendo amido, vários fatores promovem este fenômeno, sendo um deles a competitividade pela água, principalmente em sistemas contendo alto teor de amilose. Além disso, em sistemas ternários (amido-proteína-água) ocorre um intercâmbio dinâmico entre as moléculas de água e os biopolímeros, como já foi dito, a proteína limita a hidratação do amido e como a água tem um efeito plasticizante nas regiões amorfas do polissacarídeo a mobilidade fica restringida, assim, a proteína pode ter um efeito anti-plasticizante.

Sistemas sem GDL, próximos ao pH neutro, mostraram um aumento da incompatibilidade termodinâmica entre o caseinato e o amido, a medida que a concentração de um dos biopolímeros aumentou. Em pH próximo ao pI, isto não foi observado porque a rede de caseína formada por interações eletrostáticas dificultou a separação dos biopolímeros não apresentando uma macro-separação de fases e, portanto, formou um gel mais forte, aumentando a medida que se elevou as concentrações de biopolímeros.

Todas as amostras apresentaram comportamento pseudoplástico, no entanto, a adição de caseinato de sódio nas suspensões de amido promoveu um efeito negativo sobre a viscosidade aparente, devido a diminuição no índice de consistência (k), evidenciando a incompatibilidade entre estes dois biopolímeros em condições de pH neutro. Amostras produzidas por acidificação lenta possuíram o valor de índice de comportamento (k) bem maiores e de índice de comportamento (n) menor que as amostras acidificadas rapidamente, além de apresentar valores de G' e G'' muito superiores, este comportamento foi associado ao aumento da complexidade do sistema devido à formação de uma rede mais ordenada de proteína. Nas amostras acidificadas, observa-se que a força necessária para o escoamento é sempre maior para as amostras contendo concentrações maiores de caseinato, devido ao fato de que a gelificação ácida provavelmente impede a micro-separação de fases e promove a formação de estruturas mais complexas. As curvas e os parâmetros obtidos a partir de

ensaios de cisalhamento e compressão biaxial apresentaram a mesma tendência, demonstrando que apesar da técnica de compressão biaxial com lubrificação possuir algumas desvantagens e não caracterizar o comportamento reológico de muitos alimentos, neste estudo, mostrou ser um método bastante eficaz.

4.5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABU-JDAYIL, H.; MOHAMEED H.; EASSA, A. Rheology of wheat starch–milk–sugar systems: effect of starch concentration, sugar type and concentration, and milk fat content. *Journal of Food Engineering*, v. 64, p. 207–212, 2004.

ACHAYUTHAKAN, P. E.; SUPHANTHARIKA, M. Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. *Carbohydrate Polymers*, v. 71, n. 1- 5, p. 9-17, 2008.

ADDO, K.; XIONG, Y. L.; BLANCHARD, S. P. Thermal and dynamic rheological properties of wheat flour fractions. *Food Research International*, v. 34, p. 329-335, 2001.

AGUILERA, J. M.; STANLEY, D.W. *Microstructural principles of food & engineering*. 1. ed. Cambridge: Elsevier Applied Science, 1990, 343 p.

AVANZA, V.; PUPPO, C.; AÑÓN, C. *Rheological properties of amaranth protein gel*. 3RD International Symposium on Food Rheology and Structure, p. 525-526, 2003.

BANON, S.; HARDY, J. A colloidal approach of milk acidification by glucono- δ -lactone. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 935–941, 1992.

BARONI, A. F.; CUNHA, R. L.; FREITAS, I. C.; HUBINGER, M. D.; MENEGALLI, F. C. Caracterização reológica de requeijão cremoso tradicional e com teor reduzido de

- gordura: viscosidade extensional e em cisalhamento. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.2, n.1, p. 21-29, 1999.
- BERTOLA, N. C.; BEVILACQUA, A. E.; ZARITZKY, N. M. Rheological behaviour of reggianito argentino cheese packaged in plastic film during ripening. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, v. 28, p. 610-615, 1995.
- BERTOLINI, A. C.; LAWRENCE, K. C.; MIEKE, E.; Some rheological properties of sodium caseinate – starch gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 2248-2254, 2005.
- BLANSHARD, J. M. V. Starch granule structure and function: a physicochemical approach. In: Galliard, T. *Starch: Properties and Potential*. John Wiley & Sons, p.16-54, 2006.
- BHOSALE, R.; SINGHAL, R. Effect of octenylsuccinylation on physicochemical and functional properties of waxy maize and amaranth starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 68, n. 3-5, p. 447-456, 2007.
- BRAGA, A. L. M. Caracterização das interações macromoleculares em géis ácidos de caseína-xantana-sacarose: análises reológicas e térmica. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002.
- BRAGA, A. L. M.; CUNHA, R. L. The effect of sucrose on unfrozen water and syneresis of acidified sodium caseinate–xanthan gels. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 36, n. 1-2, p. 33-38, 2005.

- BROUILLET-FOURMANN, S.; CARROT, C.; MIGNARD, N. Gelatinization and gelation of corn starch followed by dynamic mechanical spectroscopy analysis. *Rheologica Acta*, v. 42, p. 110-117, 2003.
- CALZETTA R. A.; AGUERRE, R. J; SUAREZ, C. Analysis of the sorptional characteristics of amaranth starch. *Journal of Food Engineering*, v. 42, p. 51-57, 1999.
- CAMPANELLA, O. H.; PELEG, M. Squeezing flow viscometry for nonelastic semiliquid foods – theory and applications. *Critical Review in Foods Science and Nutrition*, v. 42, n. 3, p. 241-264, 2002.
- CAMPANELLA, O. H.; PELEG, M. Squeezing flow viscosimetry of peanut butter. *Journal of Food Science*, v. 52, n. 3, p. 180-184, 1987.
- CAMPANELLA, O. O.; PELEG, M. POPPLEWELL L. L.; ROSENAU, J. J. Elongation viscosity measurement of melting American processed cheese. *Journal Food Science*, v. 52, p. 1249 – 1251, 1987.
- CAVALLIERI, A. L. F. Influência da desnaturação térmica e do pH sobre as propriedades reológicas da proteína do soro e sua compatibilidade com a xantana. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2003.
- CAVALLIERI, A. L. F.; CUNHA, R. L. The effects of acidification rate, pH, ageing time on the acidic cold set gelation of whey proteins. *Food Hydrocolloids*, v. 22, n.3, p. 439-448, 2008.

- CÈSARO, A.; CUPPO, F.; FABRI, D.; SUSSICH, F. Thermodynamic behavior of mixed biopolymers in solution and in gel phase. *Thermochimica Acta*, v. 388, p. 143-153, 1999.
- CHEN, C.R.; DICKINSON, H.S. Rheology of tapioca starch. *Food Research International*, v. 32, p. 319-325, 1999.
- CHU, B.; ZHOU, Z.; WU, G. W.; FARRELL, H. M. Laser-light scattering of model casein solutions – Effects of high-temperature. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 170, p. 102-112, 1995.
- CLARK, A. H. Application of cascade theory to description of microphase-separated biopolymer gels. *Faraday Discussions*, v. 101, p. 77-91, 1995.
- CONDE-PETIT, B.; NUESSELI, J.; HANDSCHIN, S.; ESCHER, F. Comparative characterisation of aqueous starch dispersions by light microscopy, rheometry and iodine binding behaviour. *Starch/Stärke*, v. 50, n. 5, p. 184-192, 1998.
- CORNILLON P.; SALIN, L.C. Characterization of water mobility and distribution in low-and intermediate-moisture food systems. *Magnetic Resonance Imaging*, v. 18, p. 335-341, 2000.
- DAVIS, E.; GORDON, J. Structural studies of carrots by SEM. *Scanning Electron Microscopy*, v. 3(1) p. 601-611, 1980.
- DE KRUIF, C.G. Skim milk acidification. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 185, p. 19–25, 1997.
- DICKINSON, E.; ELIOT, C. Agregated casein gel: interations, rheology and microstructure. 3RD International Symposium on Food Rheology and Structure, p. 37-44, 2003.

- DOLZ, M.; HERNÁNDEZ, M.J.; DELEGIDO, J.; ALFARO, M.C. ; MUÑOZ, J. Influence of xanthan gum and locust bean gum upon flow and thixotropic behaviour of food emulsions containing modified starch. *Journal of Food Engineering*, v. 81, n. 1, p. 179-186, 2007.
- EVAGELIOU, V.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Effect of pH, sugar type and thermal annealing on high-methoxyl pectin gels. *Carbohydrate Polymers*, v. 42, p. 245–259. 2000a.
- EVAGELIOU, V.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Effect of sucrose, glucose and fructose on gelation of oxidized starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 42, p. 261-272, 2000b.
- FAMELART, M.; TOMAZEWSKI, J.; PIOT, M.; PEZENNEC, S. Comparison of rheological properties of acid gels made from heated casein combined with β -lactoglobulin or egg ovalbumin. *International Dairy Journal*, v. 13, p. 123-134, 2003.
- FAMELART, M.-H. Rennet coagulation of milk in the presence of sucrose. *Journal of Dairy Science*, v. 61, p.473–483, 1994.
- FREDRIKSSON, H.; SILVERIO, J.; ANDRESON, R.; ELIASSON, A. C.; AMAN, P. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 35, p. 119-134, 1998.
- FUNTENBERGER, S.; DUMAY, E.; CHEFTEL, J.C. High pressure promotes β -lactoglobulin aggregation through SH/S–S interchange reactions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 45, p. 912–921, 1997.

- HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. *Trends in Food Science and Technology*, v. 7, p. 345-353, 1996.
- HERMANSSON, N. M.; RICHARDSON, G.; KIDMAN, S.; LANGTON, M. Differences in amylose aggregation and starch gel formation with emulsifiers. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, n. 1, p. 7-13, 2004.
- IAMETTI, S.; DONNIZZELLI, E.; VECCHIO, G.; ROVERE, P. P.; GOLA, S.; BONOMI, F. Macroscopic and structural consequences of high pressure treatment of ovalbumin solutions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 46, p. 3521–3527, 1998.
- JENG-YUNE, L.; AN-I, Y. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *Journal of Food Engineering*, v. 50, p. 141-148, 2001.
- KIRSTY E.; DICKINSON, A. E.; MURRAY, B. Acidified sodium caseinate emulsion foams containing liquid fat: a comparison with whipped cream. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 2620–2630, 1997.
- LAUNAY ,L.K.; PASQUET, Y.F. Viscoelastic and flow in polymers melts and concentrated solutions. *Physical properties of polymers*. Washington, D.C. American Chemical Society, p. 97-153, 2002.
- LEVIÈVRE, J.; HUSBANDS, J. Effects of sodium caseinate on the rheological properties of starch pastes. *Starch/Staerke*, v. 41, p. 236-238, 1989.
- LUCEY, J. A.; VAN VLIET, T.; GROLLE, K.; GEURTS, T.; WALSTRA, P. Properties of acid casein gels made by acidification with glucono- δ -lactone: rheological properties. *International Dairy Journal*, v.7, p. 381-388, 1997.

- LUCEY, J.A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. *Food Research International*, v.30, n.7, p.529-542, 1997.
- KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 81-84.
- MARZIN, C.; DOUBLIER, J.L.; LEFEBURE, J. Effect of sodium caseinate on pasting and gelling properties of wheat starch. *Food Macromolecules and Colloids*, v.11 ,p. 340-348, 1995.
- MELLEMA, M.; WALSTRA, P.; VAN OPHEUSDEN, J. H. J.; VAN VLIET, T. Effects of structural rearrangements on the rheology of rennet-induced casein particle gels. *Food Hydrocolloids*, v. 12, p.159 – 173, 2001.
- MILES, M. J.; MORRIS, P. D. Gelation of amylose. *Carbohydrate Research*, v. 135, p. 257 – 269, 1985.
- NAYOUF, M.; LOISEL, C.; DOUBLIER, J. L. Effect of thermomechanical treatment on the rheological properties of crosslinked waxy corn starch. *Journal of Food Engineering*, v. 59, p. 209–219, 2003.
- NGUYEN, Q.D.; JENSEN, C.T.B.; KRISTENSEN, P.G. Experimental and modelling studies of the flow properties of maize starch pastes. *Chemical Engineering Journal*, v. 70, p.165-171, 1998.
- NUESSLI, J.; HANDSCHIN, S.; CONDE-PETIT, B.; ESCHER, F. Rheology and structure of amylopectin potato starch. Dispersions without and with emulsifier addition. *Starch/Stärke*, v. 52, p. 22-27, 2000.

- ORTEGA-OJEDA, F. E.; ANN-CHARLOTTE, E. Gelatinization and retrogradation behaviour of some starch mixtures. *Starch/Stärke*, v. 53, p. 520-529, 2001.
- PAMPA, N. B. Q. Estudo do comportamento reológico em cisalhamento estacionário e oscilatório de suspensões de amido de amaranto. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2003.
- PAREDES-LOPEZ, O.; BELLO-PEREZ, L. A.; LÓPEZ, M. G. Amylopectin: structural, gelatinization and retrogradation studies. *Food Chemistry*, v. 50, p. 411-417, 1994.
- PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the physical chemical of starch. *Journal of Cereal Science*, v. 34, p. 1-17, 2001.
- PEREIRA, L. B. Caracterização de suspensões e géis de amido de amaranto: efeito da adição de sacarose e NaCl nas propriedades reológicas e térmicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2004.
- PUTAUX, J. L.; SAITO, Y.; OKANO, T.; GAILL, F.; CHANZY, H. Structural data on the intracrystalline swelling of β -chitin. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 28, n. 1, p. 81-88, 2000.
- RESIO, A. N. C.; TOLABA, M. P.; SUAREZ, C. Algunas propiedades físicas y térmicas del almidón de amaranto. *Food Science and Technology Internacional*, v. 6, n. 5, p.371-378, 2006.
- RICHARDSON, P.; AMEYE, D.; VOORSPOELS, J.; FOREMAN, P.; TSAI, J.; GERESH, S.; REMON, J. P. Ex vivo bioadhesion and in vivo testosterone bioavailability study of different bioadhesive formulations based on starch-g-poly(acrylic acid) copolymers and

- starch/poly(acrylic acid) mixtures. *Journal of Controlled Release*, v. 79, n. 1-3, p. 173-182, 2002.
- RICHARDSON, S.; GORTON, L. Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. *Analytica Chimica Acta*, v. 497, n. 1-2, p. 27-65, 2003.
- RING, S. G.; COLONNA, P.; I' ANSON, K. J.; KALICHEVSKY, M. T.; MILES, M. J.; MORRIS, V. J.; ORFORD, P. D. The gelation and crystallization of amylopectin. *Carbohydrate Research*, v. 162, p. 277-293, 1987.
- ROEFS, S. P. F. M.; VAN VLIET, T. Structure of acid casein gels: Dynamic measurements and type of interaction forces. *Colloids and Surfaces*, v. 50, p.161-175, 1990.
- ROSS-MURPHY, S. B. Structure-properties relationships in food biopolymer gels and solutions. *Journal of Rheology*, v. 39, p. 1451-1463, 1995.
- SANCHEZ, C.; ZUNIGA-LOPEZ, R.; SCHMITT, C.; HARDY, J. Microstructure of acid-induced skim milk-locust bean gum-xanthan gels. *International Dairy Journal*, v. 10, n. 3, p. 199-212, 2000.
- SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J.; SATAKE, T. Comparison of physical properties of wheat starch gels with different amilose content. *Cereal Chemistry*, v.79, p. 861-866, 2002.
- SAUNDERS, R.M.; BECKER, R. Amaranthus: a potential food and feed resource. *Advances in Cereal Science Technology*, Cap. 6, p. 357-396, 2004.
- SINGH, H.; ROBERTS, M.S.; MUNRO, P.A.; TEO, C.T. Acid-induced dissociation of casein micelles milk: effects of heat treatment. *Journal of Dairy Science*, v. 79, p. 1340-1346, 1996.

- SGARBIERI, V.C. Propriedades funcionais de proteínas em alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos*, v. 32, n. 1, p. 105-126, 1998.
- SYRBE, A.; BAUER, W.J.; KLOSTERMEYER, N. Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, v. 8, n. 3, p. 179-193, 1998.
- TANI, F.; SHIRAI, N.; ONISHI, T.; VENELLE, F.; YASUMOTO, K.; DOI, E. Temperature control for kinetic refolding of heat denatured ovalbumin. *Protein Science*, v. 6, p. 1491–1502, 1997.
- TÁRREGA, A.; VÉLEZ-RUIZ, J. F.; COSTELL, E. Influence of milk on the rheological behaviour of cross-linked waxy maize and tapioca starch dispersions. *Food Research International*, v. 38, n. 7, p. 759-768, 2005.
- THEBAUDIN, J. V.; LEFEBURE, A. C.; DOUBLIER, J. L. Rheology of starch pastes from starches of different origins: applications to starch based sauces. *Lebens. Wiss. Thechnology*, v. 31, p. 354 – 360, 1998.
- TECANTE, A.; DOUBLIER, J. L. Steady flow and viscoelastic behavior of crosslinked waxy corn starch-k-carrageenan pastes and gels. *Carbohydrate Polymers*, v. 40, p. 221-231, 1999.
- TELI, M. D.; SHANBAG, V.; DHANDE, S. S.; SINGHAL, R. S. Rheological properties of *Amaranthus paniculatus* (Rajgeera) starch vis-à-vis maize starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 69, n. 1.1, p. 116-122, 2007.

- TERPSTRA, M. E. J.; JANSSEN, A. M.; VAN DER LINDEN, E. Exploring imperfect squeezing flow measurements in a teflon geometry for semisolid foods. *Journal of Food Science*, v. 72, n. 9, p. E492–E502, 2007.
- TESTER, R. F.; SOMMERVILLE, M. D. The effects of non-starch polysaccharides on the extent of gelatinization, swelling and α -amylase hydrolysis of maize and wheat starches. *Food Hydrocolloids*, v. 17, p. 41-54, 2003.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamic considerations of starch functionality in foods. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, n. 1, p. 99-11, 2003a.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamic considerations on polysaccharide functions. Polysaccharides came first. *Carbohydrate Polymers*, v. 54, n. 3, p. 371-380, 2003b.
- VAN CAMP, J.; HUYGHEBAERT, A. Comparative rheological study of heat and high pressure induced whey protein gels. *Food Chemistry*, v. 54, p. 357–364, 1995.
- WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. *International Journal of Dairy Science*, v.73, n.8, p.1965-1979, 1990.
- WU, H.; CORKE, H. Genetic diversity in physical properties of starch from a world collection of amaranthus. *Cereal Chemistry*, v. 76, n. 6, p. 877-883, 1999.
- YOSHINORI, M. Laser light scattering study on the heat-induced ovalbumin aggregates related to its gelling property. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 44, p. 2086–2090, 1996.

CAPÍTULO 5

**Cinética de Gelificação de Géis Acidificados de
Amido de Amaranto-Caseinato de Sódio-Sacarose**

ÍNDICE

RESUMO.....	184
5.1. INTRODUÇÃO	185
5.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	187
5.2.1. Matéria Prima.....	187
5.2.2. Métodos de Preparação dos Sistemas Mistos:.....	187
5.2.2.1. Preparação do caseinato de sódio:.....	187
5.2.2.2. Preparação das amostras de caseinato de sódio e amido :.....	188
5.2.3. Análises de cinética de acidificação e Turbidez.	191
5.2.4. Ensaio Reológico:.....	191
5.2.5. Análise estrutural:	193
5.2.6. Análise estatística dos resultados	193
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	193
5.3.1. Efeito na velocidade de acidificação na preparação das amostras.....	193
5.3.2. Cinéticas de pH.....	195
5.3.3. Cinéticas de turbidez.....	200
5.3.3.1. Amostras sem sacarose	200
5.3.3.2 Amostras com sacarose	203
5.3.4. Efeito do açúcar no comportamento reológico de misturas de caseinato de sódio e amido.....	207
5.3.5. Análise estrutural.	213
5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	217

RESUMO

Cinéticas de pH e turbidez, utilizando o espectrofotômetro, foram realizadas em sistemas amido-de-amaranto/caseinato-de-sódio/sacarose. Foram comparados dois métodos de preparação, utilizando diferentes temperaturas de acidificação, realizada a 10 °C e a 90 °C o que levou a um decréscimo de pH lento e rápido, respectivamente. Procurando entender melhor as interações que a sacarose e o tempo de acidificação promovem no sistema, estudos das microestruturas, cinéticas de gelificação e das propriedades reológicas a baixas deformações foram realizados. O aumento da velocidade de formação da rede com o aumento da concentração de açúcar ficou evidente pelo aumento mais acentuado de G' durante o aquecimento, no entanto, o açúcar não aumentou o número de ligações no sistema, o que ficou evidente nas análises de microscopia. O sistema contendo amido, açúcar e caseinato mais GDL apresentou um adiamento no início da gelatinização do amido e um aumento na sua velocidade, porém não promoveu influência nas forças elásticas e viscosas do gel. O caseinato de sódio apresentou uma forte liderança sobre o sistema, principalmente durante o resfriamento, sugerindo que a atuação do GDL, sobre o solvente, participa ativamente na rede tridimensional, reduzindo o efeito da sacarose no sistema. O processo de acidificação rápida promoveu a formação de um gel mais desordenado e particulado, nestas amostras o pH chega próximo ao valor do ponto isoelétrico da proteína muito rápido e a absorvância permanece no pico máximo desde o início. No processo de acidificação lenta, o pH inicial é alto, chegando ao pI em aproximadamente 16 horas, juntamente com o pico máximo de absorvância que logo após começa a diminuir, devido à sedimentação dos agregados.

Palavras-chave: amido de amaranto, caseinato de sódio, sacarose, cinéticas de pH e turbidez.

5.1. INTRODUÇÃO

O uso do amido na indústria de alimentos implica no conhecimento do comportamento dos géis formados com este polissacarídeo, bem como das mudanças de estrutura produzidas pela interação do amido com os diversos ingredientes das formulações (proteínas, açúcares, ácidos, etc.). A adição de proteínas e hidrolisados protéicos em sistemas contendo amido promove alterações significativas em suas propriedades ampliando a faixa de aplicações. Dentre estas, as proteínas do leite possuem elevado valor nutricional, além de estarem presentes em uma gama de produtos e análogos de produtos lácteos em que são utilizados como espessantes e estabilizantes.

No entanto, as interações que ocorrem em uma mistura de dois biopolímeros não são tão simples, pois o efeito do pH no comportamento da mistura depende da natureza do polímero e se este é neutro ou carregado eletricamente, sendo que neste último caso, também é função do grupo iônico do polissacarídeo (TOLSTOGUZOV, 2003 e 1997). Em sistemas formados por proteína e polissacarídeo aniônico, o pH tem efeito na auto-associação das proteínas e também nas interações entre proteína e polissacarídeo. Em valores de pH acima do ponto isoelétrico (pI) das proteínas, ambos os polímeros possuem cargas predominantemente negativas e a repulsão entre eles é predominantemente. Nessas condições alguns polissacarídeos podem formar complexos solúveis devido à atração entre as regiões positivamente carregadas na molécula da proteína com o polissacarídeo aniônico (PARK et al, 1992).

A menor solubilidade da caseína é obtida em pH 4,6 (ponto isoelétrico), quando ocorre a gelificação das proteínas do leite que podem ser acidificadas pela ação de culturas bacterianas através da fermentação da lactose com ácido láctico, pela adição de ácidos orgânicos como HCl (acidificação direta), ou ainda pelo uso de glucona-delta-lactona (GDL), cuja hidrólise pode resultar na redução lenta do pH. Muitos estudos sobre a formação de géis ácidos têm sido realizados com GDL, pois a lenta diminuição do pH é similar ao que

ocorre com culturas lácteas (LUCEY & SINGH, 1997 e LUCEY et al., 1997). Géis acidificados possuem estrutura particulada, consistindo de filamentos de caráter heterogêneo com áreas de alta densidade e regiões sem proteína. Estas regiões são grandes cavidades, entre os conglomerados e os filamentos, ocupadas pelo solvente (ROEFS et al., 1990).

A sacarose é freqüentemente encontradas em sistemas contendo misturas de proteínas e polissacarídeos podendo contribuir para a viscosidade e a vida-de-prateleira do produto. Em soluções aquosas, a adição de sacarose pode alterar as propriedades termodinâmicas das proteínas e polissacarídeos, através de interações diretas entre o co-soluto e o polissacarídeo ou através de modificações na estrutura e disponibilidade da água. A água é um solvente eficaz para os biopolímeros devido a sua habilidade de formar ligações de hidrogênio com grupos hidroxila e outros substituintes polares das cadeias dos polímeros. A introdução de um material com menos capacidade de se ligar ao hidrogênio promove uma associação polímero-polímero, reduzindo a competição das interações polímero-solvente (OAKENFULL & SCOTT, 1986). Possivelmente, a contribuição da sacarose em favorecer a característica elástica dos sistemas analisados pode estar relacionada ao fato desta influenciar fortemente as interações entre os biopolímeros (DICKINSON & MERINO, 2002). Como a adição de sacarose modifica as interações entre os biopolímeros, as propriedades físicas dos sistemas mistos também são alteradas.

A temperatura de gelatinização aumenta com a adição de açúcares, o que provavelmente se deve ao fato da hidratação das moléculas de açúcar diminuir a água livre (o que equivale a ter altas concentrações de amido), ou ainda, à interação das moléculas de açúcar com as cadeias da molécula de amido, estabilizando suas regiões cristalinas (KOHYAMA & NISHINARI, 1991; AHAMAD & WILLIAMS 1999).

A avaliação das interações entre biopolímeros e sacarose pode ser avaliada através da análise do estado da água nestes sistemas complexos. Braga (2002) relatou que os géis

de caseína-polissacarídeo-sacarose apresentaram um grau muito elevado de sinerese (água livre) que foi atribuído principalmente ao efeito da sacarose.

TAKEUCHI (2003) estudou a influência da sacarose na gelificação de caseinato e verificou que na maioria dos sistemas estudados a sacarose não influenciou a cinética de gelificação. Entretanto, em alguns sistemas o açúcar diminuiu a taxa de gelificação, este fato ocorreu provavelmente porque a sacarose aumentou a força das interações proteína-proteína em relação às interações proteína-solvente, promovendo a agregação da proteína em solução e conseqüente formação do gel.

Assim, as interações entre o amido, caseinato de sódio e sacarose foram analisadas a partir da avaliação da cinética de gelificação (pH e turbidez), reologia a baixas deformações e microestruturas, verificando inclusive, como o tempo de acidificação influencia nestas interações.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Matéria prima

Os ingredientes utilizados nos sistemas foram amido de amaranto, caseína, sacarose e glucona- δ -lactona (GDL). O amido foi extraído da semente do amaranto da variedade “*Amaranthus cruentus*” (fornecido pela Embrapa e pela UFSC) pela tecnologia de moagem úmida (PAMPA, 2003). A caseína, sacarose e o GDL foram adquiridos da Sigma-Aldrich Corporation (Inglaterra).

5.2.2. Métodos de preparação dos sistemas mistos

5.2.2.1. Preparação do caseinato de sódio

A caseína foi dissolvida em água deionizada sob agitação magnética, a uma temperatura inferior a 40 °C. O pH da solução foi ajustado para 6,7 com adição de solução de NaOH 40 e 20% , até completa hidratação da caseína e formação do caseinato de sódio.

5.2.2.2. Preparação das amostras de caseinato de sódio e amido

Foram estudados três métodos de preparações diferentes, baseados na forma de adição do precursor ácido (GDL). No primeiro caso não houve adição de GDL, no segundo as condições de processo levaram a uma taxa de acidificação denominada de lenta e no terceiro, a taxa de acidificação foi bastante elevada (chamado de acidificação rápida). Em todos os sistemas foram utilizadas duas concentrações de amido (5 e 10% p/p) considerando 100g de água deionizada e de caseinato de sódio (4 e 8% p/p). Nos sistemas acidificados, a quantidade de GDL adicionada foi em uma razão GDL/proteína suficiente para se chegar ao pI da proteína ($4,6 \leq \text{pH} \leq 4,7$) ao final do processo, sendo os valores usados determinados em ensaios preliminares. As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam concentrações e métodos de acidificação utilizados para as amostras (contendo sacarose) com 5% e 10% p/p de amido, respectivamente. Dados semelhantes para as amostras sem sacarose se encontram na Tabela 4.1 do Capítulo 4.

Tabela 5.1: Razão de GDL para o pH das amostras contendo 5% p/p de amido, caseinato (4 e 8% p/p) e sacarose (5 e 10% p/p) chegar próximo ao pl do caseinato ($pI=4,6-4,7$) no equilíbrio.

Amostras	Concentração de amido (p/p)	Concentração de caseinato (p/p)	Razão de GDL (R = GDL/Caseína)	Concentração de sacarose (p/p)	Método de acidificação
A5	5	0	0	0	Não acidificado
A5a5	5	0	0	5	Não acidificado
A5a10	5	0	0	10	Não acidificado
A5C4a5b	5	4	0	5	Não acidificado
A5C4a10b	5	4	0	10	Não acidificado
A5C8a5b	5	8	0	5	Não acidificado
A5C8a10b	5	8	0	10	Não acidificado
Ag5Ca4a5	5	4	0,165	5	Lenta
Ag5Ca4a10	5	4	0,167	10	Lenta
Ag5Ca8a5	5	8	0,171	5	Lenta
Ag5Ca8a10	5	8	0,172	10	Lenta
TJA5C4a5	5	4	0,162	5	Rápida
TJA5C4a10	5	4	0,165	10	Rápida
TJA5C8a5	5	8	0,158	5	Rápida
TJA5C8a10	5	8	0,161	10	Rápida

* “A” - amido, “Ag” - pré-gelatinizado, “C” - caseinato, “Ca” - caseinato acidificado antes da mistura com o amido pré-gelatinizado. TJ - amostras foram preparadas com todos os seus componentes juntos, b - branco (sem GDL). O número subsequente a estas letras indica a concentração do respectivo polímero.

Tabela 5.2: Razão de GDL para o pH das amostras contendo 10% p/p de amido, caseinato (4 e 8% p/p) e sacarose (5 e 10% p/p) chegar próximo ao pl do caseinato (pl=4,6-4,7) no equilíbrio.

Amostras	Concentração de amido (p/p)	Concentração de caseinato (p/p)	Razão de GDL (R = GDL/Caseína)	Concentração de sacarose (p/p)	Método de acidificação
A10	10	0	0	0	Não acidificado
A10a5	10	0	0	5	Não acidificado
A10a10	10	0	0	10	Não acidificado
A10C4a5b	10	4	0	5	Não acidificado
A10C4a10b	10	4	0	10	Não acidificado
A10C8a5b	10	8	0	5	Não acidificado
A10Ca8a10b	10	8	0	10	Não acidificado
Ag10Ca4a5	10	4	0,223	5	Lenta
Ag10Ca4a10	10	4	0,226	10	Lenta
Ag10Ca8a5	10	8	0,178	5	Lenta
Ag10Ca8a10	10	8	0,181	10	Lenta
TJA10C4a5	10	4	0,203	5	Rápida
TJA10C4a10	10	4	0,206	10	Rápida
TJA10C8a5	10	8	0,174	5	Rápida
TJA10C8a10	10	8	0,177	10	Rápida

* "A" - amido, "Ag" - pré-gelatinizado, "C" - caseinato, "Ca" - caseinato acidificado antes da mistura com o amido pré-gelatinizado. TJ - amostras foram preparadas com todos os seus componentes juntos, b - branco (sem GDL). O número subsequente a estas letras indica a concentração do respectivo polímero.

O método de preparo dos três tipos de sistemas é descrito a seguir:

5) Sem acidificação: as suspensões de amido foram gelatinizadas em banho termostático a 90°C sob suave agitação durante 15 minutos. Imediatamente após a gelatinização do polissacarídeo, o caseinato de sódio, à temperatura de 25°C, foi misturado à suspensão de amido sob constante agitação até formar uma suspensão homogênea (aproximadamente 3 minutos), sendo esta rapidamente resfriada em banho de gelo para posterior armazenamento a 10°C.

6) Acidificação lenta: as suspensões de amido foram gelatinizadas a 90°C, como no preparo das amostras não acidificadas. Após a sua gelatinização, a solução de amido foi resfriada até 60°C para, então, acrescentar o caseinato de sódio mais GDL. Quantidades diferentes de GDL foram dissolvidas previamente no caseinato (a 25°C) antes deste ser misturado com o amido pré-gelatinizado. Após esta mistura, as suspensões foram rapidamente resfriadas em banho de gelo e armazenadas a 10°C por 48 horas.

7) Acidificação rápida: Os componentes (amido, caseinato de sódio e GDL) foram misturados previamente à gelatinização que ocorreu a 90°C por 15 minutos sob suave agitação. As suspensões foram rapidamente resfriadas em banho de gelo e armazenadas a 10°C.

Foram preparados géis de amido (5 e 10%) considerando 100g de água, caseinato de sódio (4 e 8%), sacarose (5 e 10%). Nos sistemas acidificados foram adicionados razões de GDL suficientes para se chegar ao pI da proteína no equilíbrio.

5.2.3. Análises de cinética de acidificação e turbidez

As amostras foram preparadas conforme o item 5.2.2.2 e o procedimento foi realizado conforme a metodologia descrita no item 4.2.3. contido no Capítulo 4.

5.2.4. Ensaio reológicos

As medições reológicas foram realizadas conforme item 4.2.4. contido no Capítulo 4.

5.2.5. Análise estrutural

As amostras foram preparadas conforme o item 5.2.2.2 e a análise estrutural de géis amido-caseinato acidificado-sacarose foram realizadas conforme a metodologia descrita no item 4.2.6. contido no Capítulo 4.

5.2.6. Análise estatística dos resultados

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa STATISTIC 7,0: Basic Statistics and tables. O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para realizar a comparação das médias das propriedades dos sistemas puros e misturas.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Efeito na velocidade de acidificação na preparação das amostras

De acordo com os resultados observados no Capítulo 4, as diferentes velocidades de acidificação levaram a grandes diferenças de cor (Figura 5.1A e 5.1B) e pH, que poderiam resultar em propriedades diversas das misturas.

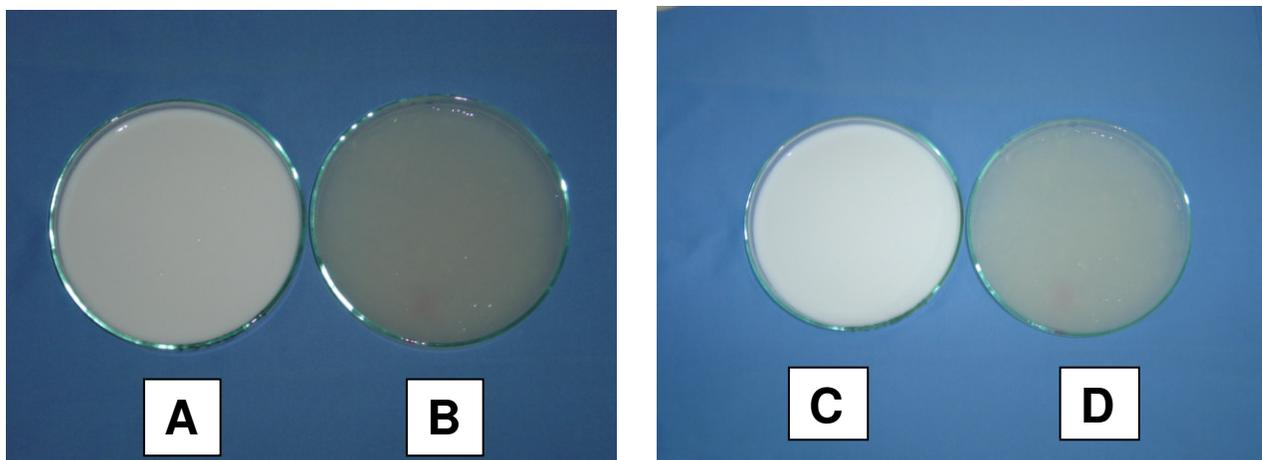


Figura 5.1: Aspecto visual dos géis mistos A) amido (10%) gelatinizado e acidificado com caseinato (8%); B) amido (10%) pré-gelatinizado misturado com caseinato e GDL (8%); C) amido (10%) gelatinizado e acidificado com açúcar (5%) e caseinato (8%); D) amido (10%) pré-gelatinizado e misturado com açúcar (5%) e caseinato mais GDL (8%). A) e C) Acidificação rápida e B) e D) Acidificação lenta.

De modo semelhante, foram preparadas as amostras contendo sacarose (Figuras 5.1C e 5.1D), sendo que pode-se notar que a tendência de comportamento do aspecto visual se manteve ao compararmos as amostras formadas pelo mesmo processo de preparação (A e C) e (B e D), porém, com o açúcar os sistemas se mostraram mais opacos. Do mesmo modo, na amostra D logo após a mistura de polissacarídeos e proteínas, o gel era transparente, levemente amarelado e seu pH está em torno de 5,8 – 5,9. Somente após aproximadamente 16 - 18 horas seu pH chega próximo ao ponto isoelétrico do caseinato (pH= 4,6-4,7), o que pode ser verificado nas Figuras 5.2 - 5.10, enquanto que nos sistemas acidificados a altas temperaturas, o pH de equilíbrio foi alcançado logo após o tratamento térmico.

5.3.2. Cinéticas de pH

Um dos objetivos da avaliação da cinética de acidificação foi identificar a razão de GDL (razão = GDL/caseína) a se utilizar para que o pH das amostras contendo sacarose resultasse em um valor próximo ao pl do caseinato de sódio (pl=4,6-4,7), assim como foi realizado para as amostras sem este dissacarídeo (Capítulo 4). Foram mostradas a Tabela 4.1 que apresenta a razão de GDL para os géis sem sacarose, e as Tabelas 5.1 e 5.2 que exibem a razão de GDL para os géis com sacarose contendo 5 e 10% p/p de amido, respectivamente.

Pelas Tabelas 5.1 e 5.2 pode-se verificar que as amostras em que o amido foi gelatinizado junto com o caseinato mais GDL (acidificação rápida), a quantidade deste éster foi geralmente menor, da mesma forma que ocorreu com as amostras sem sacarose (Tabela 4.1). Um dos motivos, provavelmente, é que o aumento da velocidade da reação leva a uma rápida associação entre as moléculas de caseinato, diminuindo o número de sítios expostos para a ligação com os íons H^+ , sendo necessária menor quantidade de GDL para alcançar pH 4,6. Por outro lado, as amostras contendo sacarose (Tabelas 5.1 e 5.2) necessitaram de uma quantidade ligeiramente maior de GDL, quando comparadas com as amostras sem

sacarose (Tabela 4.1), para alcançar pH final próximo ao pI da proteína. Isto poderia ser atribuído ao aumento do número de sítios para a ligação com os íons H^+ , à medida que se aumenta a concentração de sacarose.

As Figuras 5.2 a 5.5 mostram as cinéticas de variação de pH para as amostras contendo diferentes concentrações de amido, caseinato de sódio e sacarose em diferentes taxas.

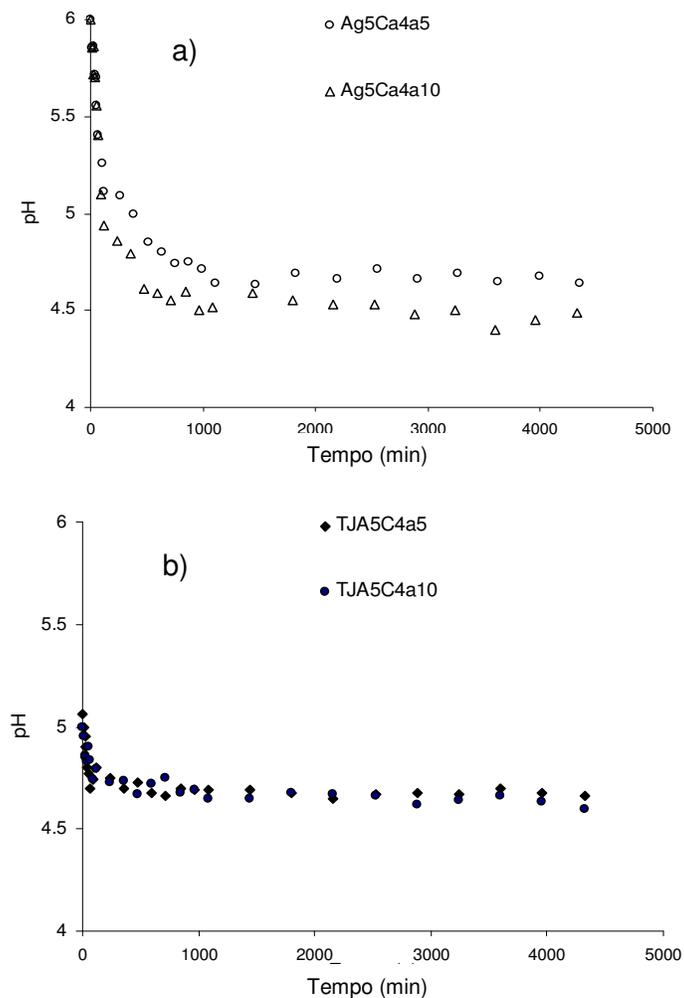


Figura 5.2: Cinética de acidificação das amostras a) Ag5Ca4a5 e Ag5Ca4a10 e b) TJA5C4a5 e TJA5C4a10 . Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “Ca” (o caseinato teve adição de GDL antes da mistura), “TJ” (os componentes foram tratados termicamente todos juntos) e “a” (açúcar).

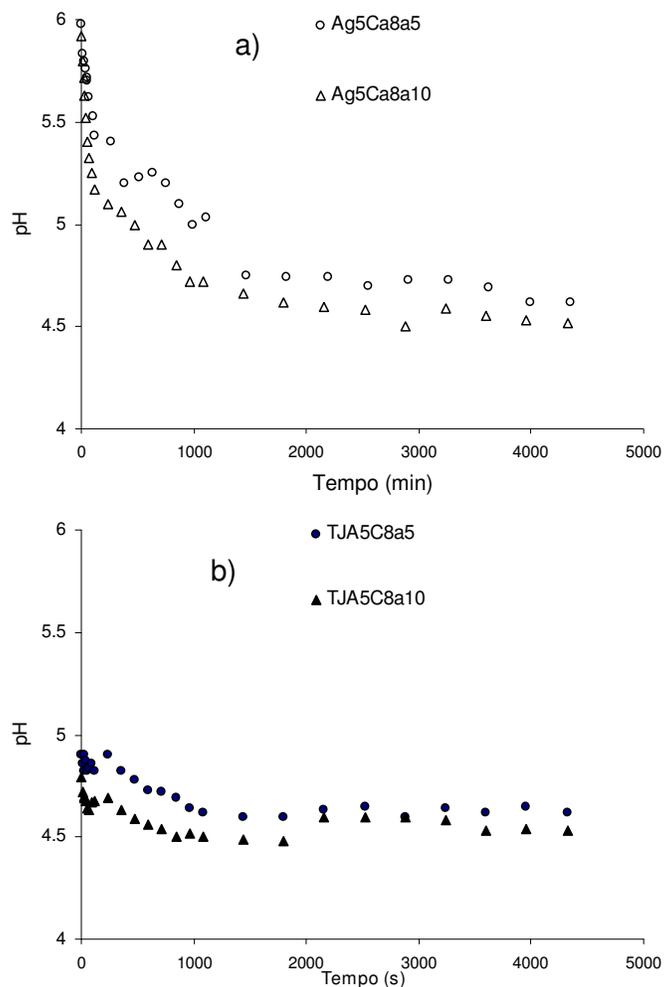


Figura 5.3: Cinética de acidificação das amostras a) Ag5Ca8a5 e Ag5Ca8a10 e b) TJA5C8a5 e TJA5C8a10. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “Ca” (o caseinato teve adição de GDL antes da mistura), “TJ” (os componentes foram tratados termicamente todos juntos) e “a” (açúcar).

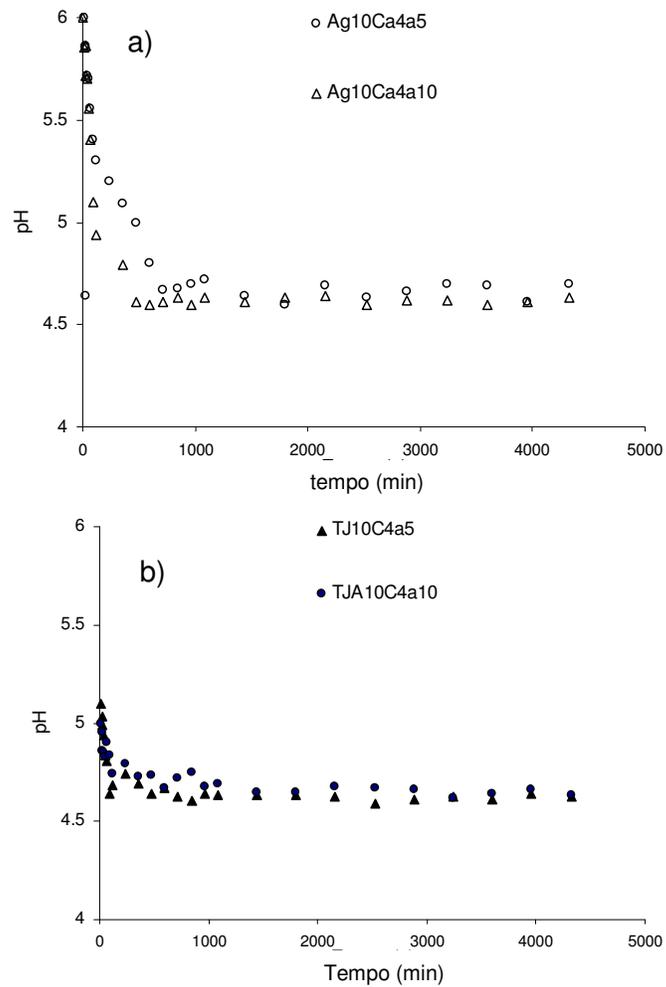


Figura 5.4: Cinética de acidificação das amostras a) Ag10Ca4a5 e Ag10Ca4a10 e b) TJA10C4a5 e TJA10C4a10. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “Ca” (o caseinato teve adição de GDL antes da mistura), “TJ” (os componentes foram tratados termicamente todos juntos) e “a” (açúcar).

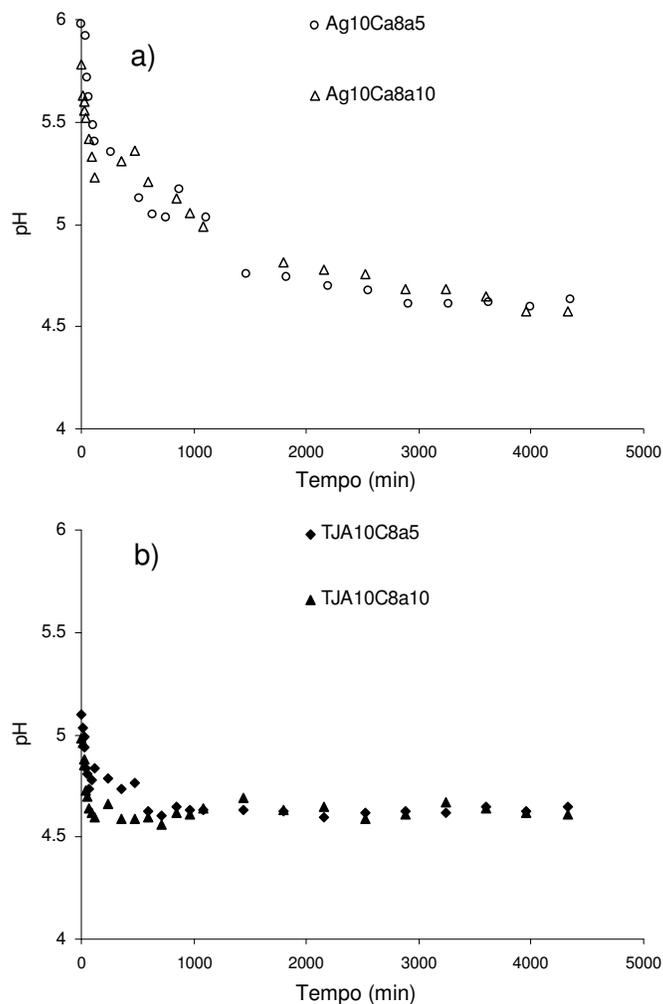


Figura 5.5: Cinética de acidificação das amostras a) Ag10Ca8a5 e Ag10Ca8a10 e b) TJA10C8a5 e TJA10C8a10. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “Ca” (o caseinato teve adição de GDL antes da mistura), “TJ” (os componentes foram tratados termicamente todos juntos) e “a” (açúcar).

Pelas Figuras 5.2b, 5.3b, 5.4b e 5.5b nota-se que as amostras em que o amido foi gelatinizado ao mesmo tempo em que ocorreu a acidificação, o gel alcançou pH próximo ao pI da proteína logo após a sua preparação, devido à alta velocidade de hidrólise do GDL às temperaturas utilizadas no tratamento térmico. No entanto, o pH de equilíbrio só foi

alcançado após aproximadamente 3-16 h após a gelatinização, provavelmente pela reorganização da rede na temperatura de armazenamento.

As Figuras 5.2a, 5.3a, 5.4a e 5.5a mostram que os géis formados a partir do amido pré-gelatinizado na presença do açúcar antes de serem misturados ao caseinato com GDL, tinham seu pH em torno de 5,9. Somente após aproximadamente 16 - 17 horas seu pH chegou próximo ao ponto isoelétrico do caseinato (pH= 4,6-4,7), levando até 48 horas para alcançar o equilíbrio.

Pelas Figuras pode-se observar uma tendência da cinética de acidificação ser mais lenta com maiores concentrações de sacarose e menor concentração de amido, além disso, maiores concentrações de amido parecem favorecer a hidrólise mais rápida do GDL. No entanto, para esclarecer mais este comportamento seriam necessárias maiores variações na concentração de sacarose.

5.3.3. Cinéticas de turbidez

5.3.3.1. Amostras sem sacarose

A Figura 5.6a mostra a variação de turbidez e pH de suspensões de caseinato de sódio em função do tempo. Nota-se que a acidificação do caseinato a altas temperaturas (90°C) levou a uma queda brusca do pH até o pI (Figura 5.6b) em aproximadamente 1000 minutos, sendo que a turbidez destas amostras também não se alterou ao longo do tempo. Já o caseinato acidificado a 10°C, mostrou uma queda de pH lenta até chegar ao valor próximo do pI da proteína, a partir deste ponto tendeu a se manter relativamente constante. Conseqüentemente, o processo de gelificação também foi lento, cuja absorbância aumentou gradativamente até chegar a um pico (próximo ao pI da proteína) e em seguida mostrou uma queda assintótica (Figura 5.6a). Esta redução da turbidez está provavelmente associada aos rearranjos ocorrendo no ponto isoelétrico, o que leva a um gel mais ordenado e translúcido.

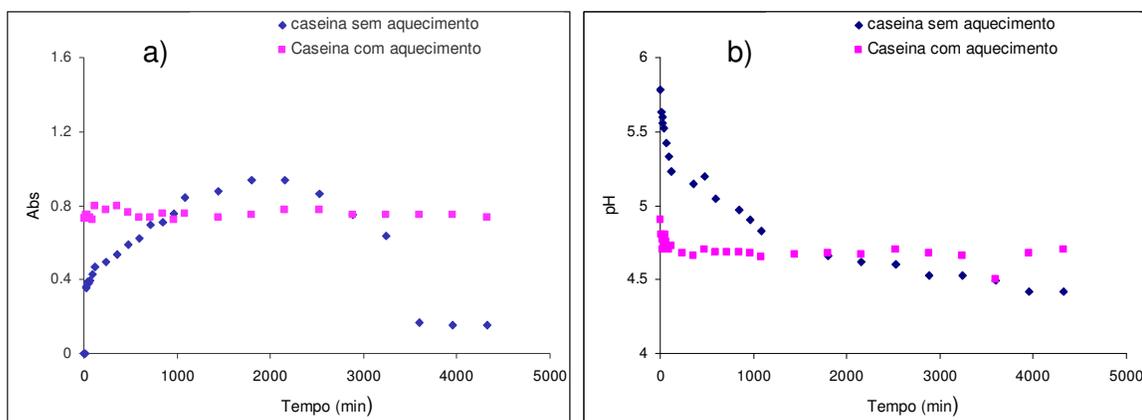


Figura 5.6: Cinéticas de a) turbidez e b) pH do caseinato de sódio acidificado em função do tempo. Sendo, caseína sem aquecimento (acidificação lenta) e caseína com aquecimento (acidificação rápida)

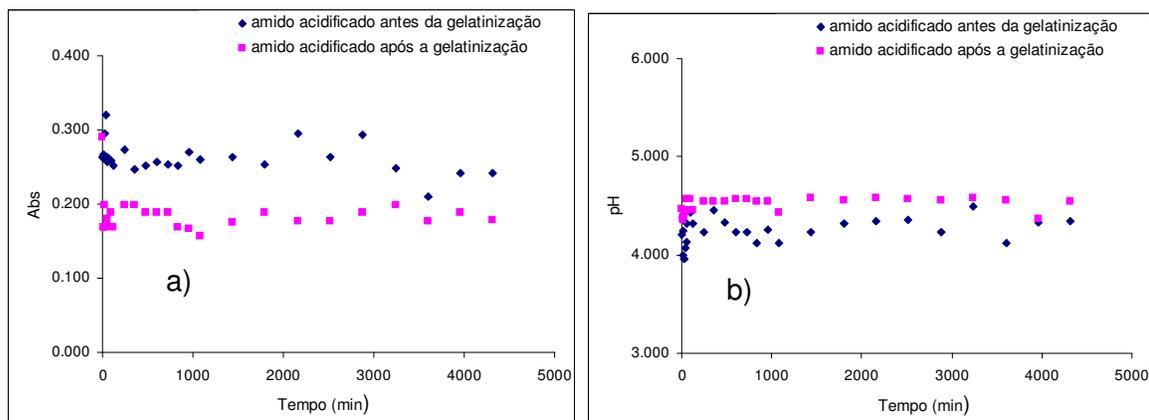


Figura 5.7 Cinéticas de a) turbidez e b) pH do amido acidificado em função do tempo.

As Figuras 5.7a e 5.7b mostram a absorvância e a cinética do pH durante a acidificação do amido, onde nota-se que o pH de equilíbrio foi alcançado muito rapidamente, independente da temperatura de acidificação, bem como o valor final de turbidez. O valor médio da absorvância do amido gelatinizado a 90°C na presença de GDL ($0,26 \pm 0,02$) foi estatisticamente diferente da absorvância do amido acidificado após a gelatinização

(0,18±0,02). Esta diferença foi determinada pelo teste de Tukey com $p < 0,05$ e pode estar associada a hidrólise do amido (EVAGELIOU et al., 2000b).

Medidas de turbidez também foram realizadas para acompanhar as mudanças nos sistemas mistos durante a acidificação. Como a concentração de caseína foi muito baixa comparada à concentração do solvente (<1%), a rede não foi totalmente formada (a concentração crítica para gelificação é de aproximadamente 2% p/p de caseinato) (DAVIES & WHITE, 1960; VAN HOOYDONK et al., 1986; BANON & HARDY, 1992; FOX & MULVIHILL, 2006; FAMELART, 1994 e FAMELART et al., 2003). A influência da taxa de acidificação das amostras é apresentada a seguir (Figuras 5.8a, 5.8b, 5.8c e 5.8d).

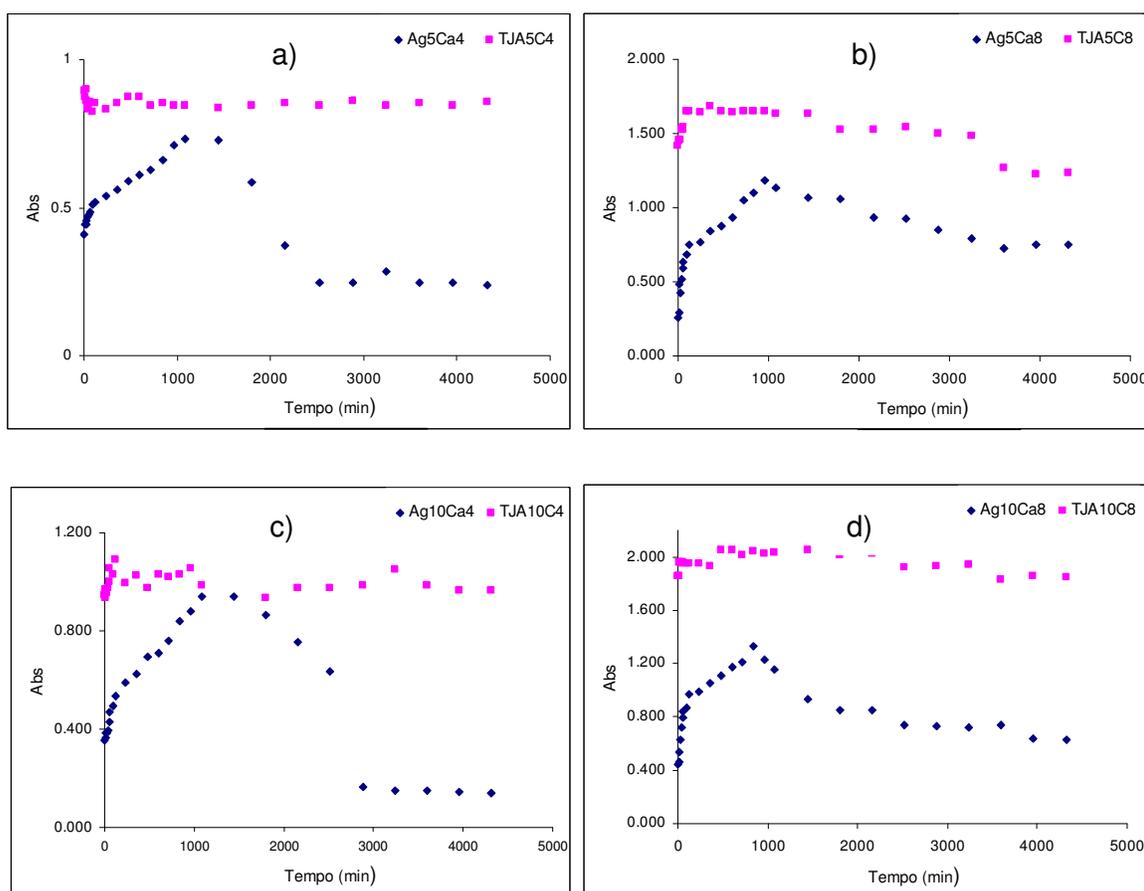


Figura 5.8: Cinéticas de turbidez em função do tempo para as amostras a) A5C4, b) A5C8, c) A10C4 e d) A10C8. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “Ag” (o amido foi pré-gelatinizado antes da mistura) e “TJ” (os componentes foram tratados termicamente todos juntos).

As amostras em que a caseína com GDL foi adicionada após a gelatinização do amido (Ag5Ca4, Ag5Ca8, Ag10Ca4 e Ag10Ca8) e o sistema acidificado mostraram aumento da absorvância conforme ocorreu a gelificação devido à acidificação (Figuras 5.8a, 5.8b, 5.8c e 5.8d) chegando a um pico máximo próximo ao ponto isoelétrico da proteína e depois diminuindo até alcançar um valor de equilíbrio menor que o inicial para 4% de caseinato e ligeiramente maior para 8% de proteína. Estes resultados apresentaram comportamento similar aos géis puros de proteína (Figuras 5.6a e 5.6b), podendo esta queda de turbidez ser atribuída aos rearranjos das partículas de proteína em condições de mínima repulsão de caseína (SCHORSCH, 2004).

Pelas mesmas Figuras pode-se notar que as amostras em que a mistura é realizada a 90°C (TJA5C4, TJA5C8, TJA10C4, TJA10C8) o pH chega próximo ao valor do ponto isoelétrico da proteína muito rapidamente (Figuras 4.2b, 4.3b, 4.4b e 4.5b), acelerando a sua agregação e por este motivo, a absorvância permanece constante e elevada desde o início. É interessante observar que as amostras acidificadas rapidamente mostraram maior turbidez que as pré-gelatinizadas e acidificadas, devido à formação de uma rede mais desordenada, isto ocorre, provavelmente, devido à rápida gelificação da mistura que, neste caso, não sofre a competição da separação de fases.

Em todos os casos, pode-se notar que nas amostras contendo uma maior concentração de biopolímeros ocorreu uma maior turbidez, ou seja, um valor de absorvância mais elevado, porém é notório que o caseinato exerceu maior influência na opacidade dos géis que o amido.

5.3.3.2 Amostras com sacarose

Comparando as Figuras 5.9 – 5.11 (amostras contendo sacarose) com a Figura 5.8 pode-se observar que apesar da absorvância se apresentar relativamente menor para as amostras contendo sacarose, o comportamento, em geral, foi muito semelhante. O caseinato acidificado lentamente (a 10°C) mostra uma gelificação gradual até chegar a um pico

(próximo ao pI da proteína) e em seguida cai como observado para os sistemas sem sacarose. De uma forma geral, as menores absorvâncias foram observadas nas amostras contendo uma menor quantidade de biopolímeros com a maior concentração de sacarose, principalmente nas amostras onde o amido foi pré-gelatinizado antes de ocorrer as misturas com os demais componentes dos sistemas-modelo. Os menores valores de absorvância pode ter ocorrido devido à formação de uma rede menos conectada, justamente pela menor quantidade de biopolímeros. Já a presença de sacarose promove uma desordem no sistema e interfere nas ligações dos grupos livres das moléculas

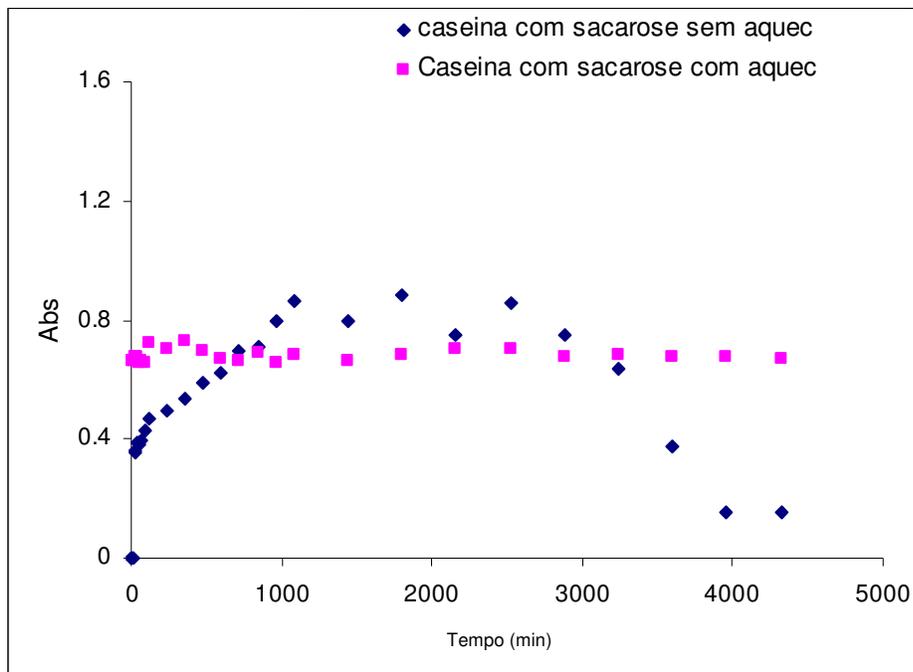


Figura 5.9: Cinética de gelificação do caseinato de sódio com sacarose e sem sacarose acidificado a 10°C e 90°C.

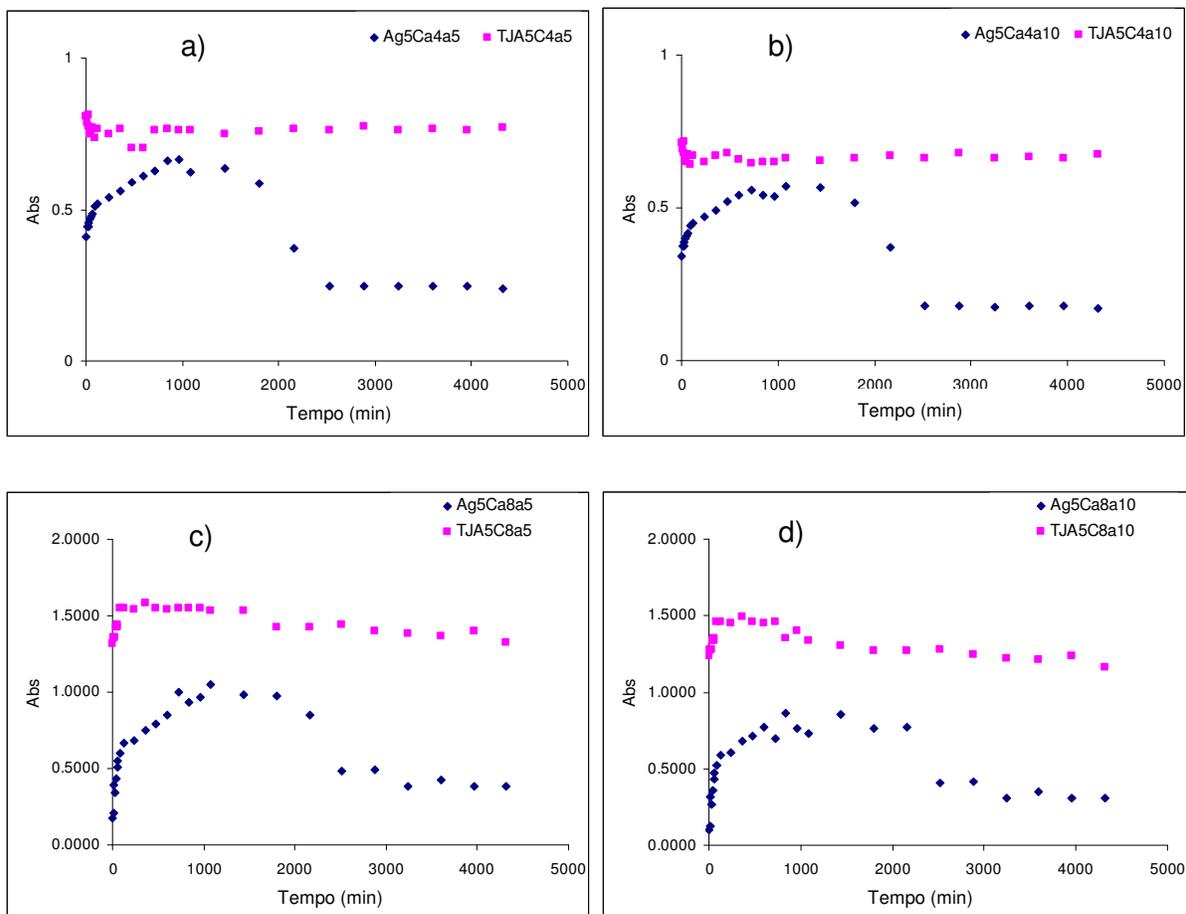


Figura 5.10: Cinética de gelificação dos sistemas mistos contendo 5% de amido e acidificados lenta (Ag) e rapidamente (TJ). a) Com 4% de caseinato e 5% de sacarose, b) Com 4% de caseinato e 10% de sacarose, c) Com 8% de caseinato e 5% de sacarose e d) com 8% de caseinato e 10% de sacarose.

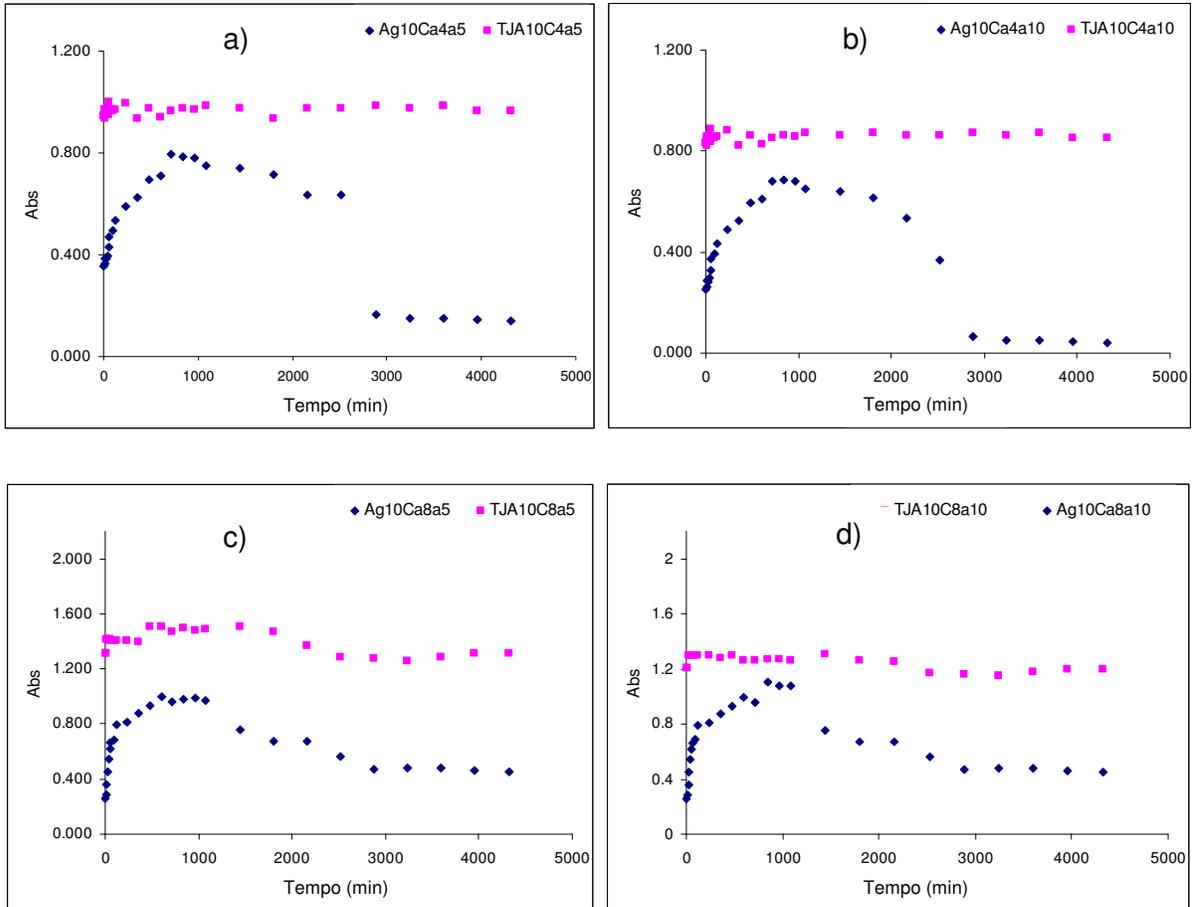


Figura 5.11: Cinética de gelificação dos sistemas mistos contendo 10% de amido e acidificados lenta (Ag) e rapidamente (TJ). a) Com 4% de caseinato e 5% de sacarose, b) Com 4% de caseinato e 10% de sacarose, c) Com 8% de caseinato e 5% de sacarose e d) com 8% de caseinato e 10% de sacarose.

O comportamento das amostras contendo sacarose é idêntico às amostras sem sacarose, porém a absorvância obtida foi inferior às amostras sem sacarose, conforme pode ser observado nas Figuras 5.9 a 5.11, isto ocorre porque a presença de sacarose promove uma desordem no sistema e interfere nas ligações dos grupos livres das moléculas formando uma rede menos conectada que conseqüentemente permite uma menor passagem de luz e reduz a absorvância.

Nas Figuras de absorvância por tempo mostradas acima nota-se que as amostras onde todos os componentes foram tratados termicamente “TJ” se apresentam mais particulados, exceto no caso onde há a presença apenas da proteína (onde as amostras parecem ser similares). Isso significa que há um efeito importante do tratamento térmico das amostras “TJ” na turbidez do amido.

Pode-se observar pela Figura 5.10c que ocorre um maior valor de absorvância nas amostras onde todos os componentes são tratados termicamente juntos “TJ” contendo as concentrações de 5% de amido, 8% de caseinato e 5% de açúcar (TJA5C8a5). Efeito semelhante foi observado na amostra TJA10C8a5 contendo 10% de amido (Figura 5.11c). Isto evidencia a tendência que a sacarose possui de dificultar, de alguma forma, a formação de agregados, que continuam se formando, porém com um menor tamanho ou em menor quantidade, o que pode ser relacionado aos menores valores de absorvância. No entanto, para se afirmar esta influência, maiores variações nas concentrações de sacarose poderiam ser estudadas.

5.3.4. Efeito do açúcar no comportamento reológico de misturas de caseinato de sódio e amido

O efeito da adição de sacarose na evolução do comportamento reológico durante o aquecimento e resfriamento das suspensões de amido de amaranto pode ser observado nas Figuras 5.12a a 5.14b.

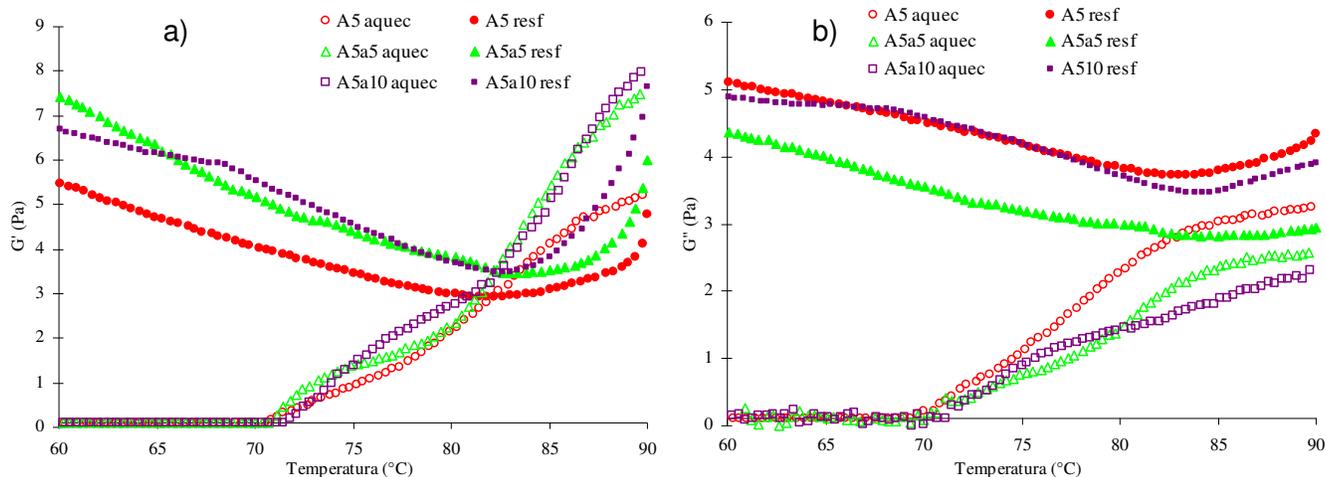


Figura 5.12: Curvas de a) G' e b) G'' em função da temperatura para suspensões de amido 5% p/p verificando o efeito do açúcar. “A” (amido) e “a” (açúcar). O número em seguida da letra representa a concentração dos componentes.

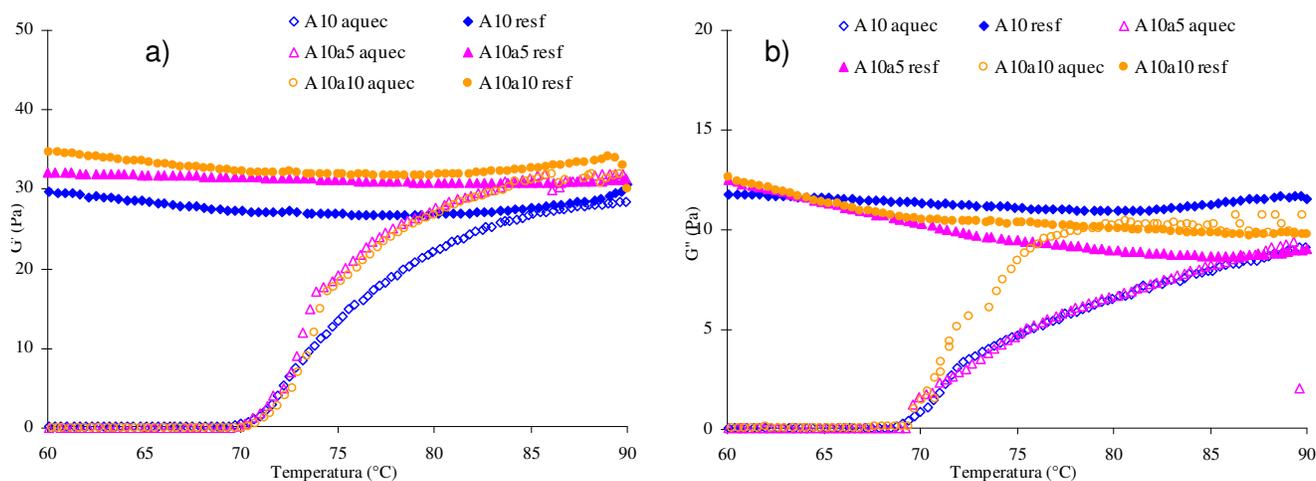


Figura 5.13: Curvas de a) G' e b) G'' em função da temperatura para suspensões de amido 10% p/p verificando o efeito do açúcar. “A” (amido) e “a” (açúcar). O número em seguida da letra representa a concentração dos componentes.

A adição de sacarose à suspensão com 5% e 10% p/p de amido quase não modificou a temperatura em que começou a haver um aumento de G' e G'' (Figuras 5.12a e 5.12b) e

levou a um pequeno aumento na velocidade de gelatinização, que ficou um pouco mais evidente na maior concentração de polissacarídeo. Estas modificações podem ser atribuídas à diminuição do efeito plasticizante da água (SLADE & LEVINE, 2002), dado que a hidratação das moléculas de açúcar reduz a quantidade de água livre do sistema, ou ainda à interação das moléculas de açúcar com as cadeias da molécula de amido, estabilizando as regiões cristalinas do grânulo (ACQUARONE & RAO, 2003; AHAMAD & WILLIAMS, 1999; KOHYAMA & NISHINARI, 1991). Já o aumento da velocidade de gelatinização com o aumento da concentração de açúcar ocorre porque o aumento de sacarose no sistema equivale a ter uma amostra com uma concentração cada vez menor de solvente, isso promove uma perda da cristalinidade do grão que, geralmente, ocorre a temperaturas mais elevadas em um sistema com maiores concentrações de soluto (PEREIRA, 2004; PAMPA, 2003 e EVAGELIOU et al., 2000a e 200b).

No entanto, durante o resfriamento não ocorreu uma maior velocidade de aumento de G' nas amostras contendo açúcar (se mantendo relativamente constante para todas as amostras), mas o valor do módulo de armazenamento ao final do processo tendeu a ser maior nas mais elevadas concentrações de sacarose. Isto mostra que o processo de agregação do amido não depende das interações entre açúcar e água, mas a diminuição da quantidade de solvente fortaleceu a rede. Amido e açúcar são hidrofílicos e fazem ponte de hidrogênio com a água, a sacarose possui um peso molecular menor fazendo ponte de hidrogênio mais facilmente e roubando água do amido e aumentando, conseqüentemente as interações poliméricas fortalecendo a rede. Esta hipótese fica mais evidente nos sistemas com 10% de amido em que, inclusive, a rede já havia sido formada logo após a gelatinização, pois G' se modificou pouco com o abaixamento da temperatura.

A queda da viscosidade, após alcançado 90°C, pode ser atribuída ao alinhamento das moléculas de amilose sob cisalhamento que foi acentuada pela presença da sacarose (SILVA et al., 2004).

No caso dos sistemas mistos, as medidas reológicas mostraram menor reprodutibilidade com a adição de açúcar. Em especial, as amostras em que o amido foi pré-gelatinizado antes da acidificação ficaram muito estruturadas e os resultados não serão apresentados, pois não mostraram repetibilidade. Em relação às amostras que foram gelatinizadas e acidificadas simultaneamente, os resultados são apresentados nas Figuras 5.14 e 5.15. A influência da sacarose foi pequena e semelhante na gelatinização e gelificação de todas as amostras contendo amido e caseinato com GDL e, por isso, optou-se por apresentar o comportamento reológico da amostra contendo 5% de amido, 8% de caseinato variando as concentrações de sacarose (5 e 10%) (Figuras 5.14a e 5.14b).

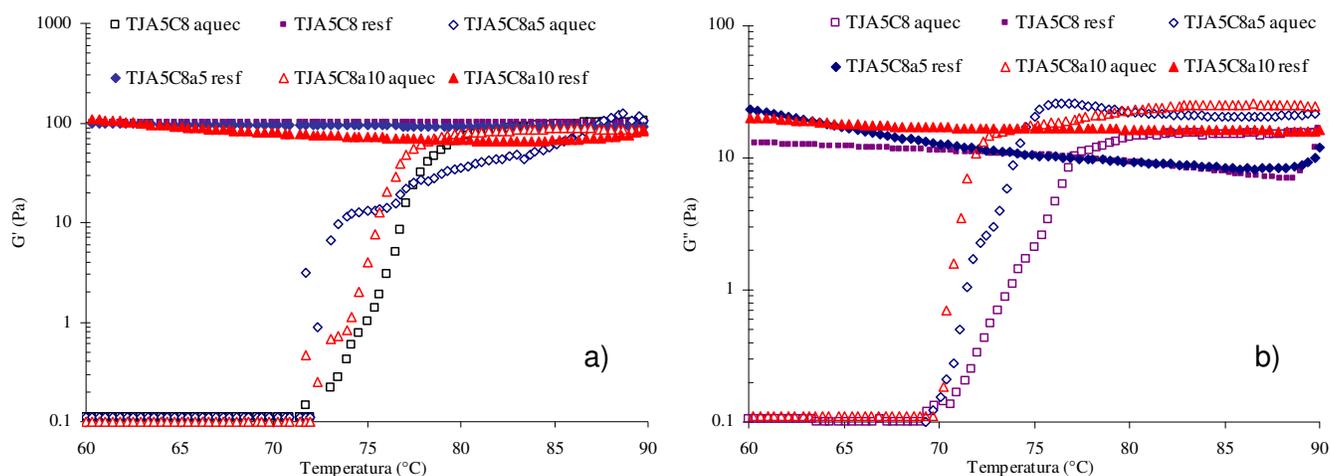


Figura 5.14: Curvas de a) G' e b) G'' em função da temperatura para suspensões de amido 5% p/p verificando o efeito do açúcar. “A” (amido) e “a” (açúcar). O número em seguida da letra representa a concentração dos componentes.

O sistema contendo amido e caseinato com GDL (Figuras 5.14a e 5.14b) comportou-se de maneira semelhante ao amido puro (Figuras 5.12b-5.13b), pois a adição de açúcar diminui a temperatura de início do aumento de G' e G'' , bem como um aumento na velocidade de agregação. No entanto, a adição de sacarose não influenciou nas propriedades elásticas e viscosas do gel no equilíbrio, o que se deve provavelmente ao forte efeito que o caseinato acidificado pelo GDL tem sobre o sistema, principalmente durante o

resfriamento. Esta grande interferência do caseinato com GDL também foi observado nas Figuras 4.9a – 4.9b (Capítulo 04).

Os íons H^+ liberados pelo GDL interagem com as cargas negativas do caseinato favorecendo a formação da rede tridimensional devido a diminuição da repulsão eletrostática e aumento das interações hidrofóbicas. Em geral, a sacarose intensifica estas interações, porém, as concentrações de sacarose utilizadas não promoveram um grande efeito no sistema. Isto foi comprovado nas análises de microscopia contendo a sacarose (item 5.3.5).

A tendência da sacarose é desorganizar a estrutura da rede e aumentar a mobilidade do sistema. O açúcar promove um efeito negativo na elasticidade do gel de caseinato, assim como em resultados observados por BRAGA, 2002; BRAGA & CUNHA, 2004 e BELYACOVA et al., 2003. Essa diminuição da elasticidade se deve, provavelmente, a deformação e quebra das ligações físicas da caseína, que se tornam mais fracas quando esta proteína está associada à sacarose. Além disso, o açúcar promove um efeito desestabilizante nas zonas de junção do polissacarídeo.

DICKINSON & MERINO (2002) observaram que em emulsões estabilizadas por caseinato, a presença de açúcares provavelmente aumentou o número efetivo de força das interações entre as partículas, assim levando a um maior grau de interconectividade do gel. Neste trabalho a influência da sacarose pode não ter ficado evidente devido ao forte efeito provocado pelo caseinato acidificado que influenciou grandemente o comportamento reológico das amostras. Além disso, o amido e açúcar são hidrofílicos e fazem ponte de hidrogênio com a água, a sacarose possui um peso molecular menor fazendo ponte de hidrogênio mais facilmente e roubando água do amido, isso aumenta as interações poliméricas fortalecendo a rede, porém, se a concentração de açúcar alcançar um nível onde a ausência de água não permite que a sacarose faça mais pontes de hidrogênio, o açúcar que não conseguir se ligar fica livre na suspensão e prejudica a formação da rede.

Comparando os resultados descritos acima (Figuras 5.12 a 5.14) com as Figuras 6.8 a 6.11 obtidas pelos dados do calorímetro (Capítulo 06), observa-se a mesma tendência de aumento da temperatura de início de gelatinização com a adição de açúcar.

5.3.5. Análise estrutural

As Figuras 5.15a –5.15b apresentam imagens de microestrutura de géis de amido sem e com sacarose.

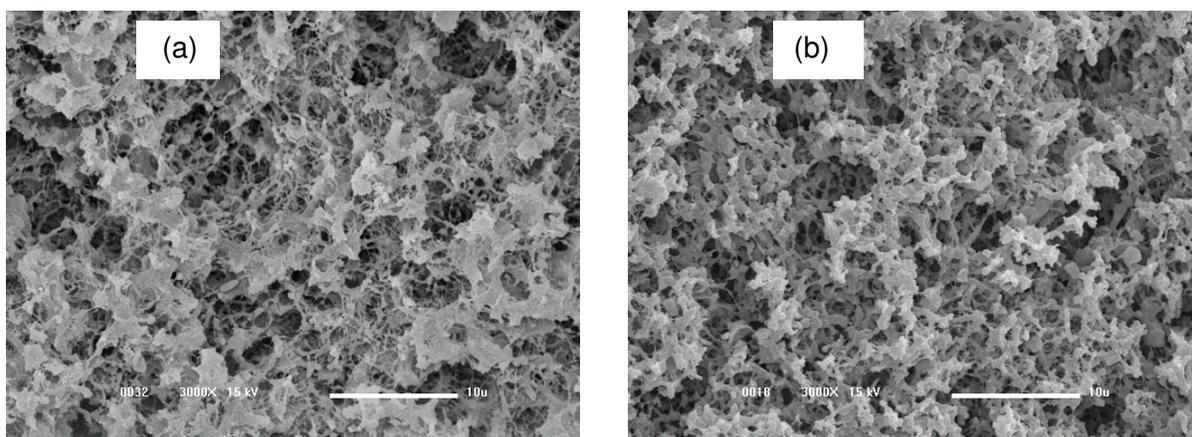


Figura 5.15: Microscopia eletrônica de varredura das amostras a) Ag5Ca8 e b) Ag5Ca8a10 (aumento de 3000 x)

Sistemas acidificados de caseinato e amido apresentaram uma rede estruturada (Capítulo 04). Esperava-se que a adição de sacarose tornasse a rede ainda mais homogênea, no entanto, não foi observada uma grande variação na microestrutura. A rede tornou-se mais interconectada, porém mais porosa, provavelmente causada pelo favorecimento das interações amido-amido. Este resultado vai em desacordo aos resultados apresentados por BRAGA & CUNHA (2004) que obtiveram estruturas aparentemente melhores com menor porosidade ao se acrescentar a sacarose, mostrando que a natureza dos biopolímeros determina as interações dos sistemas mistos.

Nas análises de microscopia (Figuras 5.15a e 5.15b) não se nota uma grande influência da sacarose nas interações dos biopolímeros, isso ocorre devido a diluição da

sacarose na rede do polissacarídeo, fazendo com que visualmente não se note sua presença. Porém, a diluição da sacarose na fase do amido pode afetar suas propriedades mecânicas acarretando variações nas análises reológicas (Figuras 5.14a e 5.14b). Neste trabalho, a adição de sacarose não apresentou grandes alterações na força do gel, no entanto, retardou sua gelatinização. Isto também foi observado por SCHORSCH et al. (1999) em sistemas ternários de proteínas do leite/jataí/sacarose.

No estudo de SCHORSCH et al. (1999), a sacarose mostrou somente um efeito leve na estrutura do sistema contendo amido/proteína, mesmo em altas concentrações. A sacarose se diluiu na fase do polissacarídeo, dificultando a sua visualização e fazendo com que não ocorresse diferença nas análises microscópicas. Porém, o açúcar aumentou a compatibilidade promovendo diferenças nas análises reológicas, térmicas, capacidade de retenção de água e sinerese.

Apesar da pouca influência do açúcar na microestruturas, na literatura fica claro que a sacarose afeta a dinâmica da rede dos géis devido às interações co-soluto/biopolímero. O açúcar se une a sítios polares específicos através de pontes de hidrogênio, alterando desta forma suas propriedades de ligação com o solvente. Portanto, para se verificar a ação da sacarose nas microestruturas de sistemas amido/caseinato acidificado deveria ser estudado concentrações maiores deste co-soluto, além de ser testadas outras técnicas de tratamento das amostras para visualização no microscópio.

5.4. CONCLUSÃO

Nas suspensões acidificadas pelo processo rápido o pH chegou próximo ao valor do ponto isoelétrico da proteína muito rápido, acelerando a gelificação que, neste caso, não sofre a competição da formação da rede por separação de fases.

As amostras onde a caseína é acidificada sem aquecimento (acidificação lenta) são caracterizadas por um número mais alto de ligações cruzadas e transversais, o que promove interações mais fortes entre moléculas individuais produzindo géis mais fortes, enquanto que nas amostras onde a mistura é realizada a 90°C (acidificação rápida), não se nota estas ligações, isto pode ser atribuído a interações mais fracas alcançadas entre moléculas, formando géis mais fracos e não auto-sustentáveis.

Nas amostras contendo açúcar e formadas a partir da gelatinização do amido juntamente com o caseinato acidificado, a quantidade de GDL é geralmente menor do que nas amostras onde o amido é pré-gelatinizado antes da mistura, além disso, a adição de sacarose à suspensão de amido retardou levemente a gelatinização e levou a um aumento na velocidade de formação da rede.

O sistema contendo amido, açúcar e caseinato mais GDL apresentou um adiamento no início da gelatinização do amido e um aumento na sua velocidade, porém não apresentou influência nas forças elásticas e viscosas do gel, além disso, a adição de sacarose não apresentou uma grande influência nas microestruturas dos biopolímeros, isso ocorre devido a diluição da sacarose na rede do polissacarídeo, fazendo com que visualmente não se note sua presença.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACQUARONE, V. M.; RAO, M. A. Influence of sucrose on the rheology and granular size of cross-linked waxy maize dispersions heated to two temperatures. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, p. 451-458, 2003.
- AHAMAD, F. B.; WILLIAMS, P. A. Effect of sugars on the thermal and rheological properties of sago starch. *Biopolymers*, v. 50, p. 401-412, 1999.
- BANON, S.; HARDY, J. A. Colloidal approach of milk acidification by glucono- δ -lactone. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 935–941, 1992.
- BELYAKOVA L. E.; ANTIPOVA, A.S.; SEMENOVA, M. G.; DICKINSON, E.; MERINO, L. M.; TSAPKINA, E. N. Effect of sucrose on molecular and interaction parameters of sodium caseinate in aqueous solution: relationship to protein gelation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 31, p. 31–46, 2003.
- BRAGA, A. L. M. Caracterização das interações macromoleculares em géis ácidos de caseína-xantana-sacarose: análises reológicas e térmica. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002.
- BRAGA, A. L. M.; CUNHA, R. L.; The effects of xanthan conformation and sucrose concentration on the rheological properties of acidified sodium caseinate–xanthan gels. *Food Hydrocolloids*, v. 18, n. 6, p. 977 – 986, 2004.
- DAVIES, F. L.; WHITE, J. C. D. The use of ultrafiltration and dialysis in isolating the aqueous phase of milk and determining the partition of milk constituents between the aqueous and disperse phase. *Journal of Dairy Science*, v. 27, p. 171–190, 1960.
- DICKINSON, E.; MERINO, L.M. Effect of sugars on the rheological properties of acid caseinate-stabilized emulsions gels. *Food Hydrocolloids*, v. 16, p. 321-331. 2002.

- EVAGELIOU, V.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Effect of pH, sugar type and thermal annealing on high-methoxyl pectin gels. *Carbohydrates Polymers*, v. 42, p. 245–259, 2000a.
- EVAGELIOU, V.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Effect of sucrose, glucose and fructose on gelation of oxidized starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 42, p. 261-272, 2000b.
- FAMELART, M.; TOMAZEWSKI, J.; PIOT, M.; PEZENNEC, S. Comparison of rheological properties of acid gels made from heated casein combined with β -lactoglobulin or egg ovalbumin. *International Dairy Journal*, v. 13, p. 123-134, 2003.
- FAMELART, M. H. Rennet coagulation of milk in the presence of sucrose. *Journal of Dairy Science*, v. 61, p. 473–483, 1994.
- FOX, P. F.; HUPPERTZ, T. Effect of NaCl on some physico-chemical properties of concentrated bovine milk. *International Dairy Journal*, v.16, n. 10, p. 1142-1148, 2006.
- KOHYAMA, K.; NISHINARI, K. Effect of soluble sugars in gelatinization and retrogradation of sweet potato starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 39, p. 1406 – 1410, 1991.
- LUCEY, J. A.; VAN VLIET, T. GROLLE, K.; GEURTS, T.; WALSTRA, P. Properties of acid casein gels made by acidification with glucono- δ -lactone: Rheological Properties. *International Dairy Journal*, v. 7, p. 381-388, 1997.
- LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: A review. *Food Research International*, v. 30, n.7, p. 529-542, 1997.
- OAKENFULL, D.; SCOTT, A. Stabilisation of gelatin gels by sugars and polyols. *Food Hydrocolloids*, v. 1, p. 163–175, 1986.
- PAMPA, N. B. Q. Estudo do comportamento reológico em cisalhamento estacionário e oscilatório de suspensões de amido de amaranto. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2003.

- PARK, J. M.; MUHOBERAC, B. B.; DUBIN, P. L.; XIA, J. Effects of protein charge heterogeneity in protein-polyelectrolyte complexation. *Macromolecules*, v. 25, p. 290-295, 1992.
- PEREIRA, L. B. Caracterização de suspensões e géis de amido de amaranto: efeito da adição de sacarose e NaCl nas propriedades reológicas e térmicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2004.
- ROEFS, S. P. F. M.; VAN VLIET, T. Structure of acid casein gels: Dynamic measurements and type of interaction forces. *Colloids and Surfaces*. v. 50, p. 161-175, 1990.
- SCHORSCH, C.; JONES, M. G.; NORTON, I. T. Thermodynamic incompatibility and microstructure of milk protein/locust bean gum/sucrose systems. *Food Hydrocolloids*, v. 13, p. 89-99, 1999.
- SCHORSCH, C.; JONES, M. G.; NORTON, I. T. Phase behaviour of pure micellar casein systems in milk salt ultrafiltrat. *Food Hydrocolloids*, v. 14, p. 347-358, 2004.
- SLADE, L.; LEVINE, H. In: PERRY, P.A.; DONALD, A.M. The effect of sugars on the gelatinisation of starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 49, p. 155-165, 2002.
- SILVA, M. C.; ANDRADE, C. T.; Carvalho, C. W. P.; Pita, V. J.; Thiré, R. M. Processamento de amido de milho em câmara de mistura. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas-São Paulo, v. 24, n. 2, p. 303-310, 2004.
- TAKEUCHI, K. Análises reológicas e calorimétricas de sistemas modelo de proteínas de leite adicionados de carragena e sacarose. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2004.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamics considerations of starch functionality in foods. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, p. 99-111, 2003.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamics aspects of dough formation and functionality. *Food Hydrocolloids*, v. 11, n. 2, p. 181-193, 1997.

VAN HOOYDONK, A. C. M.; HAGEDOORN, H. G.; BOERRIGTER, I. J. The effect of various cations on the renneting of milk. Neth. *Milk Dairy Journal*, v. 40, p. 369–390, 1986.

CAPÍTULO 6

**Ligações da Água em Géis Acidificados de Amido de Amarantho-Caseinato
de Sódio-Sacarose**

ÍNDICE

REsumo	224
6.1. INTRODUÇÃO	224
6.2. MATERIAL E MÉTODOS	228
6.2.1. Matéria Prima.....	228
6.2.2. Métodos de Preparação dos Sistemas Mistos:.....	229
6.2.2.1. Preparação do caseinato de sódio:.....	229
6.2.2.2. Preparação das amostras de caseinato de sódio e amido :.....	229
6.2.3. Análises de Calorimetria.	229
6.2.3.1. Ensaio de Gelatinização (Realizados no DSC).	230
6.2.3.2. Ensaio de retrogradação:.....	231
6.2.4. Análises de Retenção de Água.	232
6.2.5. Análises de Sinerese.	232
6.3. Resultados e Discussões:	233
6.3.1. Ensaio de gelatinização (Realizadas no calorímetro)	233
6.3.1.1. Influência do amido e do caseinato na gelatinização do amido (Realizados no DSC)..	233
6.3.1.2. Efeito do açúcar nos sistemas modelo.....	240
6.3.2. Ensaio de retrogradação.	244
6.3.3 Influencia da interação dos biopolímeros na Capacidade de retenção de água (WHC) e sinerese	252
6.3.3.1. Ensaio de Capacidade de Retenção de Água.....	252
6.3.3.2. Ensaio de sinerese.	257
6.4. CONCLUSÃO	261
6.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	262

RESUMO

O efeito das interações entre biopolímeros sobre as ligações com a água em sistemas amido de amaranto/caseinato de sódio adicionados de sacarose foram analisados através de ensaios de capacidade de retenção de água (WHC), sinerese e por calorimetria diferencial de varredura (gelatinização e retrogradação). A sacarose atuou como um agente anti-envelhecimento (inibindo a retrogradação), sendo que, este efeito foi mais importante para a interação sacarose-amilopectina do que para a interação sacarose-amilose. Apesar de retardar o envelhecimento, a sacarose não atuou fortemente sobre as interações, as propriedades mostraram ser mais fortemente dependentes da concentração de biopolímeros e principalmente da temperatura de acidificação. Amostras contendo maiores concentrações de amido/caseinato apresentaram maior WHC e menor sinerese. A retrogradação do amido de amaranto não foi elevada, no entanto, valores de ΔH (re-gelatinização) aumentaram com a concentração de sacarose e tempo de armazenamento e decresceram com a adição de caseinato de sódio.

Palavras chave: Amido de amaranto, caseinato de sódio, gelatinização, retrogradação, sinerese e capacidade de retenção de água.

6.1. INTRODUÇÃO

O grânulo do amido de amaranto apresenta uma elevada capacidade de ligação com a água, ou seja, um alto poder de inchamento quando comparado ao de milho. Isso se deve à uma menor concentração de amilose (OTTE et al, 1987). A capacidade de retenção de água é uma das principais e desejáveis propriedades funcionais de um gel. A água é retida na estrutura do gel por forças de capilaridade ou, simplesmente, é aprisionada na malha gelificada. Na maior parte dos estudos efetuados, a capacidade de retenção de água foi avaliada recorrendo a técnicas de centrifugação e quantificando a água expelida do gel por

diferença de peso. Neste tipo de ensaios, convém salientar, as amostras são sujeitas a forças centrífugas relativamente elevadas e a quantidade de água que sai da amostra vai depender, não só da capacidade intrínseca do gel reter a água, mas também da compressibilidade do próprio gel, sendo que, maior compressibilidade implicará em menor quantidade de água retida (RESIO et al., 1999 e 2000).

A análise de capacidade de retenção de água é uma ferramenta poderosa na tentativa de resolver problemas práticos como sinerese, textura sensorialmente arenosa, aumento de rendimento e automação dos processos (HINRICHS et al., 2003).

A capacidade das proteínas e polissacarídeos, quando em solução, de formar géis estáveis através do aquecimento e resfriamento é uma importante propriedade funcional (MORR et al., 1993). Porém, durante o processo de gelificação, tanto na proteína quanto no polissacarídeo, o arranjo da estrutura tridimensional pode levar à exclusão de parte da água inicial (nas técnicas de centrifugação, este aspecto não é considerado). Este processo de exsudação, a que chamamos sinerese, pode continuar ao longo do tempo de existência do gel e ocorre principalmente em baixas temperaturas.

Nas proteínas, a reação inicial do processo de gelatinização envolve o enfraquecimento e quebra das pontes de hidrogênio e dissulfídicas desestabilizando a estrutura conformacional. Posteriormente, durante o resfriamento, ocorre polimerização das moléculas produzindo uma estrutura tridimensional capaz de imobilizar fisicamente grande parte do solvente, através de ligações dissulfídicas intermoleculares, interações hidrofóbicas e iônicas (MANGINO et al., 2002). A integridade física do gel de proteína é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas e destas com o solvente circundante, porém em muitos casos, parte da água é expelida espontaneamente (ZIEGLER et al., 1990).

A sinerese, em sistemas acidificados de caseinato de sódio, ocorre devido às características dinâmicas da rede e principalmente devido a contrações do gel (BRAGA &

CUNHA, 2005 e MERINO et al., 2004), que pode ocorrer mesmo sem a aplicação de forças externas (LUCEY et al., 1997 e LUCEY et al., 1998). Durante a acidificação da proteína ocorre um rearranjo na sua rede contribuindo para o processo de encolhimento, principalmente durante a acidificação lenta.

Quando se aumenta a quantidade de polissacarídeos em sistemas contendo proteína, podem ocorrer variações nos valores de água expelida espontaneamente (sinerese) devido a ligações que estes polímeros realizam diretamente com a proteína ou por mudanças nas suas conformações, devido a modificação no ambiente.

Apesar dos amidos, durante a gelificação e/ou armazenamento (sob refrigeração ou congelamento), apresentarem sinerese devido a interação das cadeias de amilose e amilopectina (FUNAMI et al., 2007), o sinergismo entre este polissacarídeo e a proteína modifica suas propriedades funcionais e estruturais reduzindo a sua sinerese (BRAGA & CUNHA et al., 2005).

ANTIPOVA & SEMENOVA (1995, 1997 e 1999) observaram que no caso de misturas de polissacarídeos e proteínas há um aumento da co-solubilidade dos biopolímeros com o aumento da concentração de sacarose. Este aumento de solubilidade dos biopolímeros está associado a um aumento na solubilidade da proteína em meio aquoso com a adição de sacarose. SCHORSCH et al., (1999) relataram que em altas concentrações de sacarose (30 a 60 % p/p), o processo de agregação das frações maxilares de caseína foi reduzido e em maiores concentrações foi completamente inibido, provavelmente pelo aumento da hidrofiliabilidade das proteínas promovido pela formação de uma camada hidrofílica ao redor da micela (SCHORSCH et al., 2000). Essa explicação também foi sugerida para outras proteínas por JENCKS (1969), GARRETT et al., (1988) e CHINACHOTI & STEINBERG (1988).

A capacidade de se ligar à água é uma característica tanto de componentes hidrofílicos de baixo, quanto de alto peso molecular, sendo que a água ligada passa a apresentar propriedades termodinâmicas diferentes da água pura.

A água presente em sistemas proteínas-polissacarídeos pode estar em três estados: água ligada não-congelável, água ligada congelável e água livre, sendo esta última observada principalmente em processos de sinerese (HIGUCHI & IJIMA, 1985; QUINN *et al.*, 1988).

A conformação e a associação intermolecular de biopolímeros podem ser freqüentemente modificadas pela interação de açúcares que atuam como co-solutos. Este fenômeno pode ser explicado, em parte, pela redução no conteúdo de água. A introdução de um material com mais capacidade de se ligar ao hidrogênio promove uma associação polímero-polímero, reduzindo a competição das interações polímero-solvente (OAKENFULL & SCOTT, 1986). O mesmo efeito foi observado em emulsões estabilizadas por caseinato, pois a presença de açúcares aumentou o número efetivo e a força das interações entre as partículas, levando a um maior grau de interconectividade da microestrutura do gel. Possivelmente, a contribuição da sacarose em favorecer a característica elástica dos sistemas analisados pode estar relacionada ao fato desta influenciar fortemente as interações entre as proteínas (DICKINSON & MERINO, 2002).

FERRERO (2002) verificou a influência da interação amido-proteína-açúcar que diminuiu a retrogradação do amido e, conseqüentemente, a sinerese. Estes estudos mostraram que apesar de apresentarem efeitos benéficos, os hidrocolóides possuem características altamente hidrofílicas diminuindo a disponibilidade da água e causando dificuldades na dispersão e gelatinização do amido.

Além de análises de capacidade de retenção de água e sinerese, o estudo térmico através da calorimetria diferencial de varredura é uma técnica fundamental, aplicável a vários materiais incluindo polímeros, produtos farmacêuticos e alimentos. As medidas realizadas

em um calorímetro diferencial de varredura (DSC) fornecem informações qualitativas e quantitativas em função do tempo e temperatura, considerando as transições em materiais que envolvem processos endotérmicos e exotérmicos, ou ainda mudanças na capacidade calorífica. Algumas das vantagens que contribuíram para a ampla utilização do DSC são: a fácil preparação da amostra, aplicabilidade em sólidos e líquidos, rápido tempo de análise e ampla faixa de temperatura.

A interação entre as proteínas é um bom indicativo do quão forte é a rede tridimensional formada, a qual influencia nas características finais do produto. Quando um polissacarídeo, como o amido, é adicionado a sistemas contendo proteínas, as interações entre estes biopolímeros são influenciadas pelas condições do sistema, tais como: pH, força iônica, temperatura e íons (TOLSTOGUZOV, 2003) . Essas misturas de biopolímeros são muito importantes em sistemas alimentícios e isso justifica o estudo das interações formadas entre eles.

Assim, o objetivo, neste capítulo, será analisar o efeito das concentrações de amido de amaranto, caseinato de sódio e sacarose na capacidade de retenção de água, sinerese e nas propriedades térmicas, avaliando as interações entre os componentes.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1. Matéria Prima

Os ingredientes utilizados nos sistemas foram amido de amaranto, caseína, sacarose e glucona- δ -lactona (GDL). O amido foi extraído da semente do amaranto da variedade "*Amaranthus cruentus*" (fornecido pela Embrapa e pela UFSC) pela tecnologia de moagem úmida (PAMPA, 2003). A caseína, sacarose e o GDL foram adquiridos da Sigma-Aldrich Corporation (Inglaterra).

6.2.2. Métodos de Preparação dos Sistemas Mistos:

6.2.2.1. Preparação do caseinato de sódio:

A caseína foi dissolvida em água deionizada sob agitação magnética, a uma temperatura inferior a 40 °C. O pH da solução foi ajustado para 6,7 com adição de solução de NaOH 40 e 20% , até completa hidratação da caseína e formação do caseinato de sódio.

6.2.2.2. Preparação das amostras de caseinato de sódio e amido :

Foram preparados géis de amido (5 e 10%) considerando 100g de água, caseína (4 e 8%), sacarose (5 e 10%) e GDL numa razão suficiente para se chegar ao pl da proteína, sendo estudados três métodos de preparação (dois processos diferentes de acidificação) para verificar o efeito deste processos nas interações dos componentes.

Preparação das amostras.

Os três métodos são baseados na forma de adição do precursor ácido (GDL). No primeiro caso não houve adição de GDL, no segundo as condições de processo levaram a uma taxa de acidificação denominada de lenta e no terceiro, a taxa de acidificação foi bastante elevada (chamado de acidificação rápida). Nos sistemas acidificados, a quantidade de GDL adicionada foi em uma razão GDL/proteína suficiente para se chegar ao pl da proteína ($4,6 < \text{pH} < 4,7$) ao final do processo, sendo os valores usados determinados em ensaios preliminares. As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam concentrações e métodos de acidificação utilizados para as amostras (contendo sacarose) com 5% e 10% p/p de amido, respectivamente. Dados semelhantes para as amostras sem sacarose se encontram na Tabela 4.1 do Capítulo 4.

O método de preparo dos três tipos de sistemas utilizados nas análises de capacidade de retenção de água e sinerese é descrito a seguir:

8) Sem acidificação: as suspensões de amido foram gelatinizadas em banho termostático a 90 °C sob suave agitação durante 15 minutos. Imediatamente após a

gelatinização do polissacarídeo, o caseinato de sódio, à temperatura de 25°C, foi misturado à suspensão de amido sob constante agitação até formar uma suspensão homogênea (aproximadamente 3 minutos), sendo esta rapidamente resfriada em banho de gelo para posterior armazenamento a 10°C.

9) Acidificação lenta: as suspensões de amido foram gelatinizadas a 90°C, como no preparo das amostras não acidificadas. Após a sua gelatinização, a solução de amido foi resfriada até 60°C para, então, acrescentar o caseinato de sódio mais GDL. Quantidades diferentes de GDL foram dissolvidas previamente no caseinato (a 25°C) antes deste ser misturado com o amido pré-gelatinizado. Após esta mistura, as suspensões foram rapidamente resfriadas em banho de gelo e armazenadas a 10°C por 48 horas.

10) Acidificação rápida: Os componentes (amido, caseinato de sódio e GDL) foram misturados previamente à gelatinização que ocorreu a 90°C por 15 minutos sob suave agitação. As suspensões foram rapidamente resfriadas em banho de gelo e armazenadas a 10°C.

Foram preparados géis de amido (5 e 10% p/p) considerando 100g de água, caseinato de sódio (4 e 8% p/p), sacarose (5 e 10% p/p). Nos sistemas acidificados foram adicionados razões de GDL suficientes para se chegar ao pI da proteína no equilíbrio.

6.2.3. Análises de Calorimetria.

6.2.3.1. Ensaios de Gelatinização

Para que se tivesse um entendimento real do efeito da adição de qualquer soluto sobre a temperatura de gelatinização de suspensões de amido de amaranto, foram realizados separadamente ensaios no calorímetro das suspensões de amido puro. Em seguida, amostras de amido contendo apenas sacarose, amido contendo apenas caseinato sem acidificar e amido contendo sacarose e caseinato sem acidificar (nestes casos,

denominados ensaios dos brancos) foram analisados em ensaios térmicos para se comparar com as amostras contendo GDL.

As faixas de temperaturas de gelatinização das suspensões de amido de amaranto, com adição ou não de soluto, foram analisadas em um calorímetro diferencial de varredura (DSC) da TA Instruments - Modelo 2920, com software Thermal Analyst e um sistema de resfriamento dotado de um RCS (Controlled Refrigeration System).

Os termogramas foram obtidos empregando-se uma taxa de aquecimento de 10°C por minuto, varrendo uma faixa de temperatura de 20 a 100°C. Índio (ΔH de fusão de 28,71 J/g e ponto de fusão de 156,6°C) com elevada pureza (99,9 %) e Azobenzol (ponto de fusão de 68°C) foram utilizados para calibrar o sistema. As suspensões de amido foram preparadas separadamente, nas concentrações descritas no item 6.2.2.2 e homogeneizadas, em frascos fechados, com agitadores magnéticos por 30 minutos, quando então foi retirada uma alíquota contendo entre 8 e 12 mg da suspensão, que foi adicionada na cápsula, a qual foi selada hermeticamente e novamente pesada, para que se soubesse a massa real (eliminada alguma perda por evaporação) contida na suspensão a ser gelatinizada.

Infelizmente não foi possível avaliar o ΔH de gelatinização das amostras onde o amido é gelatinizado antes de ser misturado ao caseinato (acidificação lenta), justamente pelo fato do DSC verificar o ponto onde ocorre a gelatinização e nas amostras acidificadas lentamente o caseinato mais GDL é colocado após este processo.

6.2.3.2. Ensaios de retrogradação:

A retrogradação foi determinada pela avaliação de termogramas obtidos após determinados tempos de estocagem frigorificada. A % de retrogradação foi medida pela razão entre a entalpia de gelatinização (ΔH) do gel retrogradado quando comparado com a amostra não retrogradada. As propriedades térmicas foram analisadas de 20 a 100°C a 10°C/min. As amostras foram armazenadas dentro da própria cápsula.

Infelizmente não foi possível avaliar as amostras onde o amido é gelatinizado antes de ser misturado ao caseinato (acidificação lenta) devido à ausência do ΔH de gelatinização destas amostras.

No princípio pensou-se em observar a retrogradação durante 7 dias, mas análises prévias realizadas no DSC não apresentaram curvas de re-gelatinização, portanto, não foi possível detectar o ΔH nos ensaios térmicos. Com isso, decidiu-se analisar a retrogradação após 15, 30 e 45 dias, sendo este último, a validade média da maioria dos iogurtes (produtos que utilizam amido e caseinato de sódio).

6.2.4. Análises de Retenção de Água.

A capacidade de retenção de água dos géis foi determinada aplicando uma força centrífuga. Amostras de gel ($1 \text{ g} \pm 0,15$) foram pesadas em papel filtro e papel manteiga e centrifugadas a 1000 rpm por 10 minutos a 10°C . A porcentagem da capacidade de retenção de água foi determinada através da Equação 6.1:

$$\text{Capacidade de retenção de água (\%)} = \frac{M - M_{\text{exp}}}{M} \times 100 \quad (6.1)$$

onde: M_{exp} = Massa de água expelida durante a ação da força centrífuga.

M = Massa inicial do gel.

6.2.5. Análises de Sinerese.

As primeiras análises de sinerese apresentaram muitas variações de valores, promovendo um desvio padrão e um erro muito elevado. Neste procedimento os frascos ficaram semi-abertos e provavelmente parte da água evaporou, além disso, o papel filtro ficou em contato com a placa de petri e pode ter saturado, impedido a saída de água das amostras. Uma segunda análise foi realizada, com os frascos fechados e mantendo a amostra suspensa, encontrou-se melhores resultados.

A sinerese dos géis foi determinada através da medida da água segregada espontaneamente dos géis. Amostras de gel foram preparadas conforme item 6.2.2.2 e pesadas ($1\text{ g} \pm 0,15$) em papel filtro e papel de seda (pesados) e colocadas em um recipiente fechado para evitar vaporização da água. As amostras foram mantidas a 10°C até chegar ao equilíbrio (12 horas), as amostras e os papéis foram pesados novamente (para comparação) e se determinou a quantidade de água expelida espontaneamente (sinerese). Sendo determinada pela Equação 6.2 (BRAGA & CUNHA, 2005) :

$$\text{Sinerese (\%)} = \frac{M_{\text{esp}}}{M} \times 100 \quad (6.2)$$

Onde: Sinerese% = percentagem de sinerese.

M_{esp} = Massa de água expelida espontaneamente.

M = Massa inicial do gel.

6.2.6. Análise estatística dos resultados

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa STATISTIC 7,0: Basic Statistics and tables. O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para realizar a comparação das médias das propriedades dos sistemas puros e misturas.

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

6.3.1. Ensaio de gelatinização (Realizadas no calorímetro)

6.3.1.1. *Influência da concentração de amido e do caseinato na gelatinização do amido (Realizados no DSC)*

Quando o amido é aquecido na presença de excedente de água, os grânulos de amido incham, e a organização cristalina decompõe-se formando regiões amorfas. Esse

desordenamento molecular é chamado de gelatinização e é observado frequentemente em um fenômeno endotérmico quando realizado no DSC.

Com base no termograma de cada ensaio no calorímetro, foram obtidos os valores de T_o (temperatura de início da gelatinização) e T_f (temperatura final de gelatinização), definidos pelo encontro das retas tangentes à linha base e à curva referente à endoterma de gelatinização. Depois de definidas estas duas temperaturas, o programa *Universal Analysis* traçou uma reta entre os dois pontos e a partir daí foram fornecidos, pelo programa, os valores da temperatura de pico (T_p) e da entalpia (ΔH) de gelatinização, a qual equivale à área correspondente no termograma.

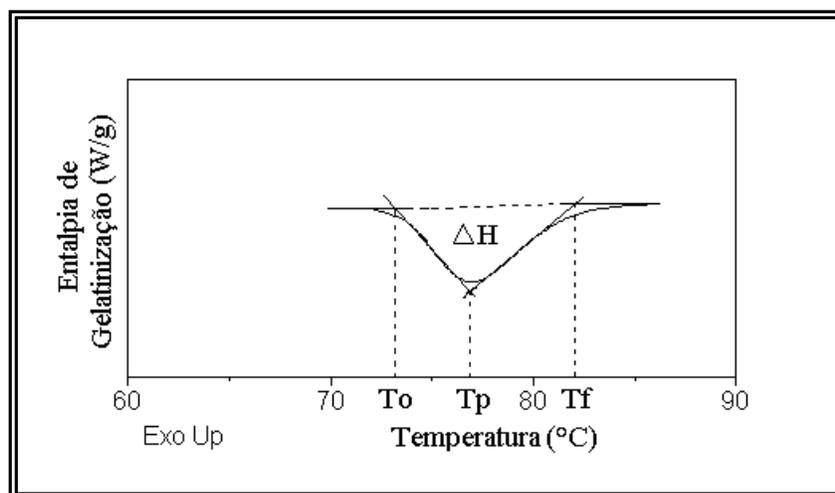


Figura 6.1: Exemplo de um termograma de amido de amaranto .

Figura 6.1 traz um esquema ilustrativo da leitura de T_o , T_p , T_f e ΔH em um exemplo de termograma. Os termogramas do amido variam com a origem do amido e com as condições do DSC e pode ser influenciada pela estrutura, ou seja, pelas dupla-hélices da amilopectina. Assumindo que as regiões ordenadas da amilopectina são criadas por pontes de hidrogênio, pode-se, através de ensaios térmicos, entender qualitativamente, a estrutura física desta região. A temperatura de pico corresponde ao tamanho da estrutura ordenada pois, o

número de pontes de hidrogênio determina a quantidade de energia requerida para a sua divisão. Portanto, as maiores regiões cristalinas agregadas por mais pontes de hidrogênio não se rompem até atingir temperaturas maiores. A energia necessária para a divisão de pontes de hidrogênio das amilopectinas contidas em um gel de amido é proporcional ao número e frequência das estruturas ordenadas contidas neste sistema. A altura do pico corresponde ao número de regiões cristalinas formadas por pontes de hidrogênio que envolvem a amilopectina (KOHYAMA et al. 2004).

Em análises realizadas no DSC, a amilose sozinha não exibe um pico próximo a temperatura de gelatinização e a área do pico formado durante o aquecimento é geralmente maior em amidos com alto teor de amilopectina. O amido de amaranto, objeto deste estudo, contém um baixo teor de amilose e seus resultados térmicos foram relativamente semelhantes aos encontrados na literatura (BAKER & RAYAS-DUARTE, 1998a e 1998b; PAREDES-LOPEZ & HERNANDEZ-LOPEZ, 1991; PEREIRA, 2004 e PAMPA, 2003).

Segue nas Figuras 6.2 e 6.3 o termograma onde pode ser visto qualitativamente o efeito da adição de caseinato (sem acidificar) nos valores de T_o , T_p , T_f e ΔH das suspensões de amido. Nota-se, portanto, que a adição de soluto retardou levemente o fenômeno de gelatinização (que se iniciou a temperaturas superiores). O mesmo pode ser observado quando se compara os valores de T_o , T_p , T_f para as amostras contendo caseinato acidificado, que também retardou a gelatinização do amido, mas de uma forma mais evidente (Figuras 6.4 e 6.5), ou seja, a adição de GDL retardou a gelatinização como pode ser verificado nas Figuras 6.6 e 6.7.

BERTOLINI et al. (2005) e ERDOGDU et al (1995) obtiveram resultados semelhantes ao encontrado neste estudo, os autores observaram interações significativas em sistemas caseinato/amido promovendo aumentos na T_o , T_p e T_f .

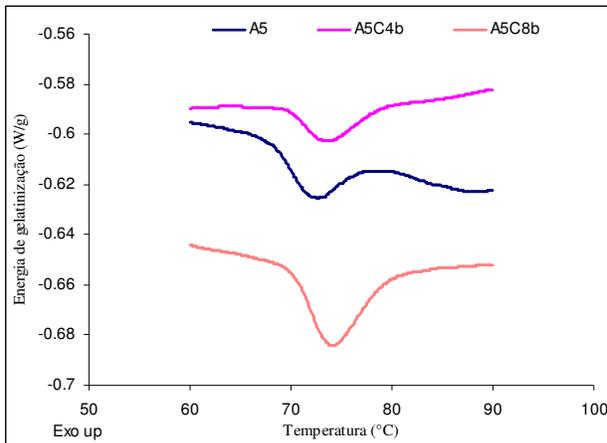


Figura 6.2: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito da concentração de caseinato na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “b”(branco).

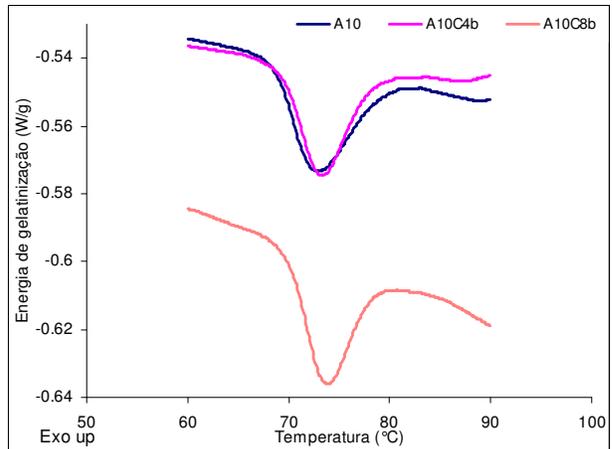


Figura 6.3: Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito da concentração de caseinato na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “b”(branco).

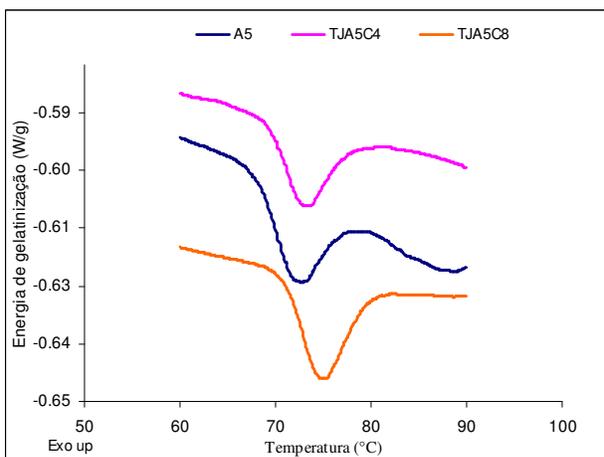


Figura 6.4: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito da concentração de caseinato acidificado na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

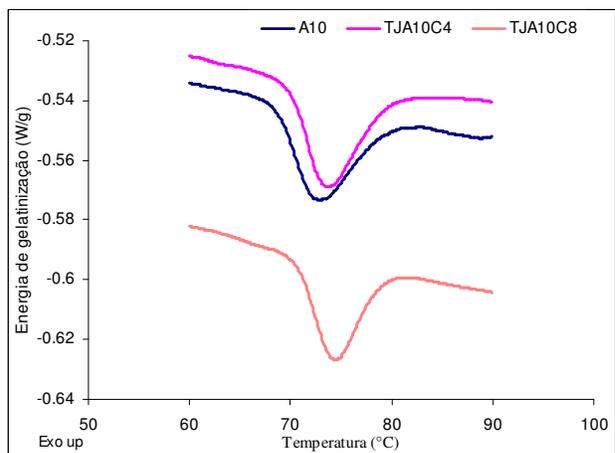


Figura 6.5: Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito da concentração de caseinato acidificado na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

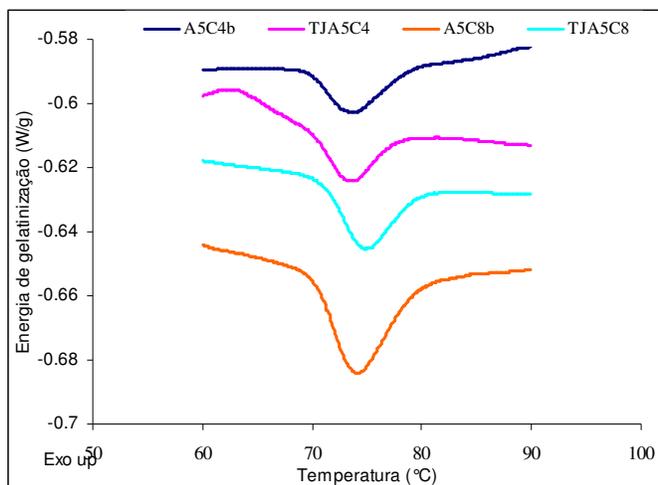


Figura 6.6: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito da adição de GDL na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “b”(branco) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

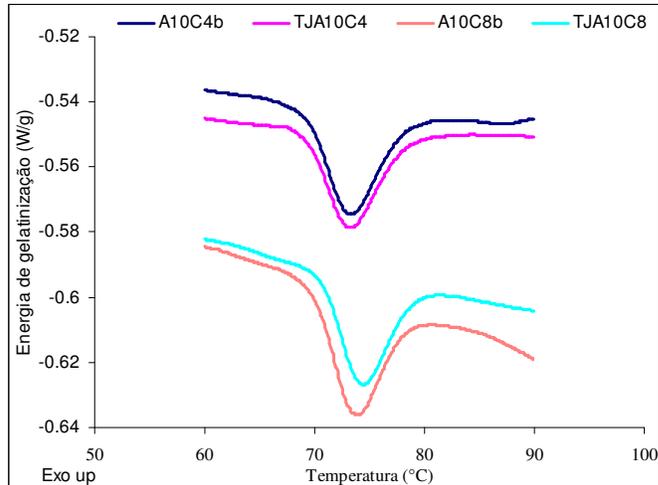


Figura 6.7 Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito da adição de GDL na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “b”(branco) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

BERTOLINI et al (2005) observou que o caseinato de sódio compete pela água presente no sistema, limita a hidratação do polissacarídeo e conseqüentemente retarda sua gelatinização. Este estudo também concluiu que o caseinato de sódio em sistemas contendo amido não interfere somente na absorção de água pelo polissacarídeo, mas também retarda a lixiviação da amilose, já que este processo está diretamente relacionado com a hidratação do grânulo e a proteína tem afinidade de se ligar com as α -glucanas. Foram observados, nos estudos de BERTOLINI et al. (2005) e TESTER & MORRISON et al. (1990) que amidos cerosos, como o amaranto, apresentam mais α -glucanas lixiviadas em sistemas contendo proteína do que em sistemas contendo apenas água.

Os valores de entalpia foram convertidos de J/g suspensão (unidade fornecida pelo calorímetro) para J/g amido seco em suspensão, o que permitiu uma comparação entre os valores obtidos para cada uma das amostras.

Na Tabela 6.1 pode-se observar que embora a concentração de amido tenha aumentado juntamente com o aumento da ΔH em J/g de suspensão de amido, o mesmo comportamento não foi observado quando o valor do ΔH foi convertido para J/g amido seco na suspensão. Conclui-se daí que tanto as amostras contendo 5 e 10% possuem água livre suficiente para o fenômeno de gelatinização, sem que seja necessário um aumento da energia para gelatinizar cada grânulo de amido. A água é um componente fundamental para que ocorra a gelatinização, PAREDES-LOPEZ & HERNANDEZ-LOPEZ (1991) estudaram o grau de gelatinização em amidos de amaranto variando a concentração de umidade dos grânulos e verificaram que o grau de gelatinização diminui conforme se reduz a umidade do sistema.

Tabela 6.1: Valores Médios e seus respectivos desvios para as respostas de T_o , T_p , T_f e ΔH dos ensaios realizados em triplicatas.

Amostras	ΔH (J/g)*	H (J/g)**	T_o (°C)	T_p (°C)	T_f (°C)
A5	0,4262 ± 0,25	10,21 ± 0,42 ^a	68,50 ± 0,42 ^a	72,47 ± 0,26 ^a	78,23 ± 0,35 ^a
A5C4b	0,4133 ± 0,16	11,86 ± 0,25 ^b	70,37 ± 0,32 ^b	74,55 ± 0,37 ^b	81,88 ± 0,56 ^b
TJA5C4	0,4389 ± 0,14	9,69 ± 0,46 ^c	68,67 ± 0,64 ^a	73,23 ± 0,44 ^c	79,50 ± 0,24 ^c
A5C8b	0,5727 ± 0,25	12,94 ± 0,42 ^d	70,14 ± 0,52 ^b	74,14 ± 0,31 ^b	79,89 ± 0,43 ^c
TJA5C8	0,4202 ± 0,22	9,71 ± 0,52 ^c	70,25 ± 0,78 ^c	74,53 ± 0,33 ^d	78,42 ± 0,47 ^a
A10	1,092 ± 0,02	12,01 ± 0,15 ^e	68,66 ± 0,33 ^c	72,88 ± 0,04 ^c	80,01 ± 0,35 ^d
A10C4b	0,7966 ± 0,02	9,14 ± 0,37 ^f	68,93 ± 0,42 ^c	73,05 ± 0,46 ^d	80,12 ± 0,42 ^d
TJA10C4	0,983 ± 0,24	11,37 ± 0,31 ^h	69,17 ± 0,34 ^d	73,45 ± 0,56 ^d	80,02 ± 0,42 ^d
A10C8b	0,9465 ± 0,18	11,29 ± 0,21 ^g	69,58 ± 0,45 ^c	73,74 ± 0,27 ^d	78,60 ± 0,44 ^e
TJA10C8	0,97 ± 0,33	11,71 ± 0,27 ^h	69,36 ± 0,36 ^d	74,22 ± 0,23 ^e	80,97 ± 0,33 ^f

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si para $p < 0,05$.

* ΔH em J/g de suspensão de amido.

** ΔH em J/g de amido seco na suspensão.

Observa-se que os valores encontrados para o intervalo de gelatinização dos sistemas de 5 e 10% (de 68,50 a 80,01 °C) encontram-se de acordo com aqueles reportados por RESIO (1999 e 2000), RADOSAVLJEVIC et al. (1998) e PEREIRA (2004) que

estudaram sistemas de *Amaranthus cruentus* contendo 5 - 25% de amido. Estes autores encontraram os seguintes intervalos de temperatura (T_o a T_f) e entalpia de gelatinização: 64,77 a 76,15°C e 11,72 J/g amido seco (RESIO, 1999 e 2000), 70,6 a 82,9°C e 15,0 J/g amido seco (RADOSAVLJEVIC et al., 1998) e 67,7 a 69,8°C e 13,76 J/g de amido seco (PEREIRA, 2004).

A diferença entre o valor de entalpia reportado por PEREIRA (2004) para suspensões com 5 e 10% de amido, que foi de 12,12 e 12,61 J/g de amido seco e o reportado neste trabalho (10,21 e 12,01 J/g de amido seco) pode ser atribuído às diferentes composições dos dois amidos, porém, a diferença mais significativa (Tukey - $p < 0,05$) se deve provavelmente a quantidade de água das soluções, no caso da autora optou-se por variar a quantidade de água presente nas suspensões, diminuindo a água livre do sistema conforme se aumenta a concentração de soluto e neste trabalho a quantidade de água foi mantida constante em todas as amostras.

Quando o sistema é acidificado no aquecimento, não há diferença de ΔH se a concentração de caseinato aumentar de 4 para 8% (Tabela 6.1). Portanto, o caseinato não desloca T_o (para 10% de amido) e ΔH em pH ácido. Entretanto, em pH próximo a neutralidade (sem acidificação) existe um aumento de ΔH com o aumento da concentração da caseína, ou seja, nestas condições de pH o caseinato exerce efeito sobre a gelatinização do amido.

BERTOLINI et al (2005) trabalhou com pH próximo a 7,0 e verificou uma diminuição na entalpia de gelatinização do amido com o acréscimo de caseinato de sódio, porém, o estudo concluiu que esta variação não foi estatisticamente significativa.

6.3.1.2. Efeito do açúcar nos sistemas modelo.

Pelos termogramas abaixo (Figuras 6.8 e 6.9) observa-se o efeito do açúcar na gelatinização do amido. Nota-se pelas Figuras que o açúcar influenciou nas T_o , T_p , T_f e que aumentando a concentração de açúcar (de 5 para 10%) ocorre um aumento nas temperaturas para as duas concentrações de amido (5 e 10%).

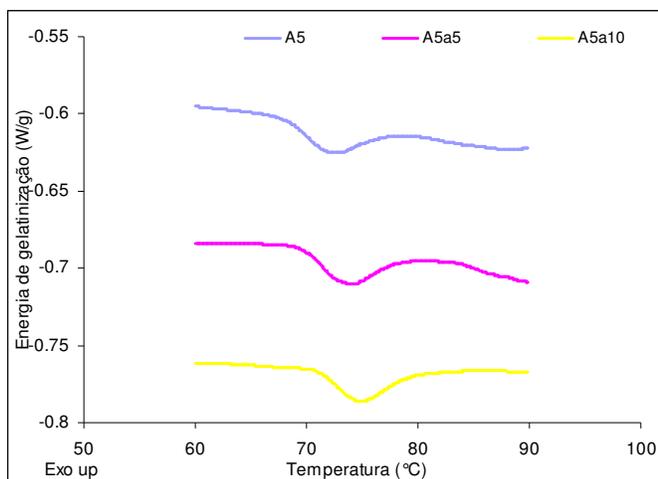


Figura 6.8: Termograma das suspensões de amido 5% comparando o efeito do açúcar na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).

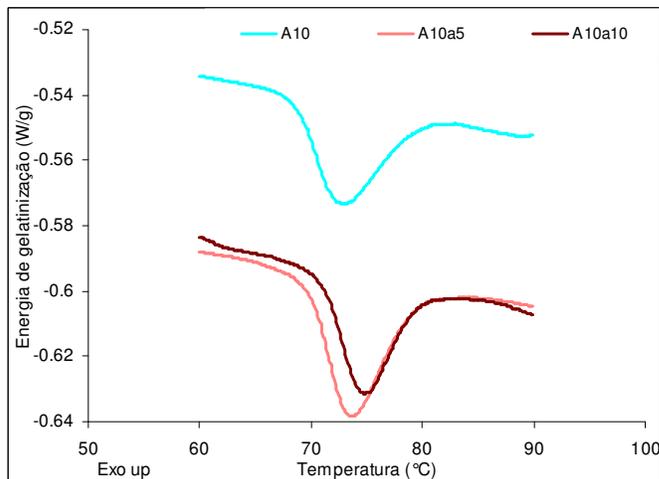


Figura 6.9: Termograma das suspensões de amido 10% comparando o efeito do açúcar na gelatinização do amido. Sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).

Pelos termogramas abaixo (Figuras 6.10 e 6.11) pode-se observar o efeito do açúcar e da adição de GDL nas amostras contendo amido, caseinato e açúcar. O aumento da concentração de açúcar retardou a gelatinização em todas as amostras (Figuras 6.8 a 6.11 e Tabela 6.2) e a concentração de GDL, assim como nas amostras sem sacarose (Figuras 6.4 a 6.7 e Tabela 6.1), também retardaram a gelatinização em algumas amostras.

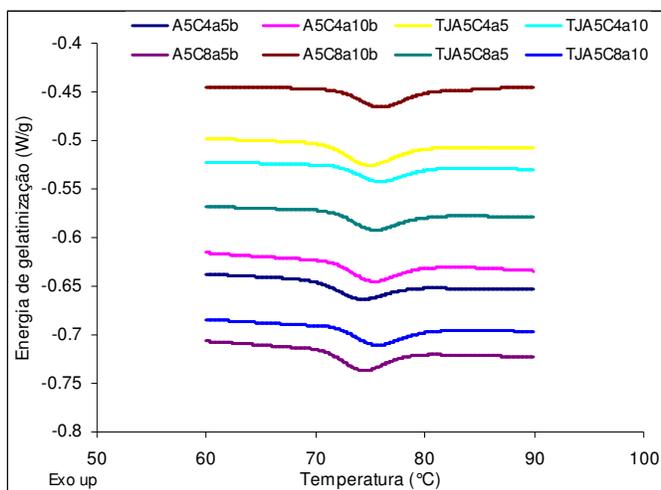


Figura 6.10: Termograma das suspensões de amido 5% comparando as amostras acidificadas com as amostras “branco” na gelatinização do amido na presença de açúcar. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “b”(branco) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

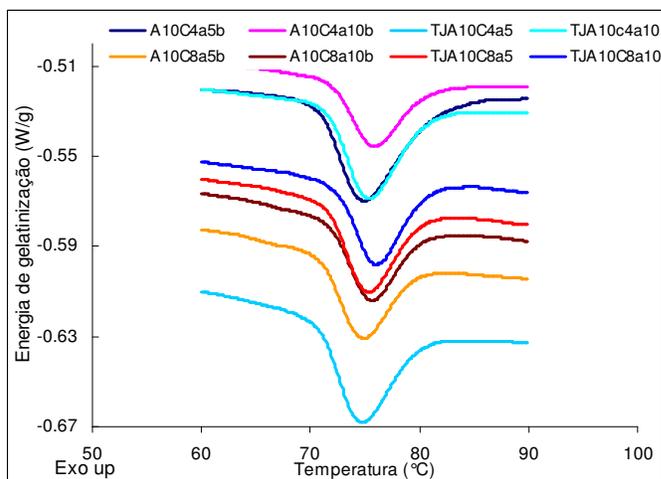


Figura 6.11: Termograma das suspensões de amido 10% comparando as amostras acidificadas com as amostras “branco” na gelatinização do amido na presença de açúcar. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “b”(branco) e “TJ” (os componentes foram gelatinizados todos juntos).

Pela Tabela 6.2 pode-se observar que, de uma forma geral acrescentando o caseinato tanto em pH próximos ao pl como ao pH neutro ocorre um aumento nas temperaturas T_o , T_p , T_f . O ΔH (J/g de suspensão) não apresentou uma variação uniforme, porém, quando se passou para J/g de amido seco o valor permaneceu relativamente constante assim como nas amostras que não continham açúcar (Tabela 6.1), no entanto para confirmar que não houve diferenças significativas uma análise estatística foi realizada através de um teste de Tukey.

A Tabela 6.2 apresenta valores de T_o , T_p , T_f e ΔH médios, obtidos das triplicatas dos ensaios com adição de açúcar.

Tabela 6.2: Valores médios To, Tp, Tf e dos ensaios contendo açúcar.

Amostras	ΔH (J/g)*	ΔH (J/g)**	To (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)
A5a10	0.7651 ± 0.24	13.48 ± 0.57 ^a	70.85 ± 0.24 ^a	75.05 ± 0.26 ^a	81.59 ± 0.32 ^a
A5a5	0.9315 ± 0.25	14.52 ± 0.44 ^e	69.36 ± 0.52 ^b	73.31 ± 0.29 ^b	79.55 ± 0.53 ^b
A5C4a10b	0.4539 ± 0.18	10.86 ± 0.42 ^b	71.69 ± 0.21 ^d	75.49 ± 0.39 ^{a,c}	83.26 ± 0.35 ^c
A5C4a5b	0.6738 ± 0.11	15.44 ± 0.41 ^c	70.75 ± 0.45 ^a	74.11 ± 0.28 ^d	81.65 ± 0.25 ^a
TJA5C4a10	0.4717 ± 0.22	10.91 ± 0.63 ^b	72.00 ± 0.36 ^d	75.60 ± 0.35 ^{a,c}	82.52 ± 0.35 ^d
TJA5C4a5	0.5397 ± 0.28	12.46 ± 0.26 ^d	70.89 ± 0.39 ^a	74.71 ± 0.37 ^a	80.48 ± 0.27 ^e
A5C8a10b	0.4722 ± 0.30	11.61 ± 0.54 ^{b,d}	72.15 ± 0.32 ^{a,d}	76.12 ± 0.25 ^e	80.84 ± 0.39 ^{e,f}
A5C8a5b	0.4865 ± 0.28	11.48 ± 0.52 ^d	70.84 ± 0.45 ^a	74.79 ± 0.16 ^a	80.88 ± 0.47 ^{e,f}
TJA5C8a10	0.5524 ± 0.25	13.88 ± 0.62 ^a	71.64 ± 0.45 ^{a,d}	75.47 ± 0.31 ^{a,c}	82.93 ± 0.45 ^{c,d}
TJA5C8a5	0.5375 ± 0.16	11.15 ± 0.26 ^{b,d}	71.07 ± 0.61 ^{a,d}	75.33 ± 0.41 ^{a,c}	81.85 ± 0.25 ^a
A10a10	1.054 ± 0.09	12.64 ± 0.35 ^d	70.14 ± 0.53 ^a	74.78 ± 0.36 ^{a,c}	80.10 ± 0.35 ^{b,e,f}
A10a5	1.24 ± 0.15	14.26 ± 0.37 ^{a,e}	68.78 ± 0.35 ^b	73.77 ± 0.53 ^{b,d}	80.14 ± 0.35 ^{b,e,f}
A10C4a10b	0.9153 ± 0.15	11.42 ± 0.32 ^{b,d}	71.76 ± 0.15 ^d	75.59 ± 0.25 ^{a,c,e}	82.71 ± 0.35 ^{c,d}
A10C4a5b	1.314 ± 0.21	15.74 ± 0.11 ^e	71.13 ± 0.31 ^d	75.01 ± 0.63 ^a	81.91 ± 0.21 ^a
TJA10C4a10	1.318 ± 0.17	12.02 ± 0.32 ^{b,d}	70.13 ± 0.14 ^a	75.92 ± 0.34 ^{c,e}	83.12 ± 0.26 ^c
TJA10C4a5	1.426 ± 0.19	15.28 ± 0.25 ^e	69.30 ± 0.25 ^{a,b}	74.52 ± 0.58 ^{a,d}	83.11 ± 0.45 ^c
A10C8a10b	0.9577 ± 0.21	10.56 ± 0.32 ^b	72.16 ± 0.36 ^{b,d}	75.61 ± 0.47 ^{a,c,d}	80.52 ± 0.32 ^{e,f}
A10C8a5b	0.8783 ± 0.24	10.92 ± 0.21 ^b	71.20 ± 0.46 ^d	74.59 ± 0.63 ^{a,d}	79.73 ± 0.34 ^b
TJA10C8a10	0.9185 ± 0.12	12.01 ± 0.38 ^{b,d}	71.87 ± 0.24 ^d	76.22 ± 0.18 ^d	82.64 ± 0.42 ^{c,d}
TJA10C8a5	1.047 ± 0.31	13.48 ± 0.38 ^a	70.76 ± 0.24 ^{a,d}	75.15 ± 0.25 ^{a,c}	81.85 ± 0.41 ^a

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si para $p < 0,05$.

* ΔH em J/g de suspensão de amido.

** ΔH em J/g de amido seco na suspensão.

Torna-se difícil comparar os valores encontrados com aqueles já reportados por outros autores, uma vez que foram estudadas concentrações diferentes de amido e soluto, sendo possível apenas uma análise de tendências do comportamento das suspensões de amido com adição de soluto. BAKER & RAYAS-DUARTE (1998a e 1998b) estudaram o efeito da adição de sacarose (nas concentrações de 10, 20 e 30%) em suspensões contendo 30,5% de amido de amaranto e observaram também um aumento das temperaturas de

início, pico e fim de gelatinização com o aumento da concentração de sacarose na suspensão. Comportamento semelhante foi encontrado por PEREIRA (2004) que analisou concentrações de 2,5 a 22,5% de açúcar em suspensões de 5 a 15% de amido.

Em pH ácido, aumentando a concentração de açúcar de 5 para 10% há um retardo na temperatura de gelatinização, isso pode ser verificado analisando a Tabela 6.2, a qual representa o comportamento das demais amostras, e a Figura 6.12. Além disso, ocorreu uma queda significativa nos valores de entalpia (J/g de amido seco na suspensão) quando se aumentou a concentração de 5 para 10%, este aumento aparentemente é pequeno, porém apresentou diferença significativa pelo teste de Tukey, com exceção das amostras A5C8a10b e A5C8a5b; A10C8a10b e A10C8a5b que estatisticamente a diferença de entalpia não foi significativa e das amostras TJA5C8a5 e TJA5C8a10 que ao contrário das demais sofreram um aumento de ΔH com a adição do açúcar.

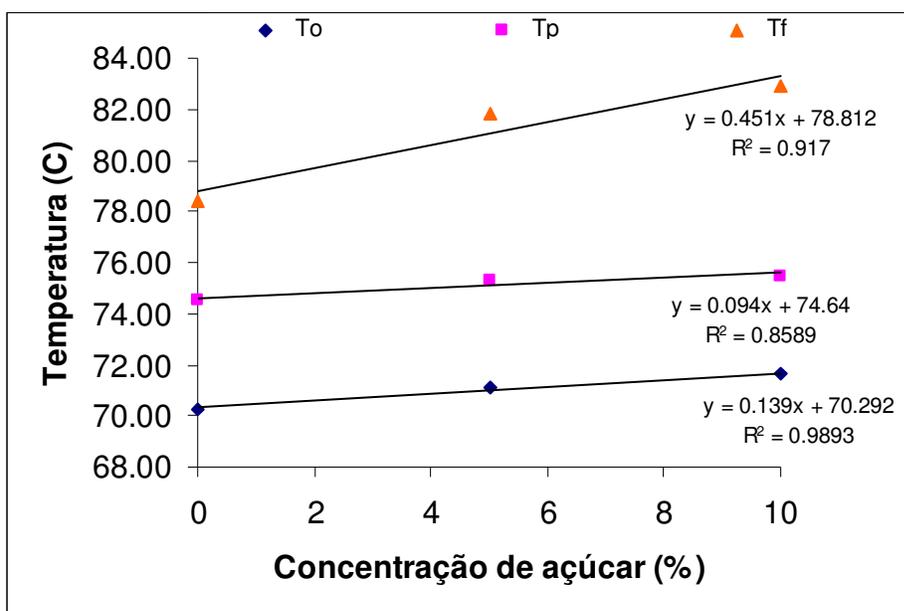


Figura 6.12: Efeito da concentração de açúcar nas T_o , T_p e T_f da amostra TJA5C8.

Pela Figura 6.12, nota-se que os valores de T_o , T_p , T_f aumenta conforme aumenta a concentração de sacarose. O açúcar influencia os valores de temperatura de início de

gelatinização e a entalpia justamente pela competição com a água o que promove a mesma tendência que ocorreria se aumentasse a concentração de amido.

Em pH próximos ao pH neutro, a adição de açúcar aumenta T_o , T_p , T_f , sendo o efeito mais pronunciado a menores concentrações de amido (Tabela 6.2).

6.3.2. Ensaio de retrogradação.

As análises térmicas realizadas inicialmente, não apresentaram entalpia de gelatinização (ΔH), podendo-se concluir que não houve retrogradação neste período. Estas análises foram realizadas até 7 dias ($T=2^\circ\text{C}$) de armazenamento, sendo que neste período não ocorreu retrogradação.

Informações da literatura relatam que o amido de amaranto realmente não retrograda como os demais amidos (SEOW, 2000; PAREDES-LOPEZ et al, 1994; PAREDES-LOPEZ & HERNANDEZ-LOPEZ, 1991 e BAKER & RAYAS-DUARTE, 1998a e 1998b; KOHYAMA & NISHINARI, 1991; ELIASSON, 1992 e ELIASSON & KIM 1992); CHUNGCHAROEN & LUND, 1987), portanto, decidiu-se estudar um tempo maior de armazenamento (15, 30 e 45 dias) em uma temperatura menor (0°C).

A recristalização ou retrogradação ocorre quando, após uma solubilização durante o processo de gelatinização, as cadeias de amilose, mais rapidamente que a da amilopectina, agregam-se formando duplas-hélices estabilizadas por pontes de hidrogênio. Durante o resfriamento estas hélices formam estruturas cristalinas tridimensionais altamente estáveis (SANDHU et al. 2007 e STAHL et al. 2007). Os polímeros da amilopectina retrogradada, limitados pela sua estrutura ramificada, são menos firmemente ligados do que os da amilose retrogradada, conferindo a esta última uma maior resistência a hidrólise (LOBO et al., 2003).

A taxa de retrogradação é afetada pela relação de amilose e amilopectina, tamanho molecular, temperatura de armazenamento, pH, lipídeos, hidrocolóides, sacarose e outras fontes orgânicas (KOHYAMA et al. 2004).

Para as análises de retrogradação foram escolhidas as amostras contendo 10 % de amido (retrogradação maior). Infelizmente não foi possível avaliar as amostras onde o amido é gelatinizado antes de ser misturado ao caseinato (acidificação lenta) devido a ausência do ΔH de gelatinização destas amostras. A Tabela 6.3 apresentam os dados de ΔH para as diferentes amostras em 15, 30 e 45 dias de armazenamento.

Isto mostra que os sistemas contendo amido de amaranto não apresentaram altos índices de retrogradação durante o período de armazenamento estudado, o que é bastante desejável em termos de qualidade visual. Este resultado pode ser associado a 2 fatores: a baixa retrogradação do amido de amaranto e maior retenção de água que ocorre nos sistemas amido-caseinato de sódio-GDL como poderá ser comprovada no item 6.3.3.

Tabela 6.3: To, Tp, Tc e ΔH para as diferentes amostras em 15, 30 e 45 dias de armazenamento.

Amostras	Armazenados por 15 dias				Armazenados por 30 dias				Armazenados por 45 dias			
	To	Tp	Tc	ΔH (J/g)	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J/g)	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J/g)
A10	*	*	*	1,03±0,12	68,84±0,32	73,95±0,32	80,10 ± 0,54	1,23±0,14	69,06±0,23	74,32±0,54	80,24±0,13	1,51 ± 0,2
TJA10C4	*	*	*	*	69,20±0,33 ^a	74,68±0,21 ^a	80,33 ± 0,43 ^a	1,21±0,16	69,48±0,30 ^a	75,21±0,36 ^a	80,52±0,47 ^a	1,37±0,11 ^a
TJA10C4a5	*	*	*	*	69,95±0,43 ^b	76,47±0,22 ^b	83,20 ± 0,26 ^b	0,99±0,14 ^a	70,63±0,34 ^b	77,03±0,21 ^b	83,34±0,32 ^b	1,12±0,22 ^b
TJA10C4a10	*	*	*	0,75±0,11	70,74±0,45 ^c	77,02±0,32 ^c	83,29 ± 0,53 ^b	0,97±0,15 ^b	71,04±0,25 ^c	77,12±0,42 ^b	83,49±0,25 ^b	1,01 ± 0,1 ^c
TJ10C8	*	*	*	*	69,65±0,38 ^d	75,45±0,31 ^d	81,17 ± 0,24 ^c	1,13±0,22 ^c	69,97±0,16 ^d	75,69±0,33 ^c	81,26±0,23 ^c	1,35±0,18 ^d
TJ10C8a5	*	*	*	*	70,94±0,21 ^e	76,12±0,45 ^d	81,89 ± 0,24 ^c	1,01±0,15 ^c	71,89±0,24 ^e	76,92±0,28 ^d	81,92±0,42 ^d	1,13±0,13 ^e
TJ10C8a10	*	*	*	*	71,96±0,24 ^f	76,73±0,32 ^e	82,63 ± 0,43 ^d	0,85±0,21 ^d	72,09±0,21 ^e	77,15±0,15 ^e	82,78±0,21 ^e	0,86±0,12 ^f

*Não foi possível determinar.

KOHYAMA & NISHINARI (1991), KARIM et al. (2007), AEE et al., (1998), BEKER & RAYAS-DUARTE (1998a) observaram que ocorre, durante a retrogradação, uma temperatura de re-gelatinização mais alta, sendo que a profundidade e área da curva aumentam com o tempo de armazenamento.

Pela Tabela 6.3 nota-se que os valores de ΔH foram menores, conforme se aumentou a concentração de caseinato, e os valores de T_o , T_p e T_f não apresentaram uma tendência estatisticamente significativa (teste de Tukey - $p < 0,05$). Pode-se verificar, também, que a T_o , T_p , T_f tiveram valores maiores conforme se aumentou a concentração de sacarose. Isto ocorre porque a sacarose altera a estrutura, imobilizando moléculas de água, a conformação da molécula da sacarose em água é tridimensional e o grupo hidroxila equatorial em uma molécula de sacarose pode ser substituída por uma molécula de água, tornando-se mais estável. Neste caso, a gelatinização e/ou a re-gelatinização (retrogradação) dos grânulos de amido em solução de sacarose ocorre em temperaturas mais altas e requer mais energia.

Os termogramas das análises de re-gelatinização não são tão definidos como os termogramas da gelatinização, a amostra A10, dentre as demais, foi a que apresentou o melhor termograma, o qual pode ser visualizado no apêndice I.

A Tabela 6.4 apresenta os valores de entalpia de re-gelatinização e a porcentagem de retrogradação dos géis durante o armazenamento.

Tabela 6.4: Valores de entalpia e porcentagem de retrogradação de sistemas amido-caseinato e sacarose durante armazenamento.

Amostras	Armazenados por 30 dias		Armazenados por 45 dias	
	ΔH (J/g)	%R	ΔH (J/g)	%R
A10	1,23±0,14 ^{a,A}	10,24 ^{a,A}	1,51 ± 0,2 ^{a,B}	12,57 ^{a,B}
TJA10C4	1,21±0,16 ^{a,A}	10,03 ^{a,A}	1,37±0,11 ^{c,B}	12,05 ^{a,B}
TJA10C4a5	0,99±0,14 ^{b,A}	6,48 ^{b,A}	1,12±0,32 ^{a,B}	7,33 ^{b,B}
TJA10C4a10	0,97±0,15 ^{b,A}	8,07 ^{c,A}	1,01 ± 0,18 ^{b,A}	8,40 ^{c,A}
TJA10C8	1,13±0,22 ^{b,A}	9,65 ^{a,A}	1,35±0,38 ^{a,c,B}	11,53 ^{a,B}
TJA10C8a5	1,01±0,15 ^{b,A}	7,49 ^{d,A}	1,13±0,23 ^{a,b,B}	8,38 ^{d,B}
TJA10C8a10	0,85±0,21 ^{b,A}	7,08 ^{e,A}	0,86±0,12 ^{b,A}	7,16 ^{e,A}

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si para $p < 0,05$.

As entalpias de re-gelatinização, nos ensaios de retrogradação, aumentaram com o tempo de armazenamento e decresceram com a adição de caseinato de sódio e sacarose (Tabela 6.3, Figuras 6.13 e 6.14). A retrogradação possui uma dependência exponencial com o tempo (KOO et al., 2005).

Na Tabela 6.4 pode-se verificar que os valores de ΔH e % R diminuem com a adição de caseinato, indicando que retrogradação reduz com o aumento da concentração da proteína e sacarose. No entanto a %R foi menor conforme se aumentou a concentração de sacarose (Figura 6.14), com exceção da amostra TJA10C4a5 (quando comparada com TJA10C4a10), devida a sua entalpia de gelatinização ser elevada (15,28 J/g) (Tabela 6.2). Estes resultados estão de acordo com os estudos de diversos autores (TESTER & MORRISON, 1990; SEOW et al., 2000; SANDHU et al., 2007; KOHYAMA & NISHINARI, 1991; KARIM et al., 2000).

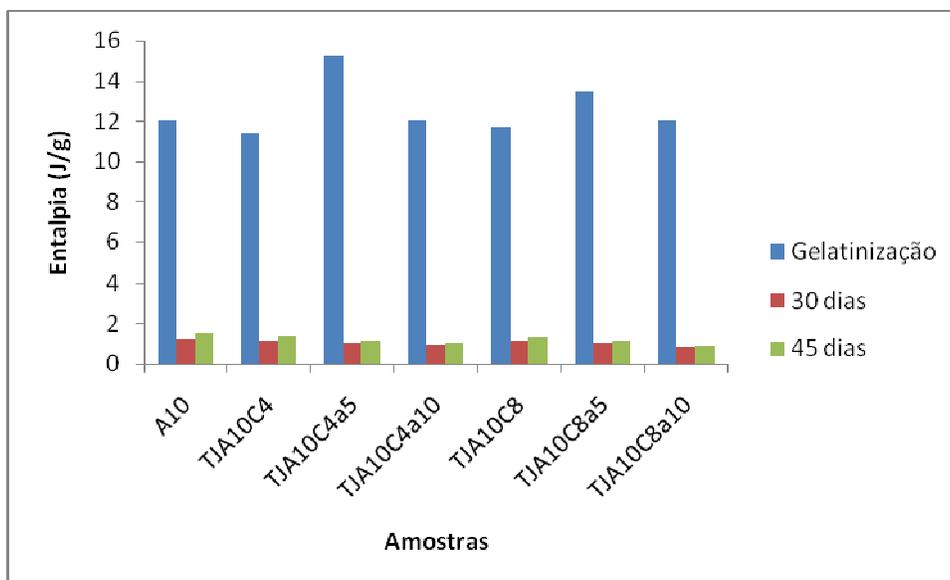


Figura 6.13: Valores de entalpia de gelatinização e retrogradação dos géis amido/caseinato/sacarose.

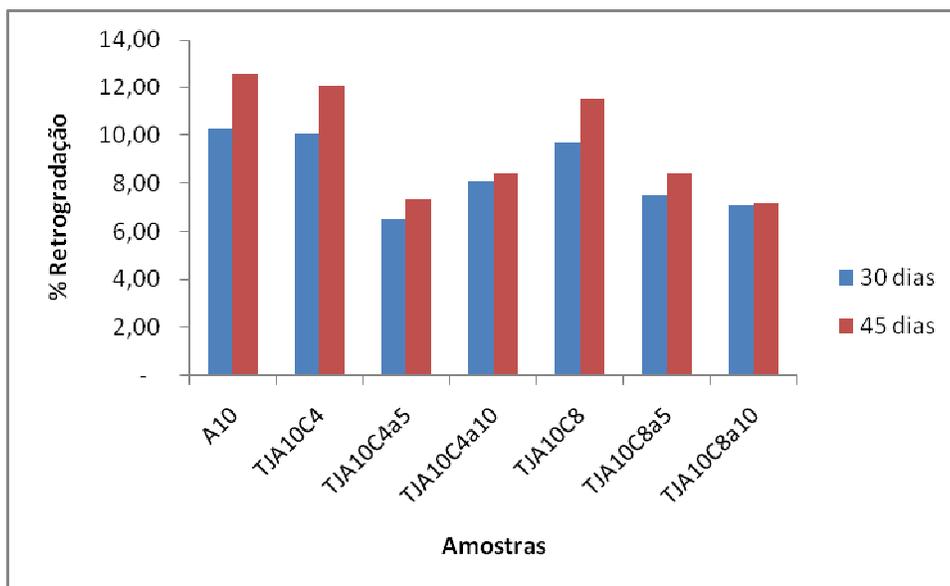


Figura 6.14: Valores de %R das amostras durante 30 e 45 dias.

Na Figura 6.14 pode-se observar que o caseinato de sódio atua como um reagente anti-envelhecimento, conseqüentemente, retardando a retrogradação.

Como já foi dito anteriormente, a retrogradação consiste de dois processos separáveis. A primeira fase (algumas horas) é governada pela gelificação da amilose solubilizada durante a gelatinização, sendo um processo desejável já que forma-se um gel, entretanto, numa segunda fase as dupla hélices formadas continuam se reagrupando em estruturas cristalinas que resultam na eliminação da água retida no gel. Também em um processo mais lento ocorre a recristalização da amilopectina dentro dos grânulos gelatinizados.

Aos 15 dias de armazenamento (Tabela 6.3), somente foi detectada retrogradação em duas amostras: de amido puro (10%) e na amostra de 10% amido, 4% de caseinato e 10% de sacarose (TJA10C4a10). A partir de 30 e 45 dias, a retrogradação se torna mensurável e é da ordem de 7-12% (Tabela 6.4).

Como a entalpia de re-gelatinização e %R não foi tão dependente da concentração de sacarose nas amostras armazenadas por 15 dias e mais dependentes nas amostras armazenadas por 30 e 45 dias (Tabela 6.4), pode-se afirmar que o efeito anti-envelhecimento da sacarose deve ser mais importante para a interação sacarose-amilopectina do que para a interação sacarose-amilose, isso porque a primeira fase da retrogradação, governada pela amilose, ocorre nas primeiras horas. Não foi possível comparar os resultados com o trabalho de BEKER & RAYAS-DUARTE (1998) que estudou a retrogradação e sinerese em sistemas contendo amido de amaranto-sacarose devido alta concentração de amido utilizado nas suas análises, no entanto, pode-se dizer que os resultados seguiram a mesma tendência.

6.3.3 Influência da interação dos biopolímeros na capacidade de retenção de água (WHC) e sinerese

6.3.3.1. Ensaio de Capacidade de Retenção de Água.

A análise de capacidade de retenção de água é uma ferramenta poderosa na tentativa de resolver problemas práticos como sinerese, textura sensorialmente arenosa, aumento de rendimento e automação dos processos (HINRICHS, 2003). A Tabela 6.5 mostra os valores de capacidade de retenção de água e sinerese das diversas amostras, pela Tabela podemos analisar a influência das concentrações dos biopolímeros, da sacarose e da temperatura de acidificação.

Nota-se que houve grande diferença nos valores de capacidade de retenção de água, indicando a grande variação que ocorre nos géis dependendo das concentrações dos polímeros e do processamento.

Tabela 6.5: Média da capacidade de retenção de água e da sinerese.

Amostras	Capacidade de retenção de água	Sinerese
Caseinato acidificado	42,6±1,6 ^a	42,11±0,64 ^a
A5	*	*
Ag5Ca4	61,2±1,36 ^b	22,24±0,98 ^b
Ag5Ca4a5	58,23±0,53 ^c	25,23±1,09 ^b
Ag5Ca4a10	52,12±1,1 ^d	26,21±1,13 ^c
Ag5Ca8	72,36±0,64 ^e	13,43±0,17 ^d
Ag5Ca8a5	69,23±1,27 ^f	15,65±0,22 ^e
Ag5Ca8a10	63,86±0,79 ^g	16,53±0,31 ^e
TJA5C4	*	*
TJA5C4a5	*	*
TJA5C4a10	*	*
TJA5C8	55,3±0,85 ^h	27,25±1,13 ^f
TJA5C8a5	52,12±0,96 ^h	31,34±1,47 ^g
TJA5C8a10	47,21±0,83 ⁱ	*
A10	*	*
Ag10Ca4	70,46±0,93 ^j	20,76±1,03 ^h
Ag10Ca4a5	63,98±0,53 ^{j,g}	21,56±1,25 ^h
Ag10Ca4a10	51,23±0,48 ^{k,d}	27,48±0,40 ^{i,c}
Ag10Ca8	71,68±0,68 ^{l,e}	18,64±0,55 ^j
Ag10Ca8a5	64,24±1,26 ^{m,g}	19,75±0,85 ^j
Ag10Ca8a10	53,84±0,57 ^{n,d}	24,54±0,87 ^k
TJA10C4	54,12±0,74 ^{o,d}	39,59±1,29 ^l
TJA10C4a5	48,84±1,86 ^{p,l}	47,84±1,13 ^m
TJA10C4a10	*	*
TJA10C8	55,33±1,74 ^{q,h}	37,75±1,26 ⁿ
TJA10C8a5	44,32±1,59 ^{r,a}	*
TJA10C8a10	*	*

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si para $p < 0,05$. Teste de Tukey foi realizado nos pares de interesse.

* Não foi possível analisar estes géis, por não ser auto-sustentáveis ocorreram perdas durante os ensaios.

O amido de amaranto, por conter uma grande quantidade de amilopectina, possui uma maior capacidade de retenção de água que os demais amidos, no entanto, deve-se lembrar que o pH do meio está ao redor de 4,6-4,7, o que pode promover uma hidrólise não desejada do amido. De uma forma geral, pode-se observar pela Tabela 6.5 que a amilose que foi lixiviada para o exterior do grânulo interagiu com a proteína, formando uma estrutura capaz de reter mais água, no entanto, a sacarose desordenou o sistema.

Os géis onde a acidificação foi realizada a 90°C, apresentaram menores valores de capacidade de retenção de água, isso se deve a sua rápida acidificação (Tabela 6.5). Tempo e temperatura constituem um binômio importante no processo de gelificação de proteínas, quando as condições de aquecimento são extremas, as moléculas de proteína não tem tempo hábil para se alinhar de forma organizada, resultando em agregados ou precipitados com baixa hidratação, levando a uma menor capacidade de retenção de água (ANTUNES et al., 2003 e LORENZEN, 2002).

Pela Tabela 6.5, pode-se verificar o efeito positivo que o aumento da concentração de proteína apresentou nas amostras contendo amido e amido/sacarose. A reticulação das estruturas do caseinato de sódio aumenta a firmeza do gel, promove significativo aumento na capacidade de retenção de água e diminui a sinerese (LORENZEN, 2007).

Provavelmente, durante a acidificação do caseinato de sódio (nas amostras onde a gelificação ocorreu lentamente) as redes do caseinato foram se estruturando prendendo as moléculas de amido no seu interior, promovendo a formação de géis mais fortes e com uma maior capacidade de retenção de água do que os géis contendo somente amido. LORENZEN et al. (2005) estudaram sistemas contendo proteínas do leite/polissacarídeos e proteínas do leite/enzimas e observaram resultados semelhantes durante a sua reticulação. Ou seja, o sinergismo entre o caseinato de sódio e o amido fez com que géis formados por estes sistemas apresentassem maior capacidade de retenção de água do que géis puros de caseinato e amido (Tabela 6.5).

Nas amostras onde o caseinato foi acidificado a 90°C, a gelificação do caseinato é muito rápida, desta forma as moléculas de caseína se agregam expulsando a água e formando um gel mais fraco, impossibilitando a análise de WHC por centrifugação em algumas amostras. A influência da sacarose e da concentração dos biopolímeros podem ser verificados nas Figuras 6.14 e 6.15.

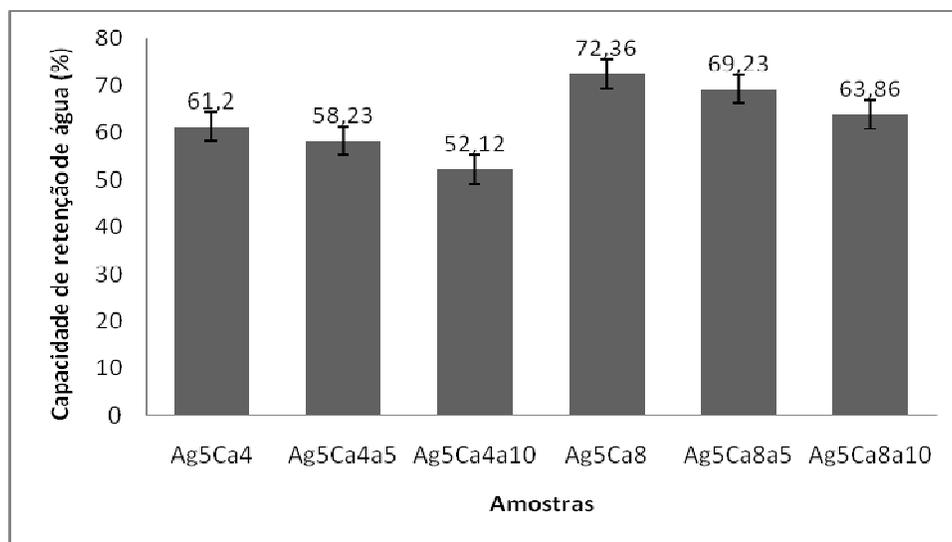


Figura 6.15: Capacidade de retenção de água de amostras contendo 5% de amido.

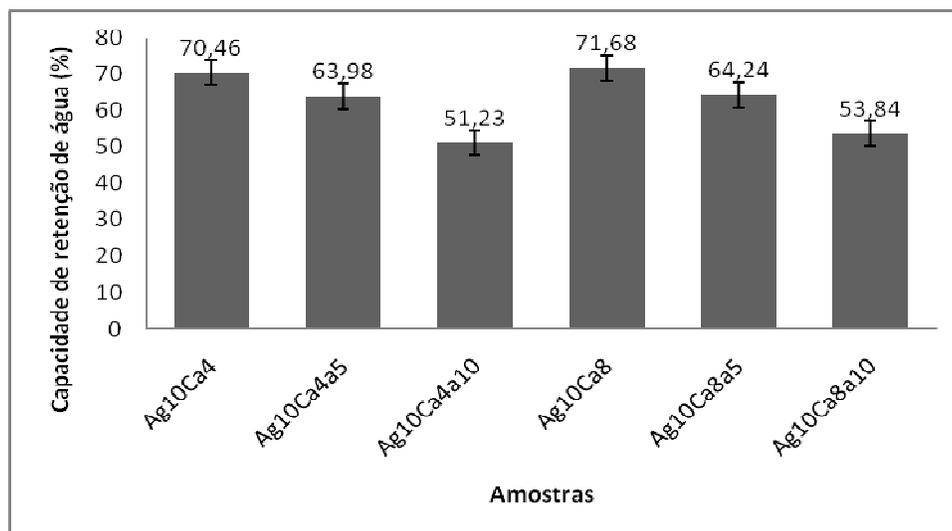


Figura 6.16: Capacidade de retenção de água de amostras contendo 10% de amido.

Pelas Figuras 6.15 e 6.16 pode-se observar que a capacidade de retenção de água (WHC) diminuiu com a adição de sacarose. Alguns autores estudaram a WHC em sistemas biopolímeros/sacarose, no entanto, o poder do açúcar nas interações dos biopolímeros não foi unânime em todos os trabalhos. A sacarose promoveu efeitos positivos e negativos na capacidade de retenção destes estudos, não seguindo uma tendência. Porém, neste trabalho, a sacarose desfavoreceu a capacidade de retenção de água em todas as amostras, provavelmente devido a desordem que promove na rede dos sistemas que se torna menos intensa restando menores quantidade de água

6.3.3.2. Ensaios de sinerese.

A sinerese, em sistemas acidificados de caseinato de sódio, ocorre devido às características dinâmicas da rede e principalmente devido as contrações do gel (BRAGA & CUNHA, 2005 e MERINO et al., 2004), que pode ocorrer mesmo sem a aplicação de forças externas (LUCEY et al., 1997, LUCEY & SINGH, 1997 e LUCEY et al., 1998). Durante a acidificação da proteína ocorre um rearranjo na sua rede contribuindo para o processo de encolhimento, principalmente durante a acidificação lenta.

Quando se aumenta a quantidade de polissacarídeos em sistemas contendo proteína, podem ocorrer variações nos valores de água expelida espontaneamente (sinerese) devido a ligações que estes polímeros realizam diretamente com a proteína ou por mudanças nas suas conformações, devido a modificação no ambiente.

A Tabela 6.5 mostra os valores de sinerese dos géis, os resultados obtidos evidenciam que a presença de polissacarídeo diminui significativamente a quantidade de água excluída nos géis de caseinato de sódio. Apesar dos amidos, durante a gelificação e/ou armazenamento (sob refrigeração ou congelamento), apresentarem sinerese devido a interação das cadeias de amilose e amilopectina (FUNAMI et al., 2007), o sinergismo entre este polissacarídeo e a proteína modifica suas propriedades funcionais e estruturais reduzindo a sua sinerese (BRAGA & CUNHA et al. 2005).

A menor sinerese ocorreu com as concentrações mais altas de proteína e polissacarídeo, sistemas com altas concentrações de proteína possuem uma mobilidade molecular menor, limitando a formação e quebra de novas junções, isso conduziria a uma menor liberação de água. Além disso, a proteína tem muitos grupos hidrofílicos (que dependem da quantidade e tipos de aminoácidos que a formam) que podem se ligar com o solvente, portanto, um aumento na concentração destas proteínas leva, conseqüentemente, a um aumento na capacidade de retenção de água. BERTOLINI (2005) verificou que o caseinato de sódio também reduziu a sinerese do amido durante o armazenamento. Pela Tabela 6.5, pode-se verificar que resultado semelhante foi observado, a sinerese diminuiu conforme se aumentou a concentração dos biopolímeros, com exceção da amostra Ag10Ca8 que apresentou maior sinerese que a amostra contendo 5% de amido (Ag5Ca8). No entanto, para afirmar com maior convicção seriam necessários maiores valores de concentração, já que a diferença não foi estatisticamente significativa.

Comportamento semelhante foi encontrado nos géis onde caseinato e o amido foram aquecidos juntos (acidificação rápida), porém, o aquecimento de proteínas próximo ao seu ponto isoelétrico, leva a formação de géis túrbidos, resultando em géis mais frágeis e com menor elasticidade. Essas interações promovem a sinerese devido às forças atrativas intensas entre as moléculas protéicas. Mas por se tratar de géis não auto-sustentáveis, uma parte da amostra pode ter aderido ao papel de seda, promovendo um erro. Portanto, devido a não confiabilidade dos resultados, estes foram parcialmente apresentados. Traços de amido foram encontrados na água expelida espontaneamente (sinerese) e por centrifugação (retenção de água) dos géis formados por acidificação rápida, esta análise foi qualitativa utilizando uma solução de lugol.

As Figuras 6.17 e 6.18 apresentam a sinerese para os géis acidificados lentamente, pode se observar que as amostras contendo 5 % de amido e 4 % de caseinato tiveram um aumento maior de sinerese quando a concentração de sacarose passou de 5 para 10%. No

entanto, nas amostras contendo 5% de amido e 8 % de caseinato esse aumento foi pequeno. Isto leva a concluir que a sacarose atuou mais nas baixas concentrações de proteína .

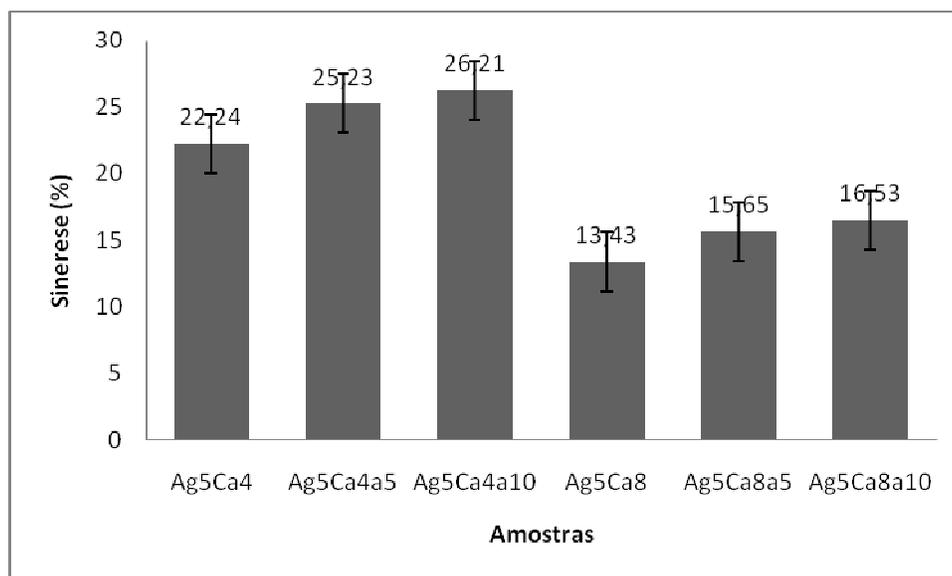


Figura 6.17: Porcentagem de sinerese de amostras contendo 5% de amido.

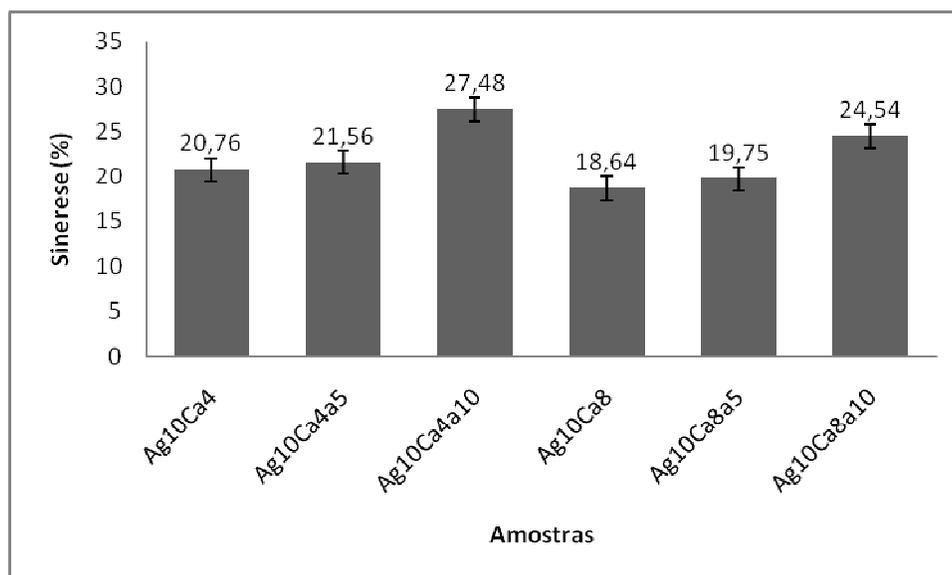


Figura 6.18: Porcentagem de sinerese de amostras contendo 10% de amido.

Apesar da sacarose influenciar na quantidade de água expelida espontaneamente conforme se aumenta a concentração de proteína, de uma forma geral, neste trabalho, o açúcar não influenciou fortemente a sinerese para todas as amostras, este efeito da sacarose diferenciou dos estudos de outros autores (BRAGA & CUNHA, 2005; SANCHEZ et al., 2000) que encontraram uma grande variação na saída espontânea da água quando se modifica a concentração de açúcar. Esta menor influência encontrada pode ser devido a baixa concentração de sacarose, e principalmente, por se trabalhar no $pH = 4,7 \pm 0,1$ ($pH=pI$) enquanto os demais autores analisaram pH's neutros ou pH's abaixo do pI , o que promove um enfraquecimento nas moléculas de hidrogênio que unem a sacarose e caseinato, modificando a mobilidade das ligações, as quebras e rearranjos e alterando, deste modo, a sinerese.

Valores maiores de sinerese foram encontrados utilizando uma maior concentração de sacarose (Figuras 6.17 e 6.18). BRAGA & CUNHA (2005) verificaram que géis de caseinato apresentam ligações físicas mais fracas e com maior mobilidade em sistemas contendo sacarose, facilitando as quebras destas estruturas, deste modo, quanto maior a quebra e posterior rearranjo das ligações, maior será a sinerese.

Outros trabalhos (DICKINSON & MERINO, 2002) também verificaram que a adição de sacarose aumenta a sinerese, sendo que o aumento foi maior em concentrações mais baixas de polissacarídeo e proteína. Esta afirmação difere dos resultados encontrados neste trabalho, onde o efeito da sacarose foi maior nas amostras contendo altas concentrações de biopolímeros e, mesmo assim, este aumento não foi significativo.

Apesar da pouca influência do açúcar, na literatura fica claro que a sacarose afeta a dinâmica da rede dos géis devido às interações co-soluto/biopolímero. O açúcar se une a sítios polares específicos através de pontes de hidrogênio, alterando desta forma suas propriedades de ligação com o solvente. Portanto, para se verificar a ação da sacarose na

sinerese e na capacidade de retenção de água de sistemas amido/caseinato deveria ser estudado concentrações maiores deste co-soluto.

6.4. CONCLUSÃO

Nos sistemas contendo amido, açúcar e caseinato mais GDL comportou-se de maneira semelhante ao amido puro, pelo termograma notou-se que a adição de soluto e de caseinato retardou levemente o fenômeno de gelatinização do amido.

O sistema amido/caseinato de sódio acidificado não apresentou uma retrogradação elevada, no entanto, valores de ΔH (re-gelatinização) aumentaram com a concentração de sacarose e tempo de armazenamento (após 30 dias) e decresceram com a adição de caseinato de sódio. A sacarose atuou como um agente anti-envelhecimento e em tempos maiores de 30 dias favorecem a retrogradação do amido de amaranto.

A capacidade de retenção de água foi influenciada fortemente pela concentração dos biopolímeros e pelo processamento. Amostras contendo maiores concentrações de amido/caseinato apresentaram maior WHC e géis onde o caseinato foi acidificado a 90 °C (acidificação rápida) as moléculas de caseína se agregam expulsando a água e formando um gel mais fraco, impossibilitando a análise de WHC por centrifugação em algumas amostras.

Em sistemas de biopolímeros, alguns parâmetros modificam a rede estrutural da proteína promovendo ou diminuindo a sinerese, como a adição de outros polímeros (ex: amido), de co-solutos (ex: sacarose), a acidificação (quantidade de GDL) e processamento (temperatura de acidificação), isto explicou as diferenças ocorridas nos valores de sinerese observados no gel de caseinato acidificado conforme se adicionou amido e sacarose ou se aumentou a temperatura de acidificação.

Devido a sua baixa retrogradação e sua tendência a elevar a capacidade de retenção de água e reduzir a sinerese, o gel de amido de amaranto/caseinato de sódio

poderá ser utilizado em produtos congelados de alta qualidade, que necessitam de textura macia e uma maior vida de prateleira, sendo uma alternativa tecnológica em algumas aplicações industriais.

6.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEE, L. H.; HIE, K. N.; NISHINARI, K. DSC and rheological studies of the effects of sucrose on the gelatinization and retrogradation of acorn starch. *Thermochimica acta*, v. 322, p. 39-46, 1998.
- ANTIPOVA, A. S.; SEMENOVA, M. G.; BELYAKOVA, L. E. Effect of sucrose on thermodynamic properties of ovalbumin and sodium caseinate in bulk solution and at air-water interface. *Colloids and Surfaces B*, v. 12, n. 3-6, p. 261-270, 1999.
- ANTIPOVA, A. S.; SEMENOVA, M. G. Effect of neutral carbohydrate structure in the set glucose/sucrose/maltodextrin/dextran on protein surface activity at the air/water interface. *Food Hydrocolloids*, v. 11, n. 1, p. 71-77, 1997.
- ANTIPOVA, A. S.; SEMENOVA, M. G. Effect of sucrose on the thermodynamic incompatibility of different biopolymers. *Carbohydrate Polymers*, v. 28, n. 4, p. 359-365, 1995.
- ANTUNES, E. C. A.; MOTTA, E. M. P.; ANTUNES, A. J. Texture profile and water-holding capacity of whey protein concentrate acid gels. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, p. 203-219, 2003.
- BAKER, L. A.; RAYAS-DUARTE, P. Retrogradation of amaranth starch at different storage temperatures and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry*, v. 75, n. 3, p. 308-314, 1998a.
- BAKER, L. A.; RAYAS-DUARTE, P. Freeze-thaw stability of amaranth starch and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry*, v. 75, n. 3, p. 301-307, 1998b.

-
- BERTOLINI, A. C.; LAWRENCE, K. C.; MIEKE, E. Some rheological properties of sodium caseinate – starch gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, p. 2248-2254, 2005.
- BRAGA, A. L. M.; CUNHA, R. L. The effect of sucrose on unfrozen water and syneresis of acidified sodium caseinate–xanthan gels. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 36, n. 1-2, p. 33-38, 2005.
- CHINACHOTI, P.; STEINBERG, M. P. Interaction of sucrose with gelatin, eggalbumin and gluten in freeze-dried mixtures as shown by water sorption. *Journal of Food Science*, v. 53, n. 3, p. 932, 1988.
- CHUNGCHAROEN, A.; LUND, D. B. Influence of solutes and water on rice starch gelatinization. *Cereal Chemistry*, v. 64, p. 240 – 243, 1987.
- DICKINSON, E.; MERINO, L. M. Effect of sugars on the rheological properties of acid caseinate-stabilized emulsions gels. *Food Hydrocolloids*, v. 16, p. 321-331. 2002.
- ELIASSON, A. C. A calorimetric investigation of the influence of sucrose on gelatinization of starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 18, p. 131-138, 1992.
- ELIASSON, A. C.; KIM, H.R. Changes in rheological properties of hydroxipropil potato starch pastes during freeze-thaw treatments. *Journal Texture Studies*, v. 23, p. 279-295, 1992.
- ERDOGDU, N.; CZUCHZJOWSKA, Z.; POMERNZ, Y. Wheat Flour and fatted Milk fractions characterized by differential scanning calorimetry. *Cereal Chemistry*, v. 72, p. 76-79, 1995.
- FERRERO, M. N. Molecular distribution and viscosity of amylopectin in dilute solution. *Carbohydrate Polymers*, v. 41, p. 207 – 217, 2002.
- FUNAMI, T.; KATAOKA, Y.; NODA, S.; HIROE, MIKA .; ISHIHARA, S.; ASAI, I.; TAKAHASHI, R. INOUCHI, N.; NISHINARI, K. Functions of fenugreek gum with various

molecular weights on the gelatinization and retrogradation behaviors of corn starch. 2: Characterizations of starch and investigations of corn starch/fenugreek gum composite system at a relatively low starch concentration. *Food Hydrocolloids*. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science>. Acesso em 31/12/2007.

GARRETT, J. M.; STAIRS, R. A.; ANNETT, R. G. Thermal-denaturation and coagulation of whey proteins – effects of sugar. *Journal of Dairy Science*, v. 71, n 1, p. 10-16, 1988.

HINRICHS, R.; GOTZ, J.; WEISSER, H.; Water-holding capacity and structure of hydrocolloid-gels, WPC-gels and yogurts characterized by means NMR immobilized proteinase on thermal gelation properties of β -lactoglobulin B. *Journal of Dairy Research*, v. 67, n. 597-608, 2000.

HIGUCHI, A.; IJIMA, T. DSC investigation of the states of water in poly(vynilalcohol) membranes. *Polymer*, v. 26, v. 8, p. 1207-1211, 1985.

JENCKS, W.P. Catalysis in chemistry and enzymology, *McGraw-Hill Book Company* - Part II, 1969, 254 p .

KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, v. 71, p. 9-36, 2000.

KOHYAMA, K.; NISHINARI, K. Effect of soluble sugars in gelatinization and retrogradation of sweet potato starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 39, p. 1406 – 1410, 1991.

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

-
- KOO, H.J.; PARK, S.R.; JO, J.S.; KIM, B.Y.; BAIK, M.Y. Gelatinization and retrogradation of 6-year-old Korean ginseng starches studied by DSC. *LWT – Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, v. 34, p. 59-65, 2005.
- LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Resistant starch and its physicochemical properties. *Journal Nutrition*, v. 16, n. 2, p. 219-226, 2003.
- LORENZEN, P. C. Effects of varying time/temperature-conditions of pre-heating and enzymatic cross-linking on the techno-functional properties of reconstituted dairy ingredients. *Food Research International*, v. 40, p. 700-708, 2007.
- LORENZEN, P.C. Techno-functional properties of transglutaminase treated milk proteins. *International Journal of Dairy Technology*, v. 55, p. 152-157, 2002.
- LORENZEN, P.C.; SCHRADER, K.; EINHOFF, K.; ROHENKOHL, H. Impact of enzymatic cross-linking of milk protein on the properties of stirred yogurt and stirred cultured milk products. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, v. 57, p. 97-115, 2005.
- LUCEY, J. A.; VAN VLIET, T. GROLLE, K.; GEURTS, T.; WALSTRA, P. Properties of acid casein gels made by acidification with glucono- δ -lactone: Rheological properties. *International Dairy Journal*, v. 7, p. 381-388, 1997.
- LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: A review. *Food Research International*, v.30, n. 7, p. 529-542, 1997.
- LUCEY, J.A.; TAMEHANA, M. SINGH, H.; MUNRO, P. A. A comparison of the formation, rheological properties and micro-structure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or glucone-delta-lactone. *Food Research International*, v. 31, p. 147-155, 1998.
- MANGINO, M. E. Gelation of whey protein concentrates. *Food Technology*, v. 46, n. 1, p. 114-117, 2002.

- MERINO, L.M.; LAU, K.; DICKINSON, E. Effects of low-methoxyl amidated pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels. *Food Hydrocolloids*, v. 18, p. 271-281, 2004.
- MORR, C. V.; HA, Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Food Science and Nutrition*, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.
- OAKENFULL, D.; SCOTT, A. Stabilisation of gelatin gels by sugars and polyols. *Food Hydrocolloids*, v. 1, p. 163-175, 1986.
- OTTE, J.; LOMHOLT, S. B.; IPSEN, R. H.; QVIST, K. B. Effect of partial hydrolysis with an Differential scanning calorimetry of oat starch pastes. *Cereal Chemistry*, v. 64, p. 394-399, 1987.
- PAMPA, N. B. Q. Estudo do comportamento reológico em cisalhamento estacionário e oscilatório de suspensões de amido de amaranto. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2003.
- PAREDES-LOPEZ, O.; BELLO-PEREZ, L. A.; LÓPEZ, M. G. Amylopectin: structural, gelatinization and retrogradation studies. *Food Chemistry*, v. 50, p. 411-417, 1994.
- PAREDES-LOPEZ, O.; HERNANDEZ-LOPEZ, D. Application of differential scanning calorimetry to amaranth starch gelatinization - influence of water, solutes and annealing. *Starch/Stärke*, v. 43, n. 2, p. 57-61, 1991.
- PEREIRA, L. B.; Caracterização de suspensões e géis de amido de amaranto: efeito da adição de sacarose e NaCl nas propriedades reológicas e térmicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2004.

- QUINN, F. X.; KAMPFF, E.; SMYTH, G.; McBRYERT, V. J. Water in hydrogels. 1. A study of water in poly(N-vinyl-2-pyrrolidone methyl-methacrylate). *Copolymer*, v. 21, n. 11, p. 3191-3198, 1988.
- RADOSAVLJEVIC, M.; JANE, J.; JOHNSON, L. A. Isolation of amaranth starch by diluted alkaline–protease treatment. *Cereal Chemistry*, v. 75, p. 212 – 216, 1998.
- RESIO, A. C. Almidón de amaranto: Obtención y evaluación de sus características fisicoquímicas. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires / Argentina, 1999.
- RESIO, A. N. C.; TOLABA, M. P.; SUAREZ, C. Algunas propiedades físicas y térmicas del almidón de amaranto. *Food Science and Technology Internacional*, v. 6, n. 5, p. 371-378, 2000.
- SANCHEZ, C. ZUNIGA-LOPEZ, R.; SCHMITT, C. Microstructure of acid–induced skim milk–locust bean gum–xanthan gels. *Int. Dairy J.*, v. **10**, p. 199-212, 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, p. 1527-1536, 2007.
- SCHORSCH, C.; JONES, M. G.; NORTON, I. T. Thermodynamic incompatibility and microstructure of milk protein/locust bean gum/sucrose systems. *Food Hydrocolloids*, v. 13, p. 89-99, 1999.
- SCHORSCH, C.; JONES, M. G.; NORTON, I. T. Phase behavior of pure micellar casein/k-carrageenan systems in milk salt ultrafiltrate. *Food Hydrocolloids*, v. 14, p. 347-358, 2000.
- SEOW, C. C.; KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, v. 71, p. 9-36, 2000.

- STAHL, J. A.; LOBATO, L. P.; BOCHI, V.C.; KUBOTA, E. H.; GUTKOSKI, L. C.; EMANUELLI, T. Physicochemical properties of Pinhão (*Araucaria angustifolia*, Bert, O. Ktze) starch phosphates. *LWT - Food Science and Technology*, v. 40, p. 1206-1214, 2007.
- TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. Effects of amylopectins, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, v. 67, n. 6, p. 551 – 557, 2003.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamic considerations of starch functionality in foods. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, p. 99-111, 2003.
- ZIEGLER, G. R.; FOEGEDING, E. A. The gelation of proteins. *Advances in Food and Nutrition Research*, v. 34, p. 203-298, 1990.

CAPÍTULO 7

CONCLUSÕES GERAIS

7.1. CONCLUSÃO GERAL

O aumento da concentração de amido em misturas caseinato de sódio-polissacarídeo conduziu a uma aceleração na velocidade de gelatinização e, de uma forma geral, os sistemas estudados apresentaram maiores valores de G' e G'' conforme se elevou a concentração de biopolímeros, sendo este comportamento conduzido principalmente pela proteína. A adição de sacarose à suspensão retardou levemente a gelatinização do amido porém, levou a um aumento na velocidade de formação da rede. Além de atuar sobre o polissacarídeo, o co-soluto mostrou uma forte interação com a proteína favorecendo a característica elástica dos sistemas. Entretanto, a sacarose não atuou de uma forma importante na retrogradação do amido, na sinerese e capacidade de retenção de água (WHC) dos sistemas, sendo que estas características foram mais dependentes das concentrações dos biopolímeros (principalmente de proteínas) e do processo de acidificação, especialmente a taxa e pH final.

Em sistemas com pH neutro, a adição de proteína promoveu um efeito negativo na viscosidade e microestrutura das suspensões de amido. Nestes sistemas ocorreu uma incompatibilidade termodinâmica entre o caseinato e o amido, que se intensifica com o aumento da concentração das macromoléculas, pois nestas condições os dois biopolímeros não interagem e apresentam uma micro-separação de fases.

No entanto, em condições de pH próximo ao ponto isoelétrico houve um aumento da complexidade da rede, principalmente nos sistemas acidificados lentamente. Neste processo, a proteína e o amido formaram estruturas com cadeias ramificadas contendo poros uniformemente distribuídos. Em pH próximo ao pI , principalmente nos sistemas acidificados lentamente, não se observou predomínio da separação de fases através dos resultados de reologia e microestrutura, dado que as interações eletrostáticas dificultaram a

separação dos biopolímeros e promoveram a formação de géis mais fortes e com menor sinerese.

Entretanto, quando os géis mistos foram formados a partir de uma rápida queda do pH, a auto-associação da proteína foi potencializada expulsando água e dificultando a associação proteína-amido. Isto promoveu a formação de um gel mais fraco, cuja estrutura era mais desordenada e particulada, pois não houve tempo para a formação de uma rede mais forte e nessa condição de acidificação rápida os grânulos de amido não gelatinizaram completamente, o que foi demonstrado na microestrutura.

Entre os três métodos de preparação nota-se que suas características quanto à cor, textura e viscosidade foram muito amplas, sendo peculiares a um grande número de produtos encontrados no mercado. Em sistemas formados a pH neutro, situação que ocorre em sobremesas lácteas, pudins, achocolatados e sorvetes a utilização do caseinato de sódio e amido poderia promover uma diminuição da sinerese e formação de géis mais macios.

Os géis formados por acidificação lenta e contendo maior concentração de proteína apresentaram-se mais firmes, compactos, opacos e levemente quebradiços, com aspecto de produtos lácteos gelificados, ao contrário dos sistemas com concentração elevada de amido que, apesar de apresentarem características similares foram mais elásticos, gomosos e não alto sustentáveis como pastas. Os sistemas acidificados rapidamente, apesar de apresentarem uma menor capacidade de retenção de água e maior sinerese que os géis acidificados de uma forma mais lenta, seriam uma alternativa para diminuir o tempo de processo em combinação com a tecnologia de acidificação lenta, de maneira a obter-se um balanço otimizado entre velocidade de processo e propriedades do gel formado.

Assim, devido a sua baixa retrogradação, sua tendência a elevar a capacidade de retenção de água reduzindo a sinerese e fortalecendo a rede do gel, sistemas de amido de amaranto/caseinato de sódio poderão ser utilizados, principalmente, em produtos

congelados de alta qualidade, que necessitam de textura macia e uma maior vida de prateleira, sendo uma alternativa tecnológica em algumas aplicações industriais.

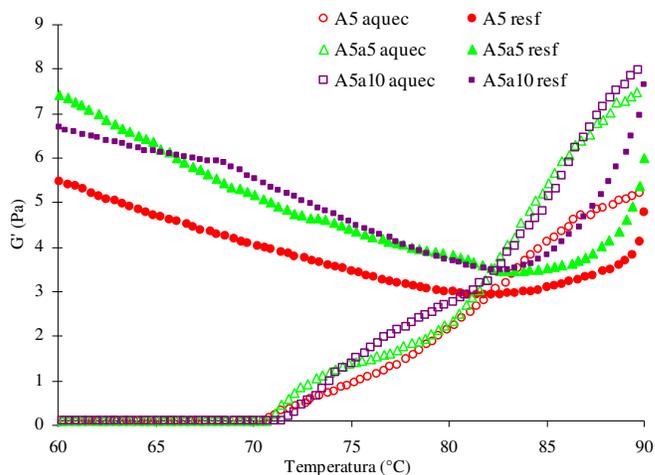
TRABALHOS FUTUROS:

1. Analisar maiores variações de concentração de biopolímeros.
2. Realizar ensaios de retrogradação com tempos maiores de armazenamento em temperaturas mais baixas. Variações no tempo e na temperatura poderão proporcionar picos de re-gelatinização mais definidos.
3. Analisar a retrogradação por análises de DSC, microscopia, sinerese e retenção de água de géis de amido-caseinato, com um tempo maior de armazenamento.
4. Estudar a relação da concentração de sacarose com géis contendo amidos com diferentes quantidades de amilose e amilopectina, verificando o comportamento durante a retrogradação.
5. Reavaliar as matéria primas e métodos utilizados, de tal forma que seja possível a análise sensorial dos três processos estudados.

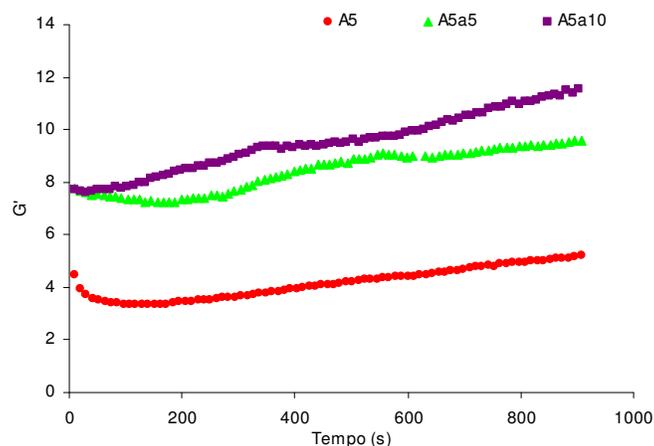
APÊNDICE I

ANÁLISES REOLÓGICAS DAS AMOSTRAS CONTENDO SACAROSE

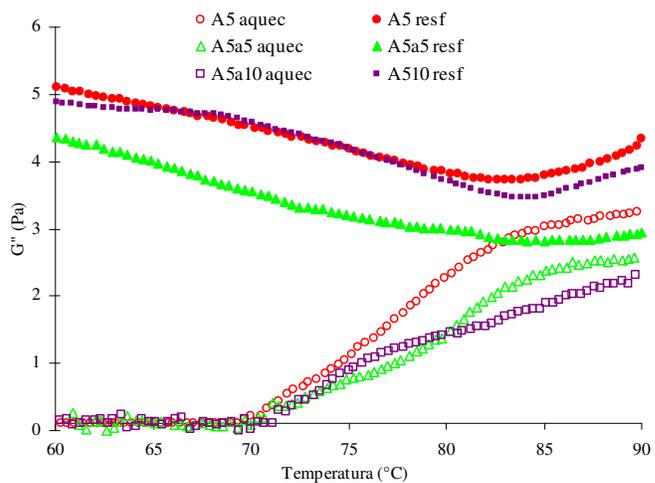
TERMOGRAMA DE RE-GELATINIZAÇÃO



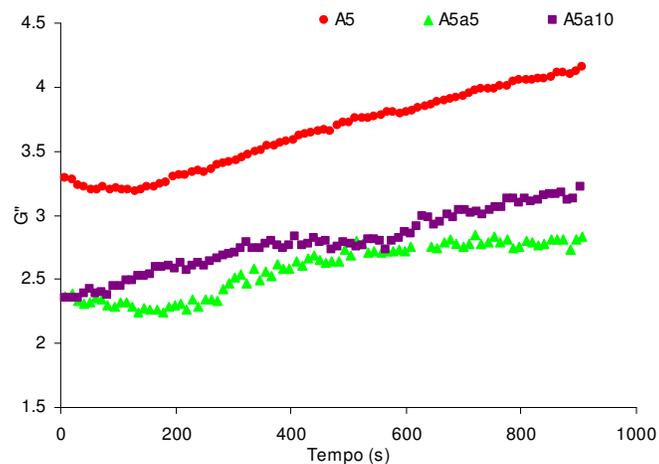
Curvas de G' x Temperatura das suspensões de amido 5% verificando o efeito do açúcar., sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).



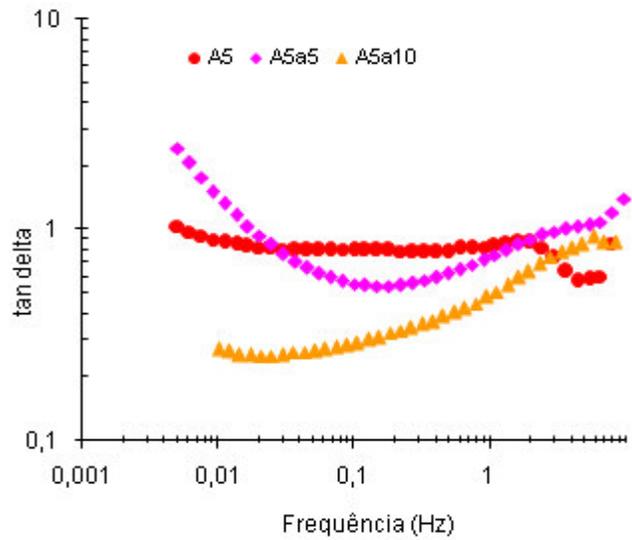
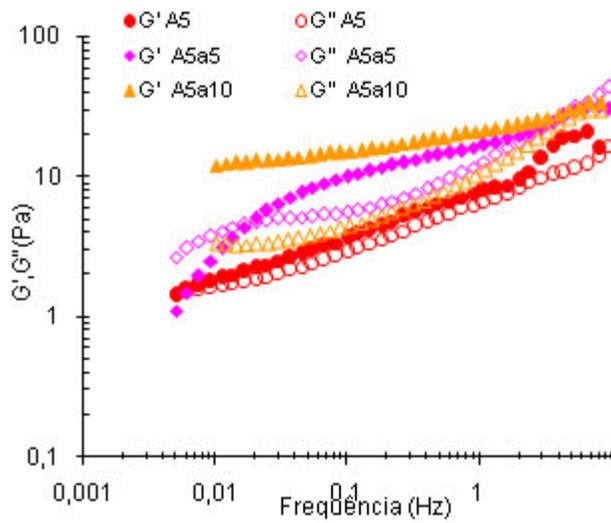
Curvas de G' x Tempo (cinética de tempo) das suspensões de amido 5% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).



Curvas de G'' x Temperatura das suspensões de amido 5% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).

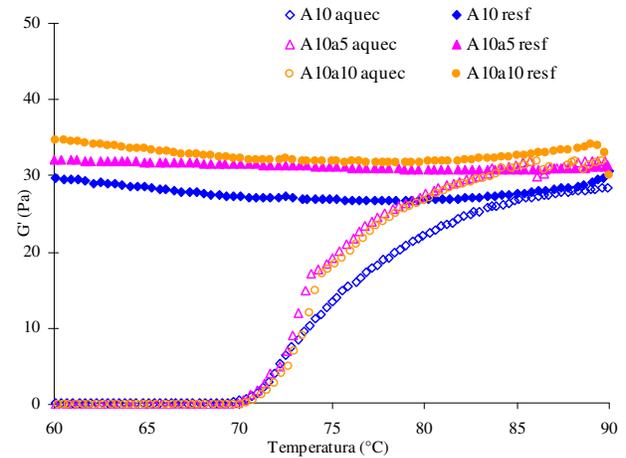
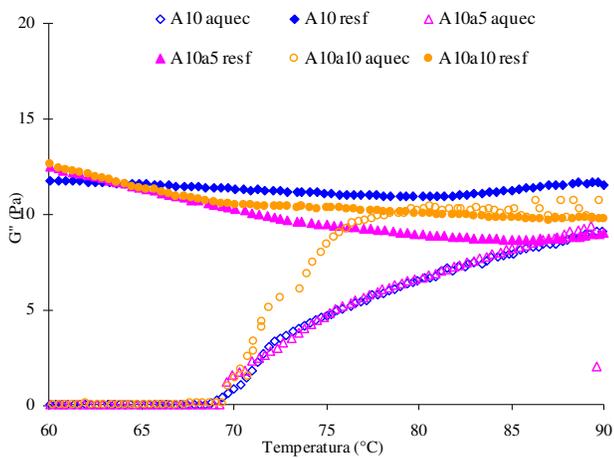


Curvas de G'' x Tempo (cinética de tempo) das suspensões de amido 5% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).



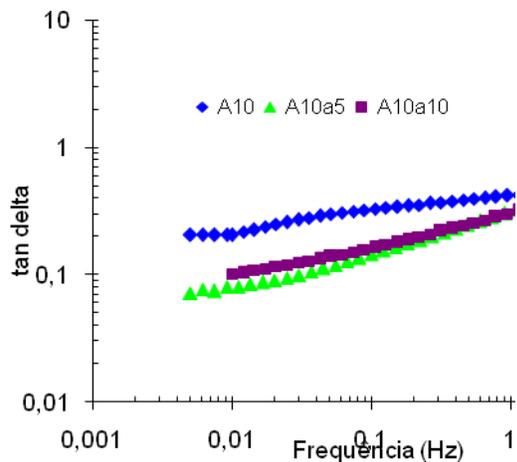
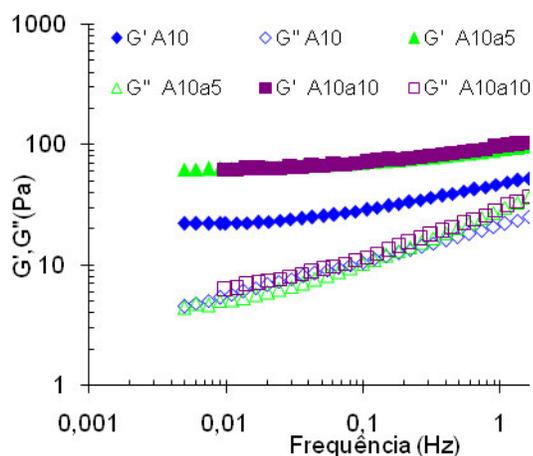
Espectro mecânico das suspensões de amido 5% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).

Tan Δ das suspensões de amido 5% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).



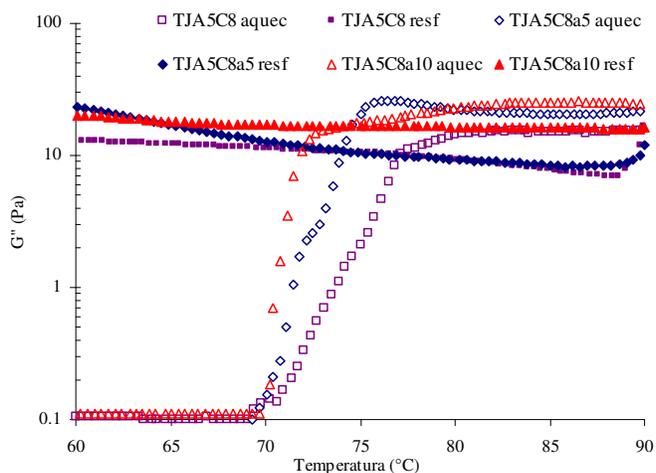
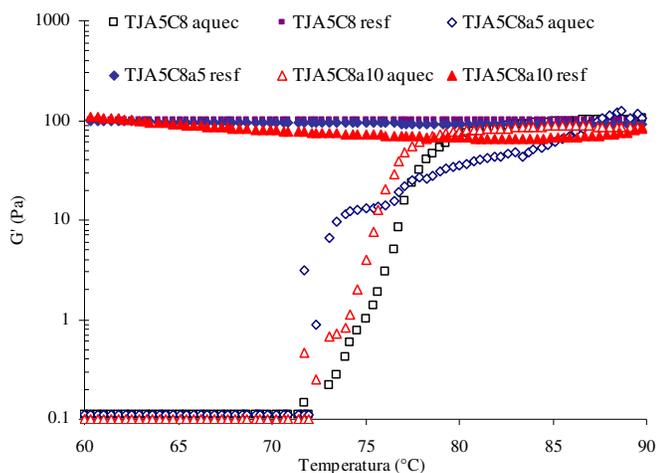
Curvas de G' x Temperatura das suspensões de amido 10% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).

Curvas de G'' x Tempo (cinética de tempo) das suspensões de amido 10% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).



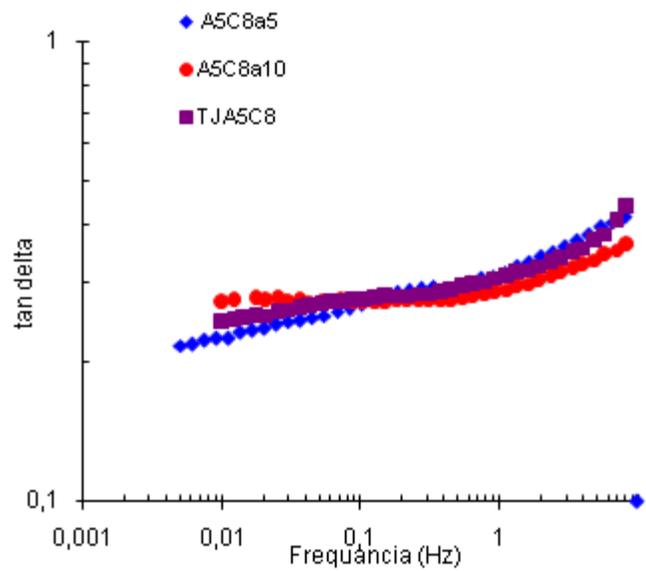
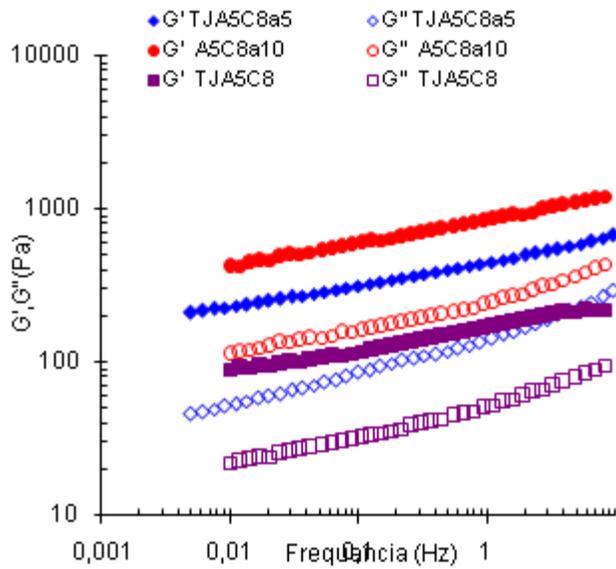
Espectro mecânico das suspensões de amido 10% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).

Tan Δ das suspensões de amido 10% verificando o efeito do açúcar, sendo “A” (amido) e “a” (açúcar).



Curvas de G' x Temperatura das suspensões de amido 5% sem e com caseinato (8%). Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” açúcar e “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos.

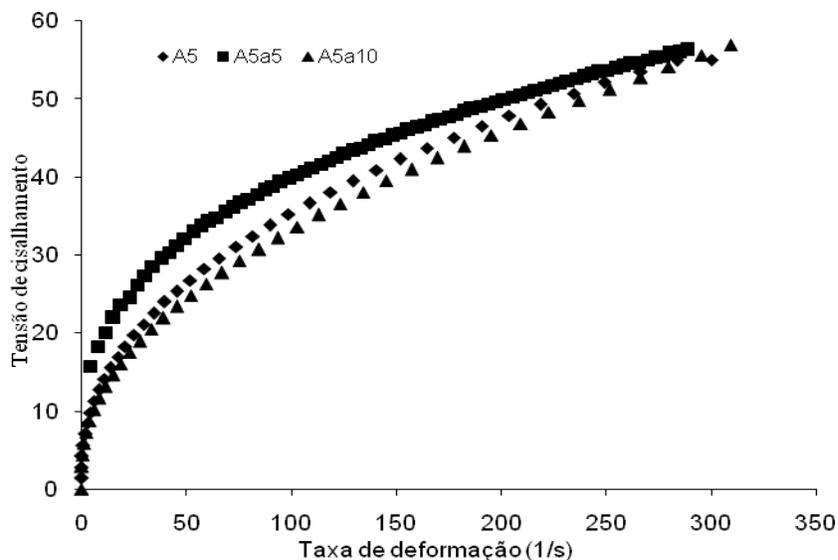
Curvas de G'' x Temperatura das suspensões de amido 5% sem e com caseinato (8%). Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” açúcar e “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos.



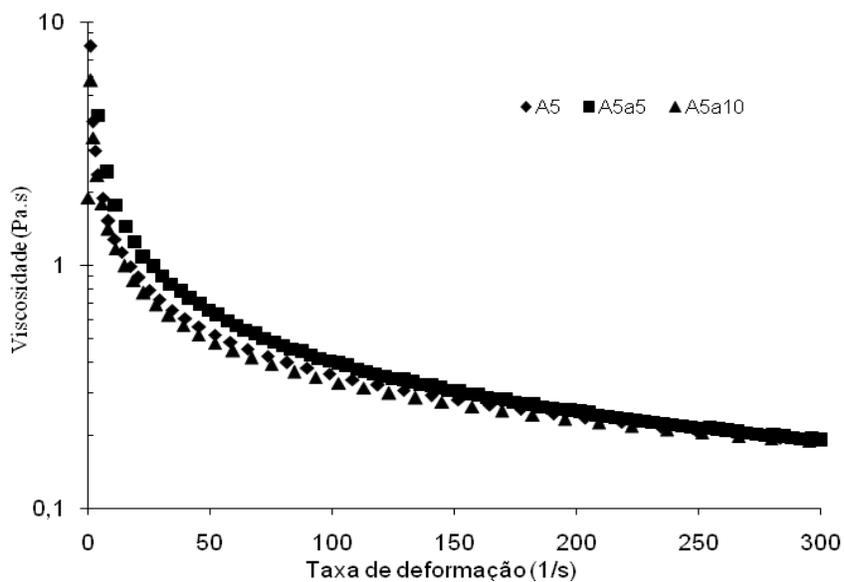
Espectro mecânico das suspensões de amido 5% sem e com caseinato (8%). Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” açúcar e “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos.

Tan Δ das suspensões de amido 5% sem e com caseinato (8%). Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” açúcar e “TJ” significa que os componentes foram gelatinizados todos juntos.

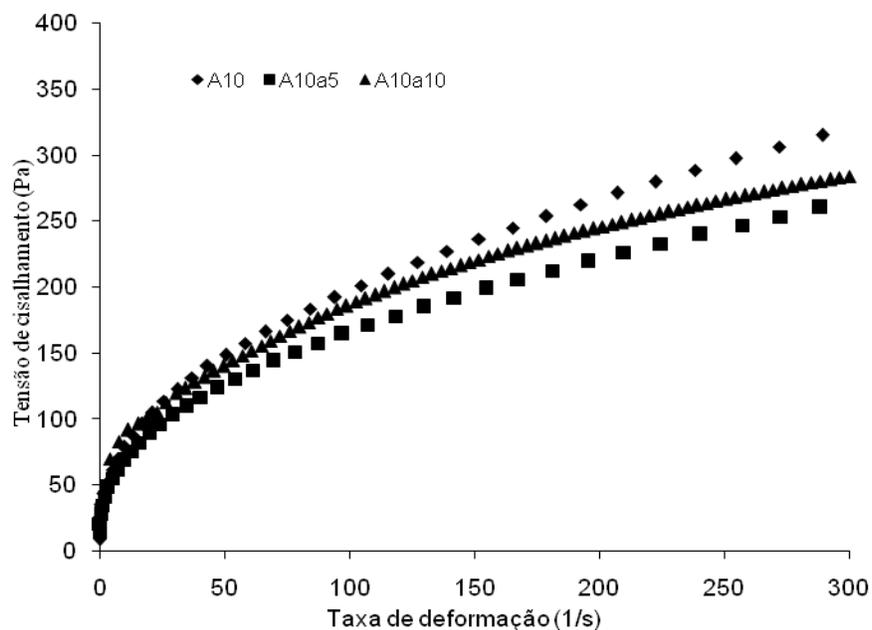
CURVAS DE ESCOAMENTO



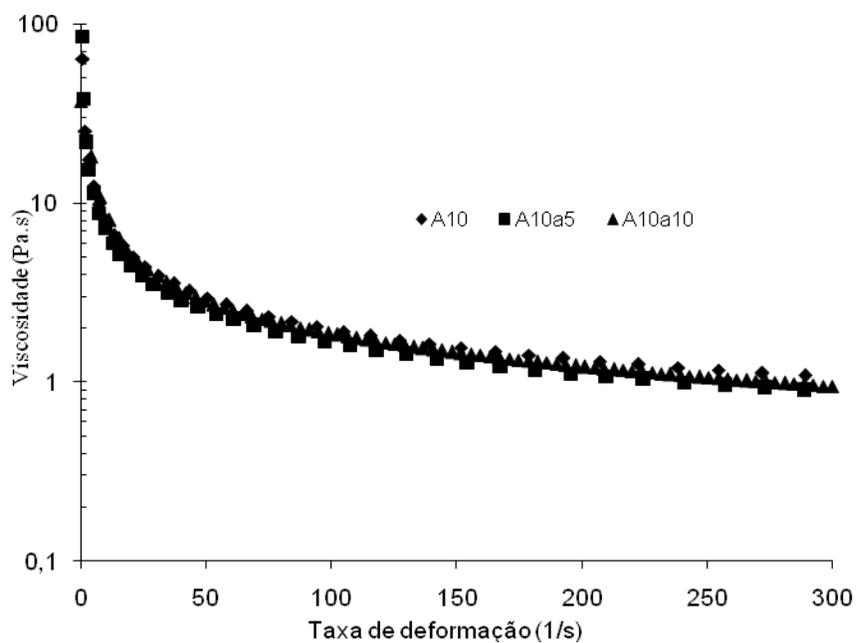
Curvas de escoamento de géis de amido (5%) com sacarose (5 e 10%), avaliados a 10 °C. Sendo “A” (amido), “a” (açúcar).



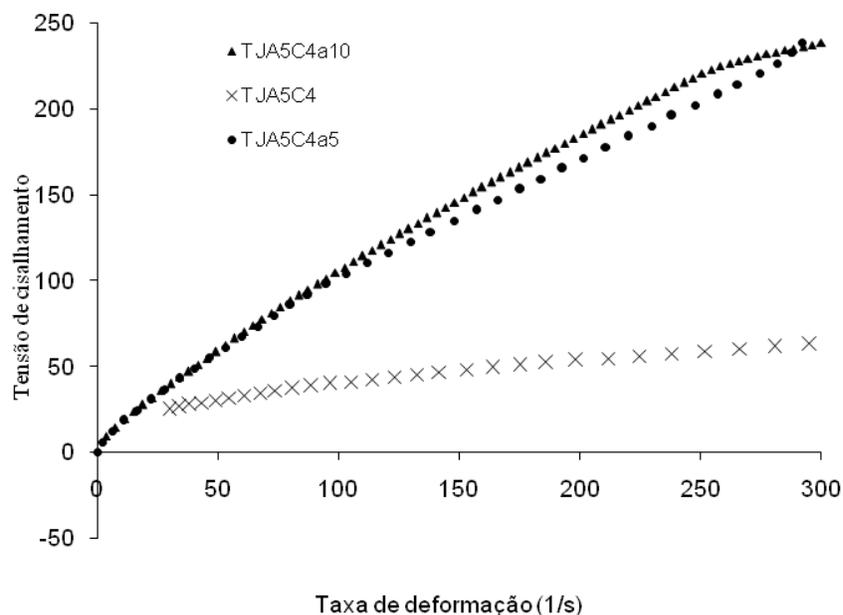
Comparativo das viscosidades de géis de amido (5%) com sacarose (5 e 10%), avaliados a 10 °C. Sendo “A” (amido), “a” (açúcar).



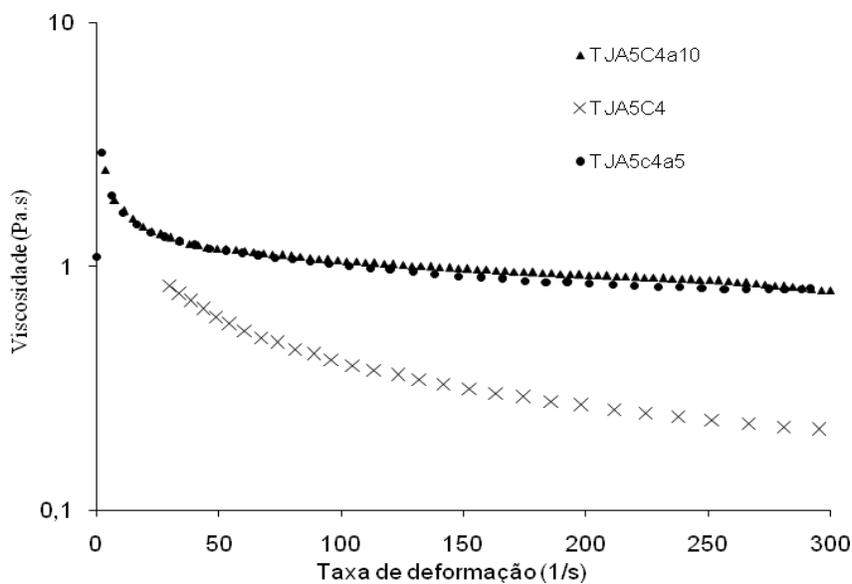
Curvas de escoamento de géis de amido (10%) com sacarose (5 e 10%), avaliados a 10 °C. Sendo “A” (amido), “a” (açúcar).



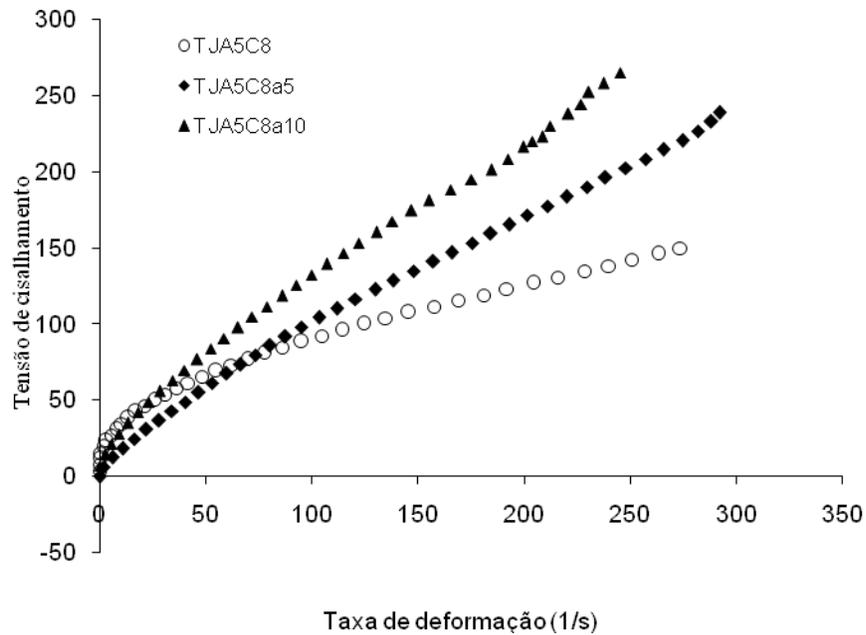
Comparativo das viscosidades de géis de amido (10%) com sacarose (5 e 10%), avaliados a 10 °C. Sendo “A” (amido), “a” (açúcar).



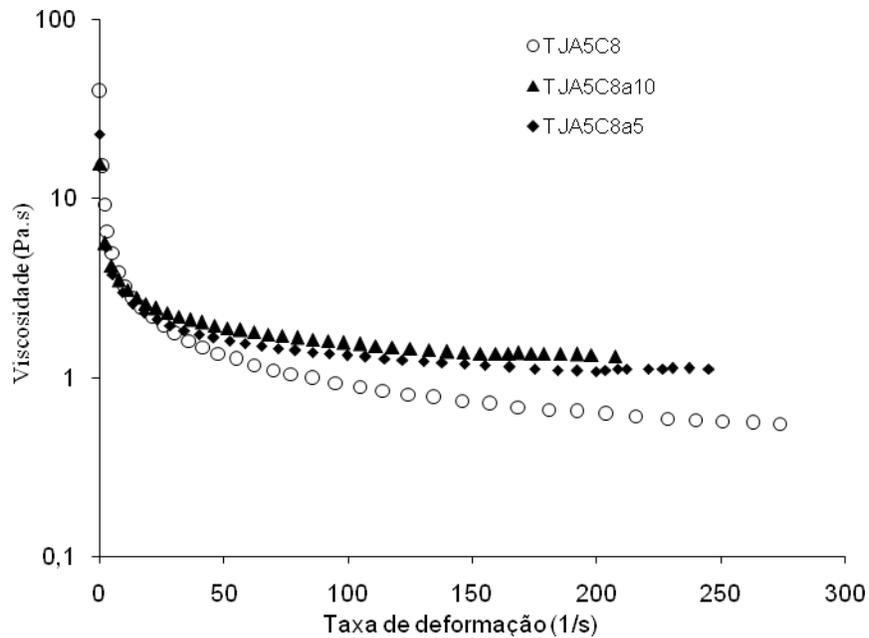
Curva de escoamento de géis contendo 5% de amido, 4% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).



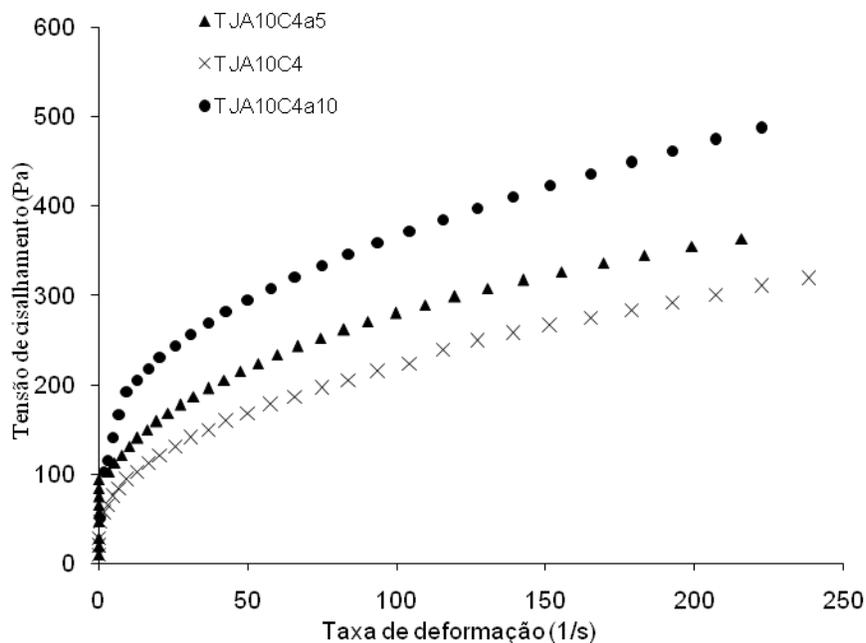
Comparativo das viscosidades de géis contendo 5% de amido, 4% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).



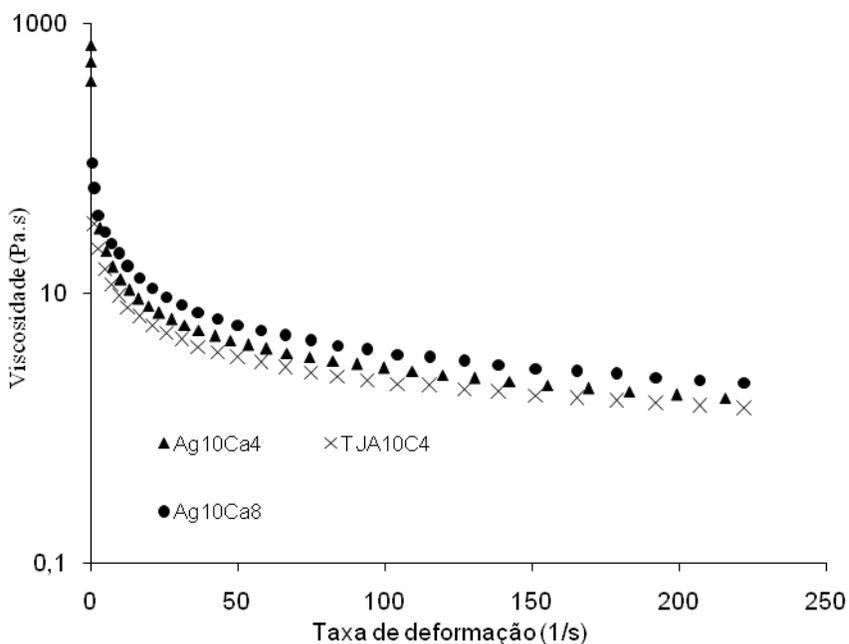
Curva de escoamento de géis contendo 5% de amido, 8% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).



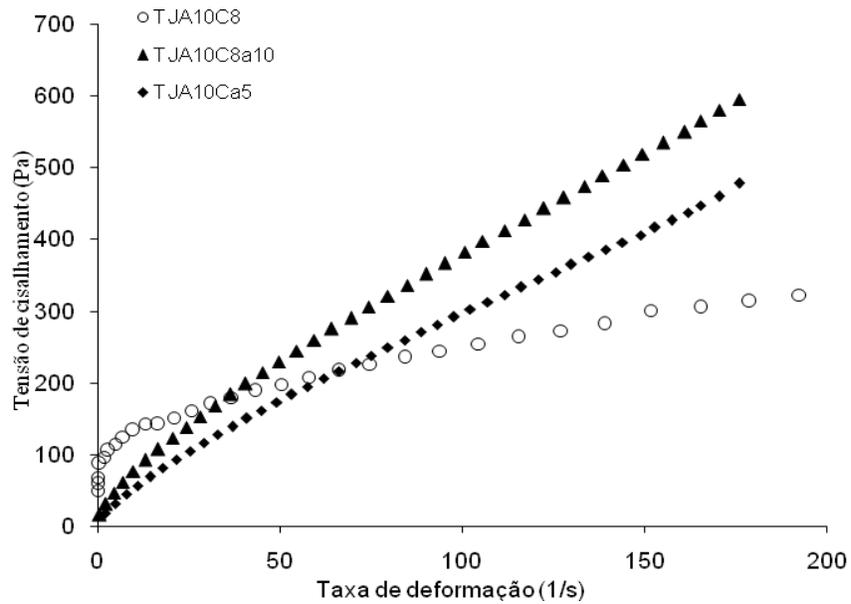
Comparativo das viscosidades de géis contendo 5% de amido, 8% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).



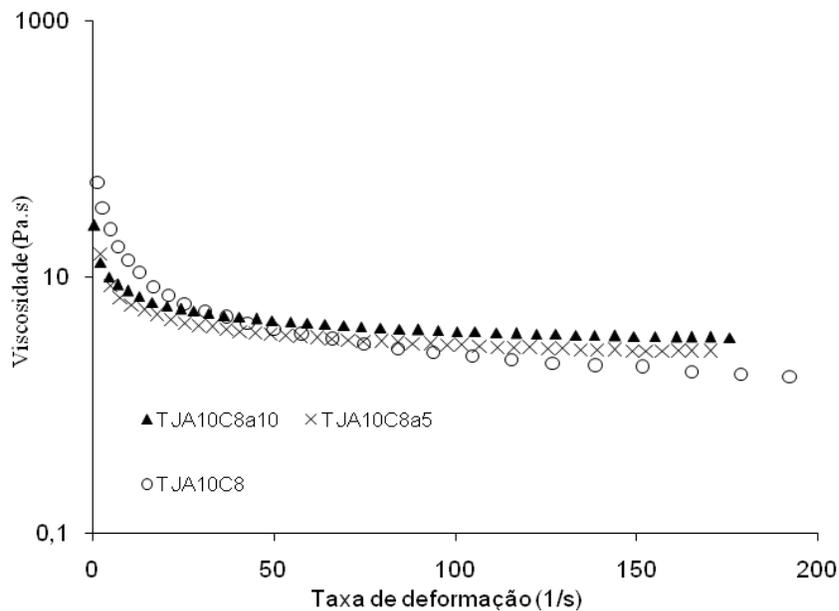
Curva de escoamento de géis contendo 10% de amido, 4% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).



Comparativo das viscosidades de géis contendo 10% de amido, 4% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).

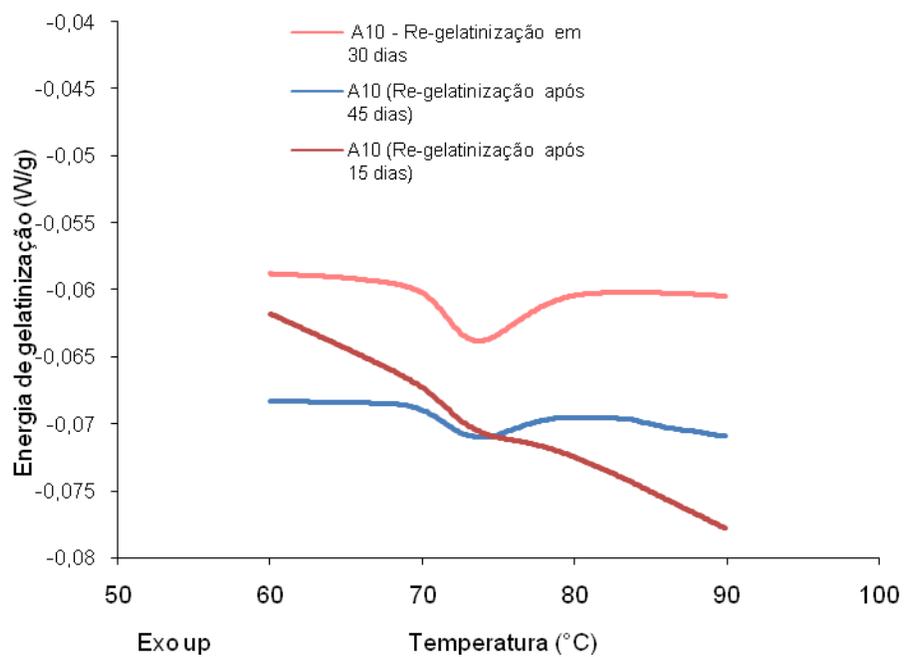


Curva de escoamento de géis contendo 10% de amido, 8% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).



Comparativo das viscosidades de géis contendo 10% de amido, 8% de caseinato e açúcar (5 e 10%), medida a 10 °C. Sendo “A” (amido), “C” (caseinato), “a” (açúcar) e “TJ” (gelatinizados todos juntos).

Termogramas de re-gelatinização da amostra A10

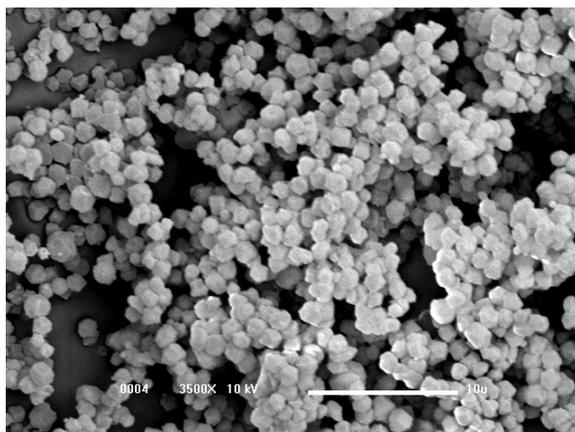


Termograma da re-gelatinização da amostra contendo 10% de amido (A10).

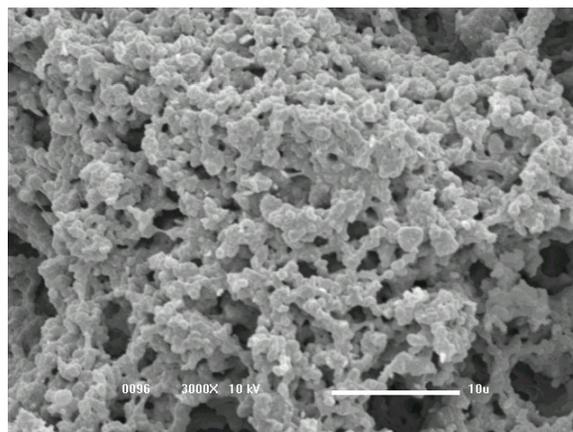
”

APÊNDICE II

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM)

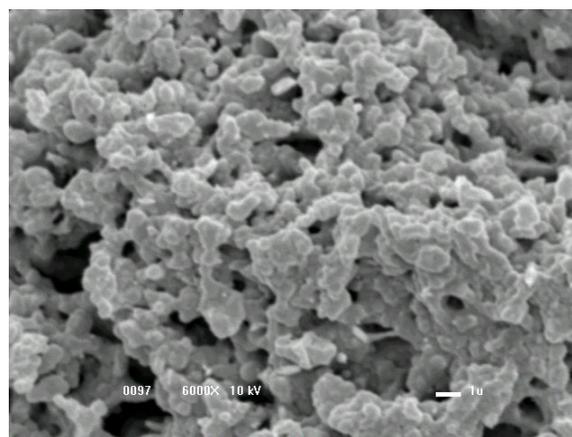
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido antes da gelatinização com aumento de 3500 x



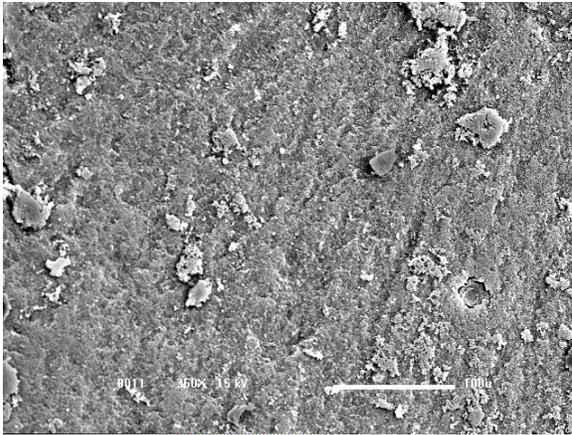
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido após a gelatinização a 90°C com aumento de 3500 x



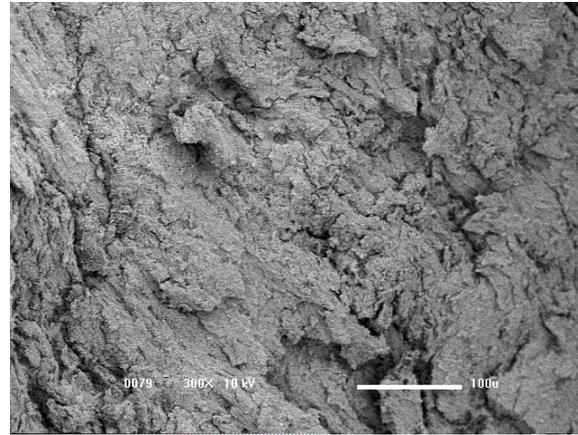
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido antes da gelatinização com aumento de 6000 x



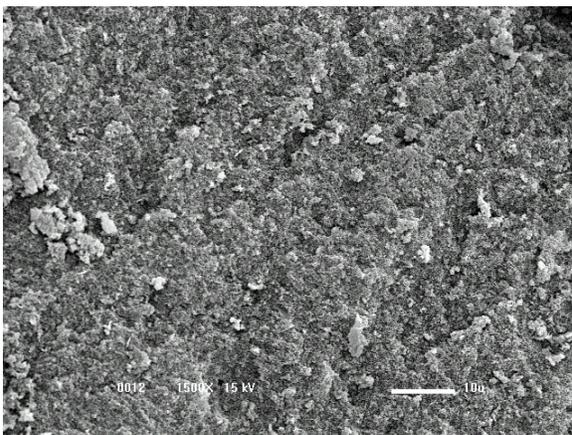
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de amido após a gelatinização a 90°C com aumento de 6000 x



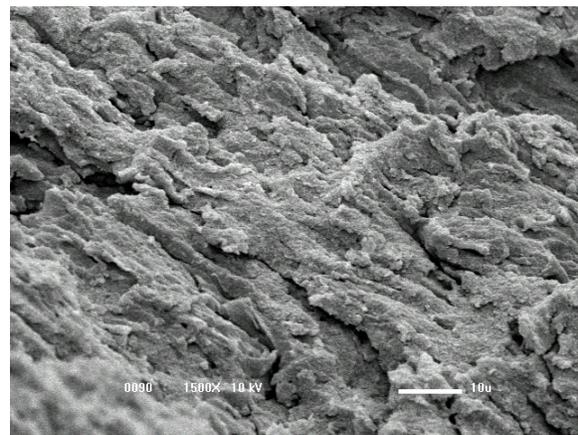
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de caseinato acidificado sem aquecimento (aumento de 350 x)



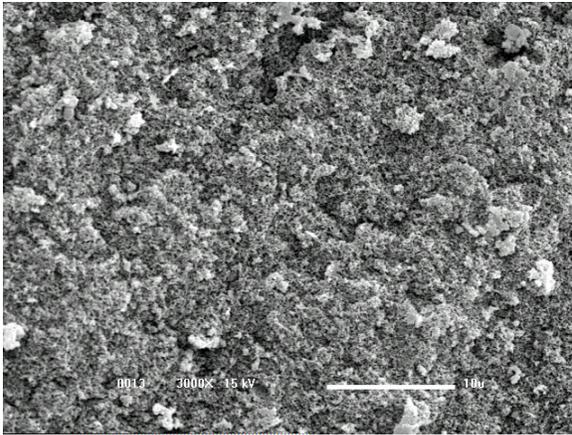
Microscopia eletrônica de varredura de caseinato acidificado com aquecimento (aumento de 350x)



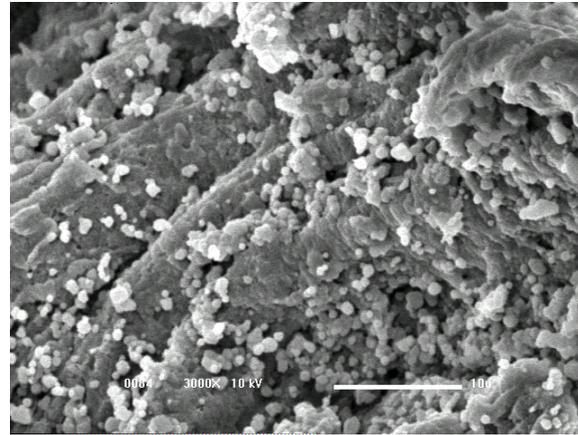
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de caseinato acidificado sem aquecimento (aumento de 1500 x)



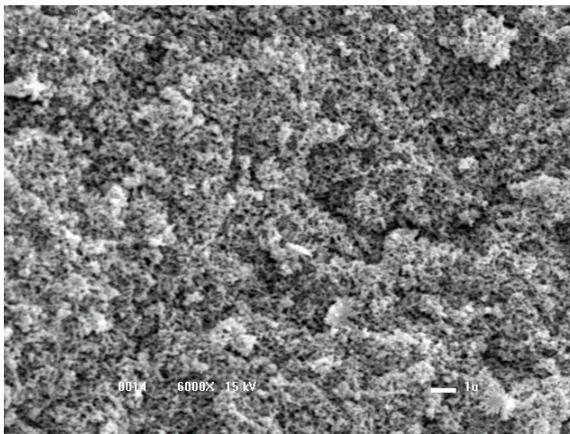
Microscopia eletrônica de varredura de caseinato acidificado com aquecimento (aumento de 1500x)



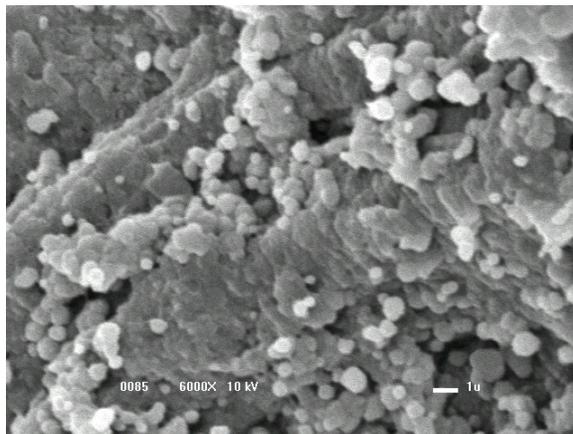
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de caseinato acidificado sem aquecimento (aumento de 3000 x)



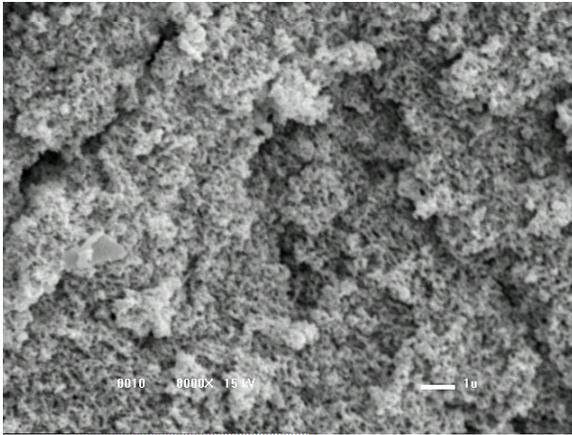
Microscopia eletrônica de varredura de caseinato acidificado com aquecimento (aumento de 3000x)



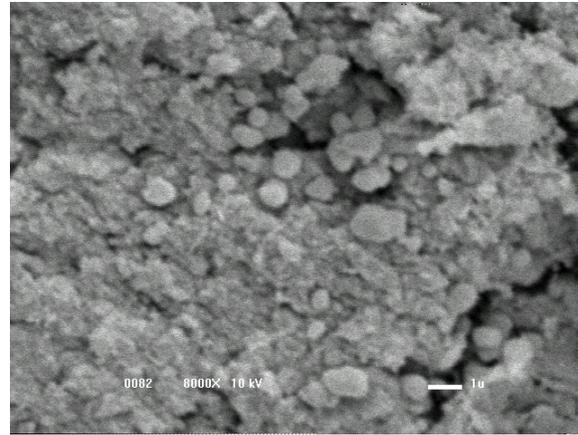
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de caseinato acidificado sem aquecimento (aumento de 6000 x)



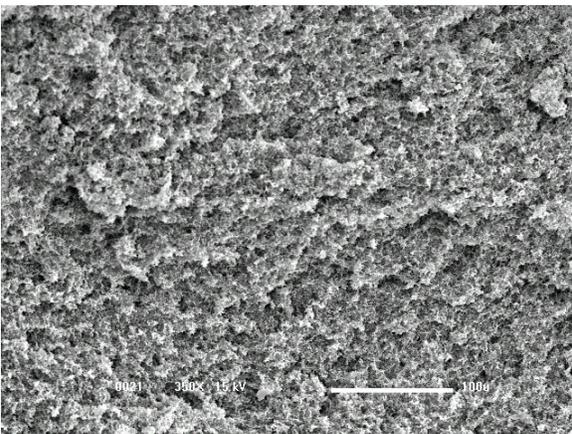
Microscopia eletrônica de varredura de caseinato acidificado com aquecimento (aumento de 6000x)



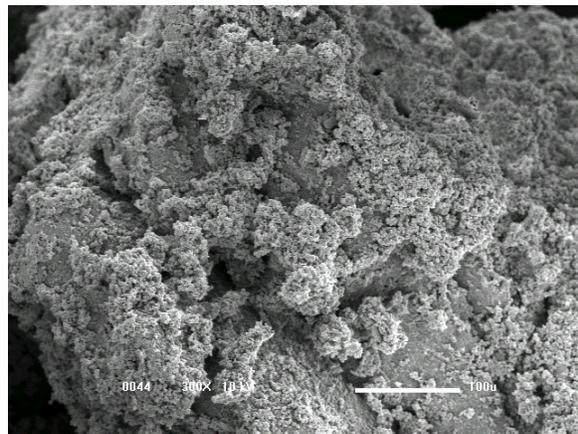
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de caseinato acidificado sem aquecimento (aumento de 8000 x)



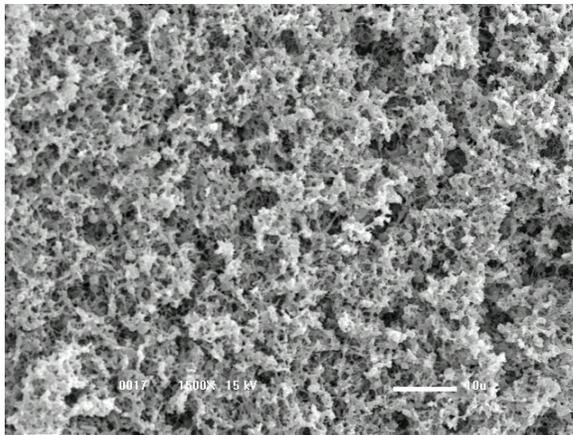
Microscopia eletrônica de varredura de caseinato acidificado com aquecimento (aumento de 8000x)



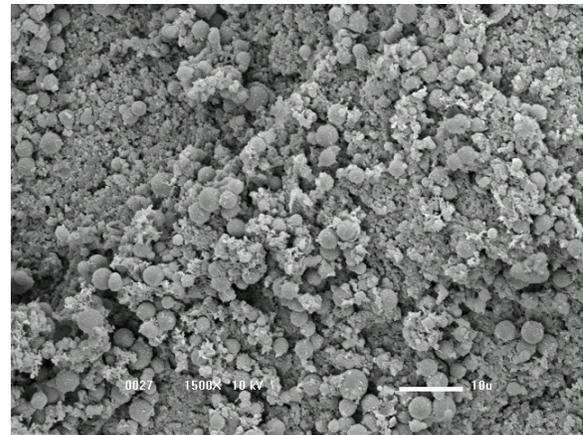
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C4 (aumento de 350 x)



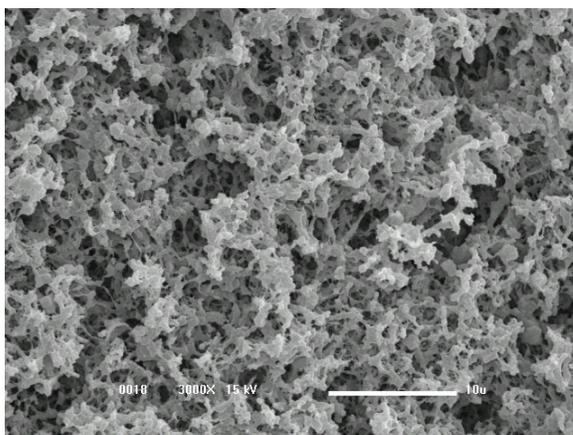
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C4 (aumento de 350x)



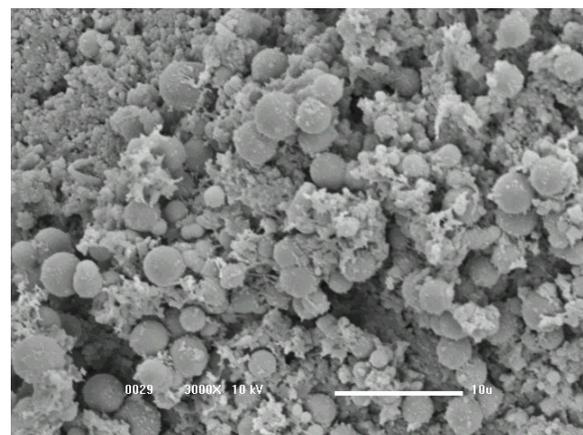
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C4 (aumento de 1500 x)



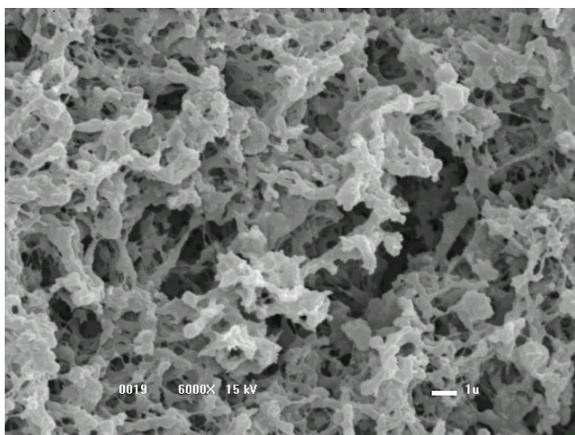
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C4 (aumento de 1500x)



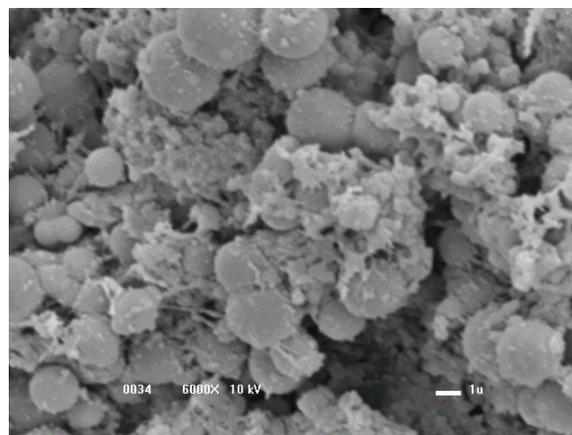
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C4 (aumento de 3000 x)



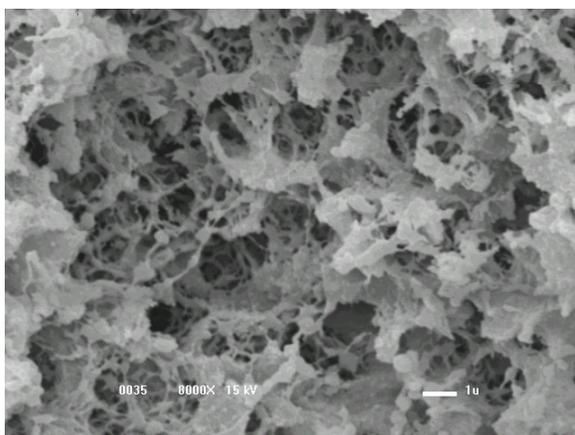
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C4 (aumento de 3000x)



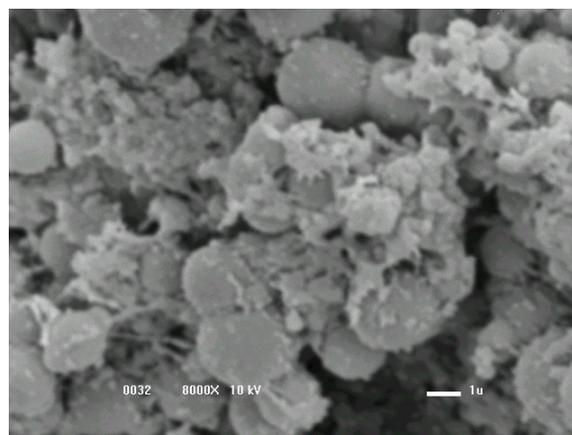
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C4 (aumento de 6000 x)



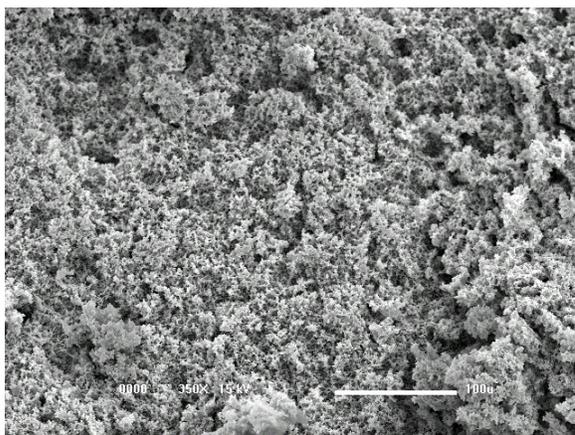
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C4 (aumento de 6000x)



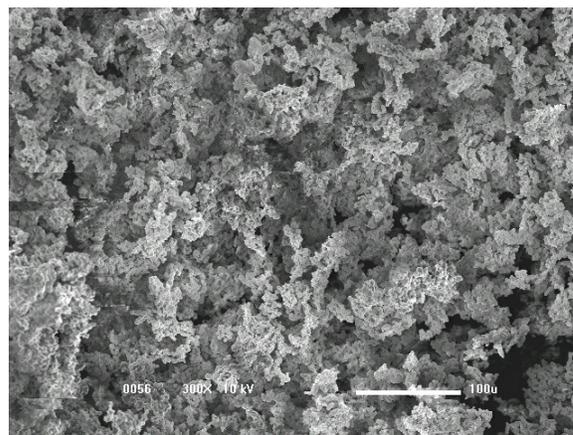
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C4 (aumento de 8000 x)



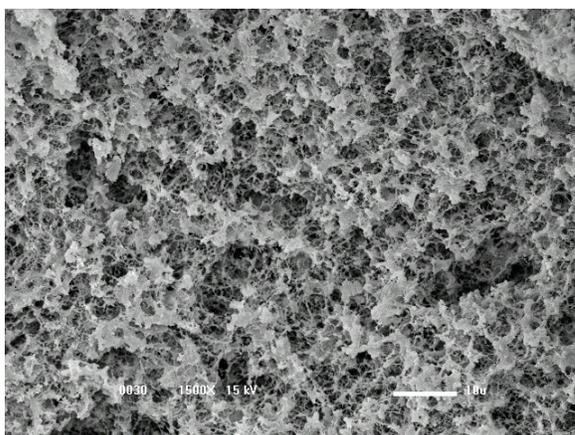
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C4 (aumento de 8000x)



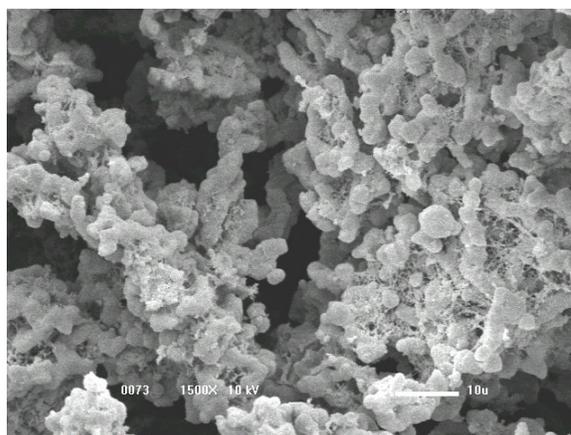
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C8 (aumento de 350 x)



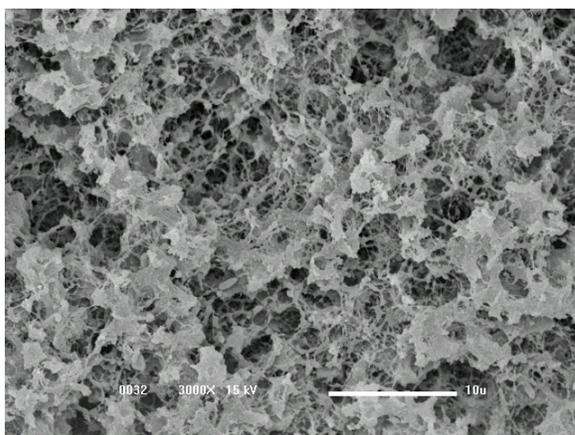
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C8 (aumento de 350x)



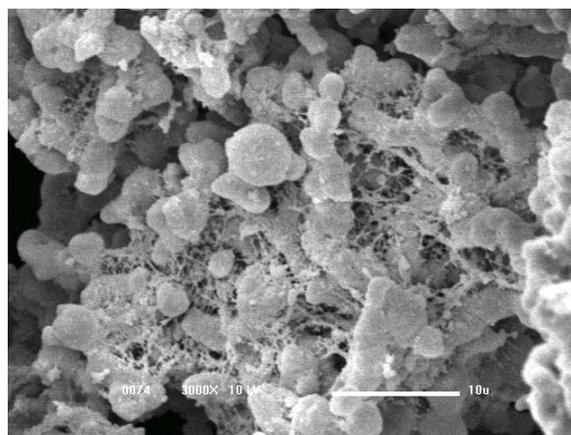
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C8 (aumento de 1500 x)



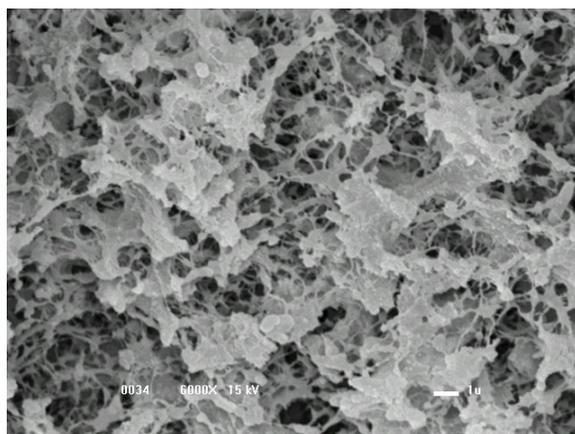
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C8 (aumento de 1500x)



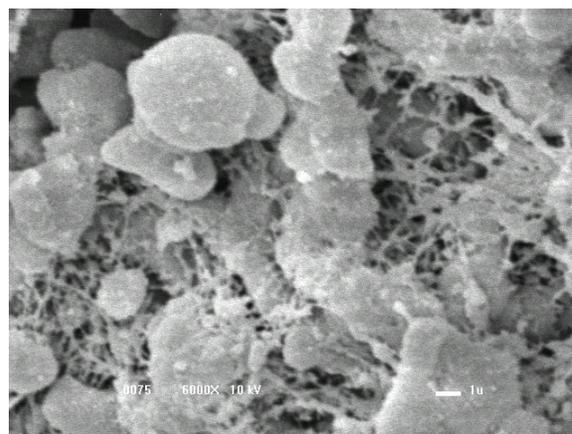
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C8 (aumento de 3000 x)



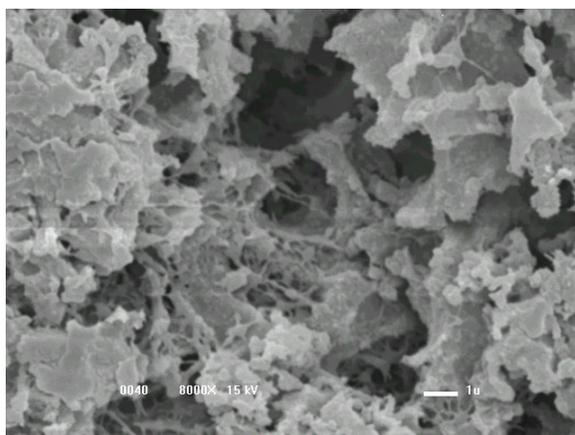
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C8 (aumento de 3000x)



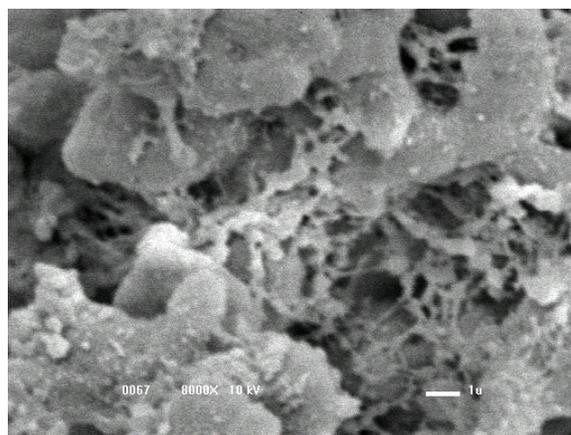
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C8 (aumento de 6000 x)



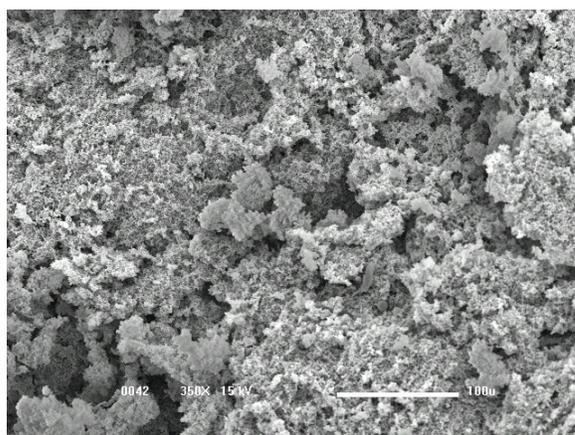
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C8 (aumento de 6000x)



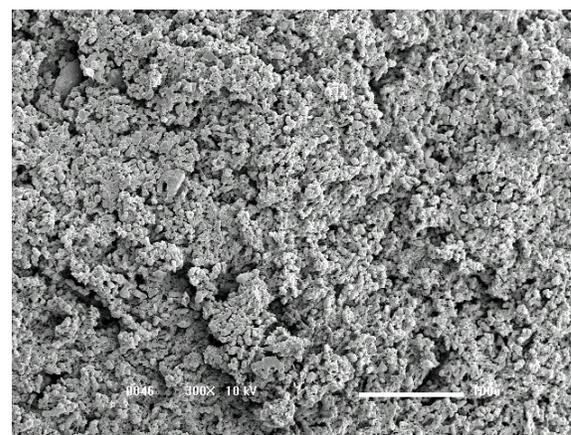
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C8 (aumento de 8000 x)



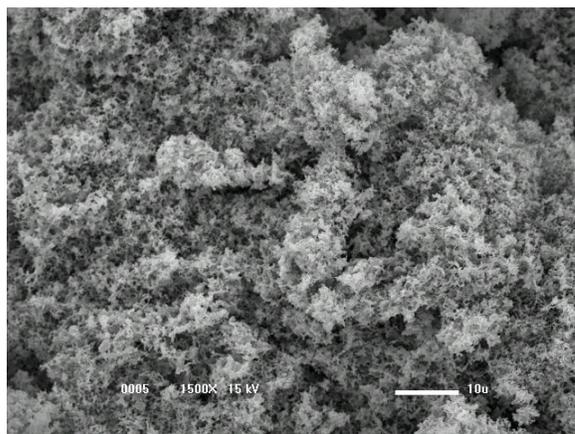
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C8 (aumento de 8000x)



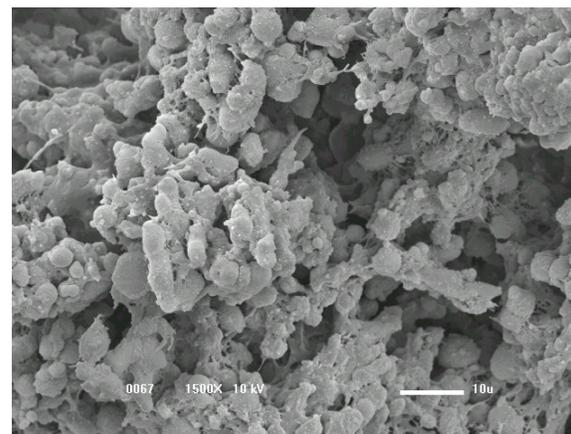
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C8 (aumento de 350 x)



Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C8 (aumento de 350x)

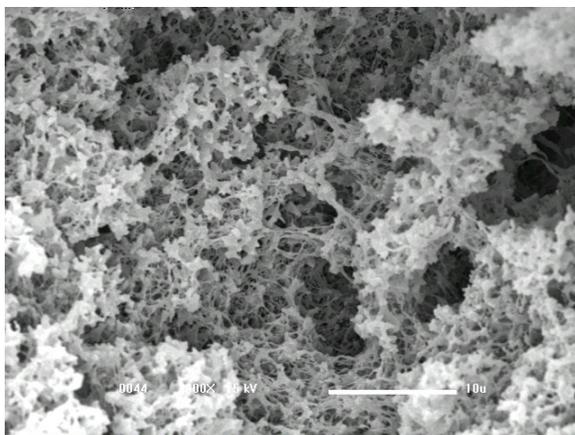


Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C8 (aumento de 1500 x)

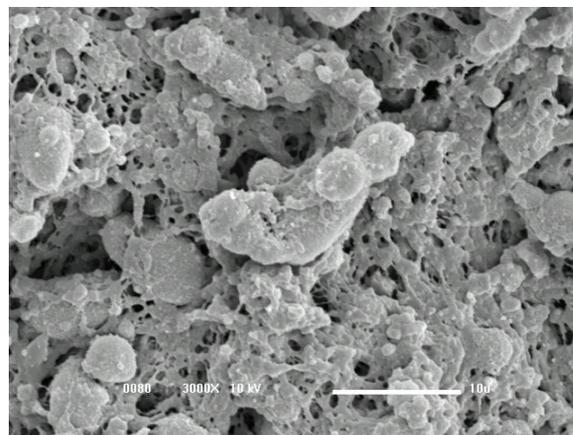


Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C8 (aumento de

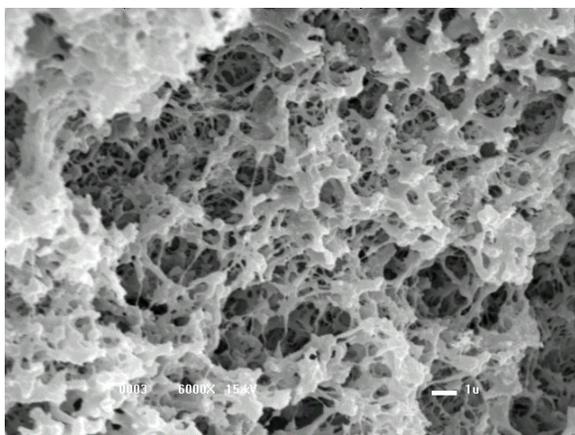
1500x)



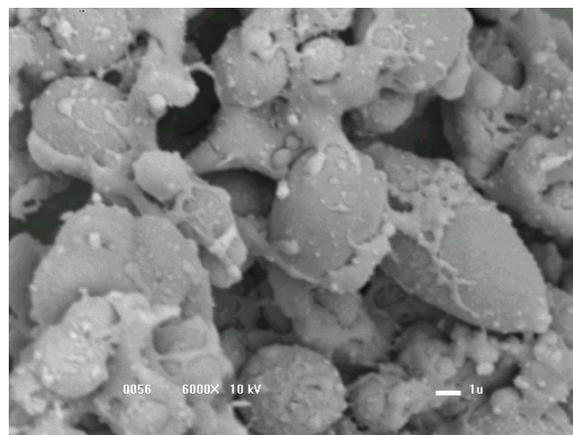
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C8 (aumento de 3000 x)



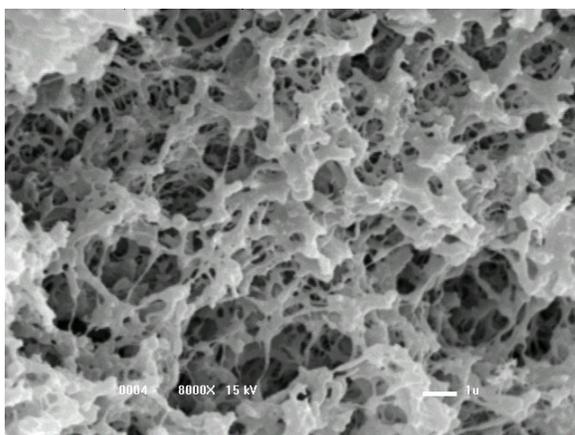
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C8 (aumento de 3000x)



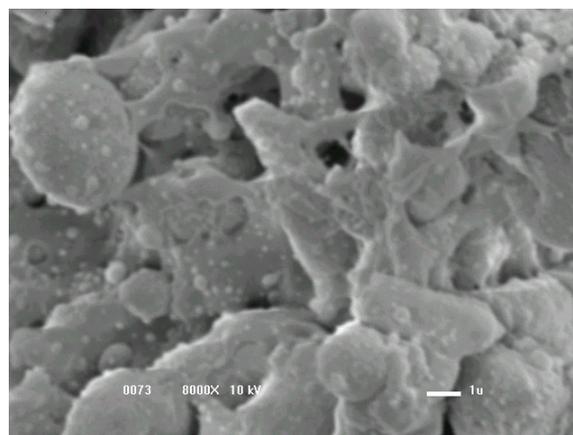
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C8 (aumento de 6000 x)



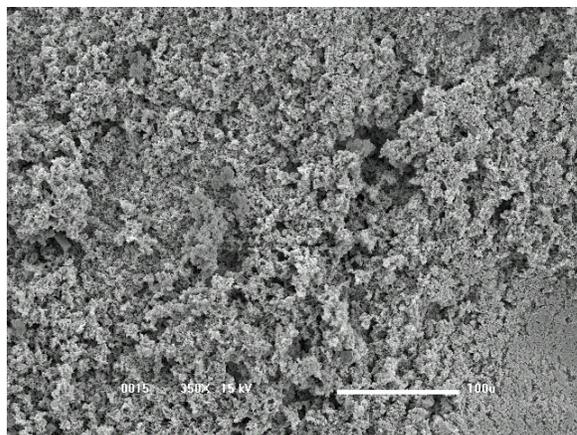
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C8 (aumento de 6000x)



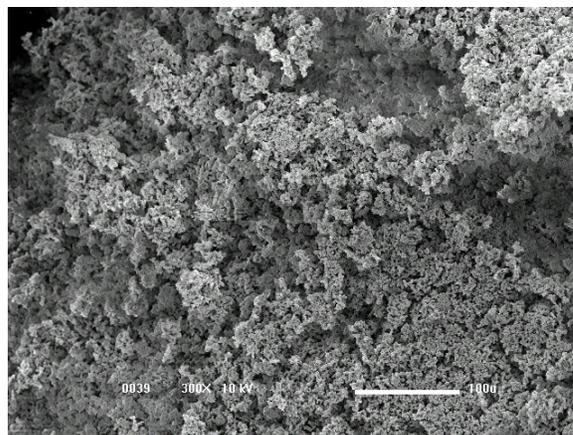
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A10C8 (aumento de 8000 x)



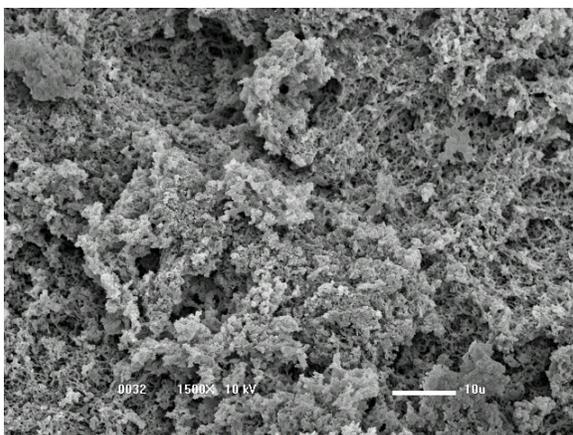
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA10C8 (aumento de 8000x)



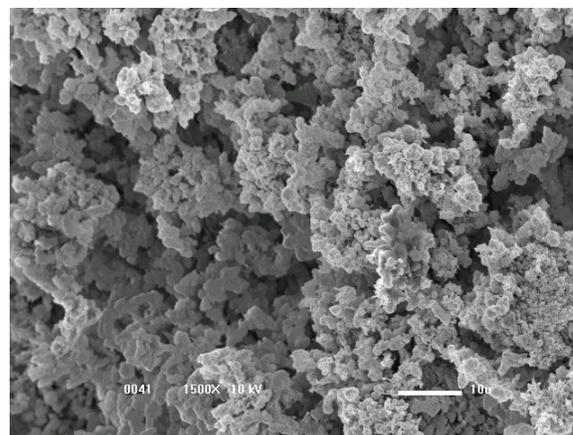
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C4 (aumento de 350 x)



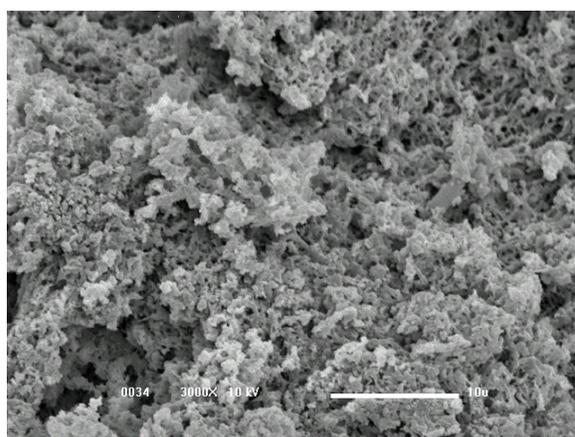
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C4 (aumento de 350x)



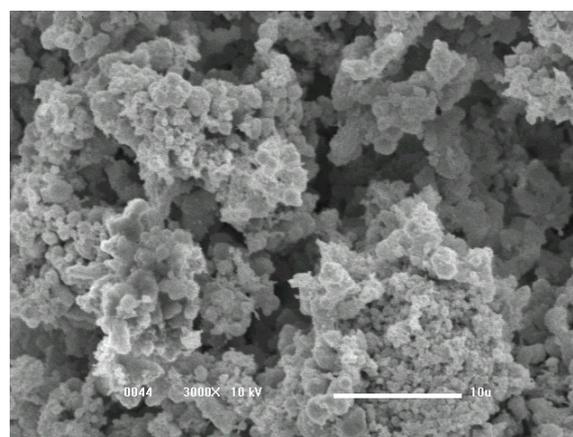
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C4 (aumento de 1500 x)



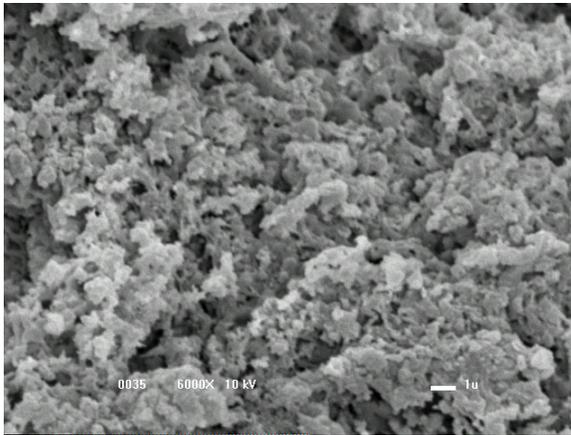
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C4 (aumento de 1500x)



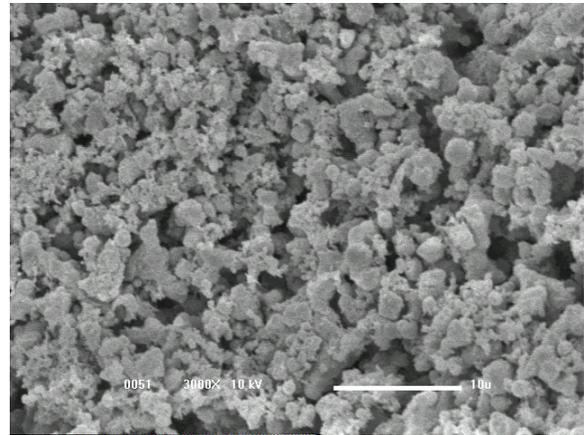
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C4 (aumento de 3000 x)



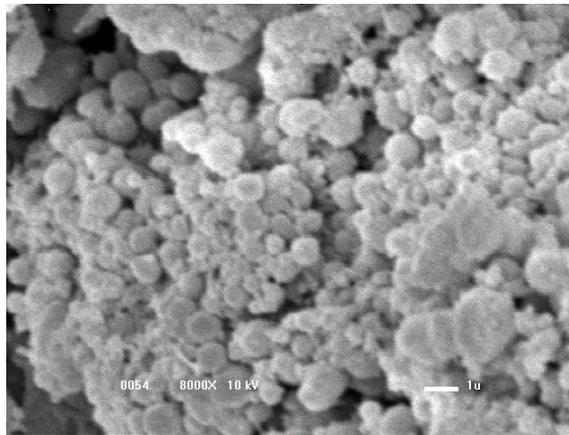
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C4 (aumento de 3000x)



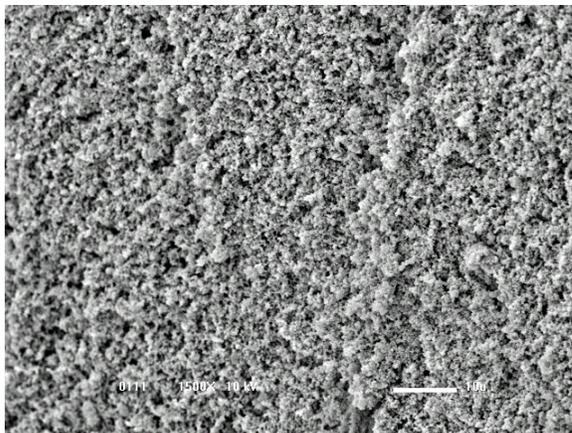
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de A5C4 (aumento de 6000 x)



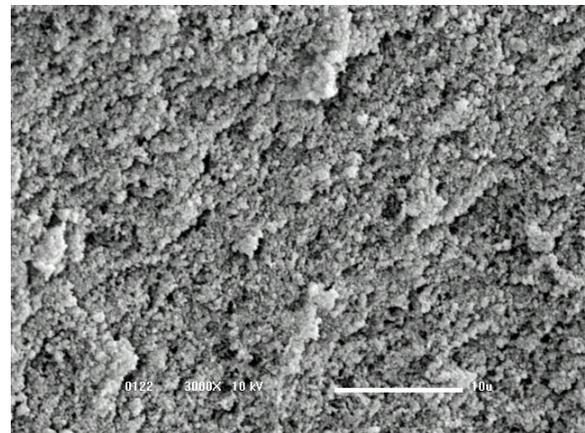
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C4 (aumento de 6000x)



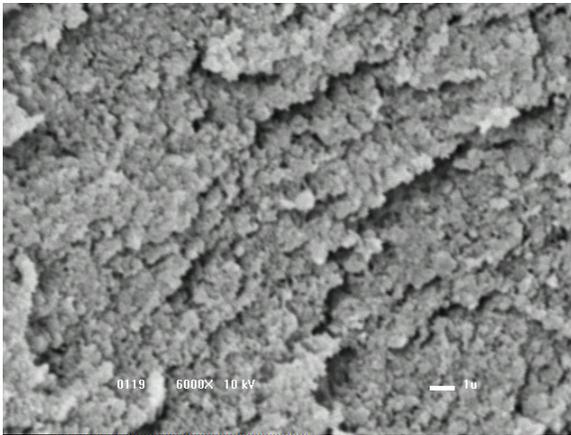
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de TJA5C4 (aumento de 8000x)



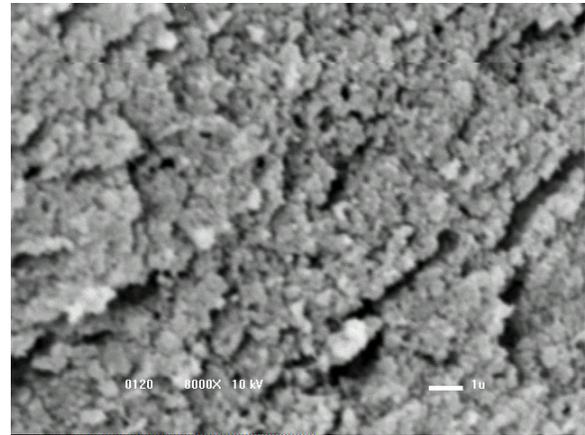
Microscopia eletrônica de varredura de amostras de BA10C4 (aumento de 1500 x)



Microscopia eletrônica de varredura de amostras de BA10C4 (aumento de 3000x)



Microscopia eletrônica de varredura de amostras de BA10C4 (aumento de 6000x)



Microscopia eletrônica de varredura de amostras de BA10C4 (aumento de 8000x)

APÊNDICE III

Preparação da Solução Iodo e Preparo das Amostras para as
Análises de Microscopia

Preparação da Solução Iodo e Preparo das Amostras para as Análises de Microscopia

1. Preparo da Solução de Iodo PA determinação do teor de amilose:

Em um béquer, pesou-se 0,2g de iodo metálico (macerado com algumas gotas de água) mais 2 g de iodeto de potássio (KI). Adicionou-se, então, água destilada, cobriu-se com papel alumínio e deixou-se em repouso, durante 3 horas, em ambiente protegido da luz. Após o que, transferiu-se para um balão volumétrico e completou-se o volume até 100ml com água destilada, seguindo-se agitação até a uniformização. Esta solução foi utilizada no mesmo dia do preparo.

Preparo da Curva Padrão:

Pesaram-se 40mg de amilose pura de batata, que foram colocadas em um balão volumétrico de 100ml. Adicionaram-se então 1ml de etanol (95%) e 9ml de hidróxido de sódio 1N. Aqueceu-se em banho térmico a 100°C por 10 minutos, para gelatinizar o amido, deixando esfriar por 30 minutos. Lavaram-se então as paredes do balão e completou-se o volume com água destilada seguindo-se suave agitação.

Para a preparação da curva padrão utilizaram-se 10 balões volumétricos de 100ml, cujas soluções foram preparadas utilizando os volumes de reativos indicados na Tabela 1. Posteriormente completou-se o volume com água destilada, agitou-se e deixou-se em repouso por 30 minutos antes de medir a absorbância no espectrofotômetro.

Tabela 1: Volumes utilizados para a preparação da curva padrão.

Balão	Solução de Amilose de Batata 0,04 % (ml)	Ácido acético 1 N (ml)	Solução de iodo 0,0001 N (ml)
1	1	0,2	0,4
2	2	0,4	0,8
3	3	0,6	1,2
4	4	0,8	1,6
5	5	1,0	2,0
6	6	1,2	2,4
7	7	1,4	2,8
8	8	1,6	3,2
9	9	1,8	3,6
10	10	2,0	4,0

Preparo do branco:

Tomou-se um balão de 100mL e adicionou-se 1ml de etanol (96 %) e 9ml de NaOH (1N) e 2ml de iodo. Completou-se o volume com água destilada e deixou-se repousar por 30 minutos

Preparo da Amostra:

A amostra de amido de amarantho foi embrulhada em papel de filtro e mergulhada em solução de hexano por 3 dias na geladeira, para que se desengordurasse. Da amostra desengordurada de amido pesou-se 0,1g, em triplicata, que foi colocado em balão volumétrico de 100ml.

Adicionou-se lentamente (para evitar a formação de grumos) 1ml de etanol (95%), agitando-se o balão para que ele entrasse em contato com todos os grânulos das amostras e então se adicionou 9ml de hidróxido de sódio (1N). Aqueceu-se em banho térmico a 100°C, durante 10 minutos, para gelatinizar o amido. Da mesma forma que a amostra padrão,

deixou-se esfriar por 30 minutos, lavou-se as paredes dos balões e completou-se até o volume de 100ml com água destilada.

Pipetou-se 5ml da solução obtida para um outro balão volumétrico, adicionou-se 1ml de ácido acético e agitou-se. Juntou-se então 2ml de solução de iodo e completou-se o volume de 100ml com água destilada. Homogeneizou-se a suspensão e deixou-se em repouso por 30 minutos.

2. Preparo das amostras para visualização no SEM.

Após o preparo, as amostras foram cortadas em pequenos pedaços de 2mm³ e fixados em glutaraldeído GTA 2% em tampão cacodilato de Na 0.1 M (pH=7,2) por 2 horas. Depois de decorrido o tempo de fixação, as amostras foram lavadas por 3 vezes consecutivas em tampão cacodilato Na 0,1M por 10 minutos. Sendo então colocadas no fixador tetróxido de ósmio 2% com tampão cacodilato de Na 0,2M (ph=7,2) por 2 horas. As amostras foram lavadas novamente, por 3 vezes consecutivas em tampão cacodilato Na 0,1M por 10 minutos. Após, os géis foram deixados em “overnight” no tampão cacodilato Na 0,1M (pH =7,2).

No dia seguinte, foram feitas as etapas de desidratação:

- Desidratação em etanol 30% por 15 min.
- Desidratação em etanol 50% por 15 min.
- Desidratação em etanol 70% por 15 min.
- Desidratação em etanol 90% por 15 min.
- Desidratação em etanol 100% por 15 min (3 vezes).

Ao final da desidratação, a amostra é levada a condição de ponto crítico do etanol (temperatura de 37 °C e pressão de aproximadamente 70 bar), esta etapa é realizada no equipamento “Critical Point Dehydration”- CPD modelo 030 marca Balzers para evitar o

colapso da superfície. Como os géis eram muito delicados, antes de introduzi-los no cesto do equipamento, as amostras foram armazenadas em bolsas produzidas com papel utilizado na limpeza de lentes de microscópio que não soltam fibras e não interferem nas imagens finais (KITAJIMA, et al.,1999).

Após o ponto crítico, as amostras foram fraturadas e montadas nos “stubs” com carbono e esmalte sob o calor de uma placa de aquecimento por 30 min e pulverizadas com ouro no “Sputter Coater”, marca BALZERS, modelo SCD050 pro 200 s/ 40 mA. Após, as imagens foram visualizadas no microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-5800LV - Japan.

Esta técnica foi eficiente para as amostras auto-sustentáveis , as restantes se perdiam durante as etapas, sendo necessário desenvolver outras técnicas. Várias tentativas foram realizadas variando tempo de fixação e a concentração dos reagentes, não obtendo, novamente, resultados satisfatórios. Optou-se por usar a microfiltração após cada etapa, sedimentando as amostras no fundo do “ependorf”. Este método foi o mais eficiente, tomando se o cuidado de não centrifugar nas etapas de fixação, na tentativa de diminuir, ao máximo, a interferência da centrifugação nas interações da rede.

3. Preparo das amostras para visualização no TEM.

As etapas de preparação para a microscopia de eletrônica de transmissão é idêntica a da microscopia eletrônica de varredura até a etapa de desidratação, após, as amostras desidratadas foram imersas em óxido de propileno e etanol 100% por 20 minutos e posteriormente imersas em óxido de propileno puro por 20 minutos.

Em seguida, foi feita a inclusão em:

- Óxido de propilano + resina (2:1) por uma hora.

- Óxido de propilano + resina (1:1) por uma hora.
- Óxido de propilano + resina (1:2) por uma hora.
- Resina pura

Após a inclusão em resina pura, as amostras são deixadas durante aproximadamente 12 horas com mistura suave (em rotor) a temperatura ambiente. No dia seguinte, foi realizada a inclusão em molde com resina pura por 72 horas em estufa a 60°C.

Após as 72 horas, verificou-se a eficiente polarização da resina, iniciando a etapa de trimagem (preparação de amostras para corte) e realizando os cortes semi finos e finos.

Foi realizado, posteriormente, a coloração dos cortes, onde cada grade foi imersa em acetato de uranila por 10 minutos, sofrendo posterior lavagem com água ultra filtrada por 60 segundos e secas em papel filtro.

Após, as grades foram imersas em citrato de chumbo (feitas em câmara com NaOH) por mais 10 minutos e lavadas com água destilada por 60 segundos cada uma e secas no papel filtro.

As imagens foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura, marca LEO (Eletronical Microscopy Ltda – Inglaterra) modelo 906 (40 100KV).