

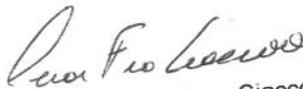
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**Estudo da Utilização de Amido de Milho Ceroso  
Hidrolisado por Alfa-amilase como Substituto de Gordura  
em Bolos**  
Tese de mestrado

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Geórgia Alvares de Castro, aprovada pela Comissão Julgadora em 03 de maio de 2000.

Campinas, 03 de maio de 2000.

  
Prof. Dr. Cesar Francisco Ciacco  
Presidente da Banca

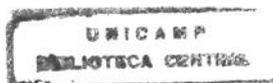
**Geórgia Alvares de Castro**  
Engenheira de Alimentos

**Prof. Dr. César F. Ciacco**  
Orientador

**Profa. Dra. Célia Landi Franco**  
Co-orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

Campinas – SP  
2000



00003213

JNIDADE BC  
N.º CHAMADA: T/UNICAMP  
C279e  
V. \_\_\_\_\_ Ex. \_\_\_\_\_  
TOMBO BC/ 41411  
PROC. 278/00  
C  D   
PREÇO 2511,00  
DATA 07-07-00  
N.º CPD \_\_\_\_\_

CM-00142382-5

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

C279e Castro, Geórgia Alvares de  
Estudo da utilização de amido de milho ceroso hidrolisado por  
alfa-amilase como substituto de gordura em bolos / Geórgia  
Alvares de Castro. – Campinas, SP: [s.n.], 2000.

Orientador: César Francisco Ciacco  
Co-orientador: Célia Landi Franco  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de  
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

I.Amido. 2.Gordura. 4.Bolos. I.Ciacco, César Francisco.  
II.Franco, Célia Landi. III.Universidade Estadual de  
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV.Título.

## BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. César F. Ciacco  
(orientador)

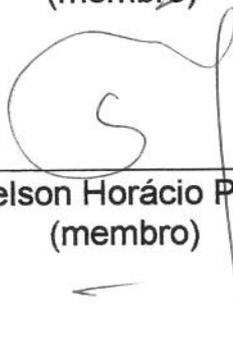
---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Glaucia M. Pastore  
(membro)



---

Prof. Dr. Carlos R. F. Grosso  
(membro)



---

Prof. Dr. Nelson Horácio Pezoa Garcia  
(membro)

Campinas, de maio de 2000.

Dedico  
Ao meu esposo, José Roberto  
Aos meus pais, Wander e Conceição

## AGRADECIMENTOS

À Deus e à minha família.

Ao Professor César F. Ciacco, pela orientação, apoio, compreensão, confiança, incentivo e amizade.

À Professora Célia Landi Franco, pela orientação, pelo apoio, confiança.

Aos Professores Carlos Grosso, Débora Q. Tavares, Glaucia Pastore, Hélia Harumi Sato, Isabel Rodrigues, Maria Aparecida, Yoon Kil Chang pelo apoio, incentivo e colaboração.

Aos Professores Nelson Horácio Pezoa-Garcia, Hillary Menezes e a toda Comissão de Pós-graduação da FEA- DTA, por ter acreditado no êxito e finalização deste trabalho.

Aos meus colegas do laboratório de cereais: Manuel, Martha, Manoel, Cida, André, Luís, Leonar, Francly, pelo apoio, colaboração e amizade.

À Kelly, Sr. Zé, Sr. Nilo e a todos os amigos do laboratório de cereais, pela colaboração, apoio e amizade.

Aos colegas e funcionários da Faculdade de Engenharia de Alimentos Nely, Henelyta, Fátima, Viviane, Creuza, Ana Maria, Ana Lourdes, Waldecy, Angela, Yara, Aninha, pela amizade e colaboração.

Ao Centro Pluridisciplinar de Pesquisa Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), nas pessoas do Professor Gil Serra, Alexandre Bonezzi e Marili Rodrigues, pela colaboração na realização das análises cromatográficas dos amidos, pelo apoio e amizade.

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da UNESP- São José do Rio Preto, pela colaboração neste trabalho.

À Faculdade de Química da UNICAMP, pelas análises realizadas.

Ao Instituto Agronômico de Campinas, por ter cedido recursos para este trabalho.

À NOVO NORDISK, pelo fornecimento da enzima alfa-amilase.

À Refinações de Milho Brasil, pelo fornecimento da matéria prima.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade Estadual de Campinas e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar o curso.

À Leiner Davis Gelatin (Brasil), por ter colaborado para finalização deste trabalho.

Aos colegas da Leiner Davis Gelatin (Brasil), que colaboraram para finalização deste trabalho, José Wagner, Adejar, Cristina, Andrea, Joel e Célia.

Aos meus tios Wagner e Leca, pelo apoio que me deram em Campinas, pelo carinho e amizade.

Às minhas irmãs Vanessa e Carine, pelo incentivo, apoio, amizade e força. Pelo que representam e são para mim, pelo "exemplo de vida" que são.

À minha amiga Flávia, por ter sempre acreditado em mim.

Aos meus pais Wander e Conceição, por estarem sempre ao meu lado, mantendo a Fé no êxito e finalização deste trabalho. Por tudo que me passaram durante estes anos, através de seus atos.

Ao meu marido José Roberto, por sua dedicação. Por estar sempre comigo, transmitindo força, e me ajudando em todas as etapas deste trabalho. Por sua certeza na finalização deste trabalho, por tudo.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Mais uma vez à DEUS, por seu infinito Amor por mim.

## ÍNDICE

	Pag
Lista de Tabelas.....	vii
Lista de Figuras.....	xii
Resumo.....	xvii
Summary.....	xx
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivos	3
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
2.1. Substituição de Gorduras em Alimentos	4
2.2. Amido	7
2.2.1. Estrutura Molecular	7
2.2.1.1. Composição	7
2.2.1.2. Amilose	9
2.2.1.3. Amilopectina	10
2.2.2. Estrutura do Grânulo	14
2.2.3. Propriedades do Amido	17
2.2.3.1. Gelatinização do grânulo de amido	17

2.2.3.2. Retrogradação	20
<b>2.2.4. Amido Modificado</b>	<b>22</b>
2.2.4.1. Tratamento enzimático	23
2.2.4.1.1. Propriedades funcionais do amido	26
2.2.4.2. Tratamento hidrotérmico	29
2.2.4.2.1. Propriedades funcionais do amido	31
<b>2.2.5. O Uso do Amido como Substituto de Gorduras</b>	<b>34</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>42</b>
<b>3.1. Material</b>	<b>42</b>
3.1.1. Matérias Primas	42
3.1.2. Reagentes Químicos	42
3.1.3. Equipamentos e Aparelhos	42
<b>3.2. Métodos</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1. Composição Centesimal da Matéria Prima</b>	<b>45</b>
3.2.1.1. Umidade	45
3.2.1.2. Proteína	45
3.2.1.3. Gordura	45
3.2.1.4. Cinzas	45

<b>3.2.2. Modificações no Grânulo de Amido</b>	<b>46</b>
3.2.2.1. Tratamento enzimático	46
3.2.2.1.1. Hidrólise do amido de milho ceroso	46
3.2.2.2. Tratamento hidrotérmico com umidade conhecida	47
3.2.2.2.1. Condicionamento do amido hidrolisado	47
3.2.2.2.2. Tratamento hidrotérmico do amido hidrolisado	47
<b>3.2.3. Efeitos dos Amidos Modificados no Bolo</b>	<b>48</b>
3.2.3.1. Bolos utilizando amido tratado	48
3.2.3.2. Parâmetros de qualidade de bolo	50
3.2.3.2.1. Gravidade específica da massa	50
3.2.3.2.2. Volume específico	51
3.2.3.2.3. Análise de perfil de textura – T.P.A.	52
3.2.3.2.4. Cor	53
3.2.3.2.5. Avaliação de notas de textura	53
3.2.3.3. Substituição de gordura por amido modificado	54
<b>3.2.4. Caracterização Físico-Química dos Amidos Tratados</b>	<b>59</b>
3.2.4.1. Capacidade de absorção de água	59
3.2.4.2. Determinação de cristalinidade por Raio-x	61

3.2.4.3. Microscopia óptica	61
3.2.4.4. Propriedades de pasta	61
3.2.4.5. Temperatura de gelatinização	64
3.2.4.6. Viscosidade intrínseca	64
3.2.4.7. Tamanho dos grânulos de amido	64
3.2.4.8. Determinação de amilose	65
3.2.4.9. Determinação da força do gel	65
3.2.4.10. Análise de estrutura fina do grânulo de amido	65
3.2.4.10.1. Preparação das enzimas pululanase/ $\beta$ -amilase	67
3.2.4.10.2. Hidrólise com a enzima pululanase (P1)	68
3.2.4.10.3. Hidrólise com $\beta$ -amilase ( $\beta$ 1)	68
3.2.4.10.4. Ação das $\beta$ -limite dextrinas ( $\beta$ 1P1)	69
3.2.4.10.5. Hidrólise das $\beta$ -limite dextrinas por $\beta$ -amilase	69
3.2.4.10.6. Hidrólise do amido desramificado pela $\beta$ amilase	70
3.2.4.10.7. Distribuição de DP nos derivados de amido	70

<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>72</b>
<b>4.1. Características das Matérias-Primas</b>	<b>72</b>
4.1.1. Composição Centesimal	72
4.1.2. Propriedades de Pasta da Matéria-Prima	72
<b>4.2. Modificações do Grânulo de Amido</b>	<b>76</b>
4.2.1. Tratamento Enzimático	76
<b>4.3. Efeito dos Amidos Modificados no Bolo</b>	<b>77</b>
4.3.1. Efeito do Tempo de Hidrólise e Porcentagem de Substituição da Gordura nas Características de Qualidade do Bolo	77
4.3.2. Efeito das Variações das Quantidades de Amido e de Gordura nas Características de Qualidade do Bolo	86
4.3.3. Efeito das Variáveis do Tratamento Hidrotérmico (porcentagem de umidade e tempo de descanso) nas Propriedades do Amido como Substituinte de Gordura	117
<b>4.4. Caracterização Físico-Química dos Amidos</b>	
<b>Tratados Enzimaticamente e/ou Hidrotermicamente</b>	<b>131</b>
4.4.1. Capacidade de Absorção de Água	131

4.4.2. Cristalinidade por Raio-x	134
4.4.3. Microscopia Óptica	142
4.4.4. Propriedades de Pasta	150
4.4.5. Temperatura de Gelatinização	152
4.4.6. Viscosidade Intrínseca	156
4.4.7. Tamanho do Grânulo de Amido	159
4.4.8. Teor de Amilose	162
4.4.9. Força do Gel	162
4.4.10. Estrutura Fina do Grânulo de Amido	165
<b>5. CONCLUSÕES</b>	<b>172</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>175</b>
<b>APÊNDICE 1</b>	<b>189</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação do bolo	49
Tabela 2. Delineamento estatístico com valores codificados	55
Tabela 3. O efeito do tempo de hidrólise do amido de milho ceroso e porcentagem de substituição nas propriedades do bolo	57
Tabela 4. O efeito das porcentagens de amido modificado e gordura nas propriedades do bolo	58
Tabela 5. O efeito da porcentagem de umidade e tempo de descanso nas propriedades do bolo	60
Tabela 6. Parâmetros usados na determinação das propriedades de pasta	63
Tabela 7. Composição centesimal do amido de milho ceroso	73
Tabela 8. Características amilográficas do amido de milho ceroso	74
Tabela 9. Tempos de hidrólise do amido de milho ceroso e as correspondentes porcentagens de hidrólise e residual de amido	77

Tabela 10. Efeito dos diferentes tempos de hidrólise e porcentagens de substituição de gordura em relação ao volume específico e notas de textura	81
Tabela 11. O efeito do tempo de hidrólise e porcentagem de substituição de gordura em relação ao volume específico	82
Tabela 12. Avaliação de notas de textura	86
Tabela 13. Efeito das diferentes combinações de amido e gordura nas características de qualidade do bolo	88
Tabela 14. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação ao volume específico	89
Tabela 15. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação ao volume específico	91
Tabela 16. O efeito das diferentes combinações de porcentagens de amido e gordura nas características de textura do bolo	93
Tabela 17. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação à dureza	94
Tabela 18. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à dureza	95

Tabela 19. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação à adesividade	100
Tabela 20. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à adesividade	102
Tabela 21. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação à coesividade	104
Tabela 22. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à coesividade	106
Tabela 23. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação à elasticidade	109
Tabela 24. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à elasticidade	111
Tabela 25. Avaliação de notas de textura para a relação das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura	115
Tabela 26. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso nas características de qualidade do bolo	118

Tabela 27. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso em relação ao volume específico	120
Tabela 28. A correlação das porcentagem de umidade e tempo de descanso em relação ao volume específico	121
Tabela 29. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso em relação à gravidade específica	124
Tabela 30. A correlação das porcentagem de umidade e tempo de descanso em relação à gravidade específica	127
Tabela 31. Avaliação de notas de textura	130
Tabela 32. Índice de solubilidade em água e absorção dos amidos estudados	132
Tabela 33. Porcentagens de área cristalina e amorfa dos amidos	140
Tabela 34. Parâmetros viscoamilográficos dos amidos hidrolisados e submetidos ou não ao tratamento térmico	151
Tabela 35. Faixas de temperatura de gelatinização e suas respectivas entalpias	153

Tabela 36. Viscosidade intrínseca dos amidos	157
Tabela 37. Distribuição de tamanho dos grânulos de amido hidrolisados submetidos ou não a tratamento térmico	160
Tabela 38. Teor de amilose	163
Tabela 39. Força do gel	164
Tabela 40. Distribuição do grau de polimerização do amido sem tratamento	166
Tabela 41. Distribuição do grau de polimerização do amido hidrolisado por 30 horas	168
Tabela 42. Distribuição do grau de polimerização do amido hidrolisado por 30 horas e trado hidrotermicamente	171

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo proposto para amilopectina (GALLANT et al, 1997)	13
Figura 2. Modelo proposto para estrutura do grânulo de amido (GALLANT et al, 1997)	18
Figura 3. Método enzimático utilizado para o estudo da estrutura fina do amido de milho ceroso	66
Figura 4. Viscoamilograma do amido de milho ceroso sem tratamento	75
Figura 5. Porcentagem de hidrólise do amido de milho ceroso em função do tempo de hidrólise	79
Figura 6. Residual do amido em função do tempo de hidrólise	80
Figura 7. Efeito da substituição de gordura/ tempo de hidrólise no volume específico avaliado por superfície de resposta (SR)	85
Figura 8. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura no volume específico avaliado por SR	92

Figura 9. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura com dureza, avaliado por SR	97
Figura 10. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura com adesividade avaliado por SR	103
Figura 11. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura com coesividade avaliado por SR	107
Figura 12. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura com elasticidade avaliado por SR	112
Figura 13. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso com volume específico avaliado por SR	122
Figura 14. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso com gravidade específica avaliado por SR	125

Figura 15. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso com cor da crosta do bolo avaliado por SR	129
Figura 16. Índice de solubilidade em água e absorção dos amidos estudados	133
Figura 17. Difractograma do amido de milho ceroso sem tratamento	135
Figura 18. Difractograma do amido de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 20 horas	136
Figura 19. Difractograma do amido de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas	137
Figura 20. Difractograma do amido de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 40 horas	138
Figura 21. Difractograma do amido de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas e submetido ao tratamento hidrotérmico	139
Figura 22. Microscopia óptica dos grânulos de amido sem tratamento	143
Figura 23. Microscopia óptica dos grânulos de amido hidrolisados por 30 horas e submetido ao tratamento hidrotérmico	145

Figura 24. Microscopia óptica dos grânulos de amido hidrolisados por 40 horas	147
Figura 25. Microscopia óptica dos grânulos de amido hidrolisados por 30 horas	148
Figura 26. Microscopia óptica dos grânulos de amido hidrolisados por 20 horas	149
Figura 27. Análise Térmica	
(a) amido hidrolisado por 30 horas e submetido ao tratamento hidrotérmico	154
(b) Análise térmica do amido de milho ceroso hidrolisado por 40 horas	154
(c) Análise térmica do amido de milho ceroso hidrolisado por 30 horas	154
(d) Análise térmica do amido de milho ceroso hidrolisado por 20 horas	154
(e) Análise térmica do amido de milho ceroso sem tratamento	154

Figura 28. Distribuição do tamanho dos grânulos de amido de milho ceroso tratados com alfa-amilase e/ou hidrotêrmicamente. 161

**APÊNDICE 1 – Distribuição do grau de polimerização (DP) dos amidos: sem tratamento, aquele hidrolisado por 30 horas com alfa-amilase e aquele que após hidrólise por 30 horas foi submetido ao tratamento hidrotérmico, sob diferentes tratamentos P1, P1 $\beta$ 1,  $\beta$ 1,  $\beta$ 1P1,  $\beta$ 1P1 $\beta$ 2. 189**

## RESUMO

O desenvolvimento de produtos pouco calóricos, como os derivados de amido utilizados em alguns produtos como substitutos parciais de gordura, ganhou grande impulso há alguns anos em decorrência de estudos identificando os efeitos do consumo excessivo de gordura na saúde humana.

Durante os últimos anos, vários derivados de amido foram desenvolvidos e tem sido utilizados como substitutos parciais das gorduras. Esses compostos são geralmente obtidos por hidrólise parcial do amido e são usados em molhos para saladas, produtos de panificação, sobremesas congeladas e maioneses.

Este estudo teve como objetivo investigar as propriedades tecnológicas, de derivados de amido de milho ceroso obtidos por hidrólise parcial do amido original, submetido ou não ao tratamento hidrotérmico, como substituinte de gordura em bolos. Paralelamente, a estrutura molecular dos derivados obtidos foi caracterizada.

O amido de milho ceroso hidrolisado por alfa-amilase por 30 horas apresentou melhores características de substituto de gordura em bolos que aqueles hidrolisados por 20 e 40 horas. Os melhores resultados foram obtidos quando a gordura foi substituída em 15,86% (em relação a gordura total). Nesta porcentagem, o amido tratado hidrotermicamente apresentou melhores características de textura que aqueles somente hidrolisados.

Análises físico-químicas dos amidos hidrolisados com alfa-amilase por diferentes tempos mostraram que a hidrólise tem efeito no índice de absorção e solubilidade em água. Não foram observadas variações nos

cristalogramas dos vários amidos, todos apresentando padrão A de cristalinidade. Entretanto, comparando o amido “sem tratamento” com os amidos hidrolisados e tratados termicamente houve um decréscimo na porcentagem de área cristalina.

A hidrólise do amido ceroso de milho provocou um sensível decréscimo na viscosidade máxima. Por outro lado, o tratamento hidrotérmico seguido de descanso provocou um aumento na viscosidade máxima, indicando reordenação na estrutura, com possível formação de uma rede. A hidrólise também provocou diminuição na tendência à retrogradação, contrariamente ao tratamento hidrotérmico seguido de descanso.

A viscosidade intrínseca decresceu com o tratamento enzimático. Entretanto, entre os hidrolisados o obtido com 30 horas de hidrólise teve viscosidade intrínseca maior que os obtidos com 20 e 40 horas.

A distribuição dos grânulos do derivado obtido após 30 horas de hidrólise foi mais dispersa do que a dos amidos, obtidos com 20 e 40 horas de hidrólise. As hidrólises por 20 e 40 horas apresentaram cerca de 83% e 56% dos grânulos com diâmetro entre 10-20 $\mu$ m, respectivamente. O derivado obtido após 30 horas de hidrólise apresentou 2 populações majoritárias, uma com 53% dos grânulos com 5-15 $\mu$ m e outra com cerca de 40% dos grânulos com diâmetro de 15 a 25 $\mu$ m. O tratamento hidrotérmico elevou a concentração de grânulos com 5 a 15 $\mu$ m, cerca de 79% dos grânulos.

A análise da estrutura fina dos derivados obtido após 30 horas de hidrólise com e sem tratamento hidrotérmico revelou que a hidrólise com alfa-amilase por 30 horas produziu polímeros com diferentes DPs (grau de polimerização). Por outro lado o tratamento hidrotérmico reduziu a distribuição desses polímeros, concentrando-os em polímeros com DPs de

60, 15, 11 e 9. O desaparecimento da fração com DP igual a 60, sugeriu que o tratamento hidrotérmico alterou a estrutura que mantinha essa fração inacessível à hidrólise.

A comparação entre os resultados obtidos no estudo sobre substituição de gordura com aqueles sobre propriedades físico-química dos derivados de amido sugere que as características de substituto de gordura estão relacionadas com a absorção de água, viscosidade intrínseca e distribuição do tamanho dos grânulos.

## SUMMARY

The development of low calorie products, as starch derivatives that have being used in some products as partial fat replacers, gained importance some years ago due to some studies, which identified the high fat consumption effect in human healthy.

During last years, many starch derivatives were developed and used as partial fat replacers. These compounds are usually obtained through partial hydrolysis and have being used in salad dressing, baking products, frozen desserts and mayonnaise.

The main goal of this study was to investigate the technological properties, of waxy corn starch derivatives in cakes, which were obtained through partial hydrolysis of original starch treated or not hydrothermically. In addition, the molecular structure of starch derivatives were identified.

The waxy corn starch hydrolysed by  $\alpha$ -amylases for 30 hours presented the best characteristics as fat replacer in cakes than starch derivatives hydrolysed for 20 and 40 hours. The best results were obtained when the fat was replaced by 15.86%. The waxy corn starch hydrolysed for 30 hours and treated hydrothermically with different moisture content and resting time, before drying, furnished starch derivatives which presented the best texture characteristics when replaced fat in cakes.

The physico-chemical analysis of waxy corn starches hydrolysed with  $\alpha$ -amylases for different times showed that the hydrolysis has a great effect in absorption and water solubility indexes. It was not observed any difference in cristalograms for different starches, all presented A-type for cristalinity. On the other hand, comparing the "sem tratamento" starch with

starches hydrolysed and treated hydrothermally, presented decrease in cristal area percentage.

The hydrolysis of waxy corn starch promoted a great decrease in maximum viscosity. On the other hand, the hydrothermal treatment followed by resting time promoted increase in maximum viscosity, which means a restructuration in the starch granule structure, with probable net formation. The hydrolysis also promoted decrease in retrogradation tendency, on the contrary starch treated hydrothermally followed by resting time.

The intrinsic viscosity decreased with the enzymatic treatment. Among the starch derivatives, the starch hydrolysed for 30 hours presented higher intrinsic viscosity than starches hydrolysed for 20 and 40 hours.

The starch granule size distribution was more disperse for starch hydrolysed for 30 hours than starches hydrolysed for 20 and 40 hours. The starch hydrolysed for 20 hours presented around 83% of the granules with 10-20 $\mu\text{m}$  diameter, while the starch hydrolysed for 40 hours presented 56% for this same range. The starch derivatives obtained after 30 hours of hydrolysis presented two major populations, one with 53% of granules from 5 to 15 $\mu\text{m}$  diameter range, and another with 40% of granules from 15 to 25 $\mu\text{m}$  diameter range. The hydrothermal treatment led this concentration to 79% for granules from 5 to 15  $\mu\text{m}$  diameter.

The fine structure analysis through gel permeation chromatography of starches treated or did not with hydrothermally showed that  $\alpha$ -amylases for 30 hours produced polymers with different polymerisation degree (DP). On the other hand, the hydrothermal treatment promoted decrease in these polymer distribution, concentrating in DPs 60, 15, 11 and 9. The DP60 fraction disappeared gave an idea that the hydrothermal treatment altered

the structure which has made this fraction to be inaccessible to the hydrolysis.

Comparing the studies about fat substitution with physico-chemical analysis of starch derivatives, it gave suggestion that the fat replacer characteristics are correlated with water absorption, intrinsic viscosity and starch granules size distribution.

## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de produtos com baixas calorias, derivados de amido e utilizados em alguns produtos como substitutos parciais da gordura, ganhou grande impulso há alguns anos, contribuíram para esse interesse os estudos que identificaram o excessivo consumo de gordura, os efeitos destes compostos na saúde humana e a atitude do consumidor em relação a presença de gordura na dieta.

Durante os últimos anos, vários derivados de amido foram desenvolvidos e utilizados como substitutos parciais das gorduras em alguns produtos. Esses compostos são geralmente obtidos por hidrólise parcial do amido, sendo usados, principalmente, em molhos para saladas, sorvetes, sobremesas congeladas, e maioneses (FAT substitute..., 1990).

Cerca de 37% das calorias ingeridas pelos americanos são provenientes das gorduras acima, portanto, do limite de 30% normalmente recomendado AKOH (1995).

Estudos conduzidos por BRUHN *et al.* (1992), por outro lado, mostraram que os consumidores tem a tendência de diminuir o consumo de alimentos com alto teor de gordura e evidenciaram o apelo das propriedades sensoriais conferidas por esses compostos.

Estudos recentes conduzidos por HARRIS & DAY (1993) sobre a relação entre a estrutura de um dos derivados do amido e sua ação como substituinte parcial de gorduras, mostraram que as propriedades físicas desenvolvidas durante a agitação em água são responsáveis pelas características semelhantes às da gordura. De acordo com estes autores, o

derivado formado pela hidrólise parcial do amido ceroso, é constituído de amilodextrinas que se apresentam em dispersão aquosa como microcristais, menores que 1  $\mu\text{m}$ , que imobilizam água na sua superfície. A estrutura envolvendo esses microcristais com moléculas da água na sua superfície, confere ao sistema propriedades semelhantes àquelas observadas com uma dispersão de cristais de gordura em água, particularmente no que se refere à propriedades “lubrificantes”.

A estrutura de derivados do amido de milho ceroso obtidos através da hidrólise enzimática foi estudada por FRANCO *et al.* (1988). Segundo esses pesquisadores, a hidrólise com alfa-amilase ocorre nas zonas amorfas do grânulo produzindo resíduos cristalinos. Análise da estrutura fina mostrou que esses cristais são formados por polímeros ramificados com grau de polimerização (DP) de 25 a 11 resíduos de glicose.

Posteriormente, FRANCO *et al.* (1995) mostraram que o tratamento térmico de dispersões de amido com diferentes teores de água produzia, após resfriamento, um aumento na cristalinidade do grânulo, sugerindo um rearranjo das moléculas no interior do grânulo.

Os estudos de FRANCO *et al.* (1988) em conjunção com aqueles de HARRIS & DAY (1993) sugerem ser possível, através da hidrólise enzimática do grânulo de amido, associada com tratamento hidrotérmico, obter produtos com propriedades tecnológicas semelhantes àquelas conferidas por dispersões de gordura em água (FRANCO *et al.*, 1995).

Este trabalho objetivou, estudar os resíduos de grânulos de amido de milho ceroso, obtidos por hidrólise enzimática, submetidos ou não à tratamento hidrotérmico, quanto as suas propriedades tecnológicas.

Paralelamente, foram conduzidos estudos para caracterizar a estrutura molecular dos derivados obtidos, esperando relacionar estas com as propriedades tecnológicas.

### 1.1. OBJETIVOS

- Estudar os resíduos de grânulo de amido ceroso, obtidos por hidrólise enzimática, submetidos ou não a tratamento hidrotérmico e enzimático, quanto as suas propriedades tecnológicas;
- Caracterizar a estrutura molecular dos derivados obtidos de amido de milho ceroso pela hidrólise enzimática e tratamento hidrotérmico;
- Relacionar a estrutura do amido derivado com as suas propriedades funcionais apresentadas por gorduras.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. SUBSTITUIÇÃO DE GORDURAS EM ALIMENTOS

O desenvolvimento de produtos com baixas calorias, derivados de amido e utilizados em alguns produtos como substitutos parciais da gordura, ganhou grande impulso há alguns anos. Contribuíram para esse interesse os estudos que identificaram o excessivo consumo de gordura; os efeitos destes compostos na saúde humana e a atitude do consumidor em relação a presença de gordura na dieta.

Além desses aspectos, o sabor, a segurança relativa à saúde e nutrição são os aspectos que devem ser considerados na seleção do que escolher para comer. A esse respeito, pesquisa feita na Califórnia – USA mostra que setenta e oito por cento das pessoas, evitam certos alimentos devido ao seu conteúdo nutricional. Em relação ao conteúdo nutricional, entre os compostos que trazem mais preocupação as pessoas situam-se as gordura, o colesterol, e as gorduras saturadas e insaturadas. Entretanto, somente um terço da população já teria ouvido falar sobre substituintes de gordura. A pesquisa também mostra que a metade das pessoas entrevistadas está disposta a pagar um pouco mais para adquirir um produto com um teor mais baixo de gordura, contanto que as características sensoriais não sejam prejudicadas (BRUHN *et al.*, 1992).

Gorduras e óleos representam 38% do total de calorias da dieta que a população ocidental consome. Os substituintes de gordura atualmente encontrados no mercado não possuem a capacidade de substituir totalmente a gordura, em uma proporção direta, 1:1 (g:g) (AKOH, 1995).

Mais de 50% dos adultos nos Estados Unidos da América tem aumentado o risco de doenças cardiovasculares, devido ao alto índice de colesterol ingerido, de acordo com National Cholesterol Education Program. Os americanos consomem cerca de 37% de suas calorias proveniente da gordura, quando o nível máximo recomendado pelos especialistas em nutrição é de 30%. Segundo INGLETT & GRISAMORE (1991), ALEXANDER (1995) é possível com a utilização de substitutos de gordura, reduzir as calorias dos produtos em até 90%.

De acordo com "Calorie Control Council" quatro de cinco americanos consumiram produtos de baixa caloria, com teor reduzido de gordura em alimentos e bebidas em 1992. Pelo menos metade destes consumidores consomem atualmente estes produtos de baixo teor calórico, que apresentam baixa aceitação entre os consumidores. Também foi catalogado que 519 novos produtos com baixo teor de gordura e colesterol foram introduzidos no mercado neste ano, 39% a mais que no ano anterior. Esta estatística, sugere que o mercado de substituintes de gordura está em expansão (ALEXANDER, 1995). Por outro lado, estes produtos tem que apresentar alta cremosidade, um sabor atraente e bastante satisfatório (YACKEL & COX, 1992).

A tendência de redução de calorias, por razões médicas e de saúde, tem levado os tecnólogos de alimentos a pesquisar substitutos de gordura que ofereçam propriedades sensoriais e funcionais bem semelhantes às da gordura e com redução calórica (GETTING the fat out..., 1986).

Segundo ALEXANDER (1995), a maioria dos produtos de baixo teor de gordura introduzidos recentemente no mercado, contém substituintes de gordura à base de carboidratos.

Os substituintes de gordura se dividem em três categorias, de acordo com sua composição: a.) à base de proteínas; b.) à base de carboidratos e c.) à base de óleos e gorduras. Cada uma destas categorias tem um efeito diferenciado nos alimentos. Suas propriedades funcionais se adequam diversamente nos diferentes produtos alimentícios, assim como seus atributos sensoriais. Desta forma, para algumas aplicações é melhor que se faça a combinação de dois ou mais substituintes de gordura para se obter uma característica sensorial e funcional desejada (LUCCA & TEPPER, 1994).

Os substituintes de gordura à base de carboidratos são geralmente provenientes de amidos modificados. Existem diversas técnicas para os substituintes de gordura à base de carboidrato poderem ser adicionados aos alimentos. Em alguns casos ele pode ser adicionado na forma em pó à mistura, conjuntamente aos outros ingredientes. YACKEL & COX (1992) verificaram que as propriedades de substituição de gordura dos carboidratos resulta da associação da água com a estrutura das partículas dos carboidratos.

Hoje, existem cerca de quarenta tipos de substituintes de gordura à base de amido, a maioria deles introduzida no começo dos anos 1990. Os outros substituintes de gordura envolvendo amido e outros carboidratos, possivelmente tenham surgido do estudo de maltodextrina de batata, por volta de 1976. Este produto forma um gel termoreversível em sistemas de alimentos aquosos, produzindo uma textura e sabor normalmente encontrado em sistemas com alto teor de gordura, como maionese, molhos para saladas e outros produtos (ALEXANDER, 1995 ).

## 2.2. AMIDO

### 2.2.1. Estrutura Molecular

#### 2.2.1.1. Composição

Amido é o carboidrato de reserva da maioria dos vegetais superiores e como tal ocorre como grânulos insolúveis em água. De acordo com TRUBELL (1944), os grânulos de amido de várias fontes diferem entre si na forma e tamanho, dependendo da espécie e maturidade da planta. Segundo este autor, o amido de milho é composto de grânulos redondos e poligonais de diferentes tamanhos, cerca de 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro médio, tem o hilum centrado e é usualmente, fissurado, sem estrias. A temperatura de gelatinização varia de 62,0 a 71,5°C. SCHOCH & MAYWALD (1956) observaram que o tamanho médio para o grânulo de amido de milho comercial está ao redor de 9,2  $\mu\text{m}$ .

O amido consiste largamente, de unidades de D-glucose (DANIEL & WHISTLER, 1984). As duas principais frações do amido são amilose e amilopectina, que são polímeros polidispersos de alto peso molecular. A maioria dos amidos de fontes botânicas diversas, contém de 20 à 30 % de amilose e 70 a 80% de amilopectina. Em certas variedades de milho, sorgo, cevada e arroz referidas como "waxy" ou ceroso, o amido consiste quase que integralmente de amilopectina. Existe também, amidos com alto teor de amilose (> 50%), que são chamados de amilomilho (LINEBACK, 1984; GIDLEY & BOCIEK, 1985).

Estudos de SCHOCH (1945), GREENWOOD (1965) mostraram que a amilose consiste de longas cadeias lineares formadas por resíduos de  $\alpha$ -D-

glucopiranosose unidos entre si por ligações  $\alpha(1\rightarrow4)$ . A amilopectina é formada de pequenas frações de amilose unidas entre si através de ligação glicosídica  $\alpha-1-6$ , que são pontos de ramificação. A amilopectina tem, portanto, uma estrutura ramificada. A natureza exata desta estrutura ramificada tem sido assunto de extensivos estudos.

PREISS *et al.* (1980) mencionaram, em estudo feito sobre a biossíntese do grânulo de amido, que ainda não está claro como as enzimas presentes nas diferentes espécies botânicas sintetizam os componentes do amido, amilose e amilopectina, e como se dá a diferenciação e quantificação diferenciada destes dois componentes.

Em adição à amilose e amilopectina, alguns grânulos de amido contêm uma quantidade significativa, acima de 20%, de um terceiro polissacarídeo, o qual é geralmente referido como a fração intermediária. Esta fração contém cadeias formadas por resíduos D-glucopiranosose unidos entre si por ligações  $\alpha(1\rightarrow4)$ , com comprimento médio das cadeias e número destas cadeias por molécula diferentes daqueles encontrados na amilose e na amilopectina. Este componente do grânulo de amido tem sido descrito como "amilopectina anômala" ou "amilose anômala". Quimicamente, esta fração contém os mesmos tipos de ligações glicosídicas que a amilose e a amilopectina possuem, mas o mecanismo pelo qual certas iso-enzimas do amido e a enzima ramificante, denominada Q-enzima, produzem esta fração e a incorpora na formação do grânulo não é bem conhecido (MANNERS, 1985). A quantidade deste material varia dependendo da fonte botânica, mas está em torno de 5-10% na maioria de amidos de cereais (LINEBACK, 1984). Segundo BILIADERIS (1991), esse material intermediário é formado por cadeias lineares com grau de polimerização

(DP) entre 50 à 200 moléculas, levemente ramificadas de baixo peso molecular ( $10^6$ ) e com comprimento de cadeia maior que da amilopectina normal.

De acordo com FRENCH (1984), as frações de amilose e amilopectina estão organizadas no grânulo de amido em zonas amorfas e cristalinas. Estas zonas aparecem alternadamente no grânulo e tem espessuras de 20 Å e 50 Å, respectivamente.

#### 2.2.1.2.. Amilose

GIDLEY & BULPIN (1989), encontraram para o comprimento da cadeia linear da amilose um valor maior que 100 unidades de glucose. Isto indicou que a amilose tem uma região helicoidal bem maior que da amilopectina. GERNAT *et al.* (1993) confirmam os trabalhos de PFANNEMÜLLER (1987), amiloses monodispersas com grau de polimerização menor que 10 não cristalizam

MANNERS (1985), menciona que amilose tem longas cadeias, com comprimento maior que 100, resíduos de D-glucose, ligados entre si por ligação glicosídica  $\alpha$ -1,4.

ROBIN *et al.* (1974) estudaram a estrutura fina do amido granular de batata. Estes autores verificaram que a fração de amilose teria uma maior susceptibilidade à degradação enzimática e que não participaria da região cristalina do grânulo. Esta estaria relacionada à fração de amilopectina, que determina a dimensão da fração cristalina.

BANKS & GREENWOOD (1966) verificaram com o uso da enzima pullulanase, que a amilose tem um certo grau de ramificação.

LEACH & SCHOCH (1961), ao estudar a susceptibilidade à ação enzimática de grânulos de amido, observaram que não havia nenhuma preferência pela fração linear ou ramificada do grânulo de amido, pois a afinidade por iodo de resíduos de amido submetidos à digestão enzimática foi a mesma que de amido padrão.

ZOBEL (1986) estudando as moléculas dos grânulos de amido estabeleceram as seguintes características para a amilose: estrutura molecular linear com ligações ( $\alpha$ -1-4); soluções aquosas diluídas instáveis e uma propriedade de formação de gel bastante diferenciada da fração de amilopectina. À 2% de amilose em água, pode-se observar a formação de gel forte e irreversível, precisando de temperatura de autoclave para reverter. Isto é devido a estrutura linear desta fração, que facilita a formação de pontes de hidrogênio, formando estruturas mais estáveis. A estrutura linear da amilose se arranja no espaço, na forma de  $\alpha$  hélice, com 6 unidades de glicose por turno. Nessa estrutura a unidade de glicose se apresenta na conformação C1, conferindo ao interior da hélice, para onde se dirigem os hidrogênios da cadeia, características hidrofóbicas responsáveis pela formação de complexos entre a amilose e ácidos graxos de cadeia linear.

#### 2.2.1.3. Amilopectina

Segundo MANNERS(1985), a estrutura principal da amilopectina foi determinada pela análise de metilação entre os anos de 1935-1940. Durante as décadas de 50 e 60, a maioria dos pesquisadores concordou com o comprimento da cadeia lateral da amilopectina de cerca de 20-25 unidades e um grau de polimerização de aproximadamente de  $10^3$ .

De acordo com MANNERS (1985), a amilopectina apresenta um grau de polimerização em torno de  $10^4$ -  $10^5$ , sendo estável em solução aquosa e apresentando cor roxa quando na presença de iodo. Estudos físico-químicos de diferentes laboratórios, mostram que amilopectinas preparadas sob condições em que não são submetidas à degradação, tem um peso molecular em torno de  $10^7$ -  $10^8$  (BANKS & GREENWOOD, 1975). Assim, se considerarmos que o comprimento da cadeia seria de 20-25, as moléculas de amilopectina teriam literalmente dezenas de milhares de cadeias, sendo impossível descrever a sua estrutura em um simples diagrama. Isto posto deve-se considerar que qualquer diagrama de amilopectina deve ser expresso como uma possível organização das cadeias constituintes de um segmento de uma grande macromolécula.

Em revisão sobre estrutura do amidoi GUNJA *et al.* (1970) observa que em 1970 WHELAN e colaboradores propunham uma revisão para o modelo da amilopectina, de MEYER.

Em 1973, FRENCH propôs um modelo alternativo, de “cluster” para explicar a alta viscosidade e outras propriedades da amilopectina e em 1974, ROBIN *et al.* propuseram um modelo de “cluster”, similar o proposto por FRENCH (1973).

O trabalho de ROBIN *et al.* (1974) consistiu em analisar os resíduos de grânulos de amido após tratamento a frio com ácido, conhecido como “lintnerização”. Através desse tratamento as camadas amorfas e semi-cristalinas são hidrolisadas pelo ácido, deixando as regiões cristalinas, mais resistentes, presentes no grânulo.

Os trabalhos de ROBIN *et al.* (1974), elucidaram definitivamente o modelo para a estrutura da amilopectina. Segundo o esquema proposto por esses pesquisadores, as cadeias laterais, onde não existem C6 comprometidos com ligações, são denominadas de cadeia A, e aquelas onde se ligam as cadeias A, através de ligação glicosídica em C6, denominadas de cadeias B, estão agrupadas formando zonas cristalinas (cachos). Esses cachos estão separados entre si por uma região estreita, designada como a área de ramificação, que apresenta características amorfas, mais susceptíveis, portanto, à hidrólise.

Posteriormente, GALLANT *et al.* (1997) incorporaram alguns pontos ao modelo de ROBIN *et al.* (1974), a saber (Figura 1):

- A presença de hélice dupla nas cadeias laterais;
- Os cachos das cadeias laterais são de tamanhos variados;
- Cada cacho de cadeia lateral pode conter entre nove e dezesseis cadeias helicoidais, com cerca de três turnos de hélice dupla cada um;
- Cadeias individuais da amilopectina podem participar de mais de um cacho, como demonstrado por HIZUKURI (1986);
- Zonas amorfas estão presentes entre lamelas cristalinas e os cachos das cadeias laterais;
- As lamelas não são retas, paralelas ou de espessura uniforme;
- Os polímeros do amido não estão necessariamente exatamente alinhados em ângulos retos à direção da lamela.

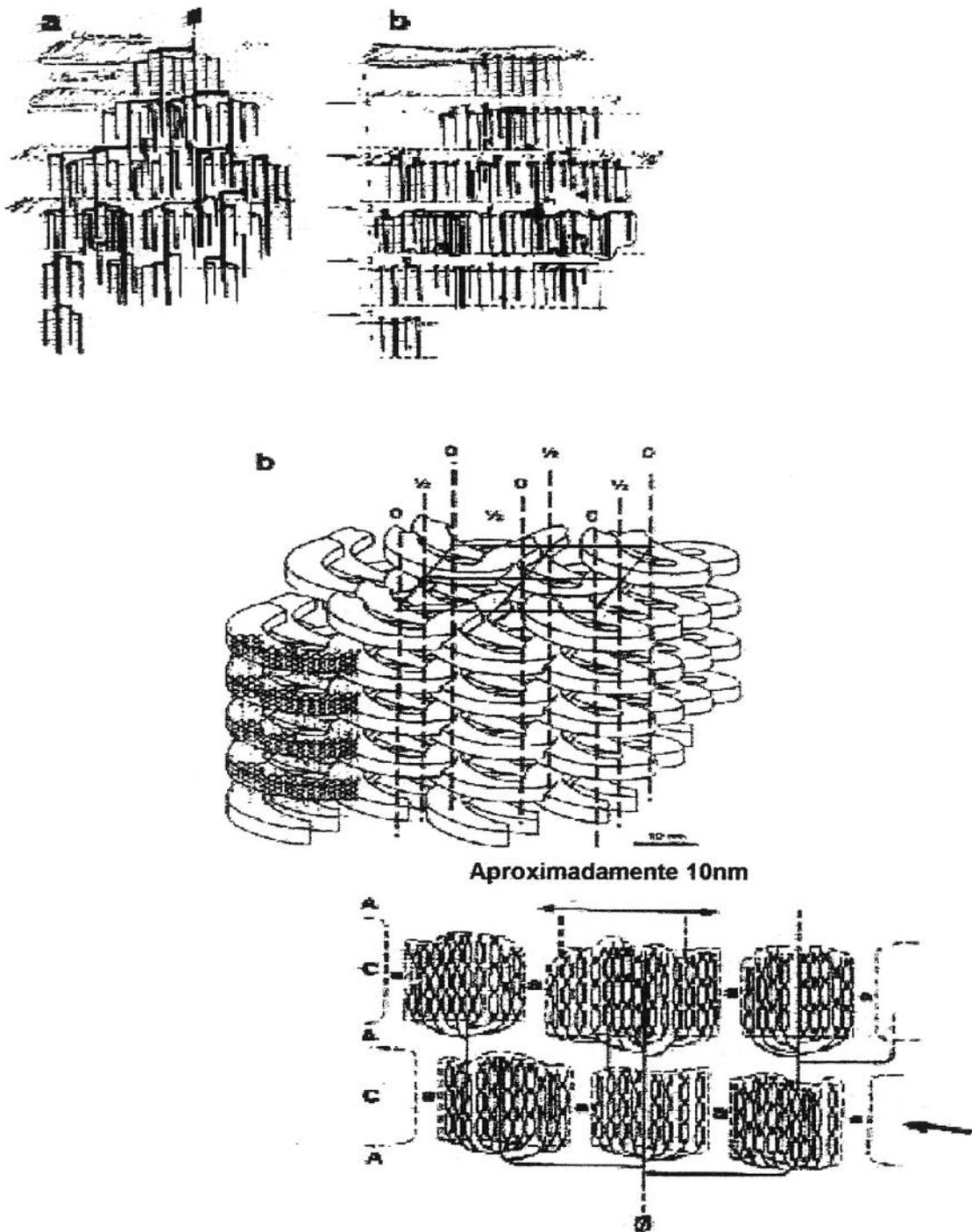


Figura 1 – Modelo proposto para a Amilopectina (GALLANT *et al.*; 1997).

### 2.2.2. Estrutura do Grânulo

De acordo com FRENCH (1984) não existe uma nítida demarcação entre as fases cristalina e amorfa de um grânulo de amido. Acredita-se, que algumas ou todas as moléculas da cadeia de amido envolvem-se, continuamente de uma fase para outra (DANIEL & WHISTLER, 1984).

Segundo FRENCH (1973), os amidos podem ser divididos em dois grandes grupos em relação à cristalinidade. Os amidos do tipo A, que incluem os amidos de cereais, tais como milho, trigo, arroz; e os do tipo B, que incluem os amidos de raízes e tubérculos como mandioca e batata.

DVONCH *et al.* (1951), sugeriram que o amido de batata poderia ser caracterizado como do tipo B e o amido de mandioca como do tipo C. FRENCH (1984) e posteriormente BILLIADERIS (1991) sugeriram que os amidos de ervilha e vários tipos de feijão são do tipo C, provavelmente uma mistura de A e B em um mesmo grânulo.

Outro padrão é o V, que é formado por complexos entre a amilose e uma variedade de moléculas orgânicas polares (ZOBEL, 1964, 1988b).

De acordo com IMBERTY *et al.* (1987), uma das conformações envolvendo baixa energia da cadeia amilolítica flexível dá origem à cadeias singulares que rapidamente formam dupla hélices rígidas. Estas duplas hélices se associam em pares e são estabilizadas por pontes de hidrogênio e por forças de Van der Waals. Finalmente, estes pares se associam para originar as estruturas A e B, dependendo do tamanho da cadeia e do conteúdo de água. A amilopectina ramificada forma facilmente duplas hélices, entretanto as zonas amorfas parecem ocorrer nos pontos de ramificação. Nos modelos tridimensionais, os cristais dos amidos A/ B são

formados por cadeias em dupla hélice (em pares) e estão dispostas em paralelo. O pareamento das duplas hélices é idêntico em ambos polimorfismos (A e B) e corresponde à interação entre duplas hélices que envolvem menos energia. As diferenças entre A e B estão no conteúdo de água e na maneira que estes pares estão dispostos, nos seus respectivos cristais. De acordo com IMBERTY *et al.* (1987) alguns aspectos da estrutura do grânulo ainda não são entendidos, como a capacidade da amilose de formar dupla hélice, a locação e o papel das moléculas de amilose na arquitetura do grânulo de amido e como todas estas informações podem ser organizadas, para o melhor entendimento da estrutura do amido granular.

FRENCH (1973), observou camadas concêntricas ao redor do “hilum”, as quais são chamados de anéis de crescimento. A região do “hilum” é geralmente menos organizada em relação ao resto do grânulo. Ainda de acordo com FRENCH (1984) os grânulos de amido sob luz polarizada aparecem como cristais esféricos, com uma cruz escura denominada de “cruz de malta”, sendo o “hilum” o ponto de intersecção dos braços escuros da cruz, que por sua vez ocorrem ao longo dos eixos médios dos índices de refração ópticos elipsóides.

ROBIN *et al.* (1974), investigaram a estrutura do grânulo de amido submetido à hidrólise ácida. De acordo com estes autores a hidrólise dos grânulos ocorre em duas etapas; a primeira com uma taxa alta de hidrólise, foi atribuída à hidrólise da região amorfa do grânulo de amido, e a segunda, com uma taxa lenta de hidrólise, à região mais organizada do grânulo. Através de hidrólises sequenciais com  $\beta$ -amilase e pululanase e posterior separação dos resíduos em coluna SEPHADEX, estes autores mostraram a existência de dois picos um com DP de 25 e outro com DP de 15. O pico

com DP igual a 25 foi identificado como sendo proveniente das ramificações da amilopectina e o com DP de 15 como de frações lineares. O resíduo com DP 15 apresentou maior resistência à hidrólise enzimática e era proveniente da parte cristalina do grânulo, como foi confirmado pela difracção por raio-x. Através do tamanho da fração com DP 15, a dimensão calculada dos cristais de amido seria em torno de 60 Å em direção ao eixo das cadeias. A amilose foi rapidamente degradada, não existindo nenhuma evidência da sua participação nas áreas cristalinas. Esses resultados mostraram que as cadeias de amilopectina seriam as responsáveis pela cristalinidade do grânulo, impondo a dimensão da cristalinidade. As cadeias com DP 15, as quais compõem estes cristais podem ter sido originado da degradação das cadeias de amilose, ou das cadeias A externas ou internas das cadeias de amilopectina.

A estrutura do grânulo de amido foi recentemente revista por GALLANT *et al.* (1997). De acordo com esses autores a estrutura do grânulo envolve a organização das lamelas de amilopectina formando blocos esféricos com diâmetro variando de 20 a 500 nm, dependendo da origem botânica do amido e da sua localização no grânulo. No modelo proposto, os grânulos apresentam canais curtos e radiais formados nas zonas amorfas de algumas variedades de amido. Neste modelo, a amilopectina é a principal responsável pela cristalinidade do grânulo, que se situa em torno de 14-45% (ZOBEL, 1988b) e pode ser caracterizada em três diferentes padrões de difracção de raio-x (A, B ou C), resultado de diferentes empacotamento das moléculas de amilopectina.

As regiões cristalinas estão predominantemente localizadas nas camadas mais duras (120-400 nm de espessura), que formam o “esqueleto”

do grânulo. As lamelas cristalinas tem em média 9-10 nm de espessura e, aparentemente, não se apresentam sempre retas, paralelas ou de espessura uniforme. Essas lamelas aparentemente são constituídas por cadeias de hélices duplas da amilopectina e se apresentam intercaladas por lamelas amorfas, formadas pelas regiões ramificadas da amilopectina. De acordo com esses pesquisadores os cachos laterais da lamela cristalina tem em média 10 nm de largura por 9-10 nm de comprimento. A Figura 2 ilustra o modelo proposto por GALLANT *et al.* (1997).

### **2.2.3. Propriedades do Amido**

#### **2.2.3.1. Gelatinização do grânulo de amido**

De acordo com ZOBEL *et al.* (1988), quando uma dispersão de amido em água é aquecida, as zonas amorfas começam a ser hidratadas e com a continuação do aquecimento as zonas cristalinas começam a se fundir e a se hidratar. Essa absorção de água pelo grânulo provoca inchamento, que resulta em aumento de viscosidade. Durante o processo, moléculas de pequeno peso molecular de amilose difundem para o meio aquoso e também contribuem para o aumento de viscosidade.

O inchamento dos grânulos continua com o aumento da temperatura até a ruptura do grânulo, o que causa decréscimo da viscosidade.

Com o resfriamento as moléculas de amido tendem a se agrupar, formando novas regiões cristalinas, entrelaçadas entre si em uma rede tridimensional, com regiões cristalinas e amorfas, ligadas entre si.

O fenômeno de agregação de molécula de amido gelatinizado com o resfriamento é denominado retrogradação e é responsável pela gelificação

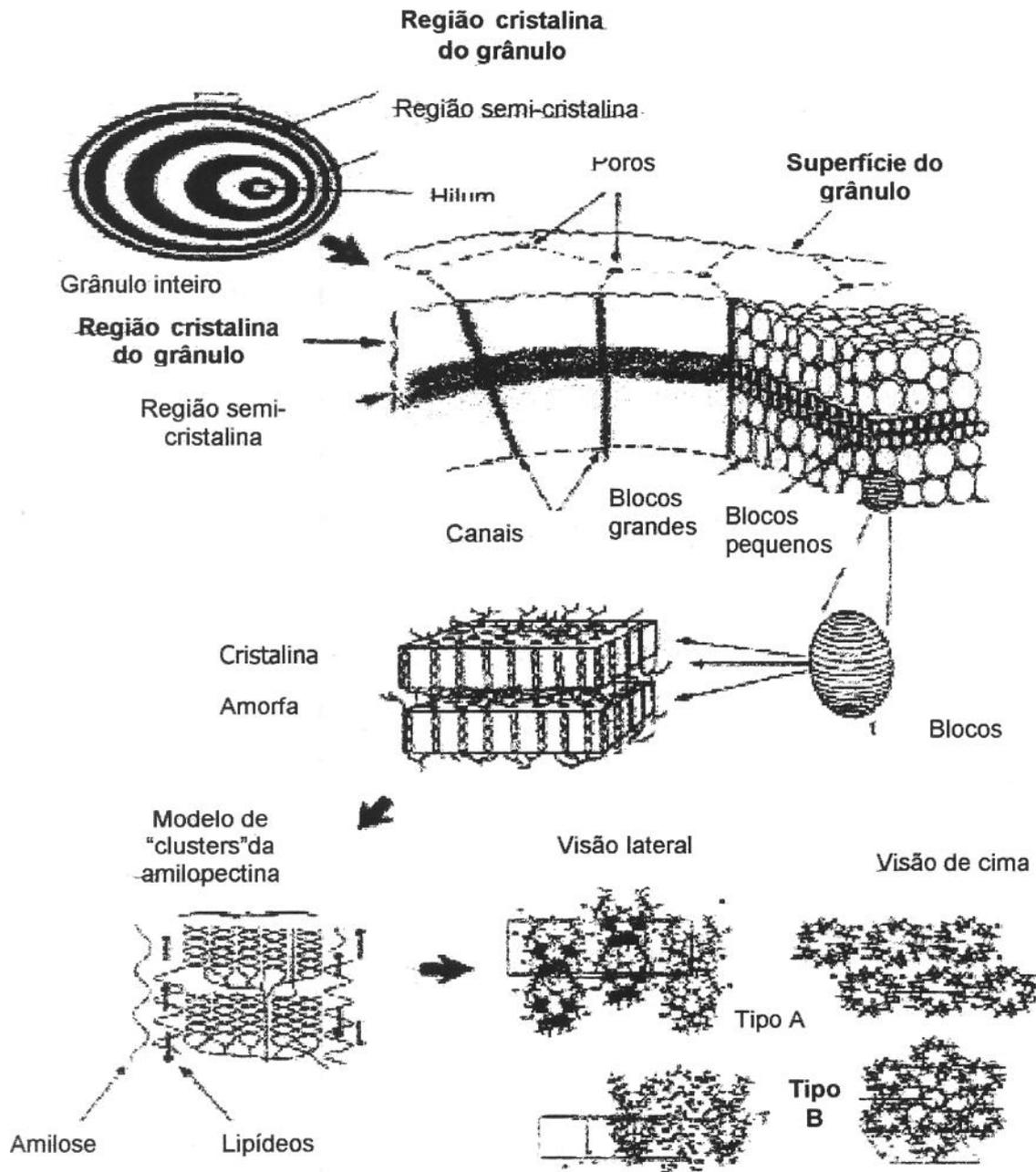


Figura 2 Modelo proposto por Gallant *et al.* (1997) para estrutura do grânulo de amido

das pastas. Durante esse processo ocorre exudação da água em fenômeno denominado sinerese (CIACCO & CRUZ, 1982).

ZOBEL *et al.* (1988) estudaram a gelatinização do amido, através da difração por raio-x. A gelatinização do amido foi definida como a fusão dos cristais do amido, na qual ocorre a completa destruição da integridade dos cristais e é uma função do conteúdo da umidade e da temperatura. Através de calorimetria diferencial os autores consideraram que a faixa de temperatura de fusão dos cristais do amido é decorrente de diferentes graus de cristalização dos grânulos e do conteúdo de umidade do meio.

STONE & LORENZ (1984), investigaram a relação entre as propriedades funcionais e físico-químicas do amido de "amaranthus". A capacidade de absorção de água do amido de "amaranthus" foi similar, mas maior que do amido de milho. De acordo com estes autores a baixa capacidade de absorção de água está relacionada à forte associação dos polímeros do amido dentro do grânulo.

OKECHUKWU & RAO (1995), estudaram a influência do tamanho do grânulo de amido e a sua distribuição na gelatinização. De acordo com esses pesquisadores, durante os estágios iniciais da gelatinização, quando os grânulos incham e ainda conservam sua integridade, o tamanho do grânulo e sua distribuição afetam fortemente a viscosidade da suspensão de amido. Nos primeiros estágios de gelatinização do amido, tendo o grânulo ainda 12 $\mu$ m ou menos, o comportamento da viscosidade da suspensão foi o de um fluido dilatante. Com a evolução do processo de gelatinização os grânulos continuam a inchar, ocorrendo uma redução na magnitude do índice do fluxo. Este índice do fluxo decresce com a

gelatinização e com o tamanho dos grânulos. Nos estágios mais avançados da gelatinização, quando os grânulos de amido já se romperam e perderam sua integridade, a viscosidade da suspensão decresce. À uma concentração constante de amido, o índice de consistência da suspensão foi relacionado com o diâmetro do grânulo, por uma relação exponencial.

GALLANT *et al.* (1997) estudaram o comportamento do grânulo de amido durante o processo de gelatinização através de microscopia eletrônica de varredura. Estes estudos mostraram que os filamentos de amilose são lixiviados para fora do grânulo através dos poros radiais existentes no grânulo.

A gelatinização do amido em meio aquoso é um processo que depende da quantidade de água do meio e, portanto, sofre influências de compostos que competem pela água com o grânulo (GALVANI *et al.*, 1994); como açúcares e sais minerais.

Por outro lado, o tratamento prévio do amido também modifica as características de gelatinização. Amidos tratados com ácidos (lintnerizados) ou sujeitos a modificações químicas (oxidação, esterificação, etc) e físicas (tratamento hidrotérmico) têm suas propriedades de gelatinização alteradas.

#### 2.2.3.2. Retrogradação

A retrogradação é o termo dado às transformações que ocorrem durante o resfriamento e armazenamento da pasta de amido gelatinizado e consiste basicamente de um processo de cristalização das moléculas, que provoca um aumento de firmeza e opacidade das pastas, além da exudação de parte da água absorvida na gelatinização (sinerese). As alterações que ocorrem durante a retrogradação do amido são influenciadas pela presença

de lipídeos, açúcares, sais e ácidos. Assim, os efeitos desses componentes nas propriedades tecnológicas de diferentes tipos de amido tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores (GALVANI *et al.*, 1994).

O amido em pasta ou em solução obtido após a gelatinização não é estável, formando, de acordo com JANE & ROBYT (1984), agregados de amilose, constituídos de regiões de dupla hélice cristalinas de 10 nm, entremeados nas regiões amorfas. GIDLEY & BULPIN (1989) e CLARK *et al.* (1989) observam que a extensão dessa agregação depende do comprimento da cadeia de amilose. A formação de agregados em soluções aquosas de amido é denominada de retrogradação.

O efeito de lipídeos e emulsificantes na retrogradação tem sido explicado, pela maioria dos pesquisadores, através da formação de um complexo entre amilose e lipídeos, envolvendo a estrutura de hélice. A formação desses complexos, pela inserção de lípidos de cadeia reta no interior hidrofóbico da hélice, enrijece a cadeia, dificultando as associações com outras cadeias. A retrogradação do amido altera suas características físicas e tecnológicas.

Em alguns trabalhos, entretanto, os efeitos dos lipídeos é explicado pela formação de uma cobertura sobre os grânulos de amido, reduzindo a capacidade das moléculas de absorver água. É possível, por outro lado, que estes dois fenômenos ocorram ao mesmo tempo nos grânulos de amido (GALVANI *et al.*, 1994).

FRENCH (1984) observou alterações no padrão de raio-x de amidos submetidos à tratamento térmico à baixa umidade. Amido de mandioca com padrão B de difração de raio-x, após tratamento apresentou o padrão A.

Por outro lado, a retrogradação do amido torna-o menos solúvel e mais resistente à hidrólise (GALVANI *et al.*, 1994).

É, portanto, possível através do tratamento hidrotérmico alterar as propriedades funcionais do amido.

#### **2.2.4. Amido Modificado**

O amido possui as mais variadas aplicações, notadamente na indústria de alimentos. Além de seu uso como amido “in natura”, de suas frações (amilose e amilopectina) ou mesmo de seus produtos de hidrólise (dextrinas, maltose e glicose), o amido pode sofrer modificação ou derivatizações que o moldam de acordo com as necessidades tecnológicas. Estas modificações ou derivatizações podem ser físicas ou químicas. Entre as modificações mais comuns pode-se citar os amidos pré-gelatinizados e aqueles modificados quimicamente. Nestes últimos, os mais importantes são aqueles tratados com ácidos, hipocloritos, fosfatados e inter cruzados, além das modificações com acetatos, dialdeídos, propionatos, butiratos, caproatos, benzoatos, metil, benzil, e outros (CIACCO & CRUZ, 1982).

Os amidos pré-gelatinizados são usados em alimentos pré-preparados, tais como: congelados, alimentos instantâneos. Estes amidos são solúveis ou parcialmente solúveis em água à frio (CIACCO & CRUZ, 1982).

Os amidos derivatizados são aqueles que tem suas propriedades alteradas por modificação química, podendo ser alterados por: ácidos, fosfato, ligação cruzada ou inter cruzada e oxidado por hipoclorito. A modificação ácida para amidos de milho, mandioca, trigo, provoca um menor entumescimento durante a gelatinização. Estes amidos podem ser utilizados em indústrias de papel, têxtil e outras (CIACCO & CRUZ, 1982).

O interesse da indústria alimentícia em produtos com menor teor de lipídeos tem motivado estudos sobre a substituição parcial destes compostos por amidos modificados.

#### 2.2.4.1. Tratamento enzimático

Questionamentos sobre a natureza das superfícies dos grânulos de amido e a relação com a susceptibilidade à reações químicas e enzimáticas levaram à estudos usando microscopia eletrônica de varredura. O padrão de digestão observado em grânulos de amido de milho e trigo nativos tratados com amilases indicou que algumas áreas são mais susceptíveis ao ataque do que outras (EVERS & McDERMOTT, 1970; EVERS *et al.*, 1971; GALLANT *et al.*, 1973). Estas observações levaram a proposição de que os poros encontrados na superfície dos grânulos de amido tem influência no padrão de ataque por amilases e por alguns reagentes químicos.

FANNON *et al.* (1992) levantaram algumas hipóteses sobre a formação desses poros: a.) seriam formados pela secagem do grão do cereal ou após isolamento do amido; b.) produzidos por amilases presentes nos grânulos ou por amilases produzidas durante a moagem úmida; c.) são artefatos gerados durante a preparação para análise em microscópico ou; d.) podem ser características naturais da estrutura do grânulo.

O trabalho de GALLANT *et al.* (1997) pressupõe que esses poros sejam características inerentes à estrutura do grânulo. Independente da hipóteses, entretanto, os poros observados nas superfícies dos grânulos de amidos de milho, sorgo, de amido moído, e ao longo de ranhura equatorial de grânulos de amidos de trigo, centeio, e cevada, parecem ser reais e não artificiais. Estes poros podem ser o sítio para ataque enzimático,

constituindo-se em aberturas que permitem que as moléculas da enzima penetrem no interior do grânulo tendo acesso direto ao “hilum”, ou então podem estar relacionados ao controle da conversão do amido durante a germinação. Atualmente, estudos são realizados para se ter a idéia da profundidade de penetração destes poros nos grânulos e se tem alguma relação com a reatividade do grânulo.

GALLANT *et al.*, (1972), estudaram os grânulos de amido de batata, milho, amilomilho, milho ceroso e de trigo através de observações em microscopia ótica e eletrônica, antes e depois do ataque por alfa-amilase. Diferenças no processo de digestão dos vários amidos foram observadas. Combinando o tratamento enzimático com a lincnerização ou a oxidação cautelosa dos grânulos, foi possível definir melhor algumas características de estrutura dos grânulos. Observações da erosão granular, feita pelo método do iodo mostram que amidos comerciais apresentaram-se mais erodidos que amidos preparados em laboratório. Apenas, poucos dos grânulos não filamentosos pareceram estar danificados. Em amido de milho ceroso foi observado que a hidrólise foi mais intensa nas regiões perto do hilum e na periferia. Para o amido de amilomilho, a degradação não foi tão pronunciada, mas em geral o ataque foi similar ao observado no amido de batata. Também foi observado, através de microscopia eletrônica, que o amido de milho ceroso, apresentou uma pequena diferença na espessura entre as camadas internas e externas. O grânulo foi atacado pela enzima através de canais de corrosão, provavelmente através de algumas fissuras existentes no grânulo nativo. O amido de milho normal, apresentou o mesmo tipo de degradação estrutural e enzimática, que o amido ceroso de milho. De acordo com esses pesquisadores a hidrólise com alfa-amilase dos amidos isolados *in vitro*, pode ocorrer pela penetração da enzima no

grânulo, tanto por uma cavidade como por fissuras formadas na superfície do grânulo de amido durante o seu processamento.

De acordo com LEACH & SCHOCH (1961) e ROBIN *et al.* (1974) os amidos que são rapidamente digeridos pela enzima alfa-amilase, são aqueles que formam canais (amidos de milho, de trigo, e de milho ceroso). Isto só não é verdadeiro para amidos preparados em laboratório, os quais não possuem um grande e expressivo número de grãos danificados. No caso do amido de batata, assim que o ataque à regiões internas do grânulo ocorre, a hidrólise prossegue rapidamente, não restando fragmentos, como ocorre em amidos de cereais. Por outro lado, a superfície do grânulo de amido de batata mostra uma resistência bem maior ao ataque enzimático que os amidos de trigo e milho. Em amidos de batata pode ser observado uma organização radial no centro do grânulo e uma tangencial na parte divisora. Para explicar a organização radial vários pesquisadores sugerem que as cadeias de amilose e de amilopectina estão dobradas como pregas e arranjadas, lado à lado, em camadas tangenciais. Esta hipótese, entretanto, é contraditória em relação à organização tangencial e radial do grânulo.

GALLANT *et al.* (1973), estudaram a degradação *in vitro* de grânulos de amido de várias origens botânicas (batata, mandioca, trigo, milho, milho ceroso, e amilomilho), por microscopia eletrônica de transmissão e de varredura. Todos os amidos estavam mais ou menos danificados, entretanto, o tipo de ataque foi característico à cada espécie, observando-se uma exo corrosão sozinha, acompanhado ou não por endo corrosão em sítios preferenciais. Em alguns casos cavidades ao acaso aparecem.

#### 2.2.4.1.1. Tratamento enzimático relacionado às propriedades funcionais do amido

JU & MITTAL (1995) estudaram 8 tipos de substituintes de gordura, todos à base de amido modificado. Entre esses, os Paselli SA2 (PS), um amido de batata modificado enzimaticamente, apresentou propriedades funcionais características da gordura, em relação a propriedades de gelificação. O PS teve uma baixa habilidade de formação de gel, formando um gel cremoso, liso, mas com baixa força de gel. Quando aquecido (70°C) e congelado (-2°C) formou uma dispersão de baixa viscosidade, entretanto à temperatura ambiente, sua força de gel aumentou. Apresentou boa solubilidade em água e capacidade de absorção de água. Condutividade elétrica foi baixa e pH igual a 6,5. Conforme a taxa de cisalhamento aumentou, a viscosidade aparente aumentou. Neste estudo foi observado que dependendo do tipo e grau de modificação do grânulo de amido, as propriedades funcionais eram alteradas.

LUCCA & TEPPER (1994) observaram que um grânulo de amido com diâmetro similar às micelas de gordura (~2µm) deve apresentar alto potencial de substituinte de gordura. Entretanto, para obtenção de um diâmetro tão pequeno é necessário modificações, tais como hidrólise enzimática ou ácida, juntamente com algum tratamento mecânico.

O grau de hidrólise é um fator fundamental para a obtenção de um amido com propriedades de substituinte, assim como os diferentes substituintes apresentam significativa diferença nas propriedades funcionais. Resíduos de amidos com dextrose equivalente (DE) menor que 20 DE, quando usados a altas concentrações, podem contribuir para a viscosidade,

formação de corpo e a sensação cremosa no boca, que são características da gordura (LUCCA & TEPPER, 1994).

Uma das formas de desintegrar os grânulos de amido à partículas com diâmetros bem pequenos ( $\sim 1,8\mu\text{m}$ ) é através da adição de enzimas. Com base nesta propriedade a AVEBE introduziu PASELLI SA2 (PS), que é um amido modificado enzimaticamente, para produtos de panificação, com maltodextrinas de baixo DE, que podem substituir 100% da gordura de bolos sem afetar as propriedades sensoriais do produto (SIMPLY starch...,1993).

Substituintes de óleos e gorduras, à base de amido de batata hidrolisados enzimaticamente tem sido desenvolvidos. Estes substituintes são miscíveis em óleos e gorduras e em outros componentes, e podem ser aplicados em sobremesas, molhos para saladas e produtos de panificação. Quando estes produtos são usados em concentrações acima de 20%, os géis são formados com 2 à 3 horas de hidratação. A força do gel é afetada pelo pH e pela temperatura. A máxima força do gel foi obtida à pH 3,5-5,0, entretanto géis estáveis podem ser obtidos na faixa de pH 3-7. A força do gel aumenta quando o amido é exposto à elevadas temperaturas, sendo a temperatura ótima de 75°C -100°C (SINGHAL *et al.*, 1991).

Através de uma hidrólise parcial do amido com alfa-amilase ou glicoamilase, DANIEL & WHISTLER (1984) obteve um amido com grânulos pequenos, difusos e substancialmente não porosos, o que confere a este amido propriedades cristalinas que correspondem à grânulos de amidos nativos e que podem ser usados como substituintes de gordura.

HARRIS & DAY (1993) investigaram a estrutura de um derivado de amido (STELLAR) utilizado como substituto de gordura. De acordo com esses pesquisadores, esse derivado, produzido através de hidrólise ácida, é composto por microcristais com cerca de 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro, que imobilizam a água, dando uma sensação de cremosidade, semelhante às gorduras na boca.

PASELLI SA2 (PS), amido de batata hidrolisado enzimaticamente, onde a amilose e amilopectina foram hidrolisadas a uma extensão limitada, apresentam pH 5,5-7,0, DE igual a 3, densidade de 400  $\text{Kg/m}^3$  e forma um gel termoestável com textura lisa e com sabor neutro, apresentando 3,8 Kcal/ g (KAPER & GRUPPEN, 1987).

O amido de batata parcialmente hidrolisado por alfa-amilase, chamada SHP é usado como substituinte de gordura, espessante e umectante, como aditivo em bebidas com a finalidade de oferecer corpo, pois aumenta a viscosidade. Este produto é miscível em água, manteiga e margarina. SHP substitui a gordura em produtos com alto teor de gordura, reduzindo o teor calórico e não alterando a qualidade do produto (HANNIGAN, 1981).

O RICE TRIN COMPLETE, da ZUMBRO Inc., é um substituinte de gordura composto por arroz hidrolisado enzimaticamente em frações de 3, 10 e 19 DE. Aplicações incluem o uso em coberturas, creme de sopas, molhos para saladas, queijos, chocolates quente. O hidrolisado de 3 DE pode ser usado em aplicações de alta e intermediária umidade, tais como bolachas, bolos, pães e maioneses. Os hidrolisados com 10 e 18 DE são usados em produtos de baixa umidade, tais como snacks, granola e bolachas duras (RICE SOLIDS...,1992).

#### 2.2.4.2. Tratamento hidrotérmico

O tratamento hidrotérmico altera as propriedades dos amidos. A temperatura de gelatinização, o comportamento durante o processo de gelatinização e a transparência da pasta dos amidos de raízes, por exemplo, são modificadas tornando-os semelhantes aos amidos de cereais. O padrão de difração de raio-x dos amidos de raízes muda para o padrão dos amidos de cereais (SAIR, 1967).

O tratamento hidrotérmico do amido de trigo também afeta suas propriedades físico-químicas (KULP & LORENZ, 1981). A temperatura de gelatinização, a capacidade de hidratação e a susceptibilidade enzimática aumentam com este tratamento. De acordo com LORENZ & KULP (1981), amidos de trigo e batata submetidos a tratamento hidrotérmico tem suas características funcionais e suas propriedades funcionais em panificação alteradas. Estudos feitos com amidos de trigo e batata mostraram que o tratamento hidrotérmico altera as propriedades físicas e estrutura cristalina desses amidos, tornando-os semelhantes (KULP & LORENZ, 1981).

FRENCH (1984), observou que o tratamento térmico com baixa umidade altera a temperatura de gelatinização, a capacidade de absorção, e as características de pasta. No caso do amido de mandioca o tratamento hidrotérmico mudou o padrão de difração de raio-x de B para A. De acordo com este autor o tratamento causa, possivelmente, um rearranjo e um maior grau de associação das cadeias do amido. No processo de rearranjo a 50°C, é possível que ocorra um realinhamento das cadeias na fase amorfa e alguma cristalização adicional no amido. No tratamento térmico com baixa umidade, os cristais se fundem parcialmente e durante o resfriamento

assumem uma forma mais estável e bem mais associada que no grânulo de amido natural.

LORENZ *et al.* (1983), realizaram um estudo para determinar os efeitos do tratamento térmico à baixas umidades nas propriedades físico-químicas e nas características funcionais de amidos desengordurados. As propriedades físico-químicas dos amidos de trigo e batata, desengordurados antes e depois do tratamento térmico à baixas umidades, foram comparadas com aquelas dos amidos não tratados. Efeitos na capacidade de ligar água, temperatura de gelatinização, consistência viscoamilográfica e propriedades funcionais no processamento de bolo foram avaliados. Os padrões de difração de raio-x das amostras desengorduradas antes do aquecimento apresentaram-se ligeiramente mais desenvolvidos que aqueles não desengordurados. O tratamento hidrotérmico de amido de trigo desengordurado provocou redução na susceptibilidade enzimática, aumento na consistência viscoamilográfica, no poder espessante e melhorias nas propriedades funcionais no processamento de bolo. Para o amido de batata, a retirada de gordura antes do tratamento hidrotérmico provocou efeitos positivos na susceptibilidade enzimática, na solubilidade e no poder espessante.

FRANCO *et al.* (1995), estudaram o efeito do tratamento térmico à baixas umidades na susceptibilidade enzimática dos grânulos de amido de milho. Amidos de milho normal e ceroso foram isolados e ajustados à umidades variadas e aquecidos à 100°C por 16 horas. Os amidos tratados termicamente foram hidrolisados com alfa-amilase e amiloglucosidase. As amostras de amido foram avaliadas quanto à capacidade de ligar a água, propriedades de pasta, difração de raio-x, e observações por microscopia

óptica e eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que o tratamento térmico à baixas umidades produziu um aumento no grau de cristalinidade dos amidos de milho normal e ceroso à um nível de 18% de umidade. Este resultado, em conjunção com o significativo decréscimo na susceptibilidade enzimática, sugeriu um rearranjo nas moléculas de amido com o fortalecimento das ligações dentro dos grânulos e conseqüentemente um maior grau de associação das cadeias do amido. Por outro lado, a um nível de umidade de 27% o tratamento térmico causou uma ruptura dos grânulos, além da corrosão através dos canais radiais, como se a estrutura restante se rompesse com mais facilidade, para os amidos de milho normal e ceroso.

#### 2.2.4.2.1. Inter-relação do tratamento hidrotérmico e as propriedades funcionais do amido

A modificação hidrotérmica dos amidos sob condições de gelatinização, causa mudanças nas regiões cristalinas e amorfas do grânulo, além de influenciar no comportamento de entumescimento de amidos de raízes e tubérculos. Os efeitos positivos no comportamento da viscosidade de amidos de cereais, como o de arroz, quando tratados hidrotérmicamente foi verificado recentemente (SIMPLY starch..., 1993).

Por outro lado, a mobilidade da água no amido modificado (STELLAR) não foi afetada pelo tratamento hidrotérmico (LAI *et al.*, 1993).

Estudos realizados por LORENZ & KULP (1981) mostraram que o tratamento hidrotérmico influencia nas propriedades de panificação de amidos de trigo e batata. De acordo com esses autores, bolos com amido submetido a um certo nível de tratamento hidrotérmico apresentaram um leve aumento no volume em relação aqueles bolos preparados com amido

de trigo não tratados. Tratamentos mais severos, com umidades 24% ou 27% antes do aquecimento, produziram um efeito negativo na qualidade da massa do bolo. O desengorduramento dos amidos, tanto antes como depois do tratamento térmico com 24% de umidade, minimizou os efeitos negativos do tratamento. Bolos processados com amidos desengordurados apresentaram melhor volume, estrutura de grãos do miolo e textura do que aqueles amidos não desengordurados e tratados hidrotérmicamente (LORENZ & KULP, 1981).

Segundo LORENZ *et al.* (1983), o aumento do conteúdo de umidade do amido antes do tratamento hidrotérmico, diminuiu a consistência inicial do recheio do bolo preparado com o amido. A consistência do recheio do bolo com amido tratado foi maior no dia seguinte ao preparo. O amido de trigo com umidade de 27% antes do aquecimento produziu uma das menores consistências. Os recheios preparados com amidos tratados exibiram uma marcante sinerése. Como observado para o amido de trigo, o amido de batata desengordurado antes ou depois do tratamento hidrotérmico, apresentou aumento do poder espessante (LORENZ *et al.*, 1983).

Segundo MILATOVIC (1982), o uso de farinha de milho pré-gelatinizada, preparada pelo tratamento hidrotérmico à 80-88°C por 30 minutos para processamento de pães, melhora o aspecto de frescor do pão. Também foi observado uma maior eficiência no consumo de açúcares e fermento na formulação, assim como a redução do tempo de produção, aumento de vida-de-prateleira, devido ao retardamento da retrogradação do amido, melhora no aroma e sabor e nas propriedades de manuseio mecânico da massa (MILATOVIC, 1982).

JACOBS & DELCOUR (1998) estudaram o anelamento e o tratamento hidrotérmico como processos de modificação das propriedades físico-químicas do amido, sem destruir a estrutura granular. Esses autores observaram que a morfologia e cristalinidade do grânulo são afetadas por este tratamento, assim como as propriedades de pasta, poder de entumescimento, solubilidade, propriedades do gel e susceptibilidade enzimática. Segundo SKRABANJA *et al.* (1998) amido de trigo submetidos a tratamento hidrotérmico apresentaram 1,0-4,3% de amido retrogradado.

EERLINGEN *et al.* (1996) observaram uma redução do teor de amilose e um aumento da temperatura de gelatinização para a farinha de arroz tratada hidrotérmicamente. A estabilidade do gel foi maior para as amostras tratadas. A taxa de retrogradação para o amido não tratado estocado à 4°C por 7 dias foi de 40% e para a amostra tratada a 100°C por 10 minutos foi de 40%, a 100°C por 20 minutos foi de 50% e para 120°C por 10 minutos foi de 40%.

Amido de batata tratado hidrotérmicamente à diferentes níveis de umidade (20-40%), foram analisadas no “rapid visco analyser” (RVA) em diversas concentrações (3,0%; 6,6%; 20%). A temperatura inicial, aumentou e o pico de viscosidade máxima diminuiu em decorrência do tratamento hidrotérmico (EERLINGEN *et al.*, 1997).

Segundo STOOF *et al.* (1998) as propriedades funcionais do amido de batata podem ser alteradas sem modificação da estrutura granular, quando o tratamento hidrotérmico é feito sob condições de excesso de água (rearranjo). Para que ocorra o anelamento em um menor espaço de tempo, é preciso que se aumente a temperatura do tratamento e a seguir o amido seja submetido à hidrólise com alfa-amilase bacteriana. Com excesso de

água, a hidrólise ocasiona grandes cavidades no grânulo, o que pode ser observado em microscopia eletrônica. Altas temperaturas altera as reações de gelatinização e gelificação de uma forma bem característica, como por exemplo, decrescendo a consistência da pasta à 96°C. Se este tratamento ocorrer à 70°C por 24 horas, há uma queda drástica da consistência Brabender, em relação aos amidos não tratados, mas quando do resfriamento à 50°C a consistência chega até à 2300 BU.

#### **2.2.5. O uso do Amido como Substituto de Gorduras**

Gorduras são substâncias não polares, que possuem uma curva única e característica de fusão e apresentam propriedades sensoriais e físicas bastante desejáveis aos alimentos.

Substituintes de gordura são substâncias que se assemelham à gordura e tem propriedades físicas e térmicas similares a esses compostos. É chamado substituinte de gordura, todo composto que substitui total ou parcialmente, a gordura nos alimentos. Desenvolver alimentos com baixo teor ou sem gordura é uma das prioridades da indústria de alimentos atual.

De acordo com CLARK (1994), a gordura desempenha um papel importante nos alimentos em relação a textura e ao *sabor*. Além dessas características funcionais a gordura também tem influência na aparência e estabilidade dos alimentos e no manuseio durante o processamento. Em bolos a gordura tem três papéis fundamentais: serve como veículo de muitos compostos flavorizantes; mantém a umidade, assim conferindo um sabor e textura desejáveis ao produto; e em alguns processos ajuda a reter ar durante a mistura, dando à massa uma estrutura semelhante à espuma.

Bolos com completa substituição de gordura apresentando uma boa qualidade são processados usando substituintes à base de amido.

O uso intensivo do amido como substituinte de gordura é devido aos diferentes tipos de produtos que podem ser obtidos através de modificações químicas ou enzimática desse composto (ALEXANDER, 1995; BOATELLA *et al.*, 1993). Estes substituintes à base de amido são caracterizados pelo baixo valor de DE (dextrose equivalente), a capacidade de formar géis estáveis com quantidades consideráveis de água na sua matriz, proporcionar propriedades, principalmente as de lubrificação, semelhantes àquelas conferidas pelas gorduras (LUCCA & TEPPER, 1994). A grande aplicação do amido no mercado atual, tem sido a utilização como substituição de gordura em diferentes aplicações de alimentos. Amidos com propriedades de texturizadores, espessantes, ligantes e emulsificantes são combinados com amidos hidrolisados enzimaticamente para substituir a gordura em diversos produtos, atribuindo à estes as características da gordura, sem que ocorra perda de qualidade sensorial. Amidos hidrolisados à maltodextrinas com baixo DE (dextrose equivalente) são usados em produtos de panificação com 100% de substituição. Essas maltodextrinas são usadas como agentes que dão volume à produtos de panificação, assim tendo ação dupla nas propriedades funcionais destes produtos (SIMPLY starch...,1993).

Os amidos que sofrem alguma modificação física ou química, substituem a gordura, melhorando a estabilidade, cremosidade e retenção de umidade nos alimentos. Vários amidos oferecem diferentes características físicas, tais com grau de espalhamento, termoreversibilidade, estabilidade do gel, e resistência ao calor, ácido e ao cisalhamento. Estas

diferenças de propriedades dependem, não somente, do tipo de amido usado, mas também do tipo e grau de modificação realizada LUCCA & TEPPER (1994).

Amidos com grânulos com diâmetro similar ao diâmetro das micelas dos lipídeos ( $\sim 2 \mu\text{m}$ ), tem sido propostos como substituintes de gordura DANIEL & WHISTLER (1984) (citado por JANE, 1992). Embora existam grânulos de amido com diâmetro bem pequeno, tanto cereais quanto de raízes, o custo para sua extração e purificação não compensa sua aplicação. JANE (1992) utilizando amido de milho submetido à hidrólise ácida, seguida de uma modificação mecânica, produziram derivados com grânulos de diâmetro entre 1,2-1,8  $\mu\text{m}$ , dependendo das condições da hidrólise. Quando estes derivados de amido foram aplicados como substituintes de gordura, observou-se a formação de uma emulsão estável que pode ser seca, sem perder a capacidade de formar emulsões em água. Esses substituintes conferiram a sensação de cremosidade e textura, similar às obtidas com gorduras.

Tem sido proposto que grânulos de amido pequenos com diâmetro de ( $\sim 2 \mu\text{m}$ ), similar as micelas de gordura, podem ter um potencial de substituir gordura (LUCCA & TEPPER, 1994). As maltodextrinas, com baixo DE, como substituintes de gordura, são preferidas em relação as com alto DE, pois estas aumentam a tendência ao escurecimento, limitando sua aplicação ( LUCCA & TEPPER, 1994).

JU & MITTAL (1995) estudaram as propriedades físicas de vários substituintes de gordura à base de amido, alguns destes substituintes formaram um gel resistente quando aquecidos, outros encontraram boa solubilidade em água fria. Em alguns casos, o congelamento aumentou a

capacidade gelificante. Todos os substituintes de gordura apresentaram boa solubilidade em água quente. A condutividade elétrica aumentou com o aumento da concentração do substituinte de gordura. O pH na concentração de 30% esteve na faixa de 4,8-6,6. As amostras em concentrações baixas apresentaram um pH alto. Tanto o comportamento dilatante como pseudoplástico foram encontrados.

De acordo com LAI *et al.* (1993) a mobilidade da água em sistemas com substituinte de gordura à base de amido, contendo gomas, proteínas ou emulsificantes, e em sistemas sem estes ingredientes foi semelhante. A mobilidade da água não foi afetada pelo aquecimento, entretanto sofreu um aumento com os tratamentos de congelamento e descongelamento. A mobilidade da água em sistemas contendo soluto foi menor que em amostras sem adição de ingredientes, alterando-se levemente após aquecimento e tratamentos como congelamento e descongelamento.

Comercialmente um substituto de gordura à base de amido denominado (STELLAR), tem sido aplicado com sucesso em produtos de panificação. Este produto é comercializado em pó, entretanto, para uso como substituinte de gordura é convertido em creme. Na forma de creme muitas das suas propriedades funcionais parecem com as da gordura, como: a sensação na boca, textura, sabor, estabilidade e vida-de-prateleira (EMULSIFIERS abound..., 1991).

Em 1991, HOSENEY verificou que o STELLAR promove uma imobilização da água que promove a inibição do envelhecimento de pães (ANTI-STALING fat mimetic..., 1991).

Estudos conduzidos com STELLAR mostram cristais pequenos e insolúveis bem unidos. Quando estes cristais são submetidos à cisalhamento e hidratados, são expostos à uma área superficial muito grande. A água, a qual é integralmente misturada com os cristais hidrofílicos, é imobilizada cerca de ou entre cada cristal. A grande área superficial e a natureza solúvel dos cristais é responsável pela grande imobilização da água. Cada cristal, associado à água, forma um agregado de partículas irregulares com 3 à 5 microns de diâmetro. Quando uma força é aplicada, os cristais hidratados agregados conferem a sensação de maciez porque são facilmente deformáveis e tendo aproximadamente o mesmo tamanho dos cristais de gordura, dando a sensação da fusão da gordura. Este fenômeno se parece com o congelamento, no qual o movimento da água é extremamente limitado, em decorrência da forma altamente estruturada. A forte interação entre a água e partícula impede sua migração para os outros componentes, o que explicaria o porque o STELLAR inibe o envelhecimento nos produtos de panificação (ANTI-STALING fat mimetic..., 1991).

HARRIS & DAY ( 1993 ) estudando o STELLAR verificaram que este composto apresentou um peso molecular menor que 20.000, com os microcristais comprometidos em uma estrutura de dupla hélice. Baseando-se na análise de tamanho de partícula e dos resultados da área superficial, concluíram que este creme é composto por micropartículas agregadas entre si através de moléculas de água.

Um outro substituinte de gordura à base de amido de milho é o M-040 - Maltodextrina. É completamente digerível, e apresenta quatro calorias por

grama. Pode ter várias aplicações, como por exemplo coberturas para saladas (GETTING the fat out..., 1986).

SOBCZYNSKA & SETSER (1991) estudaram géis de duas maltodextrinas usadas separadamente ou combinadas com oito emulsificantes em camadas de bolos. Todos os géis feitos com emulsificante apresentaram maior maciez que aqueles feitos somente com maltodextrinas.

MURRAY (1969) estudou o efeito de hidrolisados com diferentes DE como substituto da gordura em bolos. De uma forma geral, hidrolisados apresentaram baixa doçura, alta viscosidade, fácil digestibilidade e rapidez de solubilidade. Na cobertura (glaze) de bolo de fruta, os produtos com 20 DE ajudaram a prevenir a cristalização do açúcar e asseguraram uma maior vida-de-prateleira. O “glaze” apresentou também uma excelente claridade. Em uma mistura de recheio de bolo de queijo feito com derivado 10 DE, verificou-se uma melhor textura e sensação na boca.

ARMBRISTER & SETSER (1994) investigaram as propriedades sensoriais e físicas de biscoitos de chocolates feitos com substituintes de gordura à base de proteínas, lipídios, e carboidratos. Comparados com o biscoito referência, todos os biscoitos processados com substituintes apresentaram uma superfície menos quebradiça com menos protuberâncias na superfície, e mais uniformidade, entretanto, com células maiores. Os biscoitos contendo substitutos de amido de milho hidrolisado com ácido tiveram o melhor formato e apresentaram o melhor sabor que todos os outros. A facilidade para mastigação e a coesividade da massa diferiram entre os vários biscoitos. O biscoito padrão se mostrou mais quebradiço que aqueles substituídos. A dureza, analisada sensorialmente, apresentou

coerência com os resultados apresentados pelo teste instrumental, tendo o biscoito padrão maior dureza. A aspereza e perda de partículas foram significativamente menores para os biscoitos contendo substitutos. A crocância e a salinidade não se alteraram com a substituição da gordura.

JACKEL (1991) faz uma referência sobre o uso de substituintes de gordura para uso em produtos de panificação, e as combinações de gomas, amido e surfactantes na obtenção de um *sabor* muito semelhante ao da gordura. Segundo este autor para que este tipo de produto apresente uma textura, sabor e demais propriedades semelhantes a da gordura é necessário aumentar o nível de água necessário na formulação.

Propriedades de bolos processados em fornos elétricos e convencionais, com baixos teores de gordura foram analisadas e comparadas por BATH *et al.* (1992). Foram observados três substituintes à base de amido. Bolos com baixo teor de gordura produziram uma massa de bateção lisa, e uma textura de espalhamento, assim como uma expansão maior que aqueles com alto teor de gordura. Estes bolos com baixo teor de gordura tiveram sua superfície sem brilho e crescimento semelhante aos dos bolos com gordura. As características internas do miolo dos bolos e a estrutura dos grãos foram bastante semelhantes aos bolos feitos com a formulação padrão (com gordura). O bolo feito com total substituição da gordura por um substituinte à base de amido apresentou características satisfatórias, principalmente em relação ao volume, e à avaliação subjetiva de miolo e grânulos interiores. Em geral, as massas que continham substituintes de gordura apresentaram alta gravidade específica, e baixas viscosidades tanto à temperatura ambiente como durante o aquecimento. Desta forma, os bolos processados com substituinte de gordura obteve um

índice de volume total menor que os bolos feitos com gordura. A taxa de aquecimento rápida dos bolos com substituintes foi devido à baixa viscosidade das massas, tanto à temperatura ambiente como sob aquecimento, quando o processamento em fornos elétricos. Desta forma, as massas aquecidas rapidamente, crescem uniforme nas formas, produzindo bolos planos. Segundo esses pesquisadores, a ligação do substituinte com a água, talvez seja a principal fator para o controle da viscosidade durante a mistura e para a retenção de gás em bolos feitos sem a adição de gordura influenciando, como consequência, nas propriedades de transferência de calor da mistura e no entumescimento do grânulo de amido.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Material**

##### **3.1.1. Matérias Primas**

O amido de milho ceroso utilizado neste trabalho foi fornecido pela Refinações de Milho Brasil (RBM). As enzimas utilizadas foram: alfa-amilase (BAN 120L - lot. ADVB014) de *Bacillus subtilis* produzida pela Novo Nordisk Ltda,  $\beta$ -amilase (A-7005) tipo I-B de batata doce e pullulanase ( P-5420) de *Enterobacter aerogenes* e de *Klebsciella pneumoniae*, ambas da marca Sigma Chemical Company (St. Louis, USA).

No processamento do bolo, foram utilizados vários ingredientes comuns no mercado brasileiro a saber: a farinha de trigo especial (Nita); açúcar refinado (União); fermento químico em pó (Royal); gordura vegetal hidrogenada (Sadia), claras de ovos de granja e leite em pó (Molico). Todos os ingredientes foram adquiridos na mesma data, provenientes de um mesmo lote, exceto os ovos que foram comprados quando do uso.

##### **3.1.2. Reagentes Químicos**

Os reagentes químicos utilizados neste trabalho foram de qualidade P.A. (para análise), de diferentes marcas (Merck, Sigma, Ecibra, Baker e outros) de acordo com as especificações dos métodos.

##### **3.1.3. Equipamentos e Aparelhos**

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os materiais e recipientes comuns de laboratório, como: balanças analíticas e semi-analíticas, estufas, geladeiras e freezers, capela com circulação de ar e

outros. Além destes equipamentos foram usados vidraria e outros materiais (papel de filtro, placas de alumínio, etc) normalmente utilizados em análises físico-químicas.

Juntamente com os materiais e recipientes citados acima, outros equipamentos foram usados, tais como:

- Conjunto para determinação de proteínas tipo Kjeldahl digestor modelo 4025 e destilador modelo TE036E - Tecnal.

- Mufla com controle de temperatura - Flyever FE30- Fornitec

- Viscoamilógrafo - Newport Scientific - modelo 3D.- RVA (Rapid Visco Analyser)

- Potenciômetro - Digimed – modelo DM 20

- Estufa circular para determinação de umidade - Brabender

- Extrator de gordura “Soxhlet”

- Balança para determinação de umidade - Infrared Moisture Determination Balance – A & D Co., LTD.- modelo AD-4714A

- Balança analítica - Mettler Toledo – modelo AB204

- Balança semi-analítica - Mettler Toledo – modelo PB3002

- Centrífuga Excelsa 3 - Fanen Ltda.- modelo 204 - NR

- Centrífuga refrigerada – Fanen Ltda. - modelo FR22-

- Banho-maria com agitação - Fanem Dubnoff - modelo 145

- Espectrofotômetro digital – Beckman - modelo DV-70
- Difratômetro de Raio-x – Carl Zeiss – modelo URD 6
- Microscópio óptico – Jenaval/ Zeiss com luz polarizada
- DSC - Differential Scanning Calorimeter - DuPont 2000
- Viscosímetro capilar - Cannon-Fenske número 50
- Shaker com rotação horizontal - incubadora com agitação – Tecnal – modelo TE320 - Indec 50
- Batedeira KITCHEN AID -Professional – modelo K45SS - made in USA.
- Forno elétrico - Layr
- Texturômetro – Stable Micro Systems - TA-XT2 (Texture Analyser)
- Colorímetro MINOLTA - modelo CR300
- Sistema FPLC da Pharmacia
- Detector de índice de Refração –Waters- modelo R403
- Integrador – Waters- modelo 746
- Coletor de frações – Pharmacia - Super-Frac
- Coluna de vidro para cromatografia xk 16/100

## **3.2. Métodos**

### **3.2.1. Composição Centesimal da Matéria Prima**

#### **3.2.1.1. Umidade**

A determinação da umidade, foi feita segundo o método n°. 44-15A dos Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists - AACC (1995).

#### **3.2.1.2. Proteína**

O teor de proteína total foi determinado pelo método de Kjeldahl n°46-20 dos Approved Methods of the AACC (1995). O fator 6,25 foi usado para conversão do nitrogênio em proteína total.

#### **3.2.1.3. Gordura**

O conteúdo de gordura foi determinado pelo método de BLIGH & DYER, (1959).

#### **3.2.1.4. Cinzas**

O teor de cinzas foi determinado após calcinação em mufla durante 4 horas à 540,0°C, segundo o método n°08-17 dos Approved Methods of the AACC (1995).

### 3.2.2. Modificações no Grânulo de Amido

#### 3.2.2.1. Tratamento enzimático

##### 3.2.2.1.1. Hidrólise do amido de milho ceroso

A hidrólise do grânulo de amido de milho ceroso foi efetuada segundo o método de LEACH & SCHOCH (1961), com algumas modificações.

Amostras de amido de milho ceroso foram suspensas (20% p/v) em solução tampão fosfato, 0,2 M, à pH 6,0, contendo 200 unidades SKB, de alfa-amilase determinadas de acordo com SANDSTED *et al.* (1939). Para evitar crescimento microbiano, colocou-se timerosal na concentração de 1:10000 (p/v) e algumas gotas de tolueno na dispersão de amido.

Estas dispersões ficaram incubadas em agitadores (“shakers”) rotativos (200 rpm) a 37°C por diferentes tempos de hidrólise. A extensão da hidrólise foi acompanhada pela porcentagem de hidrólise e resíduo de amido após hidrólise. Durante a hidrólise alíquotas foram retiradas para medir a porcentagem de hidrólise. Os tempos de retirada de alíquotas para análise foram: 4; 16; 20; 24; 28; 32; 36; 40; 44; 48 e 52 horas de incubação. Nestes tempos, alíquotas das suspensões foram retiradas, acidificadas à pH 3,0 com HCl 0,1N e, em seguida, agitadas por 15 minutos, para a inativação da enzima alfa-amilase. Logo após a suspensão foi neutralizada com NaOH 0,1N e centrifugada à 3,5g por 10 minutos. Os sobrenadantes foram removidos e congelados para determinação dos açúcares redutores, quantificados pelo método de SOMOGY-NELSON (1945), utilizando glicose como padrão.

Os resíduos da centrifugação foram submetidos à uma lavagem com água destilada, filtrados em funil de Buchner e secos em estufa de circulação de ar a 40°C. Após a secagem, a umidade do resíduo foi determinada assim como seu peso. A porcentagem de hidrólise foi calculada através da seguinte equação:

$$\% \text{ de hidrólise} = \frac{\text{Peso amido inicial (g)} - \text{Peso resíduo após hidrólise}}{\text{Peso do amido inicial (g)}} \times 100$$

### 3.2.2.2. Tratamento hidrotérmico com umidade conhecida

#### 3.2.2.2.1. Condicionamento do amido granular de milho hidrolisado

Amostras de amido hidrolisado foram acondicionadas à diferentes umidades: 23,8; 30; 45; 60 e 66,2%.

A quantidade de água a ser adicionada foi introduzida aos poucos à amostra, através de uma batedeira "KITCHEN", em uma velocidade de 100 rpm por 15 minutos. Após o condicionamento na umidade desejada, o amido foi colocado em sacos de plástico por 24 horas, para a uniformização da umidade.

#### 3.2.2.2.2. Tratamento hidrotérmico do amido hidrolisado

Este tratamento foi feito segundo KULP & LORENZ (1981), com algumas alterações. As amostras de amido hidrolisado por 30 horas, acondicionadas na umidade desejada, foram colocadas em latas de folha de

flandres ( $\phi$ 2,70cm; altura 3,75 cm). Após recravação das latas, estas foram submetidas à 100°C por 16 horas em estufa com circulação de ar. Após este período, as latas foram removidas da estufa, ficando em temperatura ambiente até o equilíbrio e então mantidas em estufa à 23°C por diferentes tempos (2; 8,73; 25; 41,27; 48 horas).

Depois deste tratamento as latas foram abertas e o amido seco em estufa com circulação de ar à 45,0°C até a umidade constante. A seguir as amostras foram trituradas manualmente com pestilo em almofarix e peneiradas em três peneiras: a primeira com abertura de 1mm (Mesh 18), a segunda com 500 $\mu$ m de abertura (Mesh 35) e a última com 425  $\mu$ m de abertura (Mesh 40).

### **3.2.3. Efeitos dos Amidos Modificados nas Propriedades do Bolo**

#### **3.2.3.1. Processamento de bolos utilizando amido granular de milho ceroso tratado enzimática e/ou hidrotêrmicamente**

O efeito das modificações enzimática e hidrotérmicas do amido nas propriedades de substituição de gordura foi verificado em bolo que tinha a seguinte formulação (Tabela 1):

Toda a farinha de trigo utilizada no processamento dos bolos foi misturada em condições controladas em uma batedeira tipo “Chorleywood” com amido de milho da marca Maizena - RMB, na porcentagem de 5% (b.s.).

Primeiramente, a clara e o açúcar foram misturados na batedeira KITCHEN AID modelo K45SS, mantida ligada por 3 minutos na velocidade

Tabela 1. Formulação do bolo

<i>Ingredientes</i>	<i>Massa (g)</i>	<i>%<sup>1</sup></i>	<i>%<sup>2</sup></i>
<i>Farinha de trigo</i>	400	31,39	100
<i>Açúcar</i>	320	25,11	80
<i>Leite em pó</i>	28,56	2,24	7,14
<i>Gordura Vegetal</i>	114,28	8,97	28,57
<i>Clara de ovo</i>	160	12,56	40
<i>Fermento</i>	11,44	0,90	2,86
<i>Água</i>	240	18,83	60

<sup>1</sup> Porcentagens em relação a massa total.

<sup>2</sup> Porcentagens em relação à farinha.

nº. 10. Durante esta etapa inicial de bateção, no primeiro minuto, foi iniciada a adição da gordura vegetal hidrogenada.

Na sequência, o leite e a farinha de trigo foram adicionados, com a batedeira parada. Após adição desses ingredientes a batedeira foi colocada na velocidade nº. 1 por cerca de 10-20 segundos, passando para velocidade nº. 8 por 1 minuto. Para finalizar o processo, o fermento químico em pó foi acrescentado.

A massa preparada foi colocada em formas de alumínio com dimensões em torno de 19,0 x 8,0 cm, referente à 400 gramas de massa. O cozimento foi mantido a 210-230°C, por 22 minutos. A posição das formas no forno foi mantida para todos os experimentos, para se evitar influência de variações de temperatura.

3.2.3.2. Parâmetros de qualidade de bolo usados para avaliar a substituição de gordura por amido tratados enzimática e/ou hidrotermicamente) no bolo.

Os parâmetros de qualidade foram determinados tendo como referência um bolo padrão, sem substitutos de gordura. Os parâmetros utilizados para avaliar a qualidade foram a gravidade específica da massa, o volume específico do bolo, o perfil de textura e a cor.

3.2.3.2.1. Gravidade específica da massa

Após 2 minutos da adição da mistura do fermento químico à massa a gravidade específica foi determinada.

A massa foi despejada de uma altura fixa para um copo graduado, tomando cuidado para ter um fluxo contínuo. 3.2.3.2.1. Gravidade específica

da massa após 2 minutos da adição da mistura do fermento químico à massa a gravidade específica foi determinada.

O volume da massa no copo foi ajustado passando uma espátula na superfície do mesmo. A seguinte equação foi usada para determinação da gravidade específica.

$$\text{Gravidade Específica} = (M_b - M_v) / (M_a - M_v)$$

Onde,

$M_b$  = massa do copo graduado com a mistura

$M_v$  = massa do copo graduado vazio

$M_a$  = massa do copo graduado com água destilada.

A metodologia seguida foi a de CAMPBELL *et al.* (1979), com algumas adequações.

#### 3.2.3.2.2. Volume específico

A metodologia usada foi a do deslocamento de sementes de painço, conforme método n°.72-10 da AACC (1995).

Duas horas após cozimento, o bolo foi envolvido por um plástico bem fino, tipo “magipack”, que aderiu por todo o contorno do bolo. O bolo foi então pesado em uma balança semi-analítica e feita a medição do volume por deslocamento de sementes de painço.

O resultado de volume específico foi calculado em ml/g.

Cada bolo teve três medições de volume específico, com três bolos por formulação.

#### 3.2.3.2.3. Análise de perfil de Textura - T.P.A.

Essa determinação foi feita em bolos que não foram utilizados para determinação do volume, pois o impacto das sementes poderiam causar alteração na textura. Duas horas após cozimento os bolos foram fatiados com fatiadora elétrica, em pedaços iguais. Três fatias do meio do bolo foram retiradas, a crosta foi removida com faca elétrica e pedaços de tamanho igual foram levados ao texturômetro TAXT-2 Texture Analyser. A temperatura ambiente foi mantida a 22°C (+/-3,0), durante a determinação da textura. Usou-se um “probe” de acrílico 25P de 1 polegada de diâmetro, e a distância que o “probe” penetrou no bolo foi fixada em 10mm. Esta distância de penetração do “probe” na fatia de bolo corresponde a 50% de compressão.

A metodologia usada foi a de PIERCE & WALKER (1987), com modificações para utilização em bolos utilizando-se o texturômetro TAXT-2. Foram feitas dez compressões sequenciais, sendo que a primeira representa a firmeza - dureza e a segunda a fragilidade do miolo.

As condições usadas para a análise de textura foram: **Força em compressão**, número de ciclos contados, unidade de força em gramas, unidade de distância em mm, velocidade de pré-teste 5,0 mm/s, velocidade do teste 2,0 mm/s, velocidade pós-teste 5,0 mm/s, distância 5mm, número de ciclos – 10, tipo de gatilho- automático, tipo de gatilho - 5g.

#### 3.2.3.2.4. Cor

A cor foi determinada na crosta e no miolo dos bolos. A cor da crosta foi determinada 1 hora e 30 minutos após o bolo ter saído do forno. Entretanto, a cor do miolo foi medida após 2 horas e 30 minutos da retirada do bolo do forno pois esta medida foi feita quando o bolo já estava fatiado.

O equipamento usado foi da MINOLTA e o sistema de medidas usado foi o CIE-Lab e X, Y e Z, esse último foi utilizado para cálculo de , “Whiteness” e “Yellowness”.

Os valores “L”, “a” e “b” foram utilizados para cálculo de  $\Delta E$ .

Segundo o CETIQT o cálculo foi feito:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

$$\text{Yellowness} = 100 * (1 - 0,847 * Z/Y)$$

$$\text{Whiteness} = (3,388 * Z) - (3 * Y)$$

Os valores encontrados para cor foram calculados a partir de quatro pontos de leitura de cor em cada fatia, tendo sido utilizado três fatias para cada bolo. Em relação à medição de cor da crosta, foram tomados quatro pontos para leitura para cada bolo.

#### 3.2.3.2.5. Avaliação de notas de textura

A avaliação de notas de textura foi realizada no mesmo dia do processamento do bolo, quando ele se encontrava em temperatura ambiente. O método nº.10-90 dos Approved Methods of the AACC, (1995) foi utilizado para essa análise.

### 3.2.3.3. Substituição de gordura por amido de milho ceroso modificado

O estudo da substituição da gordura em bolos por amido de milho ceroso modificado foi investigado através de três experimentos. O primeiro experimento teve como objetivo investigar o efeito combinado do tempo de hidrólise e da porcentagem de substituição de gordura nas propriedades do bolo.

O segundo experimento foi delineado para investigar o efeito combinado da variação das porcentagens de gordura e amido modificado nas propriedades do bolo.

Em um terceiro experimento foi estudado o efeito do amido de milho ceroso tratado hidrotêrmicamente como substituto de gordura em bolos, avaliando as variáveis do processo, porcentagem de umidade e tempo de descanso à 23°C, após 100°C por 16 horas.

Em todos os experimentos a avaliação do efeito no bolo foi feita através da quantificação do volume específico (mg/ ml), gravidade específica (g/ ml) e notas de textura.

O delineamento estatístico para os três experimentos foi do tipo rotacional composto com 2 variáveis independentes em dois níveis, com replicação no ponto central. Foram testados os modelos linear e quadrático (NETO *et al.*, 1995).

A tabela 2 mostra o delineamento com valores codificados, usado para os três experimentos.

Para que a codificação seja feita são necessárias algumas informações importantes: o número de variáveis independentes( no caso são duas); as

Tabela 2.- Delineamento estatístico com valores codificados.

<i>Número do ensaio</i>	<i>Primeira Variável Independente</i>	<i>Segunda Variável Independente</i>
<b>Modelo Linear</b>		
<b>1</b>	-1	-1
<b>2</b>	+1	-1
<b>3</b>	-1	+1
<b>4</b>	+1	+1
<b>Modelo Quadrático</b>		
<b>5</b>	$-\alpha$	0
<b>6</b>	$+\alpha$	0
<b>7</b>	0	$-\alpha$
<b>8</b>	0	$+\alpha$
<b>Pontos Centrais</b>		
<b>9</b>	0	0
<b>10</b>	0	0
<b>11</b>	0	0

respostas que vão ser analisadas; o intervalo, limites inferior e superior das variáveis independentes; o valor de  $\alpha$ , calculado pela seguinte expressão:  $(\alpha^{1/4})^n$ , onde  $n$  é o número de variáveis, o número de ensaios é dado pela expressão:  $2^n + 2*n + 3$ , onde  $n$  é o número de variáveis. Sendo o primeiro termo a parte linear, o segundo a parte quadrática e 3(três) são os pontos centrais.

Os valores das variáveis no delineamento são calculados usando razão de proporção entre os pontos que equivalem aos valores  $-1$ ,  $1$ ,  $-\alpha$ ,  $+\alpha$ , e zero(0).

A tabela 3 mostra os valores das variáveis independentes (tempo de hidrólise e % de substituição) usadas para o estudo referente ao primeiro experimento. Os limites inferior e superior foram determinados baseando-se na curva de porcentagem de hidrólise versus tempo de hidrólise, onde após 48 horas de hidrólise, a porcentagem de hidrólise tende a se estabilizar. Estes parâmetros foram determinados em testes preliminares sendo que as porcentagens de gordura investigadas situaram-se acima ou abaixo do valor usado no bolo padrão, de 30%.

O delineamento estatístico usado para investigar o efeito das porcentagens de gordura e de amido modificado nas propriedades do bolo é mostrado na Tabela 4. Os limites foram determinados a partir da região ótima do primeiro experimento, quando o amido, hidrolisado por 30,00 horas, foi usado na porcentagem de substituição de 15,86% em relação à massa total do bolo, o que corresponde à 4,53% de amido e 16,00% de gordura (ponto central deste segundo delineamento).

Tabela 3. Delineamento estatístico usado para investigar o efeito do tempo de hidrólise do amido de milho ceroso e porcentagem de substituição nas propriedades do bolo.

<i>Número do ensaio</i>	<i>tempo de hidrólise (Hs)</i>	<i>% de substituição</i>
<b>Modelo Linear</b>		
<b>1</b>	20,00	20,00
<b>2</b>	40,00	20,00
<b>3</b>	20,00	40,00
<b>4</b>	40,00	40,00
<b>Modelo Quadrático</b>		
<b>5</b>	15,86	30,00
<b>6</b>	44,14	30,00
<b>7</b>	30,00	15,86
<b>8</b>	30,00	44,14
<b>Pontos Centrais</b>		
<b>9</b>	30,00	30,00
<b>10</b>	30,00	30,00
<b>11</b>	30,00	30,00

Tabela 4. Delineamento estatístico usado para investigar o efeito das porcentagens de gordura e de amido modificado nas propriedades do bolo

<i>número do ensaio</i>	<i>% de Amido</i>	<i>% de Gordura</i>
<b>Modelo Linear</b>		
<b>1</b>	2,03	7,51
<b>2</b>	7,03	7,51
<b>3</b>	2,03	24,49
<b>4</b>	7,03	24,49
<b>Modelo Quadrático</b>		
<b>5</b>	1,00	16,00
<b>6</b>	8,06	16,00
<b>7</b>	4,53	4,00
<b>8</b>	4,53	28,00
<b>Pontos Centrais</b>		
<b>9</b>	4,53	16,00
<b>10</b>	4,53	16,00
<b>11</b>	4,53	16,00

Neste segundo experimento foram analisadas as seguintes variáveis dependentes: volume específico (ml/g); cor da crosta, as variáveis de textura (dureza, adesividade, coesividade, elasticidade) e avaliação de notas de textura.

Em um terceiro experimento foi estudado o efeito do amido de milho ceroso tratado hidrotérmicamente como substituinte de gordura em bolos, avaliando as variáveis porcentagem de umidade e tempo de descanso à 23°C, após 100°C/ 16 horas (Tabela 5). As respostas avaliadas foram: cor (miolo e crosta), volume específico (ml/g), gravidade específico (g/ml), análise de textura no TAXT-2 e a valiação de notas de textura.

Para analisar estes três experimentos, as propriedades funcionais do amido de milho ceroso tratado enzimaticamente e/ou hidrotérmicamente foram avaliadas e comparadas utilizando-se a tabela ANOVA, teste F e o coeficiente de correlação.

#### **3.2.4. Caracterização Físico-Química dos Amidos Tratados Enzimaticamente e/ou Hidrotérmicamente**

Esta caracterização foi feita com aquelas amostras que apresentaram resultados satisfatórios em relação às propriedades funcionais como substituto da gordura em bolos.

##### **3.2.4.1. Capacidade de absorção de água**

Os índices de absorção e de solubilidade em água foram determinados segundo o método de ANDERSON *et al.* (1971).

Tabela 5. Delineamento estatístico usado para investigar o efeito das porcentagens de umidade e tempo de descanso do amido modificado nas propriedades do bolo

<i>Número do ensaio</i>	<i>% de umidade</i>	<i>tempo de descanso (Hs)</i>
<b>Modelo Linear</b>		
<b>1</b>	30,00	8,73
<b>2</b>	60,00	8,73
<b>3</b>	30,00	41,27
<b>4</b>	60,00	41,27
<b>Modelo Quadrático</b>		
<b>5</b>	23,80	25,00
<b>6</b>	66,20	25,00
<b>7</b>	45,00	2,00
<b>8</b>	45,00	48,00
<b>Pontos Centrais</b>		
<b>9</b>	45,00	25,00
<b>10</b>	45,00	25,00
<b>11</b>	45,00	25,00

#### 3.2.4.2. Determinação de cristalinidade por Raio-x

Os difractogramas de Raio-x foram feitos usando radiação de Cu linha K= 1,542 Å tendo uma velocidade de varredura de 0,1° por 3 segundos, em condições trabalho de 40Kv e 30mA. O equipamento usado foi URD-6. Os difractogramas foram obtidos com amostras contendo 16,0% (+/-) 0,5% de umidade.

#### 3.2.4.3. Microscopia óptica

As amostras montadas individualmente em lâminas histológicas foram observadas em microscópio óptico, sob luz normal e polarizada. Para se obter um melhor espalhamento do material na lâmina e não haver problemas de difracção nas bordas dos grânulos, foi depositado uma pequena quantidade de amido sobre uma gota de água e glicerina (1:1), que em seguida foi recoberta por uma lamínula.

As observações feitas no microscópio óptico, foram feitas com aumentos de 40; 100; 125; 250; 400 e 1000 vezes, sendo as fotografias tomadas dos melhores campos, utilizando filme preto e branco Kodak (tipo 5052 TMX). Os filmes foram revelados e copiados segundo processos de rotina.

#### 3.2.4.4. Propriedades de pasta

As propriedades de pasta foram determinadas usando “Rapid Visco-Analyser”- RVA (marca Newport Scientific), com o auxílio do programa “Thermocline for Windows”, de acordo com metodologia proposta pelo fabricante deste equipamento.

As propriedades de pasta foram determinadas segundo a metodologia sugerida pelo fabricante do equipamento para análise de amido hidrolisado, tendo um perfil de aquecimento e resfriamento por vinte minutos. Para esta determinação foi usada uma dispersão na qual a concentração do amido foi de 8,5%.

A curva de temperatura seguiu o seguinte perfil (Tabela 6):

•Os parâmetros e suas definições usados para caracterizar as propriedades das amostras foram: **Pico de viscosidade** - é a viscosidade máxima desenvolvida durante ou logo depois da fase de aquecimento do teste, em RVU ou cP, **Pico de tempo** - é o tempo no qual o pico de viscosidade ocorre, em minutos, **Temperatura de pasta** - temperatura na qual a viscosidade sofre o primeiro aumento, cerca de 20 RVU por 20 segundos, em °C, **Pico de temperatura** - temperatura na qual o pico de viscosidade ocorre, em °C, **Força de resistência** - é a viscosidade mínima após o pico, normalmente ocorre próximo o começo do aquecimento da amostra, em RVU ou cP, **Ponto de quebra** - é o pico de viscosidade menos a viscosidade do ponto de depressão, em RVU ou cP, **Viscosidade final** - viscosidade do final do teste, em RVU ou cP, **Organização final do pico** - é a viscosidade final menos o pico de viscosidade, em RVU ou cP, **Organização do ponto de depressão** - é a viscosidade final menos a viscosidade do ponto de depressão, em RVU ou cP. Todos estes valores foram automaticamente determinados através do “software” que acompanha o instrumento.

Tabela 6.- Parâmetros usados na determinação das propriedades de pasta

Tempo (minutos)	Valor	Tipo
00:00:00	50°C	Temp
00:00:00	960 rpm	Velocidade
00:00:10	160 rpm	Velocidade
00:00:30	50°C	Temp
00:04:30	95°C	Temp
00:08:30	95°C	Temp
00:13:30	30°C	Temp

*O tempo final do teste foi de 20 minutos e as leituras foram realizadas a cada 4 segundos*

#### 3.2.4.5. Temperatura de gelatinização

A temperatura de gelatinização foi determinada usando a metodologia de Calorimetria Diferencial de Varredura – (DSC). O método referência usado foi de FESTUS *et al.* (1995). O equipamento usado foi DSC da DuPont 2000.

A célula referência teve uma quantidade de água deionizada equivalente ao usado nas amostras (15,840mg). Para as amostras foram usados  $4,000 \pm 0,510$ mg de amido e  $16,000 \pm 0,989$ mg de água deionizada, na proporção 1:4. Após a calibração do equipamento, a amostra e a célula referência foram colocadas no instrumento e aquecidas a  $10^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ , no intervalo de temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$  -  $140^{\circ}\text{C}$ . As amostras foram desengorduradas para a análise no DSC, através do método de GURR (1984).

#### 3.2.4.6. Viscosidade intrínseca

A viscosidade intrínseca foi determinada utilizando-se o método de LEACH (1963). As soluções alcalinas de amido foram preparadas segundo LANSKI *et al.* (1949). A viscosidade foi determinada usando o viscosímetro capilar Cannon-Fenske número 50, mantido à  $35^{\circ}\text{C}$  usando um banho termostático.

#### 3.2.4.7. Tamanho dos grânulos de amido

O tamanho dos grânulos foi determinado utilizando o método de MACMASTERS (1964).

A amostra foi preparada como é mencionado em 3.2.2.3. e os grânulos foram medidos através de um micrômetro com escala de 0,01 mm, utilizado em microscópio óptico.

#### 3.2.4.8. Determinação de amilose

O teor de amilose foi determinado segundo o método de WILLIAMS *et al.* (1970). Amilose de milho com 70% de pureza (A-7043 - Lot 22H0316) da Sigma, foi utilizada como referência.

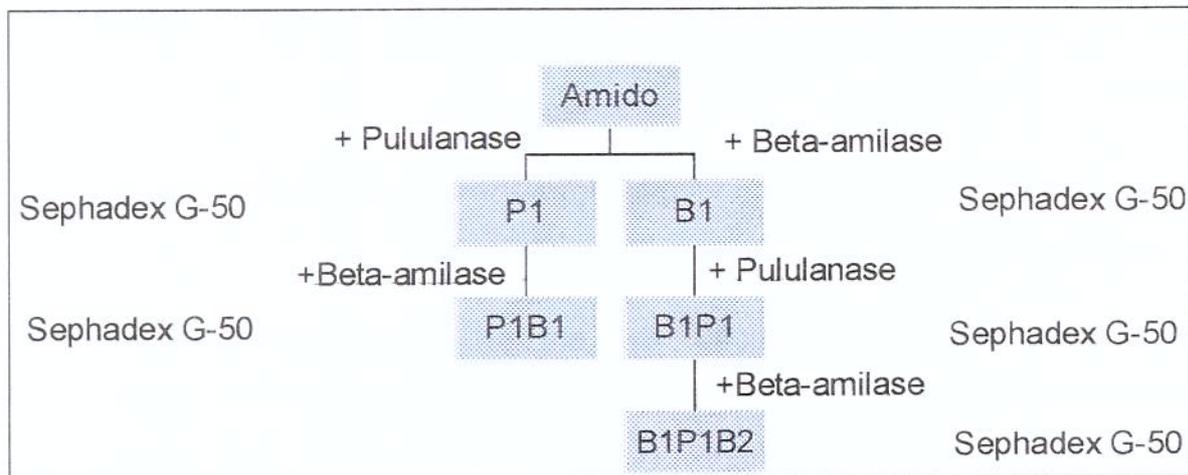
#### 3.2.4.9. Determinação da força do gel

Para análise de força do gel, foram utilizadas dispersões de amido com 14% de umidade previamente analisadas em RVA. Estas dispersões foram colocadas em béckeres de 50 ml, mantidas por 30 minutos na temperatura ambiente e estocadas em geladeira por 18 horas. Após este tempo, as amostras foram deixadas 2 horas à temperatura ambiente para ser feita a leitura no TAXT-2. O “probe” usado foi de acrílico P20, com velocidade de 1,0 mm/s, sendo a velocidade anterior e posterior à penetração do “probe” na amostra de 3,0 mm/s. A distância percorrida dentro da amostra foi 50% da sua altura, correspondendo a uma penetração de 11,5 mm.

#### 3.2.4.10. Análise de estrutura fina do grânulo de amido

A estrutura fina dos amidos foi através de cromatografia de permeação em gel Sephadex G-50 estudada. Os resíduos de amido provenientes da hidrólise com as enzimas pululanase e/ou  $\beta$ -amilase tiveram sua estrutura fina analisada (Figura 3), segundo metodologia relatada por ROBIN *et al.* (1974).

Figura 3 – Método enzimático utilizado para o estudo da estrutura fina do amido.



Fonte – ROBIN *et al.* (1974).

#### 3.2.4.10.1. Preparação das soluções das enzimas pululanase e $\beta$ -amilase

As enzimas utilizadas pululanase e beta-amilase foram diluídas em solução tampão citrato-fosfato 0,05 M à pH 5,2; com 1 ml da solução de pululanase correspondendo à 1 unidade da enzima e para  $\beta$ -amilase, cada 1 ml da solução contendo a enzima correspondia à 110 unidades da enzima.

A enzima beta-amilase foi diluída em soroalbumina bovina e cloridrato de cisteína, para estabilização.

A preparação da solução da enzima pululanase foi realizada adicionando-se 0,5 ml de pululanase de *Enterobacter aerogenes*, que possuía 100 unidades/ ml, com 0,5 ml de pululanase de *Klebsciella pneumoniae* de 250 unidades/ ml. Desta forma, 1 ml de enzima foi diluído em 25 ml com tampão citrato/ fosfato 0,05 M à pH 5,2; apresentando uma concentração de 4% da enzima pululanase.

A outra enzima usada foi beta-amilase da Sigma, com 25.000 unidades, proveniente de batata doce. A preparação da solução de beta-amilase foi realizada dissolvendo, em 50ml de tampão citrato-fosfato 0,05M à pH5,2; 0,25 ml da enzima, 0,0275 g de soroalbumina livre de glucosidase, 0,0058 g de cloridrato de cisteína ( L-cisteína clohidrato monohidratado -  $C_3H_8NO_2SCI \cdot H_2O$  ).

A solução de cloridrato de cisteína foi preparada à 0.0232% (p/v), sendo usado somente 25 ml. E a solução de soroalbumina foi preparada na concentração de 0.1375% (p/v) sendo usado 20 ml.

Após ter preparado estas duas soluções, adicionou-se 0,25 ml de enzima, completando o volume para 50 ml com tampão citrato-fosfato 0,05M à pH 5,2. A concentração final de  $\beta$ -amilase foi de 0.5% (p/v). A solução enzimática foi congelada para uso posterior.

Foram feitas diluições adequadas das enzimas em tampão citrato-fosfato 0,05 M, pH 5,2, de modo que cada ml da solução de pululanase correspondesse à 1 unidade da enzima e cada ml da solução de  $\beta$ -amilase correspondesse à 110 unidades da enzima.

#### 3.2.4.10.2. Hidrólise com a enzima pululanase (P1)

A preparação para hidrólise foi realizada com 0,25 gramas de amido em 8 ml de tampão citrato-fosfato 0,05 M à pH 5,2. A solubilização do amido foi feita a 100°C por 3 minutos. A solução foi, a seguir, completada para 10 ml. À esta solução de 2,5% (p/v) de amido foi adicionado mais 10 ml de tampão citrato-fosfato 0,05 M à pH 5,2 e 5 unidades de pululanase, preparada anteriormente. A reação enzimática foi conduzida à 30°C, com agitação constante em um “shaker”, sendo acompanhada por determinação de açúcares redutores, tendo a glicose como padrão, conforme SOMOGY-NELSON (1945), até a concentração de açúcar ficar constante (cerca de 24 horas).

Para a interrupção da hidrólise, a solução enzimática foi fervida por 20 minutos (à 100°C).

#### 3.2.4.10.3. Hidrólise com $\beta$ -amilase ( $\beta_1$ )

Uma amostra contendo 0,5 gramas de amido foi dispersa em 15 ml de solução tampão citrato-fosfato 0,05 M a pH 5,2 e, a seguir, mantida à 100°C

por 3 minutos. Após resfriamento, o volume foi completado para 25 ml com o mesmo tampão. Uma alíquota de 20 ml dessa solução de amido 2% (p/v) foi misturada com 4 ml da solução de  $\beta$ -amilase e o volume elevado para 40 ml com tampão citrato-fosfato 0,05 M. A concentração de amido usada foi de 1% (0,01 g/ml), fazendo uso de 440 unidades de enzima. A reação foi conduzida à 30°C por cerca de 24 horas, até haver a estabilização da concentração de açúcares redutores. A reação foi interrompida mantendo-se a temperatura a 100°C por 20 minutos.

#### 3.2.4.10.4. Ação de desramificação das $\beta$ -limite dextrinas ( $\beta_1P_1$ )

As amostras hidrolisadas com  $\beta$ -amilase ( $\beta_1$ ) foram descongeladas e a um volume de 20 ml, contendo 1% (p/v) de amido, foram adicionadas 2 unidades de pululanase e 3 ml de tampão citrato-fosfato 0,05 M à pH 5,2. A temperatura de incubação foi de 30°C, o tempo necessário para que a concentração de açúcares redutores ficasse constante por 24 horas. Para a interrupção da hidrólise enzimática a mistura foi aquecida à 100°C por 20 minutos.

#### 3.2.4.10.5. Hidrólise das $\beta$ -limite dextrinas desramificadas( $\beta_1P_1$ ) por $\beta$ -amilase ( $\beta_1 P_1\beta_2$ )

A uma alíquota de 10 ml de  $\beta_1 P_1$ , correspondendo à 0,8% (p/v) de amido, adicionou-se 110 unidades de  $\beta$ -amilase. A hidrólise foi conduzida a 30°C até a estabilização da concentração de açúcares redutores, em torno de 24 horas. A inativação da enzima foi feita deixando a solução a 100°C por 20 minutos.

#### 3.2.4.10.6. Hidrólise do amido desramificado pela enzima $\beta$ -amilase ( $P_1\beta_1$ )

A 10 ml da solução de 1% (p/v) de amido desramificado, foram adicionados 220 unidades de  $\beta$ -amilase, correspondendo à uma mistura de 0,008 g/ ml de amido. A reação foi conduzida a 30°C, até que a concentração de açúcares redutores ficasse constante. A inativação da enzima foi feita mantendo-se a solução a 100°C por 20 minutos.

#### 3.2.4.10.7. Distribuição do grau de polimerização (DP) dos derivados de amido

As análises cromatográficas em permeação em gel Sephadex G-50 foram conduzidas segundo metodologia proposta por ROBIN *et al.* (1974), com algumas alterações, utilizando o sistema FPLC da Pharmacia.

Primeiramente a coluna de 16 mm de diâmetro por 100 cm de comprimento foi empacotada usando Sephadex G-50 na concentração de 10 ml/g, fluxo de 1 ml/ minuto de tampão fosfato 10 mM a pH 7,0; com 0,02% de azida sódica, para evitar crescimento microbiano, durante 60 minutos. A seguir, o fluxo foi ajustado a 1,6ml/ minuto e mantido nessa vazão por 60 minutos.

O volume vazio da coluna e sua integridade, foram determinados com “Blue Dextran 2000 LMW gel Filtration Kit 17-0442 E”, em uma concentração de 0,00061g/ ml, em um fluxo de 0,45 ml/ minuto.

A calibração da coluna foi feita com amilopectina de milho ceroso, purificada, segundo SCHOCH (1957), sendo desramificada com pululanase para obtenção do grau de polimerização (DP). Foram introduzidos na coluna

cerca de 3-4 ml, da solução de amilopectina, contendo 104 mg de amilopectina desramificada.

Para melhor definição de  $G_1$  e  $G_2$ , foi injetado na coluna 100 mg de glucose e 250 mg de maltose.

As cromatografias das soluções de amido com e sem hidrólise foram realizadas com 2 ml de amostra contendo 10 mg ou 20 mg de amido, respectivamente. Em ambos os casos foi utilizado um fluxo ascendente de 0,5 ml por minuto.

A eluição dos carboidratos foi determinada pelo índice de refração. Entretanto como não foram usados padrões para a faixa de peso molecular desejada, foi necessário que se fizesse coleta das frações para determinação do grau de polimerização (DP), calculado através da relação carboidratos totais/ carboidratos redutores.

A determinação do teor de açúcar redutor foi feito pelo método SOMOGY-NELSON (1945) e de açúcares totais pelo uso da metodologia de fenol-sulfúrico de DUBOIS *et al.* (1956). Os padrões de eluição obtidos representaram o peso de polissacarídeo expresso em mg de glicose por 100 mg de polissacarídeo recuperado *versus* volume de eluição. Assim, estes padrões puderam ser comparados, cada um correspondendo a 100 mg de polissacarídeo.

## **4. RESULTADOS e DISCUSSÃO**

### **4.1. Características das Matérias-Primas**

#### **4.1.1. Composição Centesimal**

O amido de milho ceroso proveniente da Refinações de Milho Brasil (RMB) apresentou a composição química mostrada na Tabela 7.

SWINKELS (1985) observou que a porcentagem de substâncias graxas presente nos amidos de cereais comuns (milho, trigo, arroz e sorgo), se situa entre 0,6-1,0%. Estes amidos apresentam uma concentração de proteína na faixa de 0,25-0,50% e os de milho, em particular, apresentam uma concentração de cinzas em torno de 0,05 a 0,10 %.

De acordo com MITCHELL (1990) o amido ceroso de milho apresenta a seguinte composição : proteína 0,25%; gordura 0,05%; cinzas 0,10%.

Os resultados obtidos no presente estudo foram, portanto, comparáveis com os dados encontrados na literatura, indicando que o amido de milho ceroso usado pode ser considerado suficientemente puro para a finalidade do trabalho proposto.

#### **4.1.2. Propriedades de Pasta da Matéria-Prima**

A Tabela 8 mostra os parâmetros amilográficos obtidos para o amido de milho ceroso e a Figura 4 ilustra o perfil da curva amilográfica obtida para este amido.

Tabela 7. Composição centesimal do amido de milho ceroso<sup>1</sup>

<i>Componentes</i>	<i>Concentração (%)</i> <sup>2</sup>
<i>Proteína</i>	0,35
<i>Lipídeos</i>	0,21
<i>Carboidratos</i>	99,38
<i>Cinzas</i>	0,06

<sup>1</sup> O Amido com 13,45% de umidade.

<sup>2</sup> O valor da concentração de carboidratos foi calculado por diferença. Todos os resultados foram calculados em base seca, sendo a média de pelo menos duas determinações.

Tabela 8. Características amilográficas do amido de milho ceroso sem tratamento.

<i>Amostra</i>	<i>VM</i> (RVU) *	<i>Vmin</i> (RVU)	<i>PQ</i> (RVU)	<i>Vf</i> (RVU)	<i>Rtg</i> (RVU)	<i>Pt</i> (minutos)	<i>Tp</i> (°C)
<b>Sem tratamento</b>	255.99	94.63	161.36	148.09	53.46	3.25	<b>68.46</b>

Onde:

VM = Viscosidade máxima; em unidades RVU.

Vmin = Viscosidade mínima; à 95°C em RVU.

PQ = Ponto de quebra; em unidades RVU

Vf = Viscosidade final; à temperatura de 30°C, em unidades RVU

Rtg = Retrogradação, viscosidade final, em RVU, à 30°C menos a viscosidade final à 95°C.

Pt = Pico de tempo, tempo para atingir a viscosidade máxima, em minutos.

Tp = Temperatura de pasta.

\* RVU = Unidades do RVA

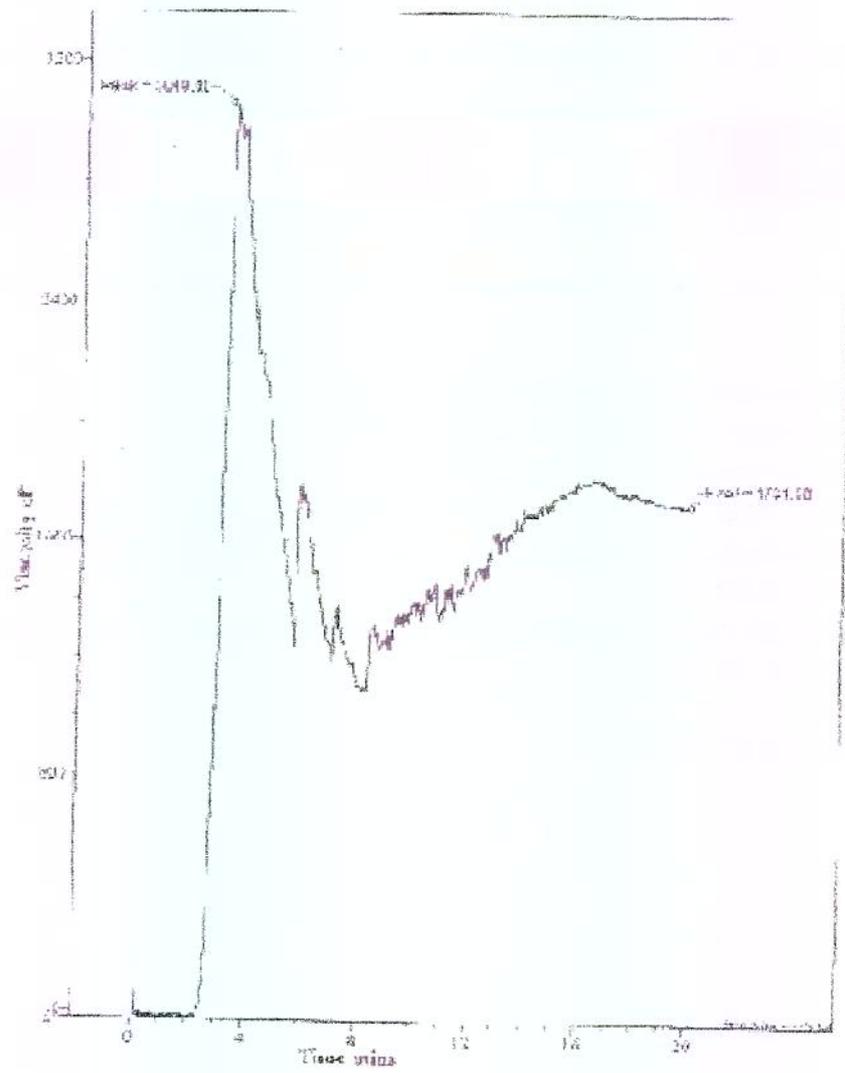


Figura 4. Viscoamilograma do amido de milho ceroso sem tratamento.

Pode-se observar que o aumento de viscosidade em função do aumento de temperatura ocorreu em uma faixa estreita de temperatura, indicando que as forças que mantêm a estrutura do grânulo são homogêneas. A viscosidade a frio, após aquecimento, não sofreu alterações significativas com o abaixamento da temperatura, indicando baixa tendência à retrogradação.

Estes resultados estão de acordo com os observados por outros pesquisadores. Segundo SCHOCH & MAYWALD (1968) os grânulos de amido ceroso apresentam alto inchamento e um pico de viscosidade bastante alto, seguido de uma queda brusca.

SWINKELS (1985), observou que o amido ceroso não retrograda facilmente, como ocorre com o amido comum. Nestes, segundo LEELAVATHI & INDRANI (1987), a retrogradação é decorrente da presença de amilose que, pela afinidade dos grupos hidroxil presentes na molécula, se orientam paralelamente formando agregados com, conseqüente, diminuição da solubilidade e aumento da viscosidade à frio.

## **4.2. Modificações no Grânulo de Amido**

### **4.2.1. Tratamento Enzimático**

A Tabela 9 mostra os tempos de hidrólise do amido de milho ceroso e as correspondentes porcentagens de hidrólise e residual de amido. A Figura 5 mostra a porcentagem de hidrólise em função do tempo de hidrólise, e a Figura 6 mostra o residual de amido em função do tempo de hidrólise.

Os resultados da avaliação da hidrólise em função do tempo mostram que ao longo das 48 horas ocorreu aumento gradativo da porcentagem de

hidrólise. O perfil da Figura 5 indica que a velocidade de hidrólise, praticamente variou linearmente com o tempo.

Os resultados da Tabela 9 mostram que com 20, 30 e 40 horas, porcentagens de hidrólise de 44,4, 46,0 e 48,6%, respectivamente foram obtidas.

### **4.3. Efeito dos Amidos Modificados no Bolo**

O efeito dos amidos modificados nas propriedades dos bolos foi estudado em três etapas. Na primeira, com o objetivo de definir um tempo de hidrólise ótimo, foi investigado o efeito do tempo de hidrólise na porcentagem de substituição de gordura no bolo.

Definido o tempo de hidrólise foi investigado o efeito da relação porcentagem de amido e porcentagem de gordura nas propriedades do bolo.

A seguir, com o tempo de hidrólise e a porcentagem de substituição da gordura pelo amido encontrados anteriormente, foi investigado o efeito do tratamento hidrotérmico nas características de qualidade do bolo.

#### **4.3.1. Efeito do tempo de hidrólise na porcentagem de substituição da gordura nas características de qualidade do bolo.**

A Tabela 10 mostra o efeito dos diferentes tempos de hidrólise e porcentagens de substituição da gordura em relação ao volume específico e notas de textura do bolo.

A Tabela 11 mostra a análise estatística dos resultados para volume específico.

Tabela 9. Tempos de hidrólise do amido de milho ceroso e as correspondentes porcentagens de hidrólise e residual de amido.

<i>Tempo de Hidrólise (Hs)</i>	<i>Porcentagem de Hidrólise (%)</i>	<i>Residual de Amido (g)</i>
2	32,1	1,5692
4	35,3	1,4943
6	36,5	1,4673
8	37,6	1,4403
12	40,3	1,3786
16	42,1	1,3378
20	44,4	1,2852
24	45,3	1,2634
28	45,6	1,2554
32	47,0	1,2236
40	48,6	1,1873
44	50,5	1,1432
48	51,6	1,1112
52	53,1	1,0829

Figura 5. Porcentagem de hidrólise do amido de milho ceroso em função do tempo de hidrólise

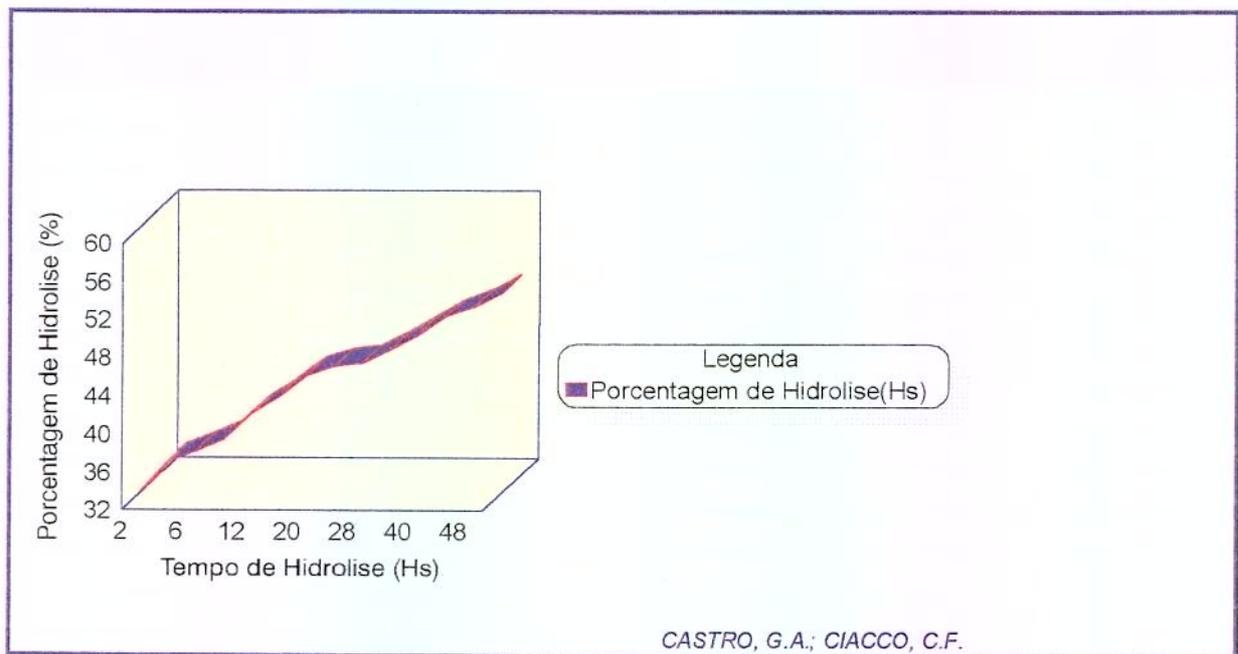


Figura 6. Residual de amido em função do tempo de hidrólise.

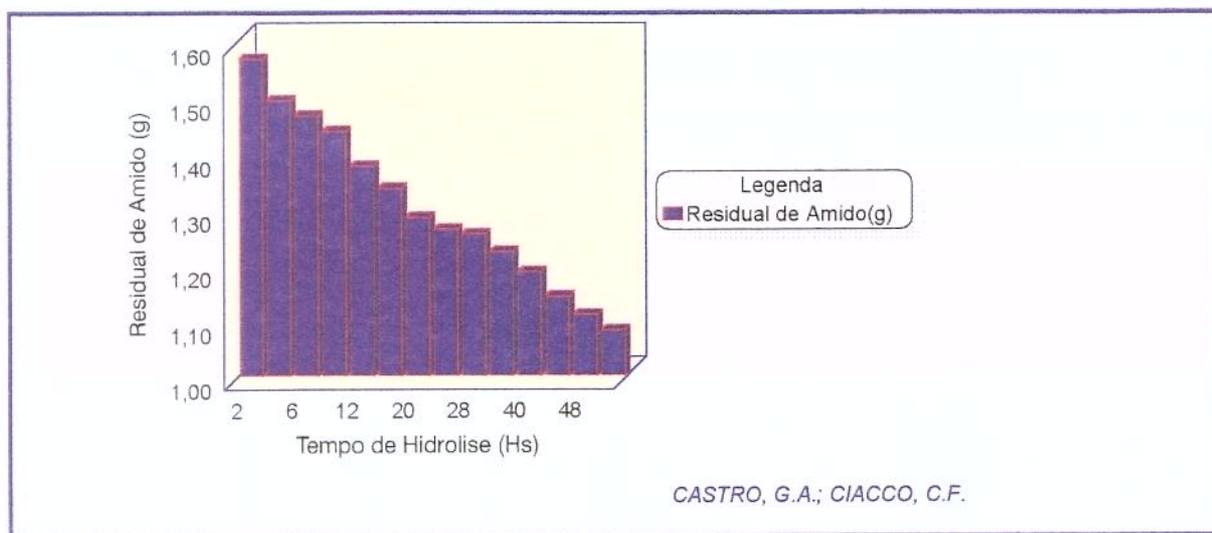


Tabela 10. Efeito do tempo de hidrólise e porcentagem de substituição da gordura em relação ao volume específico e notas de textura.

Amostras		Volume Específico (ml/ g)	Notas de Textura
Tempo de Hidrólise (Hs)	% de Substituição		
20,00	20,00	2,19	88
40,00	20,00	2,14	88
20,00	40,00	2,26	80
40,00	40,00	2,17	70
15,86	30,00	2,08	92
44,14	30,00	2,11	72
30,00	15,86	2,37	88
30,00	44,14	2,38	76
30,00	30,00	2,17	80
30,00	30,00	2,22	76
30,00	30,00	2,20	76
Padrão		2,30	98

Tabela 11. O efeito do tempo de hidrólise e porcentagem de substituição em relação ao volume específico.

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	linear	Quadrático	linear	Quadrático	linear	Quadrático	linear	quadrático	linear	Quadrático
Regressão	0,0078	0,0822	0,0026	0,0164	3	5	6,5	7,8095	85,71	88,80
Resíduos	0,0013	0,0104	0,0004	0,0021	3	5				
F.ajuste	$7,6 \cdot 10^{-5}$	0,009131	$7,6 \cdot 10^{-5}$	0,0030	1	3	0,1267	5,00		
Erro puro	0,0013	0,001267	0,0006	0,0006	2	2				
Total	0,0091	0,092564	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ= média quadrática

R<sup>2</sup> = %de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) =85,71

R<sup>2</sup>(Modelo quadrático) =88,80

F<sub>0,95, 3, 3</sub> =9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub> =5,05 (modelo quadrático)

F<sub>0,95, 3, 2</sub> =19,16

% máxima de variação explicável =(SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>)/ SQ<sub>T</sub>=(Modelo linear)=85,71

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 98,63

Os resultados mostram que o modelo quadrático é o que mais se ajusta para este experimento. O  $F_{\text{calculado}}$  é maior que o  $F_{\text{tabelado}}$ , no modelo quadrático, mas, o modelo não é preditivo, pois o valor de  $F_{\text{calculado}}$  não é de quatro à cinco vezes maior que o  $F_{\text{tabelado}}$ . Entretanto, considerando que a regressão é estatisticamente significativa para o modelo quadrático, o modelo seria:

$$V_{\text{esp}} = 2,242874 + 0,039046 \cdot \text{TH} - 0,000621 \cdot \text{TH}^2 - 0,042333 \cdot \text{S} + 0,000779 \text{S}^2 - 0,0001 \text{TH} \cdot \text{S}$$

Onde,

TH = variável  $X_1$ , tempo de hidrólise;

S = variável  $X_2$ , porcentagem de substituição.

É importante mencionar que somente o último termo não é significativo.

Cálculo do ponto de  $V_{\text{esp}}$  supostamente ótimo resultou em valores negativos. Assim, foi adotado, para finalidade prática, o valor onde  $V_{\text{esp}}$  foi máximo, observado na extremidade da superfície de resposta obtido através do modelo (Figura 7).

Em relação ao tempo de hidrólise, a superfície de resposta da Figura 7 mostra que a amostra hidrolisada por 30 horas apresentou volume específico máximo, para os valores extremos da porcentagem de substituição. Estes resultados indicaram que a amostra com o tempo de hidrólise de 30 horas apresentou os melhores resultados como substituto de gordura. Por outro lado, a porcentagem de substituição de gordura que

apresentou os melhores resultados foi aquela onde a gordura foi substituída em 15,86% ou 44,14% pelo amido.

Foi adotado 15,86% de substituição de gordura, pois com uma porcentagem de substituição de 44,14% as características sensoriais e avaliação de notas de textura, segundo à AACC não foram favoráveis. (Tabela 12).

HARRIS & DAY (1993) mencionaram que o estado físico da estrutura macromolecular do novo substituinte de gordura, é o principal responsável pelas suas propriedades funcionais.

É relevante observar na superfície de resposta (Figura 7), que não se conseguiu um tempo de hidrólise e uma porcentagem de substituição ótimas para um volume específico máximo, para o intervalo usado neste delineamento tanto o linear quanto o quadrático. A partir deste experimento, entretanto seria possível restringir os limites para um novo delineamento, com estas mesmas variáveis independentes com porcentagens de substituição abaixo de 15,86% e acima de 44,14%, enquanto para o tempo de hidrólise seria o intervalo de 25 à 35 horas, para limite inferior e superior, respectivamente.

Figura 7. Efeito da substituição de gordura e tempo de hidrólise no volume específico, avaliado por superfície de resposta (SR).

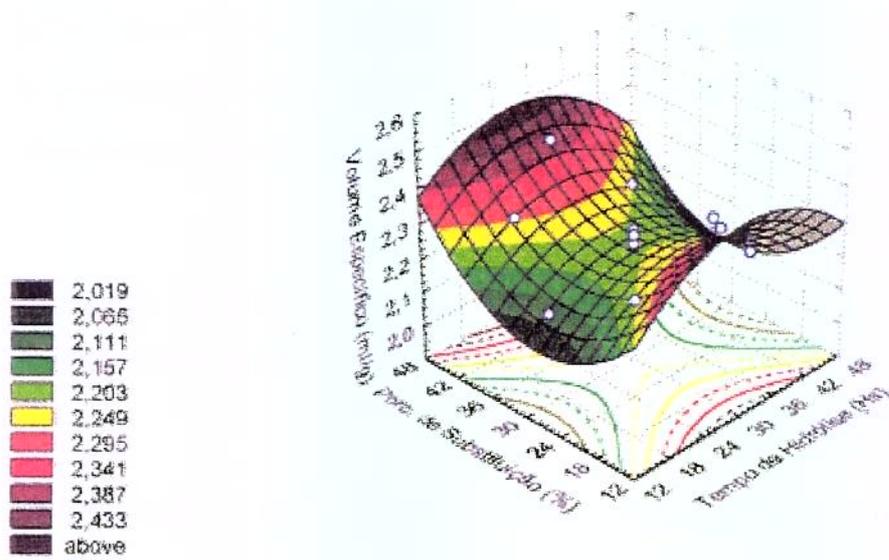


Tabela 12. Avaliação de Notas de Textura

<b>Amostras</b>	<b>Notas de Textura</b>	<b>Comentários</b>
<b>20,00% de substituição 20,00 horas</b>	88	Levemente seco, menos macio que o padrão. Miolo com cor semelhante ao padrão. Crosta mais clara, lisa, poucas trincaduras, cor desuniforme. Boa aparência.
<b>20,00% de substituição 40,00 horas</b>	88	Levemente seco, macio como o padrão. Miolo cor semelhante ao padrão. Crosta cor mais clara, desuniforme, um pouco mais lisa, com trincaduras. Boa aparência.
<b>40,00% de substituição 20,00 horas</b>	80	Levemente seco, paredes finas, macio. Miolo mais claro que o padrão, com manchas amareladas, sabor de amido. Crosta mais clara que o padrão, lisa com trincaduras, cor desuniforme. Aparência ruim.
<b>40,00% de substituição 40,00 horas</b>	70	Gomoso, seco, borrachento. Miolo cor semelhante ao padrão. Crosta mais clara e desuniforme, abertura lateral, forma do contorno do bolo torta, crosta lisa com trincaduras. Aparência ruim.
<b>30,00% de substituição 15,86 horas</b>	92	Úmido, macio. Miolo cor semelhante ao padrão, um pouco embatumado. Crosta com poros com trincas, cor mais clara e desuniforme, abertura central. Boa aparência.
<b>30,00% de substituição 44,14 horas</b>	72	Levemente seco, crosta fina e descontínua. Miolo semelhante ao do padrão, manchas amareladas, embatumado, seco nas extremidades. Crosta mais escura, poucos poros, trincas, abertura central. Boa aparência.
<b>15,86% de substituição 30,00 horas</b>	88	Macio, um pouco borrachento, fofo e leve. Miolo cor semelhante ao padrão. Sabor seco. Crosta cor semelhante ao padrão, com poros, não muito lisa, abertura central. Boa aparência.
<b>44,14% de substituição 30,00 horas</b>	76	Levemente seco, borrachento, macio. Miolo cor semelhante ao padrão. Crosta dura, seca, cor semelhante ao padrão, um pouco desuniforme, abertura central, poucos poros com crosta apresentando trincas. Boa aparência.
<b>30,00% de substituição 30,00 horas</b>	80	Áspero, levemente seco. Miolo com mais manchas amareladas que o padrão, sabor seco. Crosta mais clara que o padrão, lisa e trincada, abertura lateral. Aparência ruim.
<b>30,00% de substituição 30,00 horas</b>	76	Contorno descontínuo, um pouco borrachento, Levemente seco. Miolo cor semelhante a da padrão. Crosta cor desuniforme, poucos poros, com trincas, abertura central. Aparência razoável.
<b>30,00% de substituição 30,00 horas</b>	76	Contorno descontínuo, um pouco borrachento, Levemente seco. Miolo cor semelhante a da padrão. Crosta cor desuniforme, poucos poros, com trincas, abertura central. Aparência razoável.
<b>Padrão</b>	98	Contorno contínuo, fofo, leve, macio. Cor do miolo e crosta uniformes e características de um bolo com gordura. Sem trincaduras, abertura central, crosta com poros. Boa aparência.

#### 4.3.2. Efeito das Variações das Quantidades de Amido e de Gordura nas Características de Qualidade do Bolo.

Este experimento foi realizado tendo como base no resultado anterior que apresentou como tendência de ótimo tanto para volume específico, como para avaliação de notas de textura o teor de 15,86% de substituição de gordura para o amido hidrolisado por 30 horas.

Para este experimento foram consideradas combinações entre diferentes porcentagens de amido hidrolisado por 30 horas e de gordura em relação ao peso da farinha. O ponto central utilizado foi aquele em que a substituição de gordura por amido foi igual a 15,86% (ou 4,53% de amido e 16,00% de gordura em relação ao peso da farinha).

A Tabela 13 mostra o efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura nas características do bolo.

Os parâmetros estatísticos do efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação ao volume específico são apresentados na Tabela 14.

Para o volume específico o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou. Entretanto, o modelo não foi preditivo, somente estatisticamente significativo. O modelo matemático para a resposta volume específico ( $vesp_2$ ) encontrado está expresso na equação abaixo:

$$vesp_2 = 2,264467 - 0,060782*A + 0,007219 * A^2 + 0,003582* G - 0,000035*G^2 - 0,000353*A*G$$

Onde,

Tabela 13. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação as características de qualidade do bolo.

Amostras		Volume Específico (ml/g)	Notas de Textura
% amido	% gordura		
2,03	7,51	2,18	84
7,03	7,51	2,22	88
2,03	24,49	2,21	90
7,03	24,49	2,22	96
1,00	16,00	2,27	90
8,06	16,00	2,22	88
4,53	4,00	2,14	80
4,53	28,00	2,16	88
4,53	16,00	2,16	88
4,53	16,00	2,17	78
4,53	16,00	2,15	88
Padrão		2,30	98

Tabela 14. O efeito das diferentes combinações de porcentagens de amido e gordura em relação ao volume específico.

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	linear	quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático
Regressão	0,0011	0,0137	0,0004	0,0027	3	5	0,2857	6,75	21,57	86,21
Resíduos	0,0041	0,0022	0,0014	0,0004	3	5				
F.ajuste	0,0039	0,002021	0,0039	0,0007	1	3	39,00	7,00		
Erro puro	0,0002	0,000200	0,0001	0,0001	2	2				
Total	0,0051	0,015891	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ= média quadrática

R<sup>2</sup> = %de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) =21,57

R<sup>2</sup>(Modelo quadrático) =86,21

F<sub>0,95, 3, 3</sub> =9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub> =5,05 (modelo quadrático)

F<sub>0,95, 3,, 2</sub> =19,16

% máxima de variação explicável = (SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>) / SQ<sub>T</sub> = (Modelo linear) =96,08

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 98,7414

A = porcentagem de amido

G = porcentagem de gordura

Nesse modelo somente os três primeiros termos foram significativos.

De acordo com os dados obtidos através da tabela 15 "*Estimativas dos Efeitos*" uma variação de 2,03% para 7,03%, (-1 para +1) na porcentagem de amido, causou um aumento no volume específico de 0,025ml/g.

Variações da porcentagem de amido de 1,00% para 8,06% (de  $-\alpha$  para  $+\alpha$ ), provocou aumentos de 0,090ml/g no volume específico

Por outro lado, ocorreu um aumento de 0,015ml/g no volume específico quando a porcentagem de gordura passou de -1 para +1. A média global foi de 2,16ml/g.

A superfície de resposta (Figura 8) mostra que variações da porcentagem de amido, em qualquer porcentagem de gordura, apresentaram volumes específicos mínimos a 4,53% de amido equivalente à 15,86% (porcentagem de substituição de gordura). Os valores extremos da porcentagem de amido 1,00% e 8,06% apresentaram os maiores valores para volume específico em toda a faixa de porcentagem de gordura estudada. Aumentos na porcentagem de gordura resultaram, para uma mesma porcentagem de amido, em correspondentes incrementos nos valores de volume específico.

Para a análise de dureza, o modelo quadrático foi o que mais se ajustou segundo o valor do teste F e da porcentagem de variação explicada  $R^2$ . O modelo matemático encontrado foi:

Tabela 15. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação ao volume específico.

<b>Fatores analisados</b>	<b>Efeitos</b>
<i>*Média Global</i>	2,16
<i>Porcentagem de amido (linear)</i>	0,025
<i>Porcentagem de amido (quadrático)</i>	0,090
<i>Porcentagem de gordura (linear)</i>	0,015
<i>Porcentagem de gordura (quadrático)</i>	-0,005

\*Média global é a média do volume específico calculada baseando-se na correlação das porcentagens de amido e gordura.

Figura 8. Efeito das diferentes combinações de porcentagens de amido e gordura no volume específico avaliado por SR.

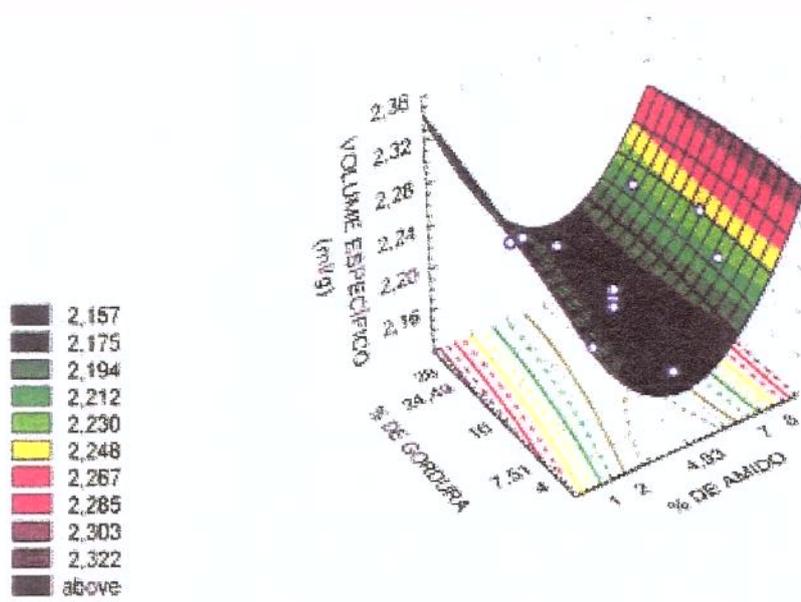


Tabela 16. O efeito de diferentes combinações de porcentagens de amido e gordura nas características de textura do bolo.

Amostras		Dureza (g)	Adesividade	Coesividade	Elasticidade
% amido	% gordura				
2,03	7,51	285,94	-0,477	0,723	0,438
7,03	7,51	339,36	-5,160	0,639	0,328
2,03	24,49	318,79	-0,702	0,682	0,382
7,03	24,49	370,82	-4,082	0,619	0,314
1,00	16,00	283,65	-0,344	0,723	0,431
8,06	16,00	333,43	-5,315	0,634	0,322
4,53	4,00	335,20	-6,134	0,714	0,420
4,53	28,00	332,05	-0,870	0,658	0,351
4,53	16,00	334,34	-1,528	0,672	0,366
4,53	16,00	336,04	-1,258	0,680	0,379
4,53	16,00	330,26	-0,875	0,666	0,358
Padrão		283,00	-0,530	0,700	0,406

Tabela 17 O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação à dureza.

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	linear	quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático
Regressão	745,74	4888,143	248,58	977,6286	3	5	2,6134	6,6463	72,32	86,92
Resíduos	285,35	735,4660	95,117	147,0932	3	5				
F.ajuste	268,47	718,583	268,47	239,5277	1	3	31,80	28,3750		
Erro puro	16,883	16,883	8,4415	8,4415	2	2				
Total	1031,1	5623,609	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ= média quadrática

R<sup>2</sup> = %de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) =72,32

R<sup>2</sup>(Modelo quadrático) =86,92

F<sub>0,95, 3, 3</sub> =9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub> =5,05 (modelo quadrático)

F<sub>0,99, 3,, 2</sub> =99,17

% máxima de variação explicável = (SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>) / SQ<sub>T</sub> (Modelo linear) = 98,36

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 99,70

$$\text{Dureza} = 213,4960 + 38,4403 * A - 2,6904 * A^2 + 1,9194 * G - 0,0029 * G^2 - 0,4059 * A * G$$

Onde,

A = porcentagem de amido;

G = porcentagem de gordura.

Os termos de porcentagem de gordura, tanto linear quanto quadrático, não foram significativos.

Através da Tabela 18 "*Estimativas dos Efeitos*" foi encontrado um aumento na dureza de 21,18g; quando a porcentagem de amido passou do valor de 2,03% para 7,03% (efeito linear) e houve um aumento da dureza de 33,57g quando a porcentagem de amido passou de 1,00% para 8,06% (efeito quadrático). Por outro lado, a variação da porcentagem de gordura de 7,51% para 24,49%, causou um pequeno aumento na dureza, de 0,61g, assim como, também uma diminuição na dureza de 0,46g; quando a porcentagem de gordura passou de 28,00% para 4,00%. A média global foi 332,97g.

A superfície de resposta mostra que aumentos nas porcentagens de amido e gordura provocaram aumentos da dureza, sendo que a porcentagem de amido causou um aumento bem mais abrupto (Figura 9). É interessante observar que à 4,53% de amido a dureza aparenta ter atingido o seu valor máximo, justamente no ponto onde o volume específico foi mínimo.

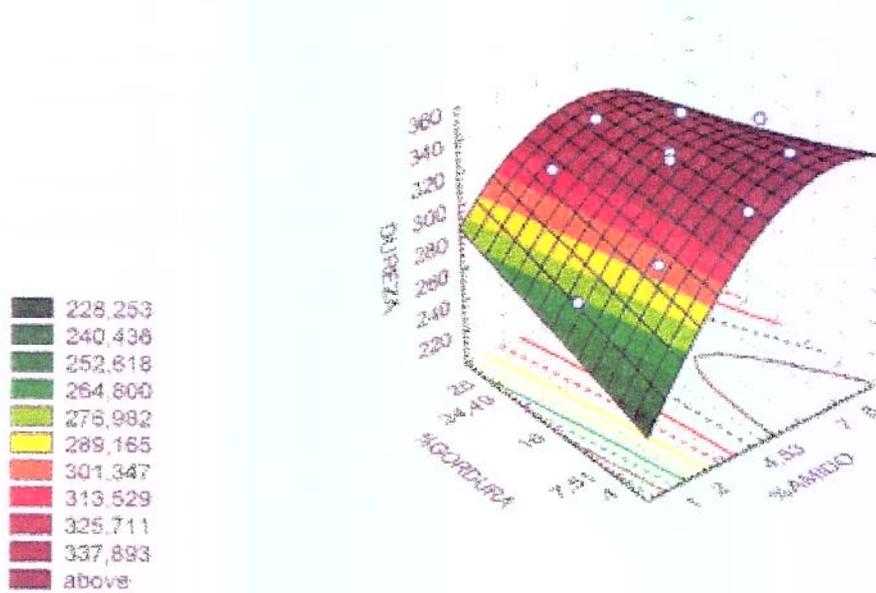
A dureza do bolo padrão (sem substituição de gordura) foi em torno de 283g, sendo este o valor referencial para este parâmetro. Em relação a este

Tabela 18. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à dureza.

<b>Fatores analisados</b>	<b>Efeitos</b>
<i>*Média Global</i>	332,97
<i>Porcentagem de amido (linear)</i>	21,18
<i>Porcentagem de amido (quadrático)</i>	33,57
<i>Porcentagem de gordura (linear)</i>	0,61
<i>Porcentagem de gordura (quadrático)</i>	-0,46

\*Média global é a média do volume específico calculada baseando-se na correlação das porcentagens de amido e gordura.

Figura 9. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura com dureza, avaliado por SR.



referencial a superfície de resposta, mostrou que menores porcentagens de amido resultaram em dureza semelhante à do bolo padrão, que seria a referência usada como o melhor bolo. A dureza foi maior com o aumento da porcentagem de amido, confirmando os resultados de HART (1999), que verificou o aumento da dureza de sete vezes quando a massa folhada teve uma redução de gordura de 50%.

KAMEL & RASPER (1988) verificaram que com adição de emulsificantes Atlas A e Tandem 22 H houve uma redução da dureza com o aumento da concentração destes emulsificantes. Já o emulsificante MD-SSL apresentou um aumento de dureza com o aumento da concentração deste emulsificante, o mesmo tendo sido observado para o aumento da porcentagem de amido, tendo ocorrido um aumento da dureza para qualquer dos valores de porcentagem de gordura estudado. Estes resultados mostram a conveniência da utilização de emulsificantes junto com substitutos de gordura e que podem explicar os resultados encontrados no presente experimento.

MILLER & SETSER (1983) verificaram que o amido de trigo teve a função de emulsificante, tendo apresentado características de dureza semelhante ao bolo padrão feito com clara de ovo.

HART (1999) analisou massas folhadas com redução de 25% e 50% de gordura, comparando com uma massa com total de gordura, tendo sido usado neste produto uma relação farinha:gordura de 1:2. A massa com 25% de redução de gordura apresentou-se mais dura, mais elástica e requereu mais força para quebrá-la. Com 50% de redução de gordura, foi necessária uma força sete vezes maior para quebrar a massa folhada, em relação aquela massa com total de gordura.

MILLER & SETSER (1983) afirmaram que o amido de trigo contribuiu para a estrutura dos bolos com redução de clara de ovo. Adicionando água, houve redução da tensão superficial da clara do ovo, permitindo maior incorporação de ar. Nas análises de dureza e sensoriais, foi verificado que os bolos com adição de 50% de água e 25% de amido de trigo foram mais semelhantes ao bolo com 100% de clara do ovo, que aqueles feitos somente com goma xantana ou esta combinação de água e amido de trigo. Os resultados obtidos no presente experimento foram, portanto, semelhantes aos encontrados na literatura onde verificou-se que o aumento da porcentagem de amido, aumenta a dureza.

A Tabela 19 mostra os parâmetros estatísticos determinados para se avaliar a correlação entre porcentagens de amido e gordura em relação a adesividade.

O modelo quadrático foi o que mais se ajustou, pois o teste  $F_{\text{calculado}}$  foi maior que o  $F_{\text{tabelado}}$  para o modelo quadrático, tendo uma porcentagem de variação explicada de 89,74%, que é bastante razoável. O modelo não foi preditivo, mas foi estatisticamente significativo. A equação que representa o modelo é descrita abaixo:

$$\text{Adesividade} = -2,86102 - 0,55966 * A - 0,05339 * A^2 + 0,41816 * G - 0,01258 * G^2 + 0,01922 * A * G$$

Onde,

A = porcentagem de amido

G = porcentagem de gordura

Tabela 19. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação à adesividade.

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	Linear	quadrático	linear	Quadrático	linear	Quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático
Regressão	14,197	38,4488	4,7323	7,6898	3	5	4,2549	8,7454	80,97	89,739
Resíduos	3,3365	4,3965	1,1122	0,8793	3	5				
F.ajuste	1,3755	2,43548	1,3755	0,8118	1	3	1,4029	0,8279		
Erro puro	1,9610	1,961000	0,9805	0,9805	2	2				
Total	17,533	42,84526	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ= média quadrática

R<sup>2</sup> = %de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) =80,97

R<sup>2</sup>(Modelo quadrático) =89,74

F<sub>0,95, 3, 3</sub>=9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub>=5,05 (modelo quadrático)

F<sub>0,95, 3,, 2</sub>=19,16

% máxima de variação explicável = (SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>) / SQ<sub>T</sub> = (Modelo linear) = 88,71

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 95,42

Através da Tabela 20 “*Estimativas dos Efeitos*” foi possível verificar, com, significância estatística uma redução de 3,569 da adesividade quando a porcentagem de amido passou de 2,03% para 7,03% de amido, e um aumento da adesividade de 0,889 quando a porcentagem de gordura passou de 7,51% para 24,49%. Ocorreu uma diminuição da resposta de 0,668 para a porcentagem de amido variando de 1,00% para 8,06%. Com a variação da porcentagem de gordura de 4,00% para 28,00%, também houve um aumento da adesividade de 1,813.

A superfície de resposta (Figura 10) mostra que conforme a porcentagem de amido diminuiu a adesividade aumentou e que porcentagem de gordura intermediárias resultaram em maiores valores de adesividade.

O bolo padrão apresentou uma adesividade em torno de  $-0,530$ ; um valor alto em comparação com os obtidos no estudo. Entretanto, as maiores adesividades foram encontradas para valores de baixa porcentagem de amido, sendo que os valores mais próximos do padrão foram obtidos para 2,03% de amido e 7,51% de gordura.

Os parâmetros estatísticos encontrados para se avaliar o efeito das diferentes porcentagens de amido e gordura na coesividade estão mostrados na Tabela 21.

O modelo linear foi o que mais se ajustou, tendo uma porcentagem de variação explicada de 98,08% sendo uma indicação de um bom ajuste, isto é, houve um bom ajuste da regressão, a correlação foi boa e o teste F indica que o modelo além de estatisticamente significativo foi também preditivo. O modelo linear apresentou uma correlação alta e ajustado a

Tabela 20. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à adesividade.

<b>Fatores analisados</b>	<b>Efeitos</b>
<i>*Média Global</i>	-1,628
<i>Porcentagem de amido (linear)</i>	-3,569
<i>Porcentagem de amido (quadrático)</i>	-0,668
<i>Porcentagem de gordura (linear)</i>	0,889
<i>Porcentagem de gordura (quadrático)</i>	1,813

\*Média global é a média da adesividade calculada baseando-se na correlação das porcentagens de amido e gordura.

Figura 10. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura com adesividade avaliada por SR.

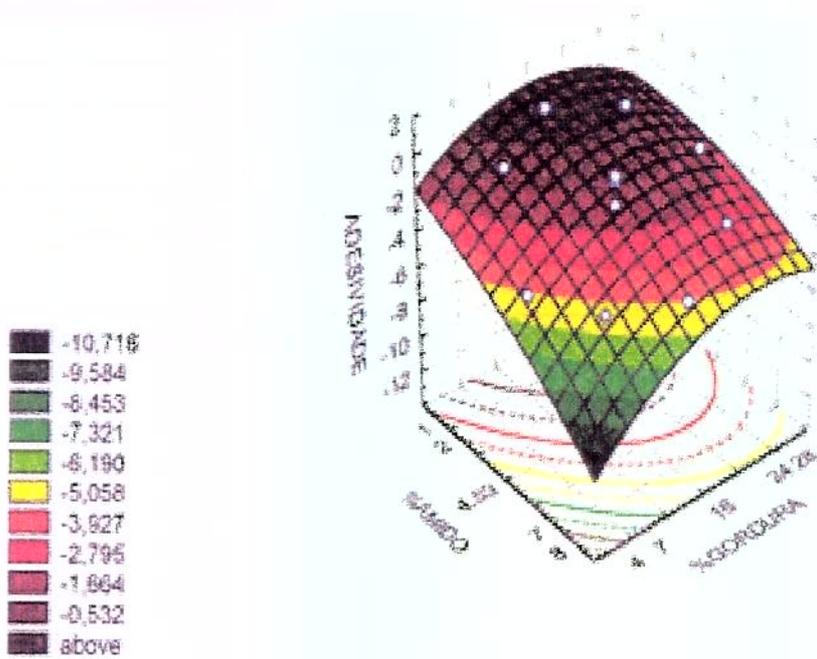


Tabela 21. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação à coesividade.

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	Linear	quadrático	linear	Quadrático	linear	Quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático
Regressão	0,0051	0,0114	0,0017	0,0023	3	5	51,51	23	98,08	95,47
Resíduos	0,0001	0,0006	$3,3 \cdot 10^{-5}$	0,0001	3	5				
F. ajuste	$5,5 \cdot 10^{-5}$	0,000476	$5,5 \cdot 10^{-5}$	0,0002	1	3	1,17	4,2553		
Erro puro	$9,4 \cdot 10^{-5}$	0,000094	$4,7 \cdot 10^{-5}$	0,00005	2	2				
Total	0,0052	0,011941	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ= média quadrática

R<sup>2</sup> = %de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) =98,08

R<sup>2</sup>(Modelo quadrático) =95,47

F<sub>0,95, 3, 3</sub> =9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub> =5,05 (modelo quadrático)

F<sub>0,95, 3,, 2</sub> =19,16

F<sub>0,95; 1; 2</sub> = 18,51

% máxima de variação explicável = (SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>) / SQ<sub>T</sub> = (Modelo linear) = 98,19

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 99,21

regressão às observações. Observa-se também que o teste F da razão  $MQ_{FAJ}/MQ_{EP}$  serviu para avaliar que o modelo está bem ajustado às observações, a falta de ajuste não foi estatisticamente significativa. A equação que representa o modelo é descrito abaixo:

$$\text{Coesividade} = 0,775480 - 0,018563 * A - 0,002856 * G + 0,000333 * A * G$$

Onde,

A = porcentagem de amido

G = porcentagem de gordura.

O terceiro e o quarto termos não apresentaram significância estatística.

Os efeitos observados na Tabela 22 “*Estimativas dos Efeitos*” mostraram que uma redução da coesividade de 0,066 quando a porcentagem de amido passou de 2,03% para 7,03% de amido e uma redução de 0,023 da coesividade quando a porcentagem de gordura passou de 7,51% para 24,49% de gordura. Estes são os efeitos estatisticamente significativos, tendo a média global o valor de 0,670 que é o primeiro termo dado na tabela.

Observa-se na superfície de resposta (Figura 11) que os maiores valores de coesividade foram encontrados para as menores porcentagens de amido e de gordura.

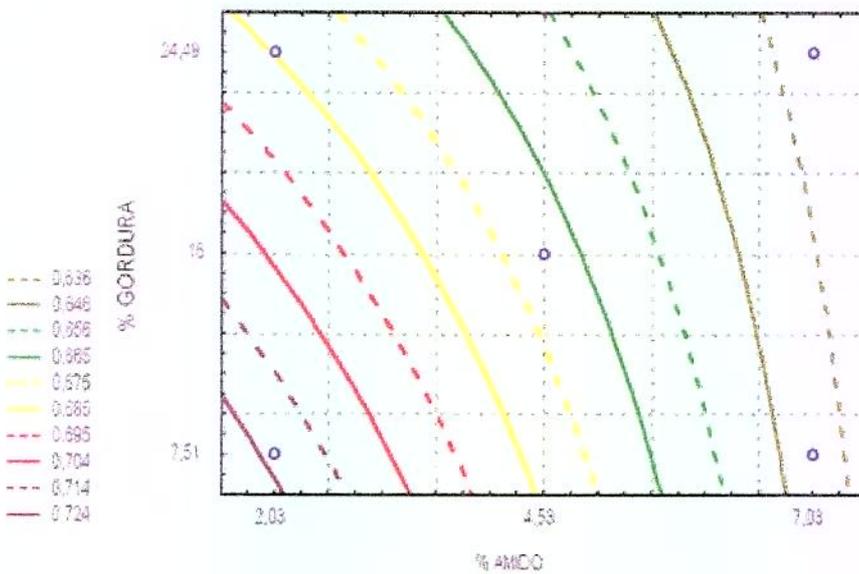
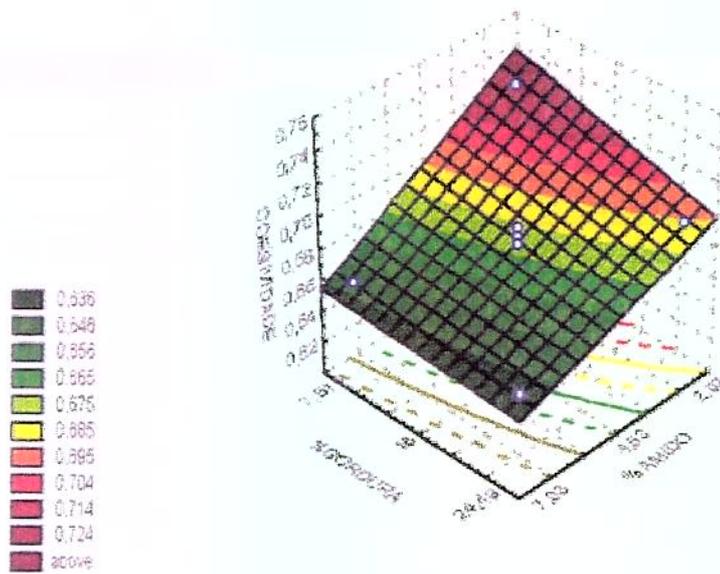
O bolo padrão apresentou uma coesividade em torno de 0,700. Entre os bolos analisados, aqueles com altos valores para porcentagem de gordura (entre 24,49% e 16,00%) e valores mais baixos de porcentagem de

Tabela 22. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à coesividade.

<b>Fatores analisados</b>	<b>Efeitos</b>
<i>*Média Global</i>	0,670
<i>Porcentagem de amido (linear)</i>	-0,066
<i>Porcentagem de gordura (linear)</i>	-0,023

\*Média global é a média da coesividade calculada baseando-se na correlação das porcentagens de amido e gordura.

Figura 11. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura com coesividade avaliado por SR.



amido (por volta de 2,03%) apresentaram uma coesividade semelhante ao padrão.

Os parâmetros estatísticos encontrados para se avaliar o efeito das diferentes porcentagens de amido e gordura na elasticidade estão na Tabela 23. O valor de  $F_{R/r \text{ calculado}}$  foi maior que o  $F_{R/r \text{ tabelado}}$ , mas não o suficiente, de quatro à cinco vezes maior, que possibilitasse ao modelo ser preditivo. Para um modelo linear  $R^2$  foi maior, que para o modelo quadrático. Este por sua vez, tem um valor de  $F_{R/r \text{ calculado}}$  maior que o  $F_{\text{tabelado}}$ , sendo de quase sete vezes maior, assim tornando o modelo preditivo. Temos que observar o valor de  $F_{\text{faj/ep}}$ , para o modelo linear foi bem menor, assim mostrando que o modelo linear se ajustou melhor que o modelo quadrático, apresentando uma menor falta de ajuste. Assim, apesar de o modelo linear não ter sido preditivo, teve um ajuste melhor e uma maior correlação entre as variáveis e os valores da resposta estudados. A equação que representa o modelo linear é apresentada a seguir:

$$\text{Elasticidade} = 0,511549 - 0,026 * A - 0,004365 * G + 0,000612 * A * G$$

Onde,

A = porcentagem de amido

G = porcentagem de gordura.

Somente os dois primeiros termos foram estatisticamente significativos.

O ponto de mínimo da elasticidade (0,326) ocorreu à 42,48% de gordura e 7,13% de amido.

Tabela 23. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido e gordura em relação 'a elasticidade

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	linear	quadrático	linear	Quadrático	linear	Quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático
Regressão	0,0080	0,0172	0,0027	0,0034	3	5	27,00	34,00	97,56	96,06
Resíduos	0,0002	0,0007	0,0001	0,0001	3	5				
F ajuste	$1,0 \cdot 10^{-6}$	0,000529	$1,0 \cdot 10^{-6}$	0,0002	1	3	0,01	2,00		
Erro puro	0,0002	0,000214	0,0001	0,0001	2	2				
Total	0,0082	0,017905	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ= média quadrática

R<sup>2</sup> = %de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) =97,56

R<sup>2</sup>(Modelo quadrático) =96,06

F<sub>0,95, 3, 3</sub> =9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub> =5,05 (modelo quadrático)

F<sub>0,95, 3, 2</sub> =19,16

F<sub>0,95; 1; 2</sub> = 18,51

% máxima de variação explicável = (SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>) / SQ<sub>T</sub> = (Modelo linear) = 97,56

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 98,88

A Tabela 24 de efeitos “*Estimativas dos Efeitos*” mostra uma média global de 0,368 e uma redução de 0,081 da elasticidade quando a porcentagem de amido passou de 2,03% para 7,03%. Ocorreu também uma redução de 0,027 da elasticidade quando a porcentagem de gordura passou de 7,51% para 24,49%.

Em relação à superfície de resposta (Figura 12) foi observado uma maior elasticidade para valores mais baixos de porcentagem de amido e porcentagem de gordura.

Para a característica de elasticidade a tendência de ótimo situou-se em torno de valores medianos de 0,406. A superfície de resposta (Figura 12), mostra que para baixas porcentagens de amido (por volta de 2,03%) e para porcentagens de gordura em torno de 16,00%, a elasticidade foi favorecida, sendo semelhante ao bolo padrão. Estes resultados foram semelhantes aos de HART (1999) que encontrou uma maior elasticidade para a massa folhada com menor redução de gordura (25%). Estes resultados sugerem que menores porcentagens de amido e maiores porcentagens de gordura são necessárias para se obter elasticidades mais próximas do padrão e que o amido de milho ceroso hidrolisado por 30 horas não conferiu propriedades elásticas ao bolo quando substituiu a gordura.

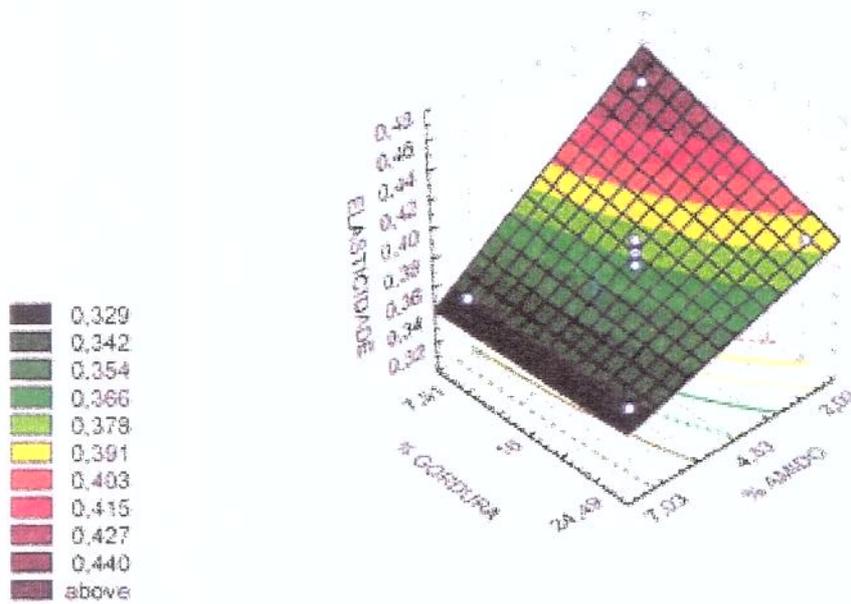
De maneira geral, os resultados do efeito das variáveis das quantidades de amido e gordura no volume específico e características de textura mostraram que um volume específico máximo, que é indicativo de boa qualidade de bolo, ocorreria com uma porcentagem de amido bem pequena, menor que um (1,00%) e uma porcentagem de gordura alta, em

Tabela 24. A correlação das porcentagens de amido e gordura em relação à elasticidade.

<b>Fatores analisados</b>	<b>Efeitos</b>
<i>*Média Global</i>	0,368
<i>Porcentagem de amido (linear)</i>	-0,081
<i>Porcentagem de gordura (linear)</i>	-0,027

\*Média global é a média da elasticidade calculada baseando-se na correlação das porcentagens de amido e gordura.

Figura 12. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura com elasticidade avaliada por SR.



torno de 28,00%. É interessante observar que para uma porcentagem de amido alta, acima de 8,06%, em quase toda a faixa de porcentagem de gordura, o volume específico também foi alto.

Valores máximos de dureza foram encontrados para porcentagens de amido de 4,53% e acima, para toda a faixa de porcentagem de gordura estudada. Em relação ao bolo padrão, com volume específico de 2,28ml/g e dureza na faixa de 270,00 a 280,00g, uma porcentagem em torno de 1,00% de amido, em quase toda faixa de porcentagem de gordura, resultou em um bolo semelhante ao padrão.

A adesividade apresentou valores máximos para quase toda a faixa de porcentagem de gordura, com valores mais baixos de porcentagem de amido, o ponto de máximo da adesividade seria a condição ótima. Para o intervalo no qual foi encontrado máxima dureza, os valores da adesividade foram máximos.

O modelo linear que relaciona coesividade e elasticidade mostrou uma faixa considerada ótima (com seus valores máximos) em torno de 1,00% de amido e quase toda a faixa de porcentagem de gordura.

Dentro da faixa estudada, as porcentagens de amido não substituem satisfatoriamente a gordura, entretanto em faixas logo abaixo ou acima dos extremos estudados é possível usar baixas porcentagens de gordura para se obter um bolo com alto volume específico e com boas características de qualidade. Embora, no intervalo de 1,00% à 8,06% de amido não se tenha obtido valores altos para volume específico, as características destes bolos foram bastante satisfatórias.

A Tabela 25 mostra o efeito das diferentes porcentagens de amido e gordura na nota de textura e os respectivos comentários, feitos através de observações sensoriais.

Segundo BATH *et al.* (1992) miolos de bolo com substituição de gordura apresentaram-se lisos e com grãos abertos, com buracos na superfície perto das bordas e uma superfície sem brilho. Estas características foram observadas em bolos produzidos no presente experimento com 4,43% de amido e 2,80% de gordura, os quais apresentaram uma crosta lisa e com muitos poros quando aumentou a substituição de gordura. No presente experimento pode ser observado para o bolo com 24,49% de gordura uma boa aparência com uma superfície bem acabada, confirmando os resultados de BATH *et al.* (1992), que encontrou para massas contendo gordura uma superfície bem acabada, com células maiores e em maior número.

Foi observado para bolos com 16,00% de gordura, maciez, sabor e textura favoráveis, confirmando o estudo de FULTON & HOGGIN (1993) com "muffins" com redução moderada de gordura (54 g em 250g de farinha). Por outro lado, os bolos com baixa porcentagem de gordura apresentaram boa aceitação de sabor, mas não de maciez, o que também confirma os resultados de FULTON & HOGGIN (1993) que encontraram para os atributos de maciez, sabor e perda de umidade requisitos inferiores ao bolo padrão.

Foi verificado que com o aumento da porcentagem de amido, para a mesma porcentagem de gordura não houve redução das notas de textura. Estes resultados diferiram dos obtidos por KAMEL & RASPER (1988), que

Tabela 25. Avaliação de notas de textura para a relação das diferentes combinações de porcentagem de amido modificado e gordura.

<b>Amostras</b>	<b>Notas de Textura</b>	<b>Comentários</b>
<b>2,03% Amido 7,51% Gordura</b>	84	Seco nas extremidades e no meio embatumado (borrachento). Crosta semelhante ao padrão, poucos poros, cor desuniforme, abertura central
<b>7,03% Amido 7,51% Gordura</b>	88	Seco e borrachento nas extremidades. Crosta lisa, com poucos poros, cor uniforme, abertura central. Boa aparência.
<b>2,03% Amido 24,49% Gordura</b>	90	Crosta mais escura que o padrão, seca, com poros, abertura central. Boa aparência.
<b>7,03% Amido 24,49% Gordura</b>	96	Crosta com poros, cor uniforme, abertura central. Boa aparência.
<b>1,00% Amido 16,00% Gordura</b>	90	Crosta com poros, cor uniforme, abertura central. Boa aparência.
<b>8,06% Amido 16,00% Gordura</b>	88	Gomoso, embatumado, seco nas extremidades da crosta. Cor da crosta mais clara que o padrão, desuniforme, com poucos poros, abertura central. Aparência razoável.
<b>4,53% Amido 4,00% Gordura</b>	80	Borrachento, embatumado, textura ruim. Crosta muito clara, desuniforme, lisa, não tem poros, abertura central.
<b>4,53% Amido 2,80% Gordura</b>	88	Gomoso, borrachento, bem macio. Crosta com muitos poros, crosta lisa, cor semelhante ao padrão, abertura central. Boa aparência.
<b>4,53% Amido 16,00% Gordura</b>	88	Gomoso. Cor da crosta desuniforme, lisa, com pouquíssimos poros, abertura central. Boa aparência.
<b>4,53% Amido 16,00% Gordura</b>	78	Crosta um pouco mais clara que o padrão e cor desuniforme, com poros.
<b>4,53% Amido 16,00% Gordura</b>	88	Gomoso, borrachento. Cor da crosta clara e desuniforme, com poucos poros. Boa aparência.
<b>Padrão</b>	98	Contorno contínuo, fofo, leve, macio. Cor do miolo e crosta uniformes e características de um bolo com gordura. Sem trincaduras, abertura central, crosta com poros. Boa aparência.

observaram uma redução das notas de atributos sensoriais com o aumento da concentração de emulsificantes ATLAS A, Tandem 22H e MD-SSL em substituição à gordura.

HIPPLEHEUSER *et al.* (1995) observaram que “muffin” com baixo teor de gordura e 2% de amido pré-gelatinizado ceroso apresentou melhor aroma e estrutura de miolo que aqueles “muffins” com baixo teor de gordura sem amido. Resultados semelhantes foram obtidos no presente estudo com o acréscimo na porcentagem de amido, para a mesma porcentagem de gordura, tendo havido um aumento das notas de textura.

Esses resultados mostraram que o bolo com 7,03% de amido e 24,49% de gordura foi o que apresentou a maior pontuação, confirmada pelas características de qualidade de textura, não tendo sido observado a mesma tendência para o volume específico.

Pode-se observar que com porcentagens baixas de gordura e amido, o bolo apresentou gomoso, borrachento, embatumado, à semelhança do observado por BATH *et al.* (1992), que verificaram que as características do miolo e grãos do bolo com redução de gordura, foram similares as do bolo padrão.

Segundo BATH *et al.* (1992), massas contendo substituinte de gordura, à base de amido, aquecem mais rápido que aquelas que contém gordura. Desta forma, os bolos com substituintes de gordura apresentam uma menor diferença de temperatura entre o centro e as bordas do bolo, comparando com o bolo padrão, o que afeta na estrutura final do produto. Assim, os bolos processados com substituintes de gordura tem um menor tempo de cozimento que os bolos com quantidades normais de gordura. Massas

contendo gordura apresentam mais e maiores células, resultando em uma superfície bem acabada. Por outro lado, os bolos com substituintes de gordura, devido ao seu rápido aquecimento, apresentaram uma superfície lisa e plana.

HIPPLEHEUSER *et al.* (1995) verificaram que as propriedades sensoriais foram favoráveis para os “muffins” com baixo teor de gordura processados com 2% de amido pré-gelatinizado ceroso, em relação ao “muffin” controle. Entretanto a aparência foi melhor aceita para o “muffin” controle. Este “muffin” com baixo teor de gordura processado com 2% de amido pregelatinizado ceroso apresentou melhor aroma e estrutura de miolo que o “muffin” com baixo teor de gordura sem amido. A maciez e umidade foram melhores para o “muffin” sem amido e baixo teor de gordura. A combinação amido e goma melhorou significativamente a estrutura do miolo.

#### **4.3.3. Efeito das Variáveis do Tratamento Hidrotérmico (porcentagem de umidade e tempo de descanso) nas Propriedades do Amido como Substituto de Gordura.**

Este experimento teve como objetivo investigar o efeito de possíveis alterações na estrutura do amido hidrolisado decorrente do tratamento hidrotérmico, nos atributos de substituinte de gordura.

Este experimento foi conduzido usando a porcentagem de substituição de gordura de 15,86%.

A Tabela 26 mostra o efeito dos diferentes tratamentos nas características de qualidade de bolos que tiveram parte da gordura (15,86%) substituída pelo amido hidrolisado por 30 horas.

Tabela 26. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso nas características de qualidade do bolo.

<b>Amostras</b>		<b>Volume Específico (ml/g)</b>	<b>Gravidade Específica (g/ml)</b>	<b>Notas de Textura</b>
<b>% umidade</b>	<b>Tempo de descanso (Hs)</b>			
30,00	8,73	2,25	0,9938	92
60,00	8,73	2,19	1,0303	90
30,00	41,27	2,26	0,9890	90
60,00	41,27	2,19	1,0134	94
23,80	25,00	2,21	0,9723	88
66,20	25,00	2,18	1,0374	94
45,00	2,00	2,21	1,0110	90
45,00	48,00	2,20	0,9902	90
45,00	25,00	2,21	1,0075	88
45,00	25,00	2,20	1,0059	88
45,00	25,00	2,22	1,0109	88
<b>Padrão</b>		2,30	0,9846	98
4,53% amido 16,00% gordura (sem tratamento hidrotérmico)		2,16	-	85

A Tabela 27 mostra os parâmetros estatísticos determinados para se avaliar o efeito da porcentagem de umidade e tempo de descanso de amostras de amido usadas como substituto de gordura no volume específico.

Embora não preditivo, o modelo linear foi o que mais se ajustou, pois o coeficiente de correlação foi maior e o teste F para o calculado foi maior que o tabelado. A equação matemática abaixo relaciona as variáveis com o volume específico:

$$\text{Volume específico} = 2,318589 - 0,002179 * U - 0,001229 * T + 0,00002 * U * T$$

Onde,

U = % de umidade

T = tempo de descanso em horas.

Somente o primeiro e segundo termos foram estatisticamente significativos.

A Tabela 28 dos “*Estimativas dos Efeitos*” mostra uma redução no volume específico de 0,05ml/g quando a porcentagem de umidade passa de 30,00% para 60,00%. Quando o tempo de descanso passou de 8,73 horas para 41,27 horas ocorreu uma redução no volume específico de 0,01ml/g.

A superfície de resposta (Figura 13) mostra que os maiores valores para volume específico foram obtidos para as diferentes porcentagens de umidade e tempo de descanso mais baixos. Estes resultados sugerem que

Tabela 27. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso em relação ao volume específico.

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	Linear	quadrático	linear	quadrático	linear	Quadrático	linear	quadrático	linear	Quadrático
Regressão	0,0027	0,003338	0,0009	0,000668	3	5	13,50	4,43	91,74	81,60
Resíduos	0,0002	0,000753	,00007	0,000151	3	5				
F. ajuste	,00004	0,000553	,00004	0,000184	1	3	0,43	1,84		
Erro puro	0,0002	0,0002	0,0001	0,0001	2	2				
Total	0,0029	0,004091	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ = média quadrática

R<sup>2</sup> = % de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) = 91,74

R<sup>2</sup> (Modelo quadrático) = 81,60

F<sub>0,95, 3, 3</sub> = 9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub> = 5,05 (modelo quadrático)

F<sub>0,95, 3, 2</sub> = 19,16

F<sub>0,95; 1; 2;</sub> = 18,51

% máxima de variação explicável = (SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>) / SQ<sub>T</sub> = (Modelo linear) = 93,20

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 95,11

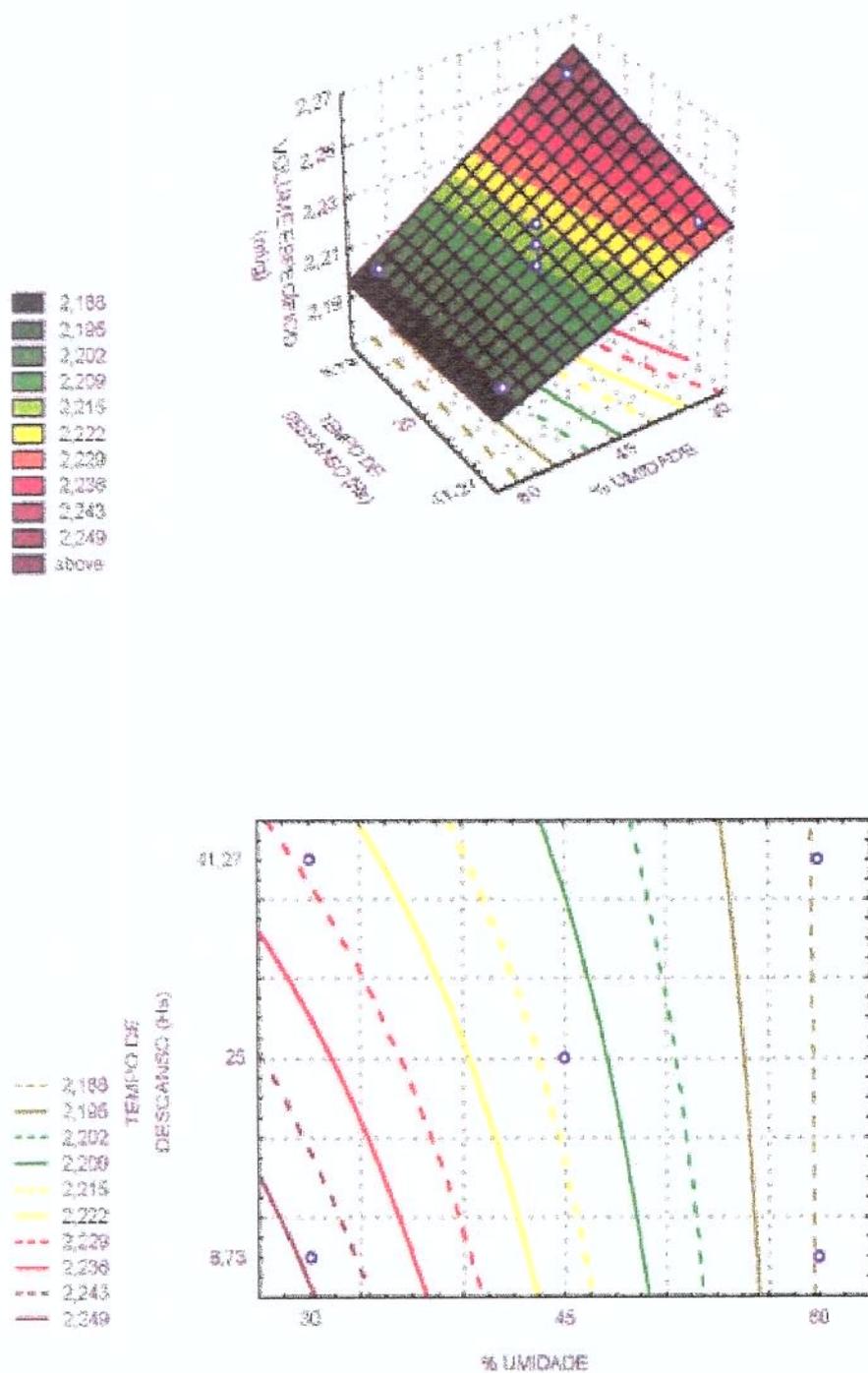
% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 95,11

Tabela 28. A correlação das porcentagens de umidade e tempo de descanso em relação ao volume específico.

<b>Fatores analisados</b>	<b>Efeitos</b>
<i>*Média Global</i>	2,21
<i>Porcentagem de umidade (linear)</i>	-0,05
<i>Tempo de descanso (linear)</i>	-0,01

\*Média global é a média do volume específico calculada baseando-se na correlação das porcentagens de umidade e tempo de descanso.

Figura 13. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso com volume específico avaliado por SR.



a extensiva gelatinização do amido, que depende da umidade inicial, e a retrogradação tem efeito nas propriedades do amido, quando utilizado como substituto de gordura.

Comparando esses resultados com os obtidos para amido hidrolisado sem tratamento hidrotérmico é possível verificar que o volume específico foi maior para o amido com tratamento térmico. As notas de textura também foram, na maioria dos tratamentos, superiores às do amido sem tratamento hidrotérmico.

A Tabela 29 mostra os parâmetros estatísticos determinados para se avaliar o efeito da porcentagem de umidade e tempo de descanso de amostras de amido usadas como substituto de gordura na gravidade específica.

O modelo linear sendo preditivo, foi o que mais se ajustou. A equação matemática abaixo relaciona as variáveis com a gravidade específica:

$$\text{GRAV} = 0,955974 + 0,001325 * U + 0,000224 * T - 0,000012 * U * T$$

Onde,

U =% de umidade

T = tempo de descanso em horas.

Sendo os dois primeiros termos estatisticamente significativos.

Calculando a derivada em relação à porcentagem de umidade e ao tempo de descanso obteve-se um valor para a porcentagem de umidade de 18,67% e para o tempo de 110,42 horas, que resultaram uma gravidade

Tabela 29. O efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso em relação à gravidade específica.

Fonte de variação	SQ		MQ		Graus de liberdade		Teste F		R <sup>2</sup>	
	Linear	quadrático	linear	Quadrático	linear	Quadrático	linear	quadrático	linear	quadrático
Regressão	0,0011	0,0033	0,0004	0,0007	3	5	63,59	19,37	98,45	95,09
Resíduos	,00002	0,0002	6,0.10 <sup>-6</sup>	0,00003	3	5				
F ajuste	4,0.10 <sup>-6</sup>	0,00159	4,0.10 <sup>-6</sup>	0,000053	1	3	0,6154	8,15		
Erro puro	,00001	0,000013	7,0.10 <sup>-6</sup>	7,0.10 <sup>-6</sup>	2	2				
Total	0,0011	0,003504	-	-	6	10				

SQ = soma quadrática

MQ= média quadrática

R<sup>2</sup> = %de variação explicada

R<sup>2</sup> (Modelo linear) =98,45

R<sup>2</sup>(Modelo quadrático) =95,09

F<sub>0,95, 3, 3</sub> =9,28 (modelo linear)

F<sub>0,95, 5, 5</sub> =5,05 (modelo quadrático)

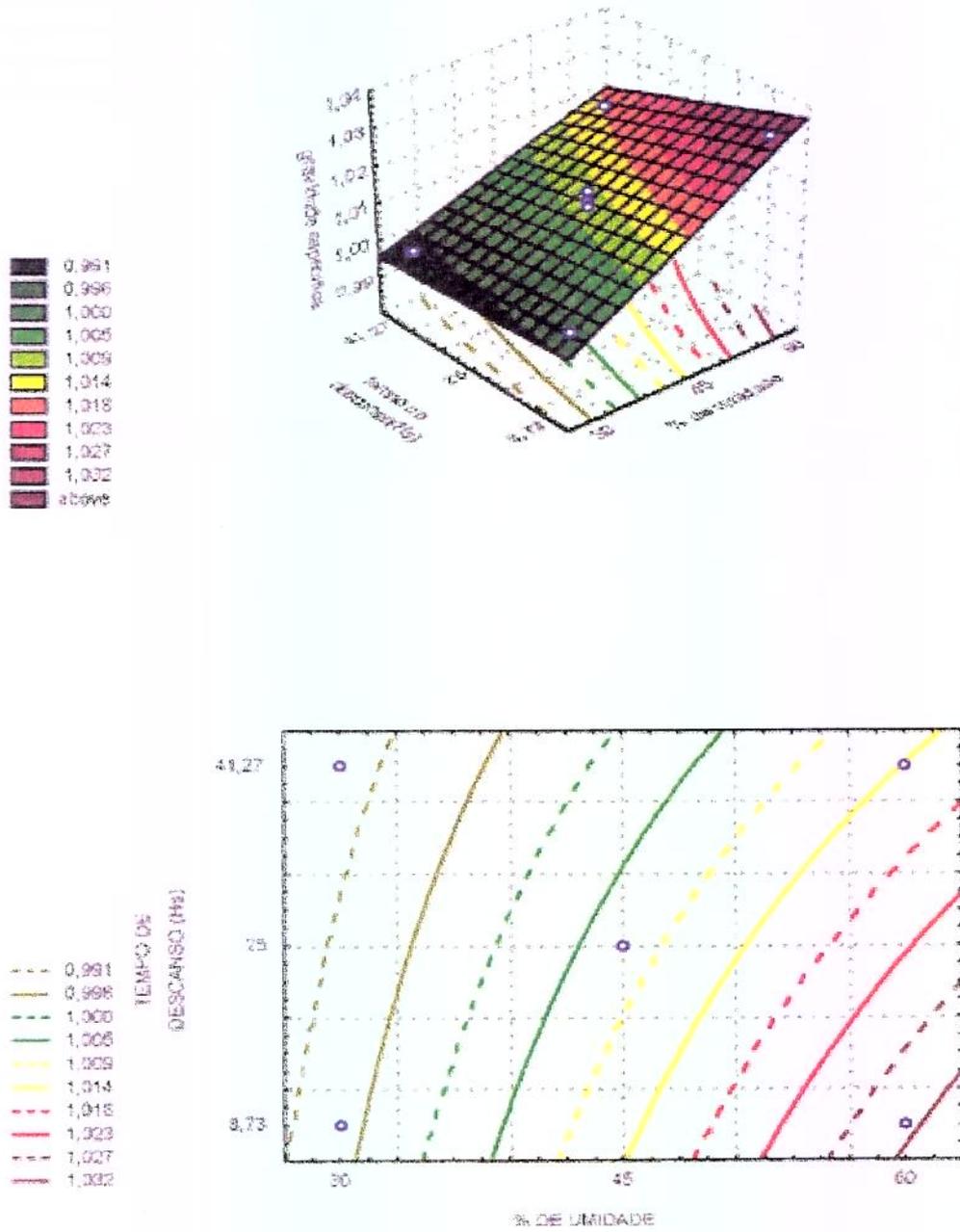
F<sub>0,95, 3,, 2</sub> =19,16

F<sub>0,95; 1; 2</sub> = 18,51

% máxima de variação explicável = (SQ<sub>T</sub> - SQ<sub>EP</sub>) / SQ<sub>T</sub> = (Modelo linear) = 98,82

% máxima de variação explicável = (Modelo quadrático) = 99,63

Figura 14. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso com gravidade específica avaliado por SR.



específica de 0,9807g/ml. Este seria um valor próximo do ótimo, pois quanto menor a gravidade específica melhores as características do bolo, e maior seu volume.

A Tabela 30 “*Estimativas dos Efeitos*” apresenta a média global de 1,0072g/ml e um aumento na gravidade de 0,0304g/ml quando a porcentagem de umidade passou de 30,00% para 60,00%. Entretanto, a elevação do tempo de descanso de 8,73 horas para 41,27 horas foi benéfica, pois reduziu a gravidade de 0,0108g/ml. Entretanto, esta redução não foi significativa como o aumento provocado pela porcentagem de umidade.

Os menores valores para gravidade específica foram encontrados para as menores porcentagens de umidade e para os maiores tempos de descanso. O ponto ótimo foi interpretado como o de menor gravidade de mistura, pois indica maior incorporação de ar durante a mistura e leva a bolos mais macios.

Segundo BATH *et al.* (1992), para os bolos “white layer” sem gordura, a gravidade específica da massa foi significativamente maior que a do bolo padrão. A quantidade de bolhas de ar incorporadas no bolo com substituinte de gordura foi menor quando comparada com o bolo padrão. O bolo feito com N-Flate foi o que apresentou uma gravidade específica menor, pois tem um emulsificante na formulação o qual incorpora ar.

Os resultados para volume específico e gravidade específica indicaram que porcentagens baixas de umidade e tempos de descanso altos resultam em bolos com características próximas ao do padrão. Esta região é representada pela umidade de 30,00% e tempo de descanso de 41,00

Tabela 30. A correlação das porcentagens de umidade e tempo de descanso em relação à gravidade específica.

<b>Fatores analisados</b>	<b>Efeitos</b>
<i>*Média Global</i>	1,0072
<i>Porcentagem de umidade (linear)</i>	0,0304
<i>Tempo de descanso (linear)</i>	-0,0185

\*Média global é a média do gravidade específica calculada baseando-se na correlação das porcentagens de umidade e tempo de descanso.

horas. As duas respostas apresentaram a mesma indicação do ponto ótimo, tendo apresentado uma pontuação mediana para notas de textura.

O efeito das variáveis independentes na cor da crosta é ilustrado na Figura 15.

Foi observado que o amarelamento foi maior na região onde a porcentagem de umidade foi de 30,00% e 40,00% e o tempo de descanso foi menor que 25,00 horas.

A Tabela 31 mostra as notas de textura e os respectivos comentários obtidos sensorialmente, dos bolos confeccionados nas diferentes condições experimentais. Comparando com observações da Tabela 25 é possível verificar que o tratamento hidrotérmico proporciona bolos sem gomosidade e sem sensação de borrachento.

Para o mesmo tempo de descanso e com o aumento da porcentagem de umidade, os bolos apresentaram-se mais fofos; isto é; uma menor dureza, confirmando os resultados de SYCH *et al.* (1987) que também mostraram um decréscimo da dureza inicial do bolo com o aumento do conteúdo de umidade do bolo.

HART (1999) analisou subjetivamente massas folhadas com redução de 25% de gordura, que na primeira mordida apresentaram-se mais duras e secas. O que também foi observado no presente estudo comparando os bolos processados com amidos somente hidrolisados e aqueles com amidos hidrolisados e tratados termicamente, os quais apresentaram melhor textura, mais macios e fofos.

Figura 15. Efeito das diferentes combinações de porcentagem de umidade e tempo de descanso com cor da crosta do bolo avaliado por SR.

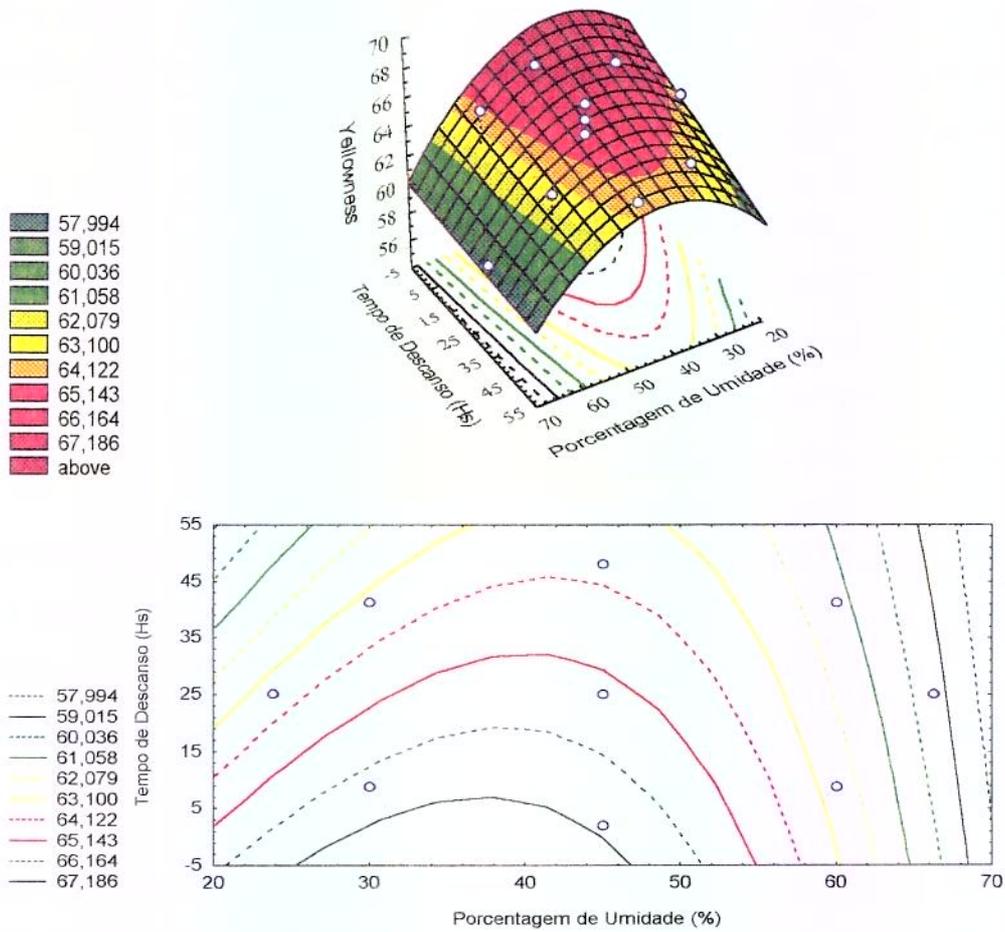


Tabela 31. Avaliação de notas de textura.

<b>Amostras</b>	<b>Notas de Textura</b>	<b>Comentários</b>
<b>30,00% umidade 8,00 horas</b>	92	Macio e um pouco borrachento. Cor do miolo branco com manchas amareladas, macio e seco o miolo. Crosta com cor desuniforme, sem poros, abertura central. Boa aparência.
<b>60,00% umidade 8,00 horas</b>	90	Macio, fofo, parede fina. Miolo mais claro que o padrão. Seco na crosta, porém macio e leve. Cor da crosta mais escura e uniforme que o padrão, com alguns poros, lisa, abertura irregular.
<b>30,00% umidade 41,00 horas</b>	90	Macio e um pouco borrachento. Miolo claro, crosta um pouco mais clara que o padrão e cor desuniforme, sem poros, abertura irregular. Boa aparência.
<b>60,00% umidade 41,00 horas</b>	94	Macio, pouco borrachento, fofo. Miolo amarelado, sabor bom. Crosta cor desuniforme, com poucos poros, com cor mais clara que o padrão, abertura central. Boa aparência.
<b>23,80% umidade 25,00 horas</b>	88	Macio, um pouco borrachento. Crosta semelhante ao padrão, sem poros, cor uniforme, abertura central. Boa aparência.
<b>66,20% umidade 25,00 horas</b>	94	Levemente seco, macio, um pouco borrachento. Miolo mais amarelado que o padrão. Crosta cor mais clara que o padrão, poucos poros, cor uniforme, abertura central. Boa aparência.
<b>45,00% umidade 2,00 horas</b>	90	Macio, fofo, miolo com cor mais clara que o padrão. Crosta cor mais escura e desuniforme, com poros, abertura central. Boa aparência.
<b>45,00% umidade 48,00 horas</b>	90	Levemente seco, macio, um pouco borrachento. Miolo mais amarelado que o padrão. Crosta cor uniforme, poucos poros, abertura central. Boa aparência.
<b>45,00% umidade 25,00 horas</b>	88	Levemente seco, macio, borrachento. Miolo amarelado, sabor agradável. Crosta escura e uniforme, poucos poros, abertura central. Boa aparência.
<b>45,00% umidade 25,00 horas</b>	88	Levemente seco, macio, borrachento. Miolo amarelado, sabor agradável. Crosta escura e uniforme, poucos poros, abertura central. Boa aparência.
<b>45,00% umidade 25,00 horas</b>	88	Levemente seco, macio, borrachento. Miolo amarelado, sabor agradável. Crosta escura e uniforme, poucos poros, abertura central. Boa aparência.
Padrão	98	Contorno contínuo, fofo, leve, macio. Cor do miolo e crosta uniformes e características de um bolo com gordura. Sem trincaduras, abertura central, crosta com poros. Boa aparência.

## 4.4. Caracterização Físico-Química dos Amidos Tratados Enzimaticamente e/ou Hidrotermicamente

### 4.4.1. Capacidade de Absorção de Água

Os resultados encontrados para os índices de absorção e solubilidade em água para as amostras de amido de milho ceroso submetidas à hidrólise por diferentes tempos e para as hidrolisadas por 30 horas, submetidas ao tratamento térmico e, a seguir, deixadas descansar por 2 e 48 horas, estão mostrados na Tabela 32 e Figura 16.

Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados por FRANCO *et al.* (1995), mostrando uma diminuição da absorção de água para amidos com 23,80 % de umidade, submetidos a tratamento hidrotérmico. De acordo com esses autores, o comportamento do amido de milho ceroso é típico, pois o tratamento hidrotérmico de amidos com teores de água de 18, 21 ou 24 % provoca uma diminuição na capacidade de absorção de água, diferentemente do que se observa em amidos comuns. Estes autores mostraram, também, que para teores de água de 27 % ocorreu um ligeiro aumento na capacidade de absorção de água, sugerindo que para amido ceroso a ruptura das forças internas que mantêm o grânulo ocorre a 27 % de água. Foi observado que o índice de absorção de água para todos os amidos tratados enzimática e/ou hidrotermicamente diminuiu em relação ao amido sem tratamento, exceto para o amido hidrolisado por 40 horas, o que leva a concluir que neste tempo de hidrólise houve ruptura das forças internas que mantêm o grânulo, ocorrendo uma maior absorção de água por estes grânulos, deixando as zonas erodidas mais acessíveis à hidratação.

Tabela 32. Índices de absorção e de solubilidade em água dos amidos estudados.

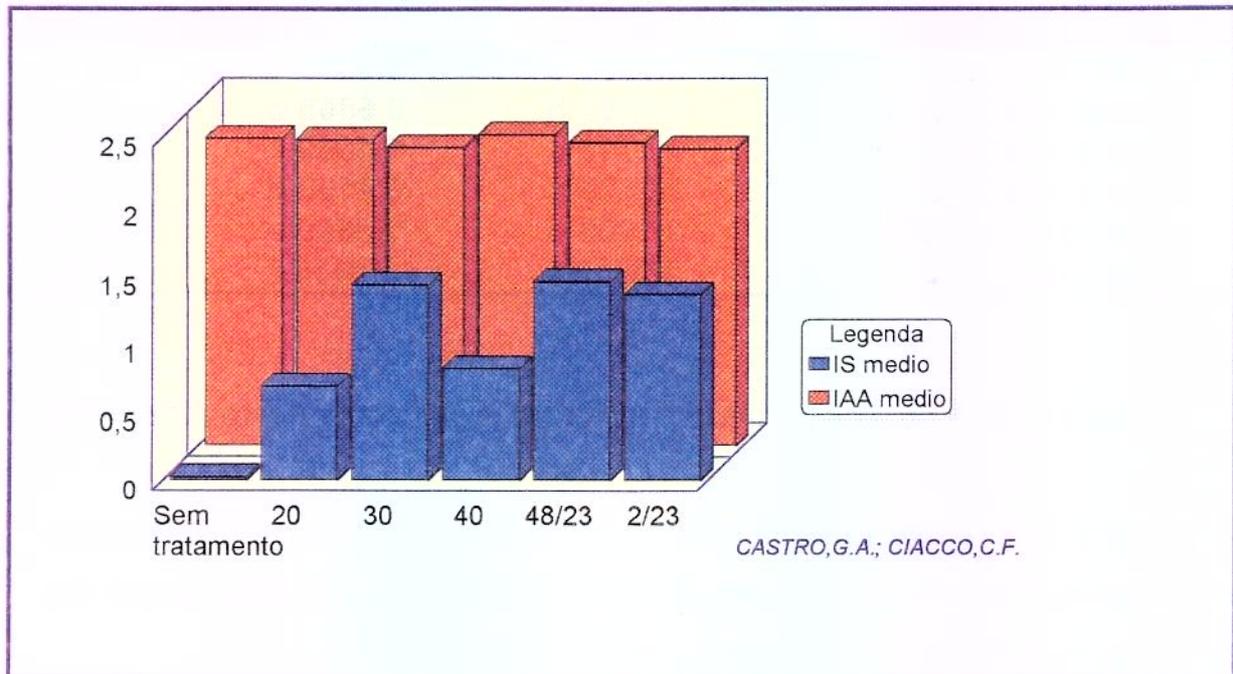
<i>Amostras</i>	<i>IAA</i>	<i>IS</i>	<i>Relação</i>
<i>Amido sem tratamento</i>	2,2387 a	0,0266 a	84,16
<i>20 Hs de hidrólise</i>	2,2262 b	0,6865 b	3,24
<i>30 Hs de hidrólise</i>	2,1710 c	1,4360 c	1,51
<i>40 Hs de hidrólise</i>	2,2629 d	0,8190 d	2,76
<i>Amostra 2/23<sup>2</sup></i>	2,1606 e	1,3680 e	1,58
<i>Amostra 48/23<sup>3</sup></i>	2,2053 f	1,4636 f	1,51

<sup>1</sup> Amostra seguida de letras diferentes foram significativamente diferentes entre si.

<sup>2</sup>A amostra **2/23** é referente ao amido hidrolisado por 30 horas, submetido ao tratamento hidrotérmico com 23.8% de umidade e a um tempo de descanso de 2 horas à 23°C, antes da secagem

<sup>3</sup>A amostra **48/23** é referente ao amido hidrolisado por 30 horas, submetido ao tratamento hidrotérmico com 23.8% de umidade e a um tempo de descanso de 48 horas à 23°C, antes da secagem.

Figura 16. Índice de solubilidade em água e absorção dos amidos estudados.



Em relação ao índice de solubilidade, houve um aumento significativo para todos aqueles amidos tratados enzima e/ou hidrotérmicamente. O amido que apresentou maior índice de solubilidade foi o hidrolisado por 30 horas e tratado hidrotérmicamente à 23,80% de umidade, com tempo de descanso de 48 horas à 23°C. O amido somente hidrolisado por 30 horas, também apresentou alto índice de solubilidade.

Estes derivados do amido também proporcionaram os melhores resultados no estudo sobre substituição de gordura.

Observa-se uma relação inversa entre o índice de absorção de água e o índice de solubilidade. Os amidos com maiores valores de índice de absorção de água, apresentaram menores valores de índice de solubilidade.

#### **4.4.2. Cristalinidade por Raio-x**

As Figuras de 17 à 21, mostram os cristalogramas obtidos para as amostras de amido de milho ceroso submetidas aos diferentes tratamentos. É possível observar picos a 11, 16, 17, 19 e 25 Å (ângulos de difracção), característicos do padrão A de cristalinidade, havendo uma queda na intensidade dos picos dos amidos tratados enzimática e/ ou hidrotérmicamente.

A Tabela 33 mostra as porcentagens de área cristalina presente nas amostras estudadas. Em relação ao amido sem tratamento o tempo de hidrólise provocou um decréscimo na porcentagem da área cristalina, indicando que o ataque enzimático nas áreas cristalinas é dependente do tempo de hidrólise. Também pode ser observado um decréscimo na área

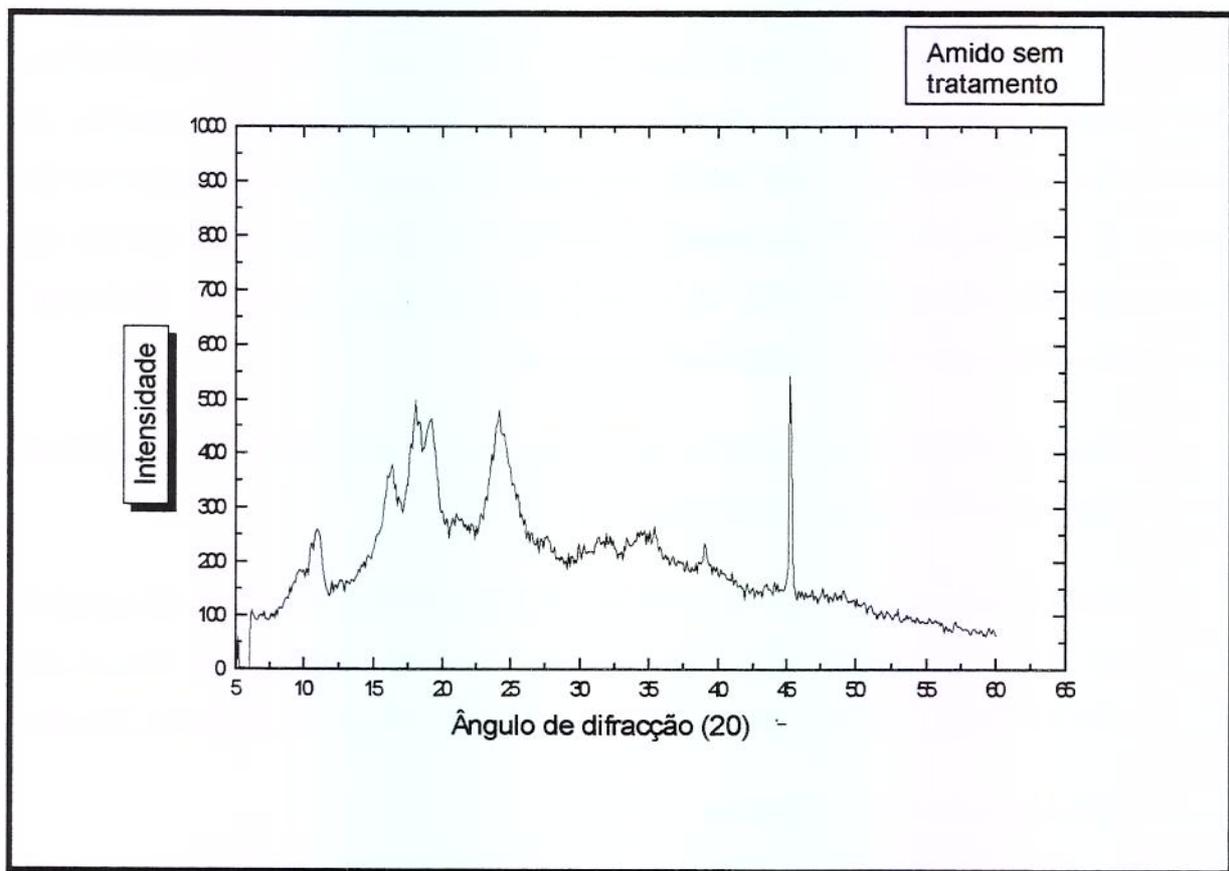


Figura 17. Diffractograma do amido de milho ceroso sem tratamento.

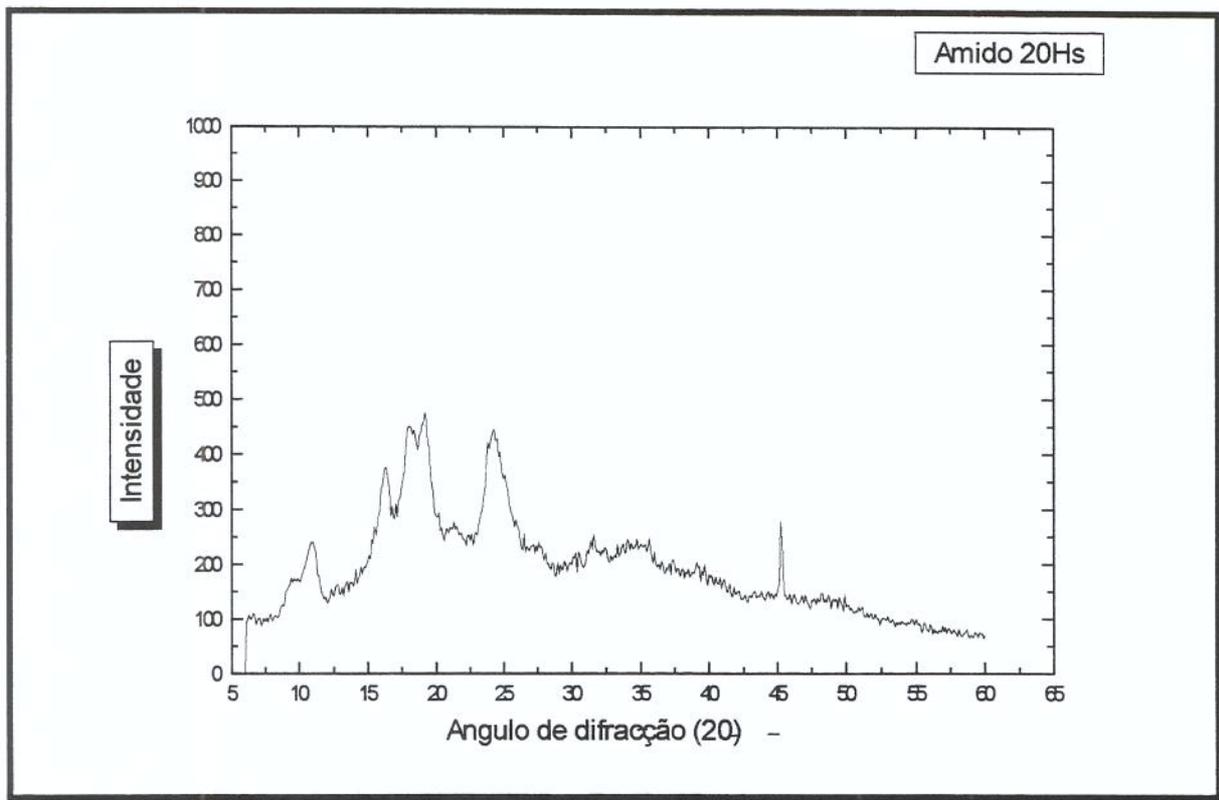


Figura 18. Diffractograma do amido de milho tratado com alfa-amilase por 20 horas.

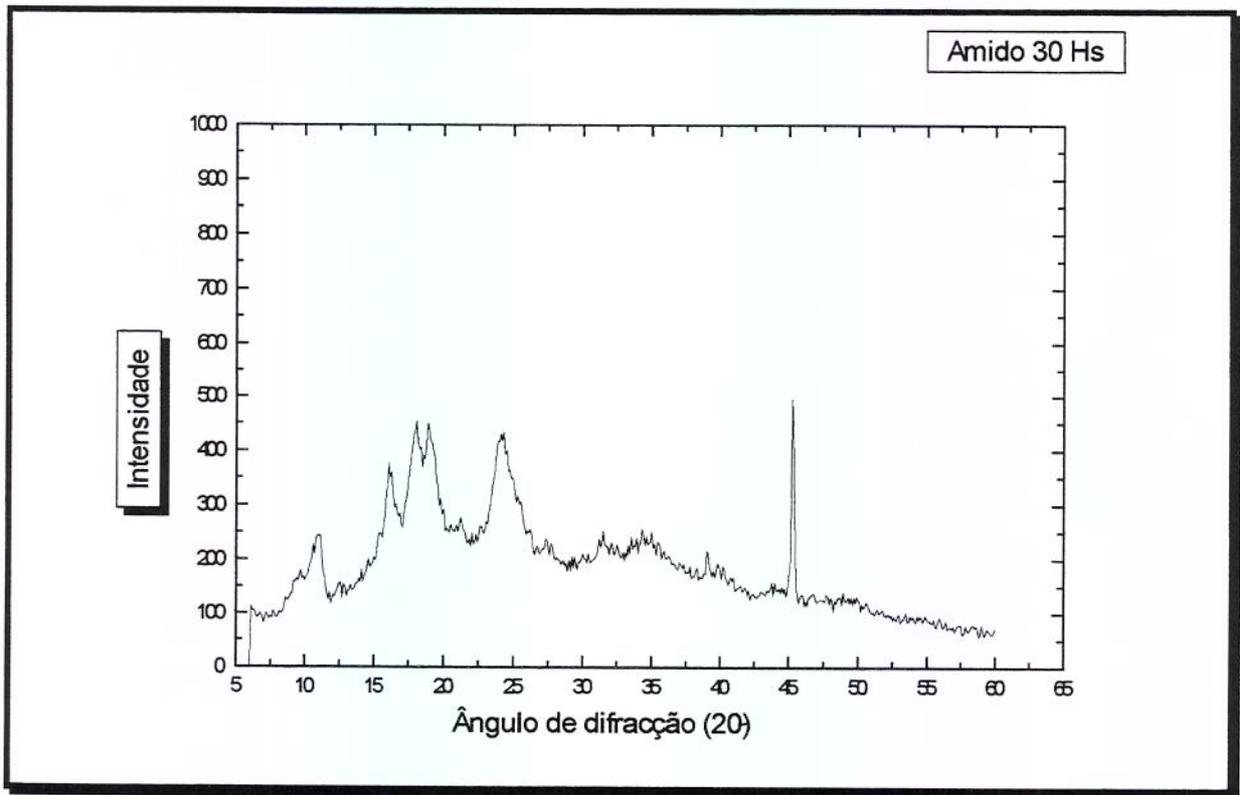


Figura 19. Difractograma do amido hidrolisado por 30 horas.

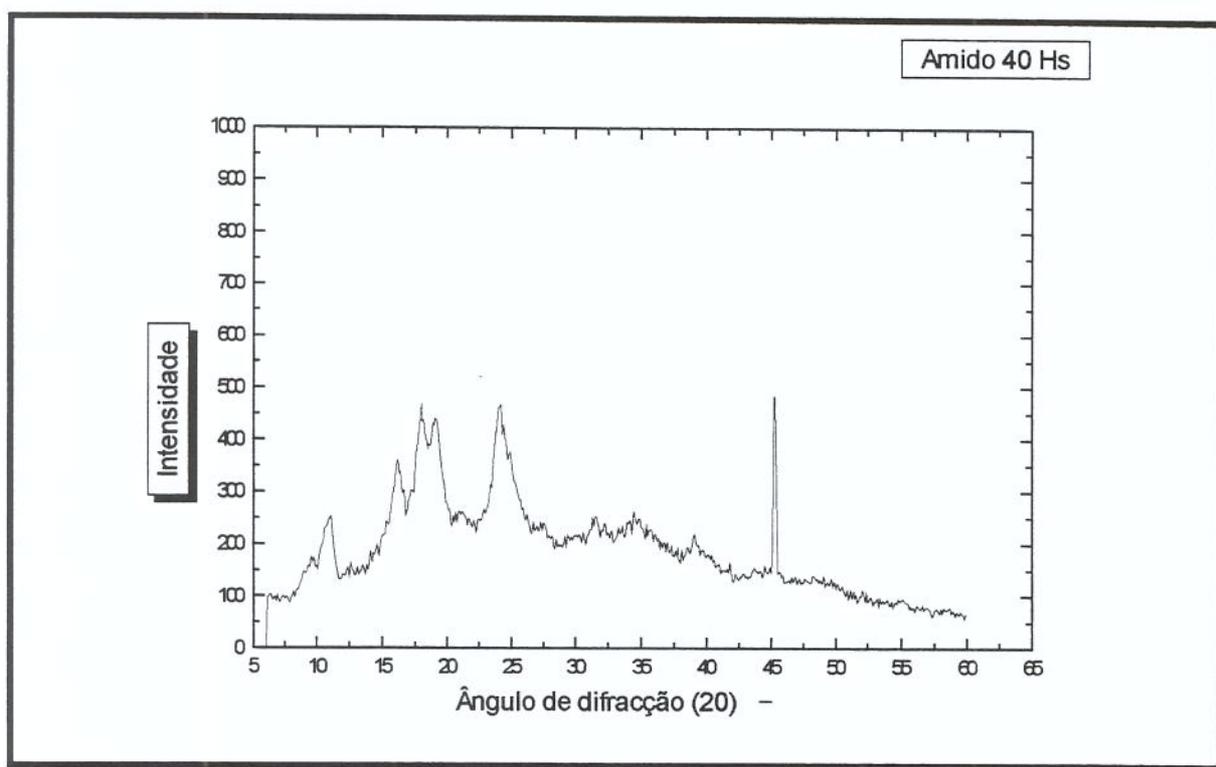


Figura 20. Difractograma do amido hidrolisado por 40 horas.

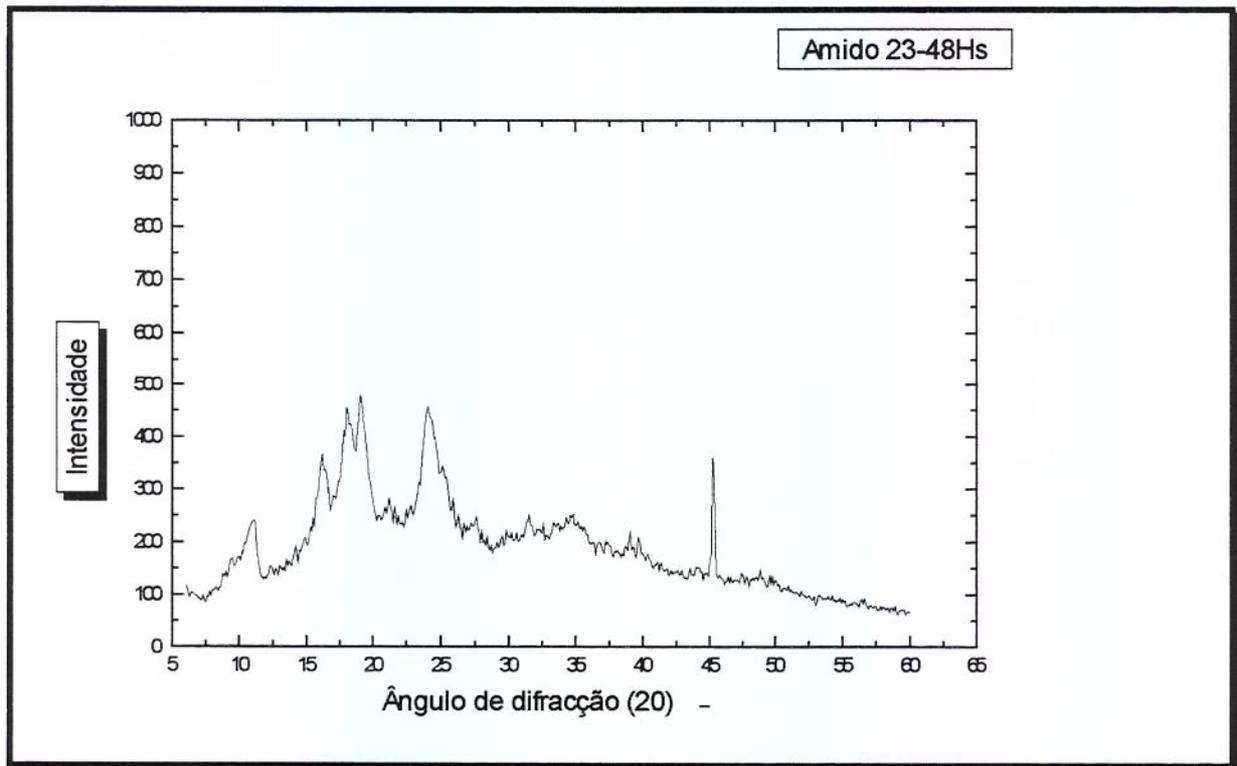


Figura 21. Diffractograma do amido hidrolisado por 30 horas e submetido ao tratamento hidrotérmico.

Tabela 33 . Porcentagens das áreas cristalina (Ac) e amorfas (Aa) dos amidos.

<b>Amostras</b>	<b>Área Cristalina<sup>1</sup> (dm<sup>2</sup>)</b>	<b>Área Amorfa (dm<sup>2</sup>)</b>	<b>Relação Ac/Aa</b>	<b>Relação Ac/At</b>	<b>Porcentagem Ac Aa</b>
<b>Amido sem tratamento</b>	<b>0,125 a</b>	<b>0,044</b>	<b>2,84</b>	<b>0,74</b>	<b>74% 26%</b>
<b>20 Hs de hidrólise</b>	<b>0,112 b</b>	<b>0,055</b>	<b>2,04</b>	<b>0,67</b>	<b>67% 33%</b>
<b>30 Hs de hidrólise</b>	<b>0,099 c</b>	<b>0,075</b>	<b>1,32</b>	<b>0,57</b>	<b>56% 44%</b>
<b>40 Hs de hidrólise</b>	<b>0,103 d</b>	<b>0,090</b>	<b>1,14</b>	<b>0,53</b>	<b>53% 47%</b>
<b>30 Hs- 23,8%umidade à 48 Hs</b>	<b>0,097 e</b>	<b>0,041</b>	<b>2,36</b>	<b>0,70</b>	<b>70% 30%</b>

<sup>1</sup>Dados seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes entre si ao nível de 95 % de significância.

cristalina para a amostra hidrolisada por 30 horas, submetida a tratamento hidrotérmico e, a seguir, deixada em repouso por 48 horas.

Dados da literatura mostram que os amidos de milho ceroso submetidos à hidrólise enzimática conservam o padrão de cristalinidade tipo A, havendo uma redução da área cristalina, (FRANCO *et al.* 1988, FRANCO & CIACCO 1993; GALLANT *et al.* 1982), indicando que a enzima ataca a região cristalina do grânulo.

Para o amido de milho ceroso tratado hidrotermicamente foi verificado que o padrão tipo A não foi alterado, havendo um aumento da região cristalina, indicando uma reestruturação das moléculas de amido em torno de uma estrutura mais organizada, como proposto por FRENCH (1984). FRANCO & CIACCO (1993) acreditam que o tratamento térmico provoca um rompimento das ligações de hidrogênio, seguido de um rearranjo da estrutura interna dos grânulos induzindo à degradação do grânulo de amido, aumentando a área acessível à amilólise. Neste estudo, foi constatado que os amidos submetidos somente ao tratamento térmico e não à hidrólise enzimática, apresentaram um valor maior na intensidade dos picos.

KOMIYA *et al.* (1987) observaram que o amido de milho tratado com ácido sulfúrico apresentou um aumento gradual do valor da razão entre área cristalina e área total com o aumento do tempo de hidrólise até 8 dias, não se alterando muito após 10 dias. Por outro lado, ocorreu um aumento da taxa inverso do resíduo da hidrólise ( $1/\text{resíduo da hidrólise}$ ), com o aumento do tempo de hidrólise, sendo maior que a área amorfa depois de 14 dias. Este fenômeno pode ocorrer quando a região amorfa do amido de milho vai

se deteriorando acima de 10 dias nas condições de hidrólise mencionados acima (KOMIYA *et al.*, 1987).

À semelhança dos resultados encontrados por KOMIYA *et al.* (1987), a etapa de hidrólise enzimática empregada no presente estudo, provocou um decréscimo na área cristalina. A área amorfa aumentou gradativamente com o tempo de hidrólise.

A relação entre área cristalina e amorfa diminuiu gradativamente com o aumento do tempo de hidrólise, indicando que a degradação das áreas cristalina foi mais rápida do que as das áreas amorfas. Por outro lado, o tratamento hidrotérmico provocou uma elevação nesta relação, indicando que o tratamento seguido de descanso por 48 horas provocou a formação de estruturas mais organizadas.

#### **4.4.3. Microscopia Óptica**

As Figuras 22 (a); (b); (c). mostram os grânulos de amido de milho ceroso sem tratamento, e as Figuras 23 (a); (b); (c); (d) mostram os grânulos de amido submetidos à hidrólise por diferentes tempos e o hidrolisado por 30 horas e, a seguir, submetido ao tratamento hidrotérmico, seguido de descanso por 48 horas à 23 °C.

Os grânulos mostrados nas Figuras 22 (a); (b); (c). apresentam uma corrosão de superfície não extensiva de cerca de 2%, e evidente corrosão radial, em torno de 5%. O hilum se mostra partido. As fissuras radiais observadas podem ser devido à amilase proveniente da germinação.

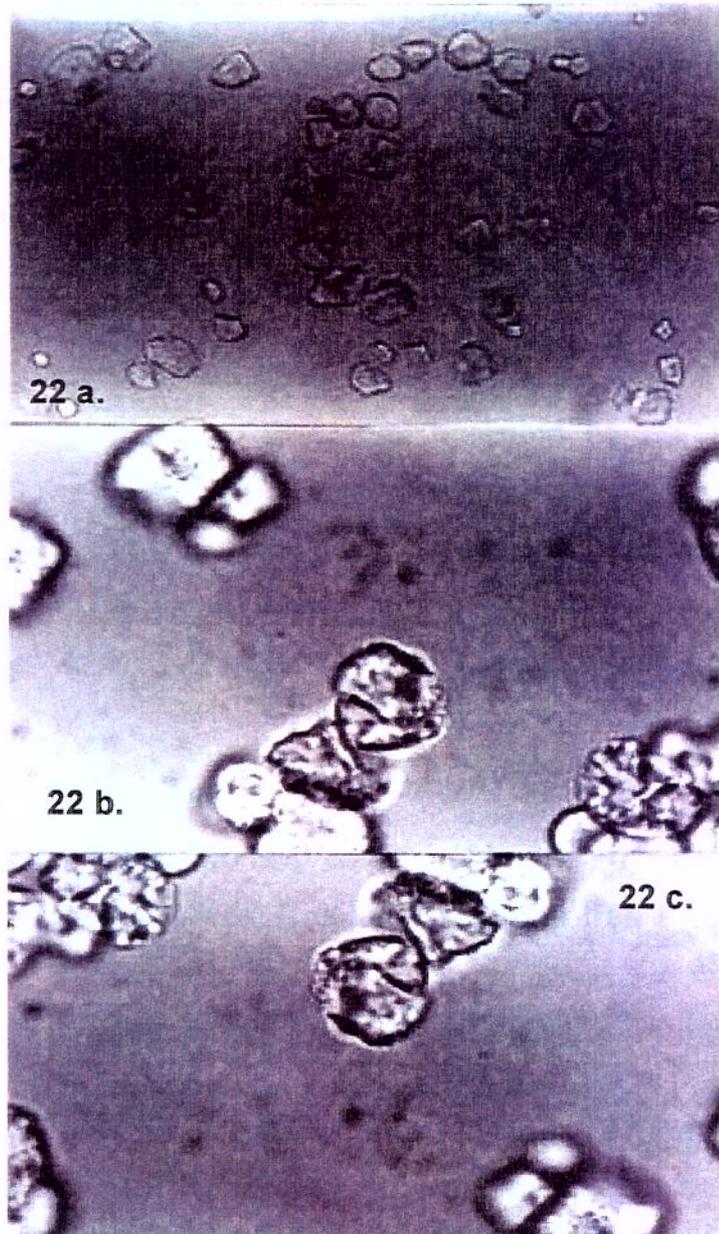


Figura 22 . Microscopia do amido sem tratamento ;

a.) aumento de 250x

b.) aumento de 1000x

c.) aumento de 1000x

Enquanto as corrosões de superfície, podem ser decorrentes de áreas de contato e compressão promovida por grânulos maiores com os outros grânulos que estivessem em formação dentro do plasto (amiloplasto). Os grânulos de amido sem tratamento apresentam uma intensa corrosão radial, maior em alguns casos que do material hidrolisado, entretanto, com bem menor frequência, permitindo a diferenciação deste amido sem tratamento dos demais hidrolisados.

Os grânulos com maior diâmetro apresentaram-se rachados, com início do aparecimento de pequenos canais. Os grânulos pequenos apresentaram uma mancha, tipo hematoma, que pode ser decorrente de algum processo de fermentação que possa ter ocorrido, como a ação da amilase na germinação.

Há uma heterogenidade nos grânulos, em relação ao: tamanho, forma, diâmetro e superfície. A diferença de diâmetro foi bastante marcante, variando de até 10 vezes do grânulo maior para o menor.

As Figuras 23 (a); (b); (c); (d) mostram os grânulos de amido hidrolisados por 30 horas e, a seguir, submetido ao tratamento hidrotérmico, seguido de descanso por 48 horas à 23 °C. Este tratamento não afetou a percepção do polimorfismo que os grânulos apresentaram. Os diâmetros apresentaram-se bem diferenciados, proporcionando uma diminuição heterogênea do diâmetro, com quebras uniformes. A ação da

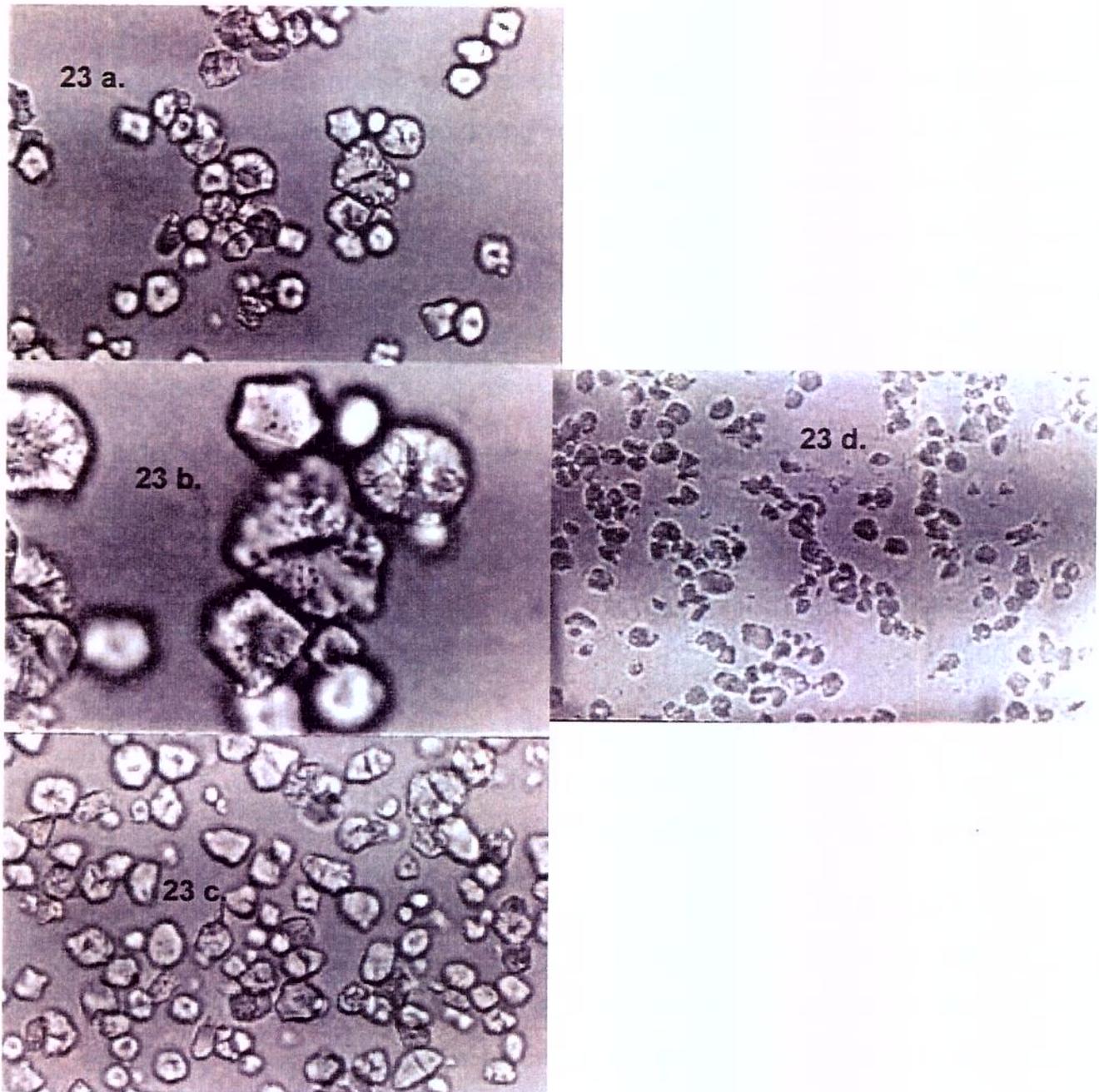


Figura 23. Microscopia do amido hidrolisado 30 horas e submetido ao tratamento hidrotérmico.a.) aumento de 400x

b.) aumento de 1000x

c.) aumento de 400x

d.) aumento de 125x

alfa-amilase é evidenciada em quase a totalidade dos grânulos, sem entretanto desfazê-los. Os grânulos maiores demonstraram nitidamente a estrutura de anéis concêntricos, decorrente da estrutura cristalina.

As Figuras 24.(a); (b); (c) mostram o grânulo de amido hidrolisado por 40 horas. A ação da enzima promoveu fissuras radiais, com os grânulos maiores apresentando maior integridade. As características destes grânulos foram bem semelhantes àquelas dos grânulos submetidos à 30 horas de hidrólise e depois ao tratamento hidrotérmico (48 horas à 23°C). Entretanto, os grânulos hidrolisados por 40 horas apresentaram uma característica diferenciada, uma certa perda de material dos grânulos com menor diâmetro, os quais começaram a fragmentar um pouco mais que os grânulos hidrolisados 30 horas e tratados termicamente.

Nas Figuras 25(a); (b) a caracterização geral dos grânulos hidrolisados por 30 horas foi muito semelhante aqueles submetidos ao mesmo tempo de hidrólise e tratados termicamente posteriormente, apresentando uma ligeira diferença com aqueles hidrolisados por 40 horas.

Na Figura 26, os grânulos hidrolisados por 20 horas apresentaram uma fragmentação menor que em todos os outros. A corrosão radial foi efetiva. É importante ressaltar que houve diferença entre estes grânulos e aqueles de amido ceroso de milho sem tratamento.

Os grânulos tratados enzimaticamente apresentaram um diâmetro menor que 10  $\mu\text{m}$ . Houve mudança de diâmetro e não de estrutura. Os grânulos de amido de milho ceroso sem tratamento apresentaram cruz de malta, indicando cristalinidade, já os grânulos hidrolisados e tratados

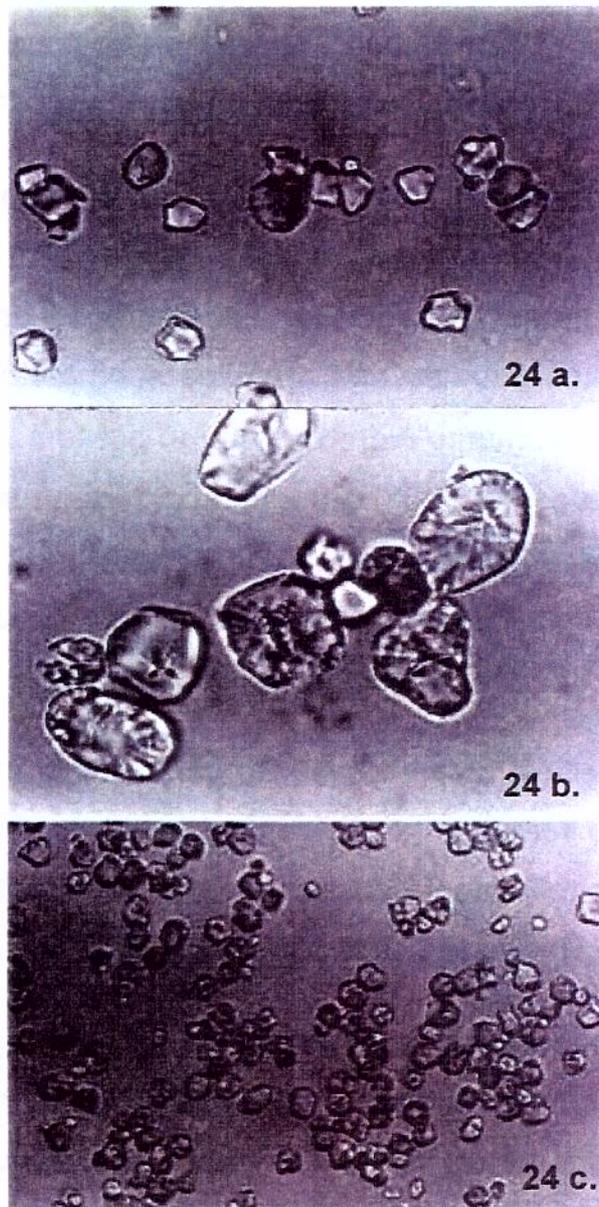


Figura 24. Microscopia do amido hidrolisado por 40 horas

a.) aumento de 400x

b.) aumento de 1000x

c.) aumento de 250x

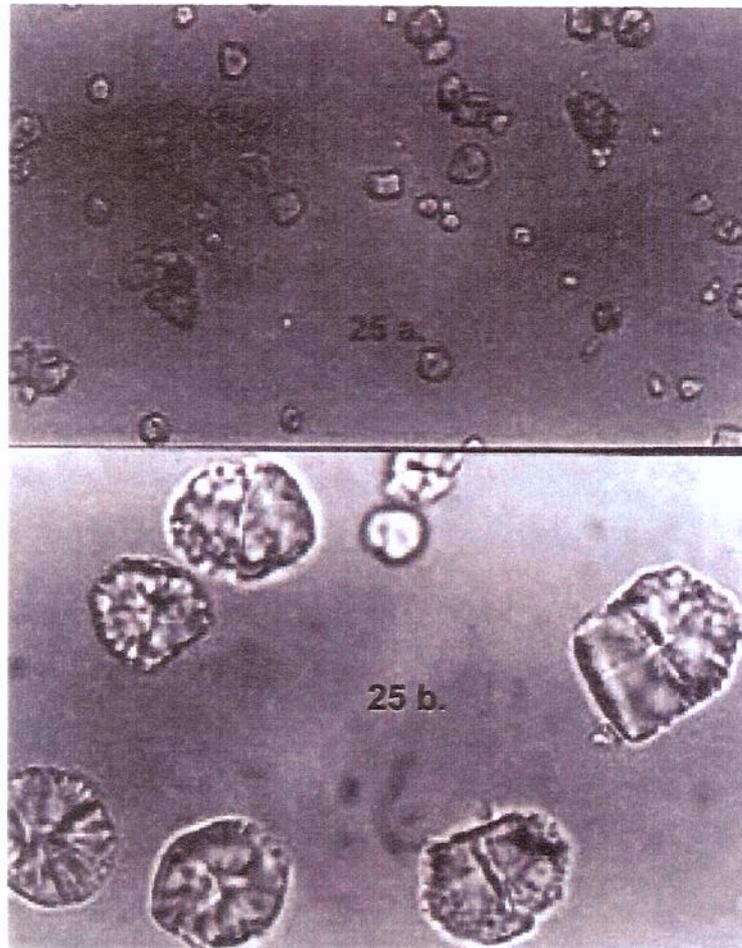


Figura 25. Microscopia do amido hidrolisado 30 horas

a.) aumento de 250x

b.) aumento de 1000x



Figura 26. Microscopia do amido hidrolisado por 20 horas.

termicamente mostraram uma birefringência, mas não mostraram a cruz de malta, indicando uma perda de cristalinidade.

#### 4.4.4. Propriedades de Pasta

Na Tabela 34 são mostrados os parâmetros obtidos no RVA dos amidos sem tratamento, hidrolisado por 20 horas, 30 horas, 40 horas e tratado hidrotêrmicamente com 23,80% de umidade, com tempo de descanso de 48 horas à 23°C, após ser hidrolisado por 30 horas.

SCHOCH & MAYWALD (1968) verificaram que a viscosidade da pasta à quente depende do grau de inchamento dos grânulos e da resistência que os mesmos apresentam à fragmentação pelo atrito mecânico ou à dissolução pelo calor.

FRANCO & CIACCO (1993) estudaram as propriedades de pasta do amido de milho ceroso, o qual apresentou temperaturas de pasta e de viscosidade máxima de 67,0°C e 74,5°C, respectivamente. A viscosidade máxima encontrada foi 780 U.A e a viscosidade final à 50,0°C foi 280 U.A., para uma dispersão de 5,5% do amido de milho ceroso, tratados ou não hidrotêrmicamente. Foi observado que conforme aumentava o conteúdo de umidade para o tratamento hidrotêrmico, maior era efeito nas propriedades de pasta, causando um aumento gradual nas temperaturas de pasta e de viscosidade máxima. Também foi observado um aumento na temperatura de pasta para os maiores níveis de umidade, o que sugere uma desintegração granular durante o tratamento hidrotêrmico. A temperatura de pasta dos amidos de milho normal (mole e duro) foi superior àquela encontrada para o amido ceroso, enquanto o pico de viscosidade dos dois

Tabela 34. Parâmetros viscoamilográficos dos amidos hidrolisados e submetidos ou não ao tratamento térmico.

<b>Amostras</b>	<b>VM (RVU)<sup>2</sup></b>	<b>Vmin (RVU)</b>	<b>PQ (RVU)</b>	<b>Vf (RVU)</b>	<b>Rtg* (RVU)</b>	<b>Pt** (minutos)</b>	<b>Tp (°C)<sup>1</sup></b>
<b>Sem tratamento</b>	255,99	94,63	161,36	148,09	53,46	3,25	<b>68,46 a</b>
<b>20 Hs</b>	11,28	-1,1	<b>12,38</b>	0,46	<b>1,56</b>	3,23	<b>72,64 b</b>
<b>30 Hs</b>	9	0,4	8,6	1,84	1,44	3,28	<b>64,28 c</b>
<b>40 Hs</b>	17,5	1,4	16,1	2,92	1,52	3,26	<b>62,25 d</b>
<b>30Hs/ 48Hs- 23 °C</b>	36,09	19,8	16,29	36,11	16,31	4,04	<b>71,54 e</b>

<sup>1</sup> Amostra seguida de letras diferentes foram significativamente diferentes entre si.

<sup>2</sup> RVU = unidades do RVA

\*Retrogradação é a diferença entre a viscosidade final à 50°C, em RVU, e a viscosidade mínima à 95°C, em RVU.

\*\*Pico de tempo é referente ao tempo necessário para atingir a viscosidade máxima.

Onde:

VM = Viscosidade máxima; em unidades RVU.

Vmin = Viscosidade mínima; à 95°C em RVU.

PQ = Ponto de quebra; em unidades RVU

Vf = Viscosidade final; à temperatura de 30°C, em unidades RVU

Rtg = Retrogradação, viscosidade final, em RVU, à 30°C menos a viscosidade final à 95°C.

Pt = Pico de tempo, tempo para atingir a viscosidade máxima, em minutos.

Tp = Temperatura de pasta, em °C.

primeiros foi menor que o terceiro, mesmo com concentrações maiores de amido.

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que a hidrólise do amido de milho ceroso provoca sensível decréscimo na viscosidade máxima, indicando que a estrutura granular, que mantém o grânulo, é afetada pelo ataque enzimático. Por outro lado, o tratamento hidrotérmico seguido de um período de descanso provocou um aumento na viscosidade máxima, indicando uma reestruturação na estrutura, com possível formação de uma rede, através da formação de pontes de hidrogênio, entre os componentes do amido.

A hidrólise também causou diminuição da tendência à retrogradação. Também nesse caso, o tratamento hidrotérmico seguido de descanso por 48 horas provocou maior retrogradação.

#### **4.4.5. Temperatura de Gelatinização**

A Tabela 35 mostra as faixas de temperatura de gelatinização e as entalpias de gelatinização para os amidos sem tratamento, hidrolisados por 20 horas, 30 horas, 40 horas e tratados hidrotérmicamente por 48 horas à 23°C após hidrólise por 30 horas. Nas Figuras de 27a.) à 27 e.) são mostrados as análises térmicas, onde a faixa de temperatura de gelatinização e a entalpia necessária a gelatinização são apresentadas.

O tratamento enzimático provocou aumento na temperatura inicial de gelatinização até 30 horas de hidrólise, decrescendo para 40 horas de hidrólise. A diferença entre as temperaturas de inicial e final de gelatinização, por outro lado, diminuiu com o tempo de hidrólise. Além

Tabela 35. Faixas de temperatura de gelatinização e suas respectivas entalpias

<i>Amostras</i>	<i>Faixa de temperatura de gelatinização (°C) <sup>1</sup></i>	<i>Diferença entre T<sub>inicial</sub> e T<sub>final</sub></i>	<i>Entalpia (Joule/g)</i>
<i>Amido sem tratamento</i>	<i>67,86-74,03 a</i>	<i>6,17</i>	<i>2511</i>
<i>20 Hs de hidrólise</i>	<i>73,34-78,88 b</i>	<i>5,54</i>	<i>2830</i>
<i>30 Hs de hidrólise</i>	<i>74,35-79,74 c</i>	<i>5,39</i>	<i>2652</i>
<i>40 Hs de hidrólise</i>	<i>73,23-78,56 d</i>	<i>5,33</i>	<i>2991</i>
<i>30 Hs- 23,8%umidade à 48 Hs</i>	<i>78,01-83,57 e</i>	<i>5,56</i>	<i>2998</i>

<sup>1</sup> Amostra seguida de letras diferentes foram significativamente diferentes entre si.

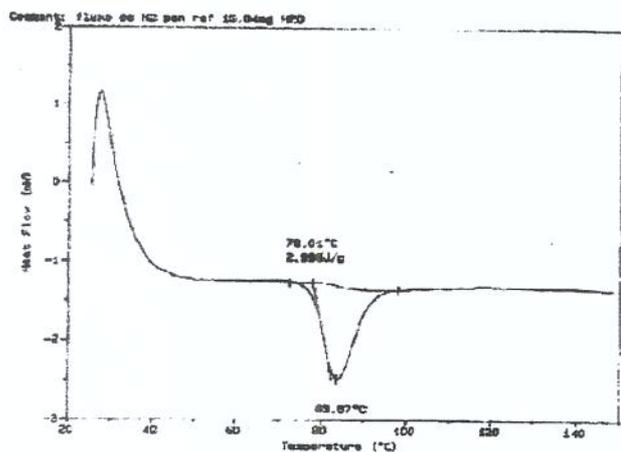


Figura 27a.) Análise térmica do amido hidrolisado por 30 horas e submetido ao tratamento hidrotérmico

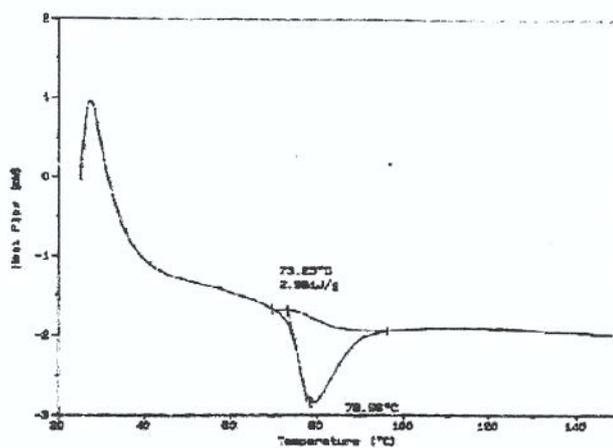


Figura 27b.) Análise térmica do amido hidrolisado por 40 horas.

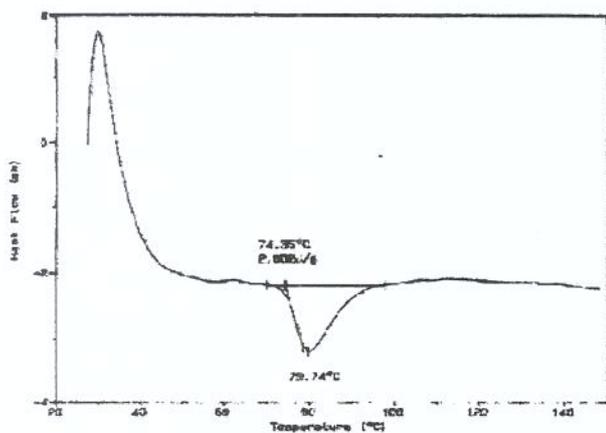


Figura 27c.) Análise térmica do amido hidrolisado por 30 horas.

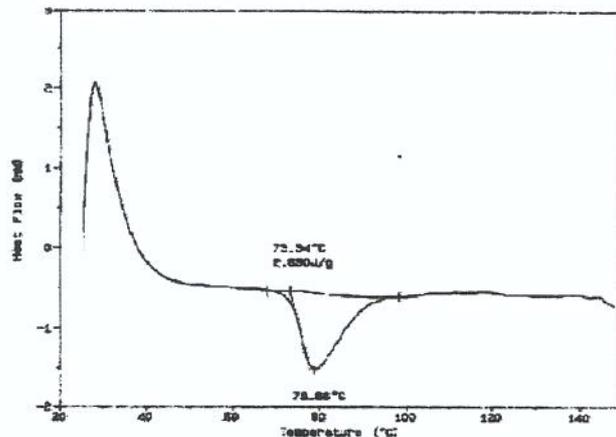


Figura 27d.) Análise térmica do amido hidrolisado por 20 horas.

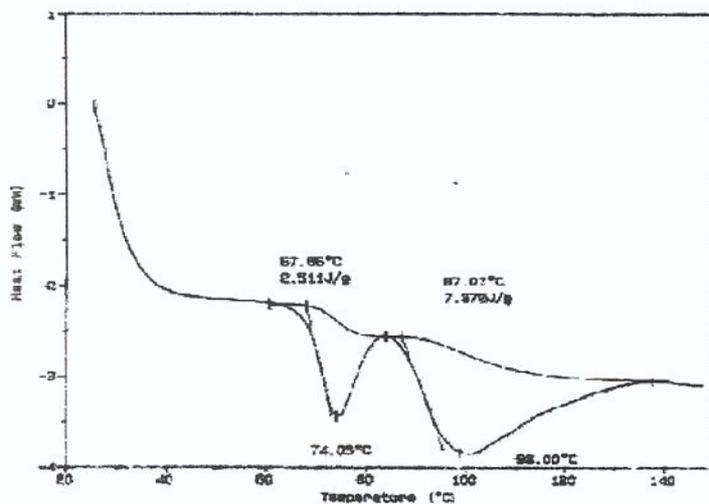


Figura 27e.) Análise térmica do amido sem tratamento

disso, os amidos hidrolisados apresentaram apenas um pico endotérmico, indicando que esse tratamento desagrega a estrutura organizada, responsável pelo segundo pico endotérmico, observada no amido sem tratamento. O tratamento hidrotérmico, seguido de descanso, provocou um sensível aumento na temperatura inicial de gelatinização, indicando a formação de estruturas mais organizadas. O amido sem tratamento apresentou dois picos endotérmicos; a ocorrência de dois picos é explicada pela existência de complexos existentes entre amilose e lipídeos (COLONNA *et al.*, 1992). Independente da existência desse tipo de complexo o aparecimento desse pico mostrou a ocorrência de duas estruturas organizadas no amido sem tratamento. Segundo COLONNA *et al.* (1992) a fusão da amilopectina inicia-se a 45°C com pico em 55-60°C, enquanto que o pico de amilose situa-se entre 125-145°C. Essas diferenças nas temperaturas de fusão são principalmente atribuídas as diferenças no grau de polimerização dos cristais.

A entalpia aumentou com a hidrólise e entre os hidrolisados, o de 30 horas apresentou o menor valor. O maior valor da entalpia foi obtido pelo hidrolisado submetido a tratamento hidrotérmico, confirmando a formação de estruturas mais organizadas.

FRANCO *et al.* (1988) encontraram temperaturas de gelatinização na faixa de 64,5 a 71,5°C para o amido de milho natural e 65,0 a 72,0°C para o amido hidrolisado por 36 horas à pH 6,0 à 30°C, pela enzima alfa-amilase (100SKB unidades/ g amido).

PARK *et al.* (1971) verificaram que o inchamento dos grânulos de amido grandes ocorre a temperaturas mais baixas que para os grânulos

menores. Desta forma, conforme aumenta o tempo de hidrólise dos grânulos de amido, aumenta o número de grânulos pequenos e assim para que estes inchem é necessário uma temperatura maior que a usada para o amido sem tratamento enzimático.

É possível que durante a hidrólise, os grânulos maiores sejam degradados, provocando uma concentração de grânulos menores nos amidos hidrolisados que, de acordo com PARK *et al.* (1971), teriam necessidade de maior energia para serem gelatinizados.

#### **4.4.6. Viscosidade Intrínseca**

Os valores de viscosidade intrínseca para o amido sem tratamento e os demais amidos tratados enzima e/ou hidrotermicamente estão listados na Tabela 36.

De maneira geral o tratamento enzimático resultou em decréscimo da viscosidade intrínseca. Entretanto, entre os hidrolisados, aquele com 30 horas teve viscosidade intrínseca maior que o de 20 e o de 40 horas. É possível que esta diferença esteja relacionada à etapas de hidrólise da amilopectina que, em decorrência de suas ramificações e da sua forma globular, não apresenta relação matemática entre peso molecular e tamanho da molécula, indiretamente avaliado pela viscosidade intrínseca. De acordo com essa hipótese, após 20 horas de hidrólise ocorreria rompimento em partes da amilopectina provocando desdobramento da molécula, alterando a estrutura globular e, conseqüentemente, levando a maiores valores da viscosidade intrínseca.

Após 30 horas, com a evolução da hidrólise esses resíduos de amilopectina teriam seu tamanho reduzido, e a viscosidade intrínseca

Tabela 36. Viscosidade intrínseca dos amidos tratados

<i>Amostras</i>	<i>Viscosidade Intrínseca (centistokes) * <sup>1</sup></i>
<i>Amido sem tratamento</i>	<i>1,5982 a</i>
<i>20 Hs de hidrólise</i>	<i>1,1425 b</i>
<i>30 Hs de hidrólise</i>	<i>1,5409 c</i>
<i>40 Hs de hidrólise</i>	<i>1,1160 d</i>
<i>30 Hs- 23,8%umidade à 48 Hs</i>	<i>1,0204 e</i>

\* As medidas foram feitas em triplicata.

<sup>1</sup> Amostra seguida de letras diferentes foram significativamente diferentes entre si.

menor, o que explicaria os valores obtidos para 40 horas de hidrólise. Segundo LUCCA & TEPPER (1994), amidos substitutos de gordura apresentam dextrose equivalente menor que 20 ou menores, o que explicaria os resultados encontrados no estudo sobre substituição de gordura para amidos hidrolisados por 30 horas.

Os resultados encontrados para viscosidade intrínseca também indicam que a evolução da hidrólise durante o tratamento hidrotérmico.

FRANCO & CIACCO (1987) também observaram decréscimo no valor de viscosidade intrínseca com o tempo de hidrólise. Segundo estes autores, a pequena diferença dos valores de viscosidade intrínseca encontrada entre os amidos hidrolisados com alfa-amilase e o amido "in natura", indicou que a enzima não teve livre acesso à unidade molecular do grânulo, sendo isto limitado à certas áreas, como proposto anteriormente, por LEACH & SCHOCH (1961).

LEACH & SCHOCH (1961) encontraram para o amido de milho não hidrolisado o valor de 1,61 e 1,47 para o amido de milho que sofreu sucessivas e extensas hidrólises de alfa-amilase bacteriana, como valores de viscosidade intrínseca. O amido de milho ceroso apresentou 1,58 e este mesmo amido digerido com 0,5% de enzima bacteriana alfa-amilase, 24 horas à 50°C, apresentou um valor de viscosidade intrínseca de 1,36. O amido de milho com longa cadeia linear teve 1,09.

Os resultados encontrados no presente trabalho são, portanto, comparáveis e compatíveis com os da literatura.

#### 4.4.7. Tamanho do Grânulo de Amido

A distribuição por tamanho dos diferentes grânulos de amido de milho ceroso, tratados enzimaticamente e/ou hidrotêrmicamente é apresentada na Tabela 37 e Figura 28.

Os perfis da distribuição dos tamanhos dos grânulos de amido mostram que a hidrólise diminuiu a dispersão dos grânulos, particularmente nos tempos de 20 e 40 horas. A hidrólise por 20 horas apresenta distribuição do tamanho concentrada em grânulos, com 10-20 $\mu\text{m}$ , a por 40 horas uma concentração em grânulos com 5-25 $\mu\text{m}$ .

A distribuição dos grânulos da hidrólise por 30 horas foi mais dispersa, envolvendo grânulos com diâmetro de 30 $\mu\text{m}$ . A hidrólise por 20 horas apresentou cerca de 83% dos grânulos com diâmetro entre 10-20 $\mu\text{m}$ , enquanto que a por 40 horas teve cerca de 56% nesta faixa. Por outro lado, a hidrólise por 30 horas resultou em 2 populações majoritárias, uma contendo cerca de 53% dos grânulos com diâmetro entre 5-15 $\mu\text{m}$  e outra com cerca de 40% dos grânulos com diâmetro entre 15 e 25 $\mu\text{m}$ .

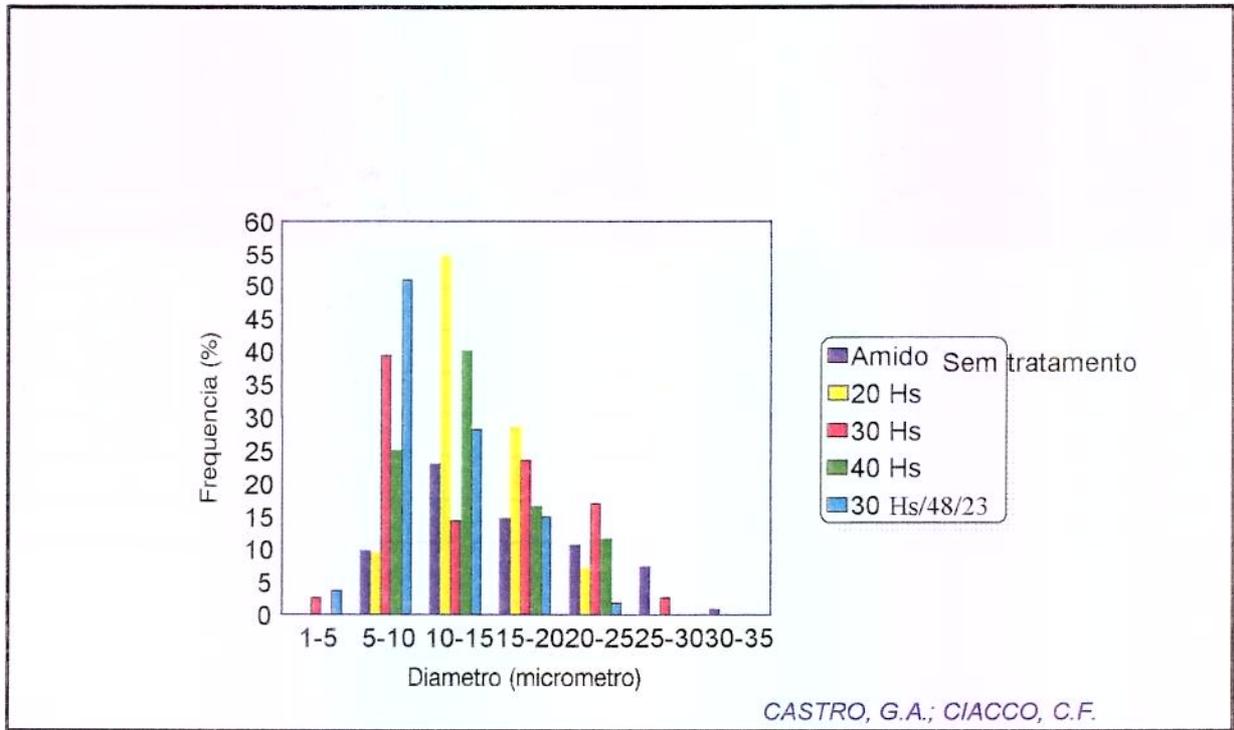
O tratamento hidrotérmico resultou na elevação de concentração, comparada com a amostra sem tratamento, de grânulos com diâmetro entre 5 e 15  $\mu\text{m}$ , cerca de 79% dos grânulos.

Grânulos de amido com pequeno diâmetro, quando hidratados, proporcionam a sensação de cremosidade semelhante às das gorduras (LUCCA & TEPPER, 1994; SIMPLY starch..., 1993). As melhores características de textura observadas para amido tratado hidrotêrmicamente (Tabela 31) poderiam ser resultado dessa maior concentração de grânulos.

Tabela 37. Distribuição de tamanho dos grânulos de amido hidrolisados submetidos ou não a tratamento térmico.

<i>Diâmetro (<math>\mu\text{m}</math>)</i>	<i>Amido sem tratamento</i>	<i>Amido hidrolisado 20 Hs</i>	<i>Amido hidrolisado 30 Hs</i>	<i>Amido hidrolisado 40 Hs</i>	<i>Amido hidrolisado 30Hs/ 23,8%48Hs à 23°C</i>
<i>Frequência (%)</i>					
<i>1-5</i>	-	-	2,63	-	3,77
<i>5-10</i>	9,84	9,52	39,47	25	50,94
<i>10-15</i>	22,95	54,76	14,47	40	28,30
<i>15-20</i>	14,75	28,57	23,68	16,67	15,09
<i>20-25</i>	10,66	7,14	17,11	11,67	1,89
<i>25-30</i>	7,38	-	2,63	-	-
<i>30-35</i>	0,82	-	-	-	-

Figura 28. Distribuição do tamanho dos grânulos de amido de milho ceroso tratados com alfa-amilase e/ou hidrotêrmicamente.



A dispersão do tamanho em decorrência do período de hidrólise também foi observado por estudo feito por FRANCO & CIACCO (1986).

#### **4.4.8. Teor de Amilose**

A Tabela 38 mostra o teor de amilose determinado nas amostras utilizadas nesse estudo. Os resultados obtidos mostraram que não existem diferenças marcantes nos teores de amilose entre as amostras.

Esses resultados concordam com os obtidos por FRANCO & CIACCO (1986), que não encontraram diferenças entre os valores de amilose dos diferentes amidos tratados enzimaticamente. Sugerindo que o ataque enzimático ocorreu preferencialmente na fração ramificada do grânulo de amido.

#### **4.4.9. Força do Gel**

A Tabela 39 mostra a força do gel das diferentes amostras.

O amido sem tratamento apresentou uma força de gel maior que aqueles amidos tratados enzimaticamente e/ou hidrotérmicamente. A diferença entre eles não foi significativa, tendo o amido hidrolisado e submetido ao tratamento térmico uma força de gel ligeiramente maior, o que pode ser decorrente da presença da formação de redes entre os componentes e grânulos do amido.

Tabela 38. Teor de amilose.

<i>Amostras</i>	<i>Teor de Amilose (%)<sup>1</sup></i>
<i>Amido sem tratamento</i>	2,05 a
<i>20 Hs de hidrólise</i>	2,05 b
<i>30 Hs de hidrólise</i>	2,06 c
<i>40 Hs de hidrólise</i>	2,09 d
<i>30 Hs- 23,8%umidade à 48 Hs</i>	2,09 e

<sup>1</sup> As amostras a, b, c diferem significativamente das amostras d,e, porém não diferem significativamente entre elas.

Tabela 39. Força do gel.

Amostras	Força do Gel (g) *
Amido sem tratamento	41,8
20 Hs de hidrólise	8,8
30 Hs de hidrólise	10,2
40 Hs de hidrólise	10,6
30 Hs- 23,8%umidade à 48 Hs	12,0

\* Os resultados são expressos pela média de triplicata desta análise.

Segundo ZOBEL *et al.* (1988) a amilopectina em solução se cristaliza, como evidenciado em difractogramas de raio-x de amido ceroso de milho, sendo menos evidente para precipitados de soluções. Por outro lado, a amilopectina geralmente requer uma concentração maior (30% ou mais) para cristalizar. Isto é atribuído à desidratação durante a formação do gel. Os géis de amilopectina são macios, devido às poucas interações intermoleculares, pertencentes a formação de “cluster”. Em concentrações de 2% a amilose forma em poucos minutos um gel rígido, enquanto a amilopectina, nestas mesmas condições, conserva a aparência de solução, sem formação de cristais.

JU & MITTAL (1995) mediram a força de gel, para vários substituintes de gordura à base de amido, sob as condições de um congelamento inicial à -2°C por 24 horas, e então um descongelamento à temperatura ambiente por 8 horas. O amido de milho com alto teor de amilose apresentou à 20°C uma força de gel em torno de 20 Kpa e 40 Kpa quando congelado. O amido de batata modificado enzimaticamente apresentou uma força de gel praticamente nula à 20°C e à uma temperatura de congelamento, uma força igual à 40 KPa. Tendo sido encontrado também para nossos amidos modificados enzimaticamente uma força de gel bem baixa.

#### 4.4.10. Estrutura Fina do Grânulo de Amido.

A Tabela 40 mostra a distribuição do grau de polimerização do amido sem tratamento, e quando este amido foi submetido à hidrólise

Tabela 40. Distribuição do grau de polimerização do amido sem tratamento.

Tratamentos enzimáticos	DPs (Grau de polimerização)								
	Sem P1 e $\beta$ 1	60						9	7
P1	60	49	22	17	15	11	9	5	1-3
P1 $\beta$ 1				17			9		
$\beta$ 1		49	25				9		
$\beta$ 1P1					15	11			
$\beta$ 1P1 $\beta$ 2						11	9		

pela ação da pululanase (P1),  $\beta$ -amilase ( $\beta$ 1), pululanase seguida de  $\beta$ -amilase (P1 $\beta$ 1),  $\beta$ -amilase ( $\beta$ 1) e seguida de pululanase ( $\beta$ 1P1) e  $\beta$ -amilase, pululanase e novamente  $\beta$ -amilase ( $\beta$ 1P1 $\beta$ 2).

Estes resultados mostram que polímeros com DP60 são ramificados e se desdobraram em frações de DP49, 22, 17, 15, 11, 9, 5 e DP 1-3. Os polímeros com frações de DPs de 17, 9 e 11 pertencem à regiões cristalinas, não apresentaram suscetibilidade à hidrólise por  $\beta$ -amilase.

A Tabela 41 mostra a distribuição de grau de polimerização, com os mesmos tratamentos enzimáticos citados na tabela 40, para o amido hidrolisado por 30 horas com alfa-amilase. Em  $\beta$ 1P1, embora devesse ter (a fração de DP60), não foi observado experimentalmente.

A hidrólise por 30 horas produz polímeros com DPs de 60, 49, 25, 17, 15, 11 e 9. Entre essas frações a de DP60 é resistente à hidrólise, independente da sequência com  $\beta$ -amilase e pululanase, provavelmente em decorrência de estar em zona mais estruturada do grânulo. De acordo com a sequência P1 e P1 $\beta$ 1, as frações com DP49 e 15 desapareceram com o tratamento com pululanase, indicativo de que são ramificadas. As demais frações (DPs 25, 17 e 11) são inteiramente degradadas por  $\beta$ -amilase, indicando que são lineares.

Por outro lado, os resultados da sequência  $\beta$ 1,  $\beta$ 1P1 e  $\beta$ 1P1 $\beta$ 2, levam a resultados que mostram que as frações com DP49 e 15, podem ser desdobradas em fração com DP igual a 9.

O aparecimento destas frações com DPs de 25 e 11 após  $\beta$ 1P1, indicam que estas são parte da de DP igual a 60 e que são lineares.

Tabela 41. Distribuição do grau de polimerização do amido hidrolisado por 30 horas.

<i>Tratamentos enzimáticos</i>	<i>DPs (Grau de polimerização)</i>							
	60	49	25	17	15	11	9	
<b>Sem P1 e <math>\beta</math>1</b>	60	49	25	17	15	11	9	
P1	60		25	17		11	9	
P1 $\beta$ 1	60							6-5
$\beta$ 1	60						9	
$\beta$ 1P1			25			11		
$\beta$ 1P1 $\beta$ 2	60							7

Segundo HARRIS & DAY (1993) substituinte de gordura à base de amido, via análise de cromatografia de permeação em gel (GPC), tem peso molecular médio menor que 20.000. Este resultado em conjunção com os encontrados no presente estudo indicou que o amido hidrolisado por 30 horas e aquele que após hidrólise foi submetido ao tratamento térmico apresentaram dextrinas dentro do limite determinado por HARRIS & DAY (1993) para substituinte de gordura.

A Tabela 42 mostra a distribuição do grau de polimerização para o amido hidrolisado por 30 horas e depois submetido ao tratamento hidrotérmico com 23,80% de umidade com tempo de descanso de 48 horas.

O desaparecimento da fração com DP60 independente da sequência usada com  $\beta$ -amilase e pululanase, indica que a estrutura que mantinha essa fração inacessível à hidrólise é alterado durante o tratamento hidrotérmico. Apenas as frações com DPs 15, 11 e 9 não foram hidrolisadas durante o processamento hidrotérmico. Entre essas a com DP 15, pode ser ramificada, pois desaparece pela ação da pululanase. A fração com DP 11 é resistente ao ataque P1 e P1 $\beta$ 1, o que poderia ser decorrente da sua participação em estrutura mais organizada, confirmando os resultados observados através da análise dos parâmetros viscoamilográficos e na difracção de raio-x.

Embora os resultados sobre a estrutura fina do amido não possam ser considerados conclusivos, provavelmente devido a problemas ocorridos durante a eluição das frações, existem evidências o amido hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas tinha produzido polímeros com diferentes DPs, por outro lado o tratamento hidrotérmico reduziu a distribuição desses

polímeros, concentrando-os em polímeros com DPs de 60, 15, 11 e 9. Esse resultado é coerente com o obtido para viscosidade intrínseca.

JANE (1992) estudou a correlação do tamanho da molécula, de amido tratado com ácido e depois submetido à moagem em moinho de bola, com o grau de polimerização. O DP (grau de polimerização) médio para as partículas pequenas foi de 49 à 56. A permeação em gel (Bio Gel P-6) mostrou um único pico na distribuição de tamanho molecular, sugerindo que mesmo com a substancial hidrólise, nenhuma grande molécula remanesceu. O efeito observado para o amido hidrolisado por 30 horas e submetido ao tratamento hidrotérmico confirma aqueles obtidos por JANE (1992).

Tabela 42. Distribuição do grau de polimerização do amido hidrolisado por 30 horas com alfa-amilase e tratado hidrotermicamente.

<i>Tratamentos enzimáticos</i>	<b>DPs</b> <i>(Grau de polimerização)</i>								
<b>Sem P1 e <math>\beta</math>1</b>	60					15	11	9	
P1					17		11	9	
<b>P1<math>\beta</math>1</b>							11		
$\beta$ 1					17		11		
$\beta$ 1P1								5	1-3
$\beta$ 1P1 $\beta$ 2									1-3

## 5. CONCLUSÃO

1. Os resultados da substituição de gordura por amidos hidrolisados por alfa-amilase e/ ou tratados hidrotermicamente em bolos revelaram que:

➤ Nas condições de hidrólise adotadas no trabalho, a porcentagem de hidrólise do amido de milho ceroso varia linearmente com o tempo de hidrólise, até 48 horas. Entre os derivados do amido obtidos a 20, 30 e 40 horas com 44,4; 46,0 e 48,6% de hidrólise, respectivamente, aquele com 30 horas, quando utilizado como substituto de gordura, produziu bolo com melhores qualidade que os demais, quando 15,86% da gordura foi substituída.

➤ O tratamento hidrotérmico do amido hidrolisado por 30 horas com diferentes porcentagens de umidade e tempos de descanso, produziu derivados do amido que proporcionaram, de maneira geral, bolos com textura mais macia que aqueles amidos somente hidrolisados. De modo geral, os modelos estatísticos relacionando porcentagem de umidade e tempo de descanso, porcentagem de substituição de gordura e tempo de hidrólise, assim como porcentagens de amido e gordura em relação a atributos de qualidade de bolo não foram preditivos. O derivado obtido com 30% de umidade e tempo de descanso de 41 horas produziu bolos com os melhores atributos, quando substituiu a gordura em 15,86%.

2. A caracterização físico química dos amidos hidrolisados por alfa-amilase e dos tratados hidrotermicamente revelou que:

➤ O tratamento enzimático com alfa-amilase do amido de milho ceroso provocou um aumento do índice de solubilidade, com o amido hidrolisado por 30 horas o que apresentou o maior índice de solubilidade, quando tratado termicamente à 23,8% de umidade com tempo de descanso de 48 horas à 23 C. Observou-se uma relação inversa entre índice de absorção de água e o índice de solubilidade.

➤ Não foi observado alteração do padrão de cristalinidade, todos apresentando o padrão A, com a hidrólise ou tratamento hidrotérmico. Entretanto, a relação entre áreas amorfas e cristalinas diminuiu gradativamente com o aumento do tempo de hidrólise, indicando que a degradação das áreas cristalinas foi mais rápida que das amorfas. O tratamento hidrotérmico provocou uma elevação nesta relação, indicando a formação de estruturas mais organizadas com o tratamento. Foi também observado que o ataque enzimático nas áreas cristalinas é dependente do tempo de hidrólise. Estes resultados foram confirmados pela análise dos parâmetros viscoamilográficos.

➤ As observações microscópicas feitas nos grânulos mostraram que a ação da enzima provoca fissuras radiais. Não foram observadas diferenças marcantes entre os grânulos submetidos ou não ao tratamento hidrotérmico. Também foi observado alterações no diâmetro dos grânulos com a evolução da hidrólise, com um aumento do número de grânulos pequenos. Entre os derivados dos amidos, aquele hidrolisado por 30 horas e submetido ao tratamento térmico a baixa umidade (23,8%) com tempo de descanso de 48

horas à 23°C, apresentou uma maior frequência de grânulos com menor diâmetro que os somente hidrolisados.

➤ A viscosidade intrínseca decresceu com a hidrólise, em relação ao amido sem tratamento. Entretanto, o hidrolisado por 30 horas apresentou o maior valor. O tratamento hidrotérmico deste amido, 23,8% de umidade e tempo de descanso de 48 horas, resultou em decréscimo na viscosidade intrínseca.

➤ A força do gel foi sensivelmente diminuída com a hidrólise.

➤ A análise da estrutura fina dos amidos (sem tratamento, com 30 horas de hidrólise e aquele que após 30 horas de hidrólise foi submetido ao tratamento hidrotérmico), mostrou que a hidrólise com alfa-amilase por 30 horas produziu polímeros com diferentes DPs (grau de polimerização). Por outro lado o tratamento hidrotérmico reduziu a distribuição desses polímeros, concentrando-os em polímeros com DPs de 60, 15, 11 e 9. O desaparecimento da fração com DP igual a 60, sugere que o tratamento hidrotérmico altera a estrutura que mantinha essa fração inacessível à hidrólise.

3. As relações entre propriedades físico-químicas dos amidos e suas características funcionais como substituinte de gordura em bolos revelaram que:

➤ A comparação entre os resultados obtidos no estudo sobre substituição de gordura com aqueles sobre propriedades físico-química dos derivados de amido sugere que as características de substituto de gordura estão relacionadas com a absorção de água, viscosidade intrínseca e distribuição do tamanho dos grânulos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AACC - American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 7<sup>a</sup> ed. St. Paul, Minnesota, v. 1 e 2, 1995.
2. AKOH, C.C. **Fat replacers: present and future.** In: Congresso e Exposição Latinoamericano sobre Processamento de Óleos e Gorduras, 6., setembro, Campinas, 1995.
3. ALEXANDER, R.J. Fat replacers based on starch. **Cereal Foods World**, [S.l.], v.40, n.5, p. 366-367, 1995.
4. ANDERSON, R.A.; CONWAY, H.F.; PFEIFER, V.F.; GRIFFIN Jr., E.L. Abstracts of papers to be presents at the Sixty - Sixth Annual meeting, Michigan State University, East Lansing, p. 20-23, June, 1971. **Journal of Dairy Science**, [S.l.], v.54, n.5, p. 760-762, 1971.
5. ANTI-staling fat mimetic: too good to be true? **Prepared Foods**, [S.l.], v.160, n.9, p.133-4, Aug, 1991.
6. ARMBRISTER, W.L.; SETSER, C.S. Sensory and physical properties of chocolate chip cookies made with vegetable shortening or fat replacers at 50 and 75% levels. **Cereal Chemistry**, Minnesota, v.71, n.4, p. 344-51, 1994.
7. BANKS, W.; GREENWOOD, C.T. Starch and its components, Edinburger, v, 2, p. 44-45, 1975. [s.n.t.].

8. BANKS, W.; GREENWOOD, C.t. Starch Biochem. **Biophys**, [S.I], v. 117, p. 674, 1966.
9. BATH, D.E.; SHELKE, K.; HOSENEY, R.C. Fat replacers in high-ratio layer cakes. **Cereal Foods World**, [S.I], v.37, n.7, p.495, 1992.
10. BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, [S.I], v.69, p.60-78, 1991.
11. BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, [S.I], v.37, p.911-7, 1959.
12. BOATELLA, J.; CODONY, R.; RAFECAS, M. Estratégias para la substitucion de grasas en los alimentos. **Alimentaria: Revista de Tecnologia e Higiene de los Alimentos**, [S.I], v.30, n.239, p.27, 1993.
13. BRUHN, C.; COTTER, A.; DIAZ-KNAVF, K.; SUTHERLIN, J.; WEST, E.; WIGHTMAN, N.; WILLIAMSON, E.; YAFFEE, M. Our industry today- consumer attitudes and market potential for dairy products utilizing fat substitutes. **Journal of Dairy Science**, [S.I], v.75, p.2569-77, 1992.
14. CAMPBELL, A.M.; PENFIELD, M.P.; GRISWOLD, R.M. **Evaluating Foods by Objective Methods**, p. 474-475, 1979. [s.n.t.]
15. CETIQT; CNI; SENAI. **Curso Básico de colorimetria Industrial - Teoria**. [s.n.]. Cotia, 1997. p. 54.

16. CIACCO, C.F.; CRUZ, R. **Fabricação de amido e sua utilização.** Faculdade de Tec. de Alimentos. Campinas: [s.n.], 1982. p.8-49.
17. CLARK, A.H.; GILDEY, M.J.; RICHARDSON, R.K; ROSS-MURPHEY, S.B. Rheological studies of aqueous amylose gels: the effects of chain length and concentration on gel modulus. **Macromolecules**, [S.I], v. 22, p. 346-351, 1989.
18. CLARK, D. Fat replacers and fat substitutes. **Food Technology**, [S.I], v.48, n.12, p.86, 1994.
19. COLONNA, P.; LELOUP, V.; BULÉON, A. Limiting factors of starch hidrólisis. **European Journal of Clinical Nutrition**, [S.I], v.46, n, 2, p. 17-32, 1992.
20. DANIEL, J.R.; WHISTLER, R.L. Principal changes in starches and sugars during food-processing. **Food Technol**, [S.I], v.38, n.3, p.50, 1984.
21. DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.R.; ROBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, [S.I], v.28, p.350-4, 1956.
22. DVONCH, W.; KRAMER, H.H.; WHISTLER, R.L. Polisaccharides of high-amilose corn. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.28, n.4, p.270-9, 1951.
23. EERLINGEN, R.C.; JACOBS, H.; BLOCK, K.; DELCOUR, J.A. Effects of hydrothermal treatments on the rheological properties of potato starch. **Carbohydrate Research**, [S.I], v.297, n.4, p.347-56, 1997.

24. EERLINGEN, R.C.; JACOBS, H.; VAN WIN, H.; DELCOUR, J.A. **Journal Therm Anal.**, [S.I.], v.47, n.5, p. 1229-46, 1996. [s.n.t.].
25. EMULSIFIERS abound for low-fat products. **Food Engineering INT'L**, [S.I.], n.9, Aug, 1991.
26. EVERS, A.D.; GOUGH, B.M.; PYBUS, J.N. Scanning electron microscopy of wheat starch. IV.Digestion of large granules by glucoamylase of fungal (*Aspergillus niger*), **Die stärke**, [S.I.], v.23, n.1, p.16-18, 1971.
27. EVERS, A.D.; MC DERMOTT, E.E. Scanning electron microscopy of wheat starch. II. Structure of granule modified by alpha-amylolyses-preliminary report. **Die Starke**, [S.I.], v.22, n.1, p.23-6, 1970.
28. FANNON, J.E.; HAUBER, R.J.; BEMILER, J.N. Surface pores of starch granules. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.69, n.3, p.284-8, 1992.
29. FESTUS, A.N.; WILLIAM, M.W.; JR. STEVEN, J.S. Physicochemical changes in cassava starch flour associated with fermentation.Effect on textural properties. **Starch/Stärke**, [S.I.], v.47, n.3, p.86-91, 1995.
30. FRANCO, C. **Estudo da susceptibilidade do grânulo de amido "in natura" do ataque enzimático**. Campinas, 1986. [Dissertação de Mestrado] - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas.
31. FRANCO, C.M.L. **Contribuição do estudo da estrutura do grânulo de amido de milho**. Campinas, 1993. 137p. [Dissertação de doutorado] - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas.

32. FRANCO, C.M.L.; CIACCO, C.F. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack. Part 1. Study of the conditions of hydrolysis. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.39, n. 12, 1987.
33. FRANCO, C.M.L.; CIACCO, C.F.; TAVARES, O.Q. Effect of the heat-moisture treatment on the enzymatic susceptibility of corn starch granules. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.47, n.6, p.223-8, 1995.
34. FRANCO, C.M.L.; CIACCO, C.F.; TAVARES, D.Q. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack. Part 2. Study of the granular structure of starch. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.40, n.1, p.29-32, 1988.
35. FRENCH, D. Chemical and physical properties of starch. **Journal of Animal Science**, [S.l], v.37, n.4, p.1048-61, 1973.
36. FRENCH, D. Organization of starch granules. In: Whistler, R.L.; BEMILLER, J.N.; PASCHAL, E.F. 2ed. **Chemistry and Technology**. London : Academy Press, 1984. p.183-247.
37. FULTON, L.; HOGGIN, M. Eating quality of muffins, cake, and cookies prepared with reduced fat and sugar. **Journal of the American Dietetic Association**, [S.l], v.93, n.11, p.1313-16, Nov, 1993.
38. GALLANT, D.; AVMAITRE, A.; GUILBOT, A. Degratation in vitro de l'amidon par le suc pancreatique: estude par microscopie életronique à transmission et à balayage. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.25, n.2, p.56-64, 1973.

39. GALLANT, D.; BEWA, Q.H.; BOUCHET, B.; SZYLIT, O.; SEALY, L. On ultrastructural and nutritional aspects of some tropical tuber starch. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 34, n.18, 255-62, 1982.
40. GALLANT, D.; MERCIER, C.; GUILBOT, A. Electron microscopy of starch granules modified by bacterial  $\alpha$  amylase. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.49, n.3, p.354-65, 1972.
41. GALLANT, D.J.; BOUCHET; BAND BALDWIN, P.M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, [S.I.], v.32, p.177-91, 1997.
42. GALVANI, A.; CAMARGO, C.R.; CIACCO, C.F. Effect of some lipids, sugars, salts and acids on starch gelatinization and retrogradation. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.14, n.1, p.3-13, 1994.
43. GERNAT, C.; BERLIN; RAPOSTA, S.; SE EHAFF, T.; ANGER, H.; BERGHOEZ, R.; DAMA SCHUN, G. Crystalline parts of three different conformations detected in native and enzymatically degraded starches. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.45, n.9, p.309-14, 1993.
44. GETTING the fat out. **JAACS**, [S.I.], v.63, n.3, p.278-88, Mar. 1986.
45. GIDLEY, M.J.; BOCIEK, S.M. Molecular organization in starches:A <sup>13</sup>CCP / MAS NMR study. **Journal of the American Chemistry Society**, [S.I.], v.107, p.7040-4, 1985.

46. GIDLEY, M.J.; BULPIN, P.V. Aggregation of amylose in aqueous system the effect of chain-length on phase-behavior and aggregation kinetics. **Macromolecular**, [S.I], v.22, n.1, p. 341-6, Jan, 1989.
47. GREENWOOD, C.T. *Adv. Carboyd Chem*, v. 11, p. 335, 1965. [s.n.t.].
48. GUNJA, S.Z.; MARSHALL. J.J.; MERCIER, C.; SMITH E.E.; WHELAN, W.J. **Febs letters**, v.12, p. 101, 1970.
49. GURR, M.I. Role of fats in food and nutrition baking, Ed. Elsener, p. 46, 1984. [s.n.t.].
50. HANNIGAN, K.J. Fat replace cuts calories in fatty foods. **Food-Engineering**, [S.I], v.53, n.9, p.105, Set, 1981.
51. HARRIS, D.W.; DAY, G.A. Structure versus functional relationships of a new starch-based fat replacer. **Startch/Stärke**, Weinheim, v.45, n.7, p.221-6, July, 1993.
52. HART, B. The low fat pastry solution?. **Food Manufacture**, [S.I], n.2, p.20, Feb, 1999.
53. HIPPLEHEUSER, A.L.; LANDBERG, L.A.; TURNAK, F.L. A system approach to formulating a low-fat muffin. **Food Technology**, [S.I], v.49, n.3, p.92-5, Mar., 1995
54. HIZUKURI, S. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins and its significance. **Carbohydrate Research**, [S.I], v.147, n.2, p.342-7, 1986.

55. IMBERTY, A.; CHANZY, H.; PEREZ, S. New 3 dimensional structure for A-type starch. **Macromolecules**, [S.I], v.20, n.10, p.2634-6, Out, 1987.
56. INGLETT, G.; GRISAMORE, S. Maltodextrin fat substitute cholesterol. **Food Technology**, [S.I], June, 1991.
57. JACKEL, S.S. Starches, gums, and surfactants-key ingredients for new product development in the 1990s. **Cereal Foods World**, [S.I], v.36, n.12, p.1028-29, Dec, 1991.
58. JACOBS, H.; DELCOUR, J.A. Hydrothermal modification of granular starch, with retention of the granular structure. A review. **Journal Agric. Food Chem**, [S.I], v.46, n.8, p. 2896-906, 1998.
59. JANE, J. Preparation and food applications of physically modified starches. **Trends in Food Science & Tecnology**, [S.I], v.3, n.6, p.145-8, June, 1992.
60. JANE, J.L.; ROBYT, J.F. Structure studies of amylose - V complexes and retrograded amylose by action of alpha amylases and new method for preparing amyloextrins. **Carbohydrate Research**, [S.I], v.132, p.105-18, 1984.
61. JU, J.; MITTAL, G.S. Physical properties of various starch based fat-substitutes. **Journal of Food Processing and Preservation**, [S.I], v.19, n.7, p.361-83, 1995.

62. KAMEL, B.S.; RASPER, V.F. Effects of emulsifiers, sorbitol, polydextrose, and crystalline cellulose on the texture of reduced-calorie cakes. **Journal of Texture Studies**, [S.I], n.19, p.321-5, 1988.
63. KAPER, F.S.; GRUPPEN, H. Replace oil and fat with potato based ingredient. **Food Technology**, [S.I], v.41, n.3, p.112-3, Mar, 1987.
64. KOMIYA, T.; YAMADA, T.; NARA, S. Crystallinity of Acid treated corn starch. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.39, n.9, p.308-11, 1987.
65. KULP, K.; LORENZ, K. Heat - moisture treatment of starches. I. Physicochemical properties. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.58, n.1, p.46-8, 1981.
66. LAI, H.M.; SCHMIDT, S.J.; CHIOU, R.G.; SLOWINSKI, L.A.; DAY, G.A. Mobility of water in a starch based fat replaces by <sup>17</sup>O NMR spectroscopy. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n.5, p.1103, May, 1993.
67. LANSKY, S.; KOOI, M.; SCHOCH, T.J. Properties of the fractions and linear subfraction from various starches. **Journal of the American Chemistry Society**, [S.I], v.71, n.12, p. 4066-75, 1949.
68. LEACH H.W. Determination of intrinsic viscosity of starches. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.40, n.6, p. 593-600, 1963.
69. LEACH, H.W.; SCHOCH, T.J. Structure of the starch granular. II Action of various amylases on granular starches. **Cereal Chemistry** , Minnesota , v. 38, n.1, p.34-46, 1961.

70. LEELAVATHI, K.; INDRANI, D. Amylograph pasting behavior of cereal and tuber starches. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.39, n.11, p.378 - 381, 1987.
71. LINEBACK, D.R. The starch granule: organization and properties. **Bakers Digest**, [S.I.], 58, n.2, p.16-21, 1984.
72. LORENZ, K.; COLLINS, F.; KULP, K. Physico-chemical properties of defatted heat moisture treated starches. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.35, n.4, p.123-9, Abr, 1983.
73. LORENZ, K.; KULP, K. Heat moisture treatment of starches. II. Functional properties and baking potential. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.58, n.1, p.49-52, Jan,1981.
74. LUCCA, P.A.; TEPPER, B.J. Fat replacers and the functionality of fat in foods. **Trends in Food Science and Technology**, [S.I.], v.5, n.1, p. 12-9,1994.
75. MAC MASTERS, M.M. Microscopic techniques for determining starch granule. In: Whistler, R.L. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, IV Starch, N.Y. London, p. 233-40, 1964.
76. MANNERS, D.J. Some aspects of the structure of starch. **Cereal Foods World**, [S.I.], v.30, n.7, p.461-467, July, 1985.
77. MILATOVIC, L.N. Hydrothermic treatment of corn flour for breadmaking. **Cereals and Bakery Products**, [S.I.], p. 221-30, 11 ref., 1982.
78. MILLER, L.L.; SETSER, C. Xanthan gum in a reduce - egg - white angel food cake. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.60, n.1, p.62-4, 1983.

79. MITCHELL, G.A. Methods of Starch analysis. **Startch/Stärke**, [S.I], v.42, n.2, p.131-4, 1990.
80. MURRAY, D.G. New starch hydrolysates improve product formulation. **Food Engineering**, [S.I], n.6, p.87-92, June, 1969.
81. NETO, B.B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas, SP: Editora da UNICAMP (Série Manuais), 1995.
82. OKECHUKWU, P.E.; RAO, M.A. Influence of granule size on viscosity of cornstarch suspension. **Journal of Texture Studies**, [S.I], v.26, n.5, p. 501-516, 26 ref. 1995.
83. PARK, Y.K.; BAR, W.H.; PAPINI, R.S. Relação entre entumescimento, gelatinização e suscetibilidade dos amidos de mandioca e milho à alfa-amilase bacteriana. **Revista Brasileira de Tecnologia**, [S.I], v.2, p. 95-99, 1971.
84. PFANNEMULLER, B. Influence of chain-length of short monodisperse amyloses on the formation o A type and B type X-ray-diffraction patterns. **Int J. Biol. Nacional**, [S.I], v.9, n.2, p. 105-108, Apr. 1987.
85. PIERCE M.M.; WALKER, C.E. Addition of suciose fatty acid eser emulsifiers to sponge cakes. **Cereal Chemistry**, [S.I], v. 64, n. 4, p. 22-225, 1987.
86. PREISS, J.; MACDONALD, F.D.; SINGH, B.K.; ROBINSON. N.; MACNAMARA, K. Various aspects in the regulation of starch Biosynthesis. **Cereal Carboydrates**, [S.I], 1980.

87. ROBIN, J.P.; MERCIER, C.; CHARBONNIERE, R.; GUILBOT, A. Lintnerized starches gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v.51, n. 3, p. 389-406, May-June, 1974.
88. RICE solids sub for fat. **Prepared Foods**, [S.I.], v.161, n.6, p. 121, 1992.
89. SANDSTEDT, R.M.; KNEEN, E. ; BLISH, M.J.. A Standardized wohlgemuth procedure for alpha-amylase activity. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v. 16, n. 6, p. 712-723, 1939.
90. SCHOCH, T.J. **Adv. Carboyd Chem**, [S.I.], v. 1, p. 247, 1945. [s.n.t.].
91. SCHOCH, T.J. **Preparation of starch and the starch fractions**. In: Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. **Methods in Enzymology**, London and New York, Academic Press, 1957. v.3, p. 5-8.
92. SCHOCH, T.J.; MAYWALD, E.C. Microscopic examination of modified starches. **Analytical Chemistry**, [S.I.], v. 28, n. 3, p. 382-387, 1956.
93. SCHOCH, T.J.; MAYWALD, E.C. Preparation and properties of various legume starches. **Cereal Chemisty**, [S.I.], v. 45 n. 6, p. 565-573, 1968.
94. SIMPLY starch. **Food Manufacture**, [S.I.], n.9, Sept, 1993
95. SINGHAL, R.S; GUPTA, A.K.; KULKARNI, P.R. Low calorie fat substitutes. **Trends in Food Science & Technology**, [S.I.], n.10, p. 241-244, Oct. 1991.

96. SKRABANJA, V.; LAERKE, H.N.; KREFT, I. Effects of hydrothermal processing of buckwheat groats on starch enzymatic availability. **Journal of Cereal Science**, [S.I.], v.28, n.2, p. 209-214, 18 ref. 1998.
97. SOBCZYNSKA, D.; SETSER, C.S. Replacement of shortening by maltodextrin - emulsifier combinations in chocolate layer. **Cereal Foods World**, [S.I.], v.36, n.12, p. 1017-1025, Dec. 1991.
98. SOMOGY, M.A. New reagent for the determination of sugars. **Journal of Biological Chemistry**, [S.I.], v.160, n.1, p.601-8, 1945.
99. STONE, L.A.; LORENZ, K. The starch of amaranthus physicochemical properties and functional characteristics. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.36, n. 7, p. 232-237, 1984.
100. STOOF , G.; SCHMIED L.D.; ANGER, H.; BERGTHALLER, W. Hydrothermal treatment of starch in presence of  $\alpha$  amylase. Part 4. Changes of properties of potato starch hydrothermal enzymic treatment. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.50, n.2-3, p.108-14, 1998.
101. SWINKELS, J.J.M. Composition and properties of commercial native starches. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.37, n.1, p.1-5, 1985.
102. SYCH, J.; CASTAIGNE, F.; LA CROIX, C. Effects of initial moisture content and storage relative humidity on textural changes of layer cakes during storage. **Journal of Food Science**, [S.I.], v.52, n.5, p.1604-10, 1987.
103. TESTER, R.F.; MORRISON, W.R. Swelling and Gelatinization of cereal starches. 1. effects of amylopectin, amylose and lipids. **Cereal Chemistry**, Minnesota, v.67, n.6, p.551-7, 1990.

104. TRUBELL, O.R. **Occurrence and varieties of starch.** In: Chemistry and industries of starch. Ed. Kerr, R.W. New York: Academic Press, 1944. p. 1-9.
105. WILLIAMS, P.C.; KUZINA, F.D.; HLYNKA, J. A Rapid colorimetric procedure for estimating the amylose content of starches and flours. **Cereal Chemistry**, Minnesota, v.47, n.4, p.411-420, abr., 1970.
106. YACKEL, W.C.; COX, C. Application of starch-based fat replacers. **Food Technology**, [S.l.], v.46, n.6, p.146-8, 1992.
107. ZOBEL, H.F. Molecules to granules - A comprehensive starch review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.40, n.2, p. 44-50, 1986.
108. ZOBEL, H.F. Molecules to granules: a comprehensive starch review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.40, n.2, p.44-50, 1988 (b).
109. ZOBEL, H.F. Starch crystal transformations and their industrial importance. **Starch/Stärke**, Weinheim, 40, n.1, p.1-7, 1988 (a).
110. ZOBEL, H.F. X-Ray analysis of starch granules. in: Whistler, R.L. **Methods in carbohydrates chemistry V. IV Starch.** New York, Academic Press, 1964. p.109-43.
111. ZOBEL, H.F.; YOUNG, S.N.; ROCCA, L.A. Starch gelatinization: an X-ray diffraction study. **Cereal Chemistry**, Minnesota, v.65, n.6, p.443-6, 1988.

## APÊNDICE 1

### Lista de Figuras

Figura 1. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento, em gel Sephadex G-50

Figura 2. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas, em gel Sephadex G-50.

Figura 3.- Padrão de eluição do amido tratado hidrotêrmicamente após hidrólise por 30 horas.

Figura 4. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da pululanase, em gel Sephadex G-50.

Figura 5. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da pululanase seguida da ação da  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

Figura 6. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas, após ação da pululanase, em gel Sephadex G-50.

Figura 7. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas, após ação da pululanase seguida da ação da  $\beta$ -amilase, em gel Sephadex G- 50.

Figura 8. Padrão de eluição das frações de carboidratos da mostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas/ tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade por 48 horas após ação da pululanase, em gel Sephadex G-50.

Figura 9. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas/ tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade por 48 horas após ação da pululanase seguida da ação da  $\beta$ -amilase, em gel Sephadex G-50.

Figura 10. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da  $\beta$ -amilase em gel.

Figura 11. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase em gel Sephadex G-50.

Figura 12. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase e novamente  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

Figura 13. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas após ação da  $\beta$ -amilase em gel.

Figura 14. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase em gel Sephadex G-50.

Figura 15. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase e  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

Figura 16. Padrão de eluição da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas e tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade por 48 horas após a ação da  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

Figura 17. Padrão de eluição da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas e tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade por 48 horas após a ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase em gel Sephadex G-50.

Figura 18. Padrão de eluição da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas e tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade por 48 horas após a ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase e  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

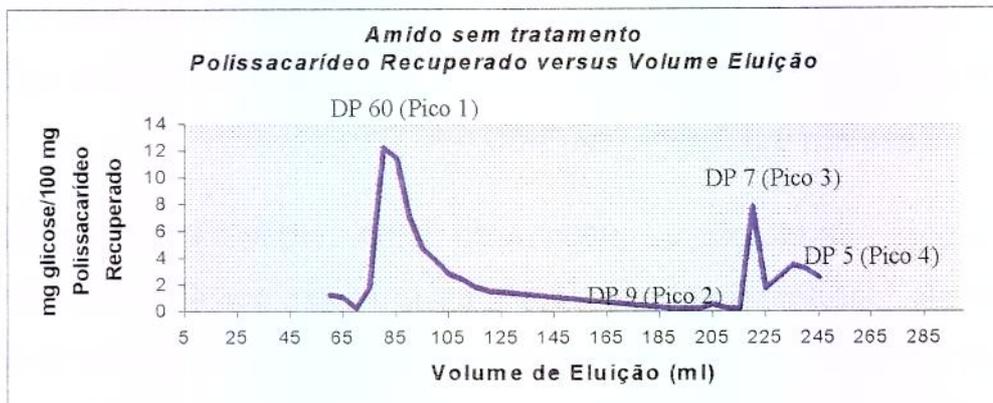


Figura 1. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento, em gel Sephadex G-50.

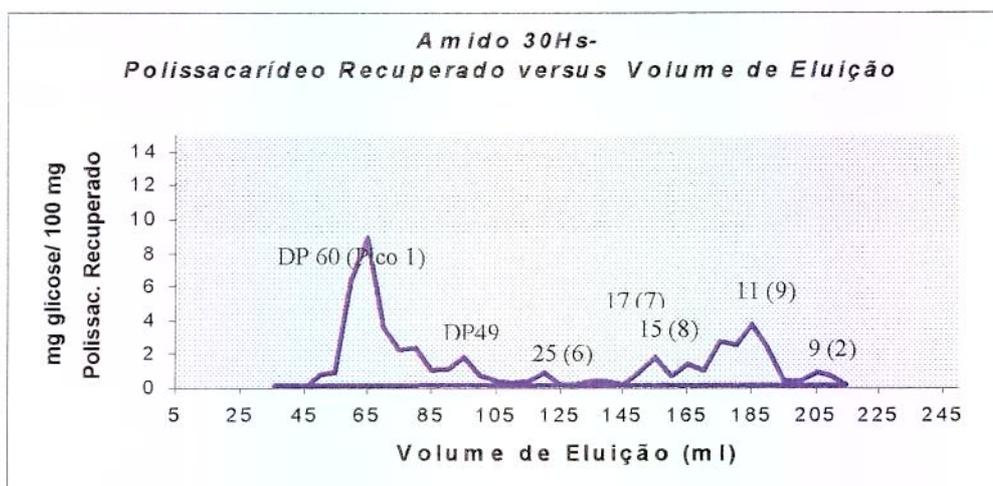


Figura 2. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas, em gel Sephadex G-50.

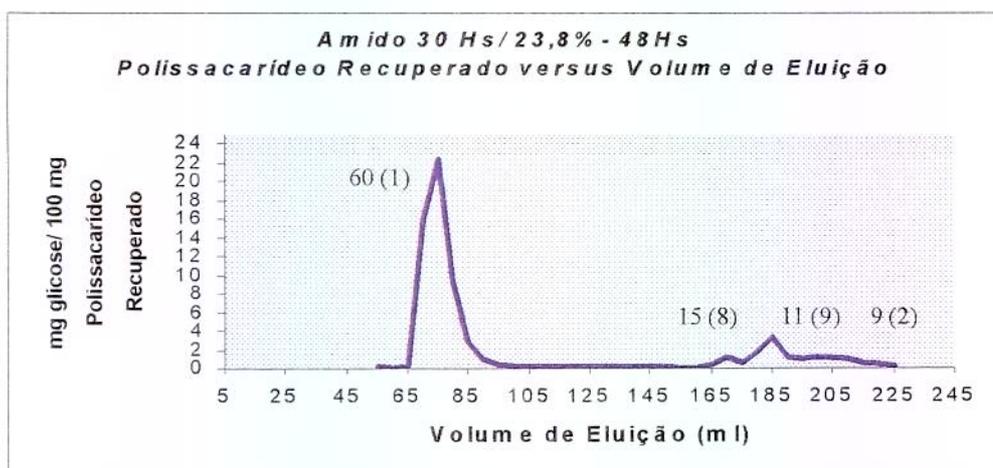


Figura 3. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas/ tratado hidrotermicamente 23,8% de umidade por 48 horas, em gel Sephadex G-50.

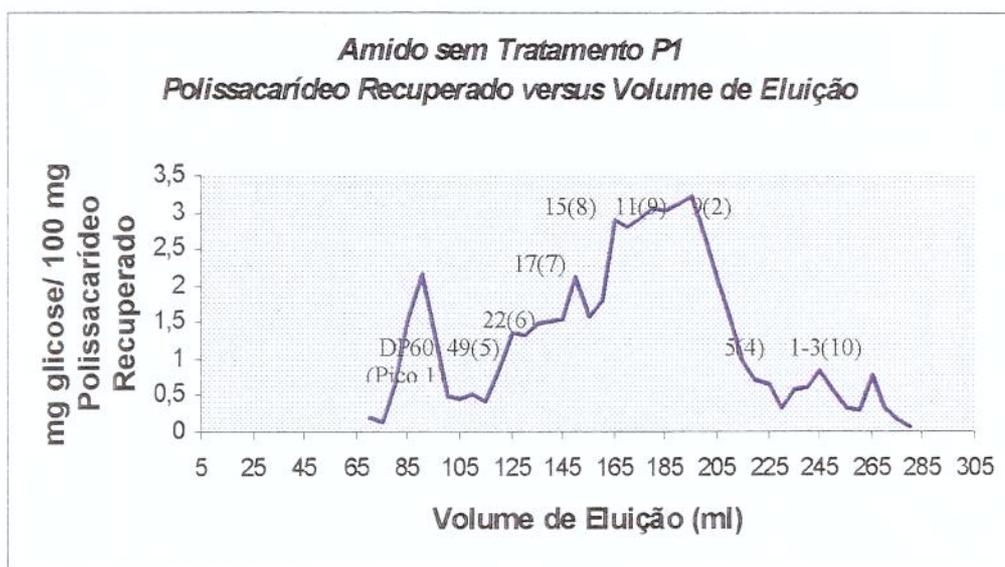


Figura 4. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da pululanase, em gel Sephadex G-50.

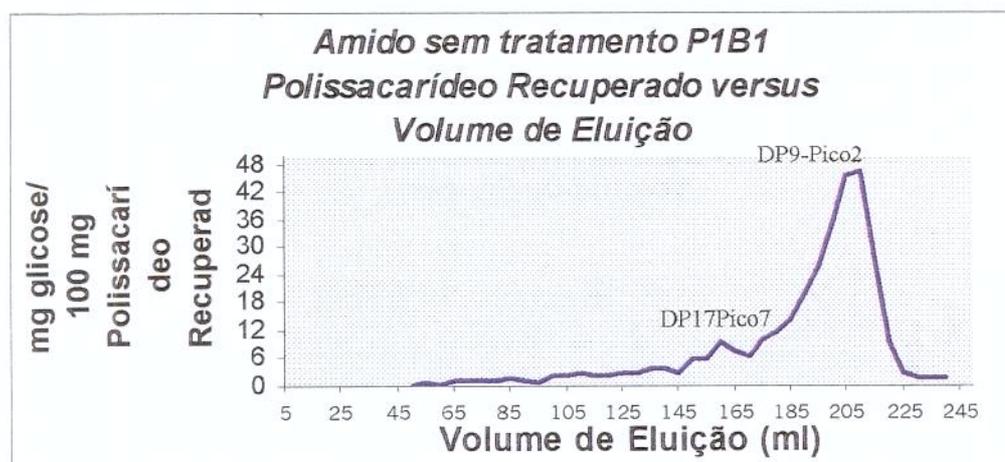


Figura 5. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da pululanase seguida da ação da  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

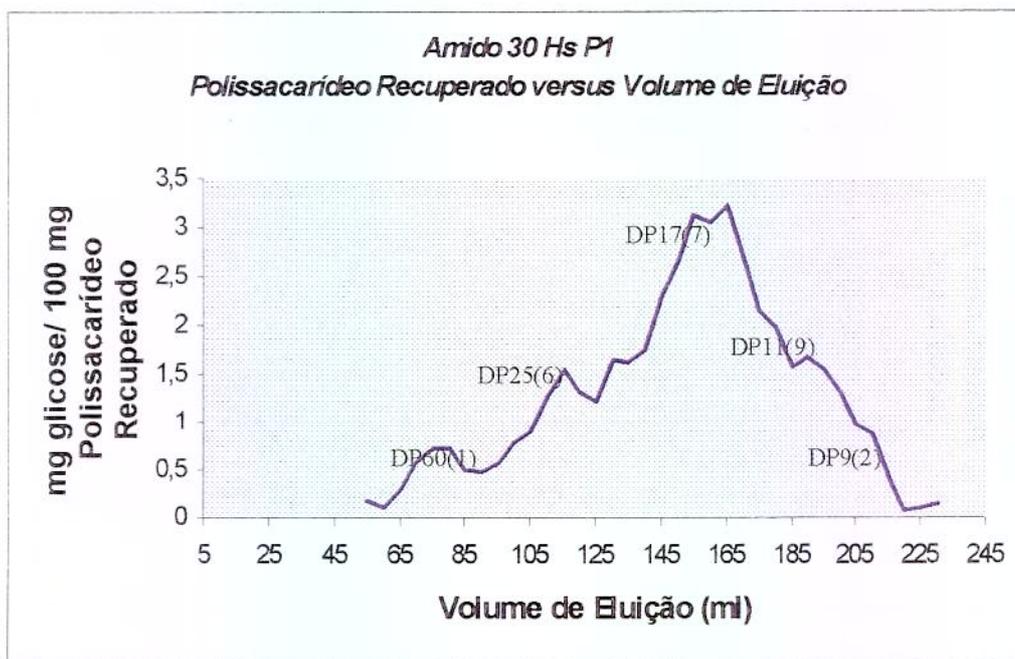


Figura 6. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas, após ação da pululanase, em gel Sephadex G-50.

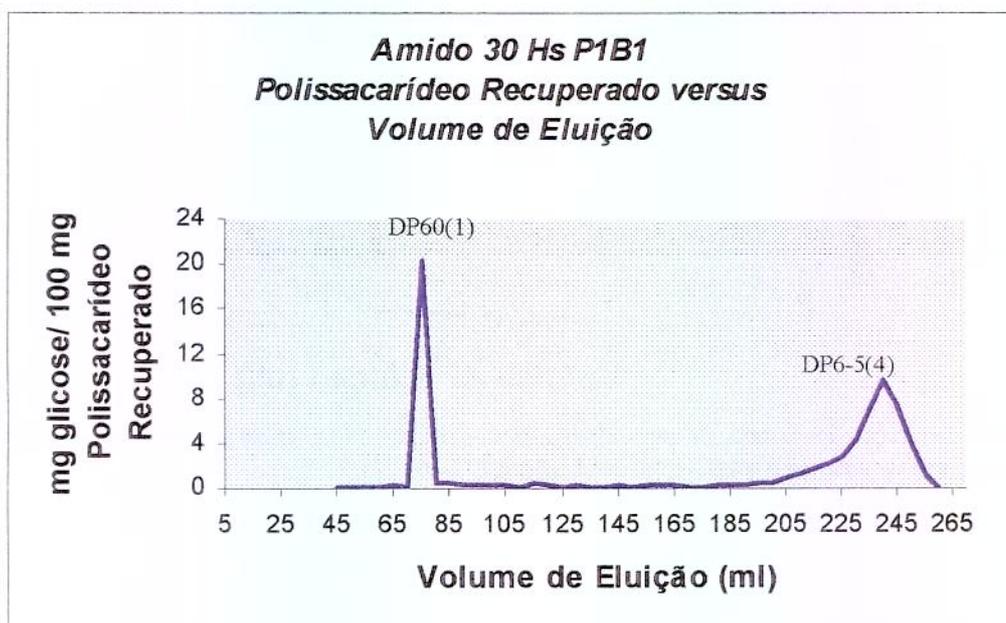


Figura 7. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado com alfa-amilase por 30 horas, após ação da pululanase seguida da ação  $\beta$ -amilase, em gel Sephadex G-50.

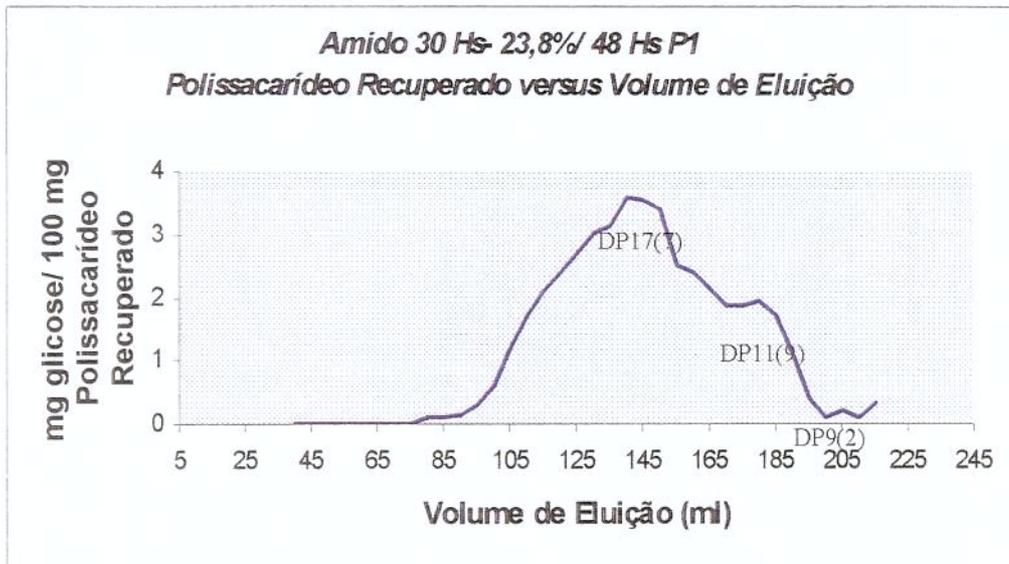


Figura 8. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas/ tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade por 48 horas após ação da pululanase, em gel Sephadex G-50.

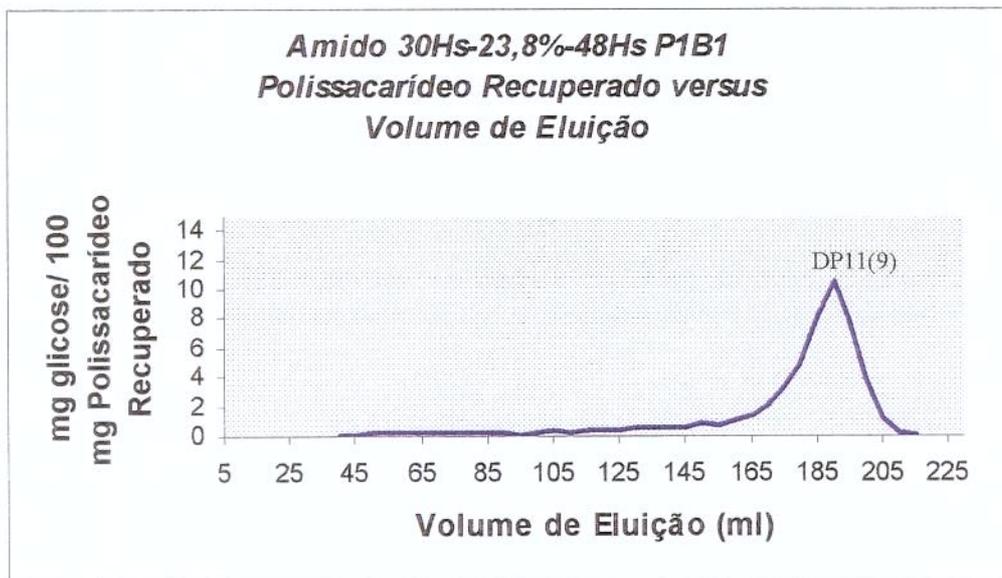


Figura 9. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas/ tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade por 48 horas após ação da pululanase seguida da ação da  $\beta$ -amilase, em gel Sephadex G-50.

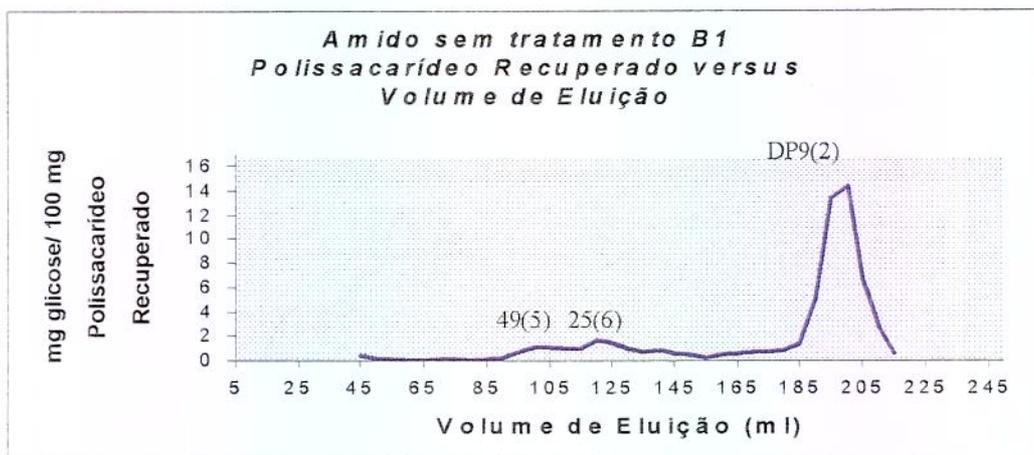


Figura 10. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

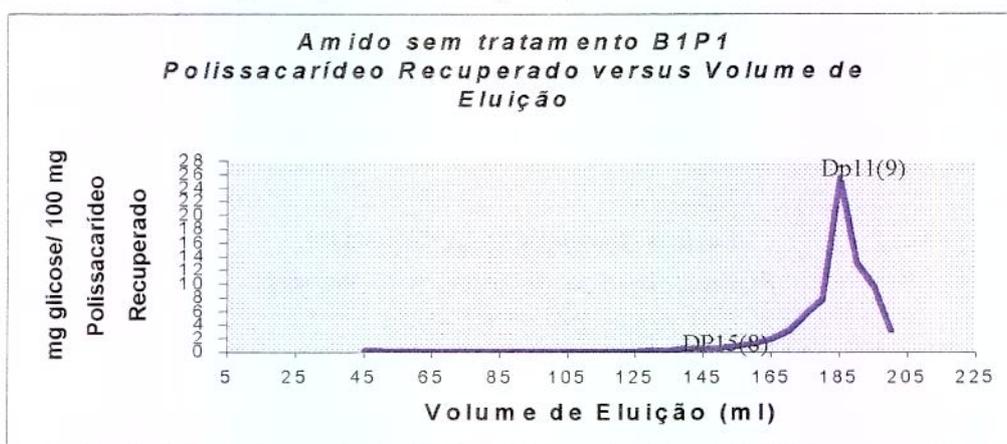


Figura 11. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase em gel Sephadex G-50.

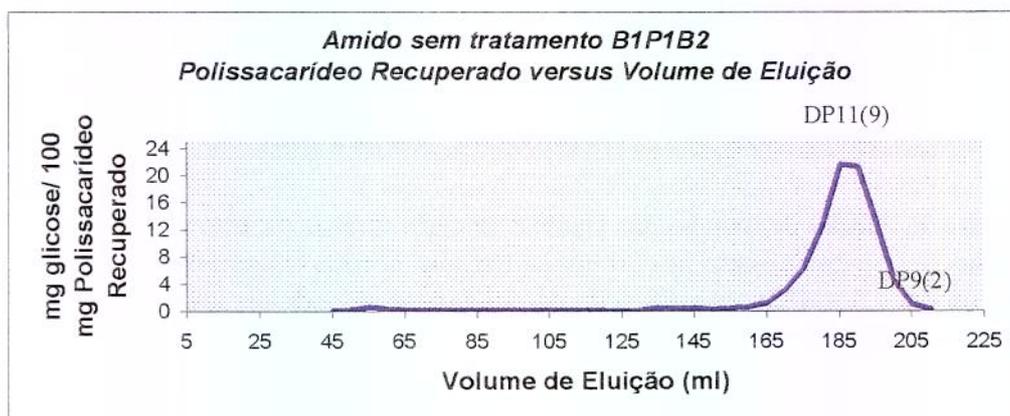


Figura 12. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso sem tratamento após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase e novamente  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

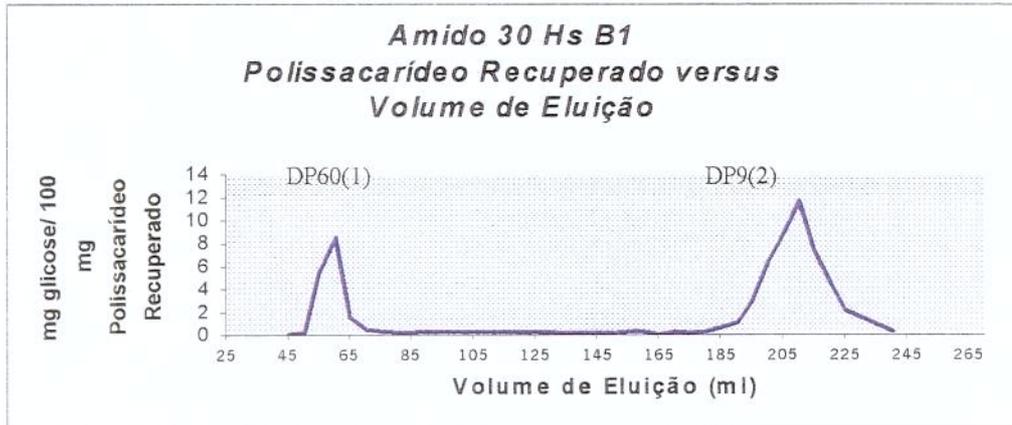


Figura 13. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas após ação da  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

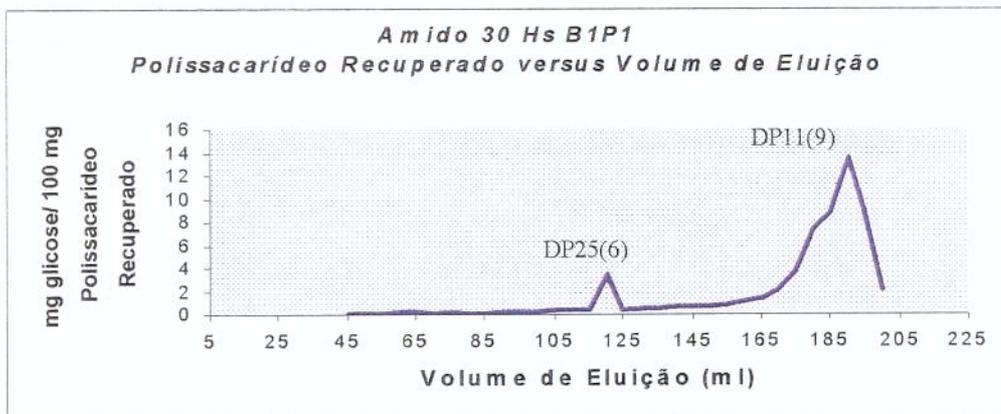


Figura 14. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de amido de milho ceroso hidrolisado por 30 horas após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase em gel Sephadex G-50.

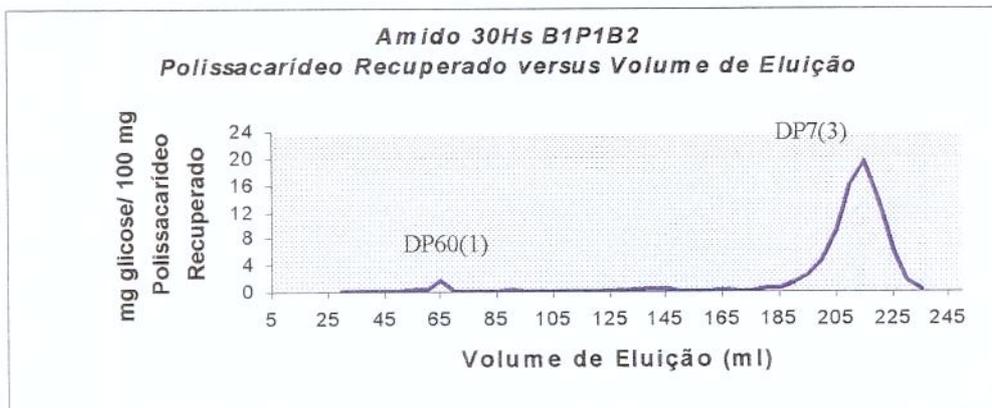


Figura 15. Padrão de eluição das frações de carboidratos da amostra de amido de milho ceroso hidrolisado por 30 horas após ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase e  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

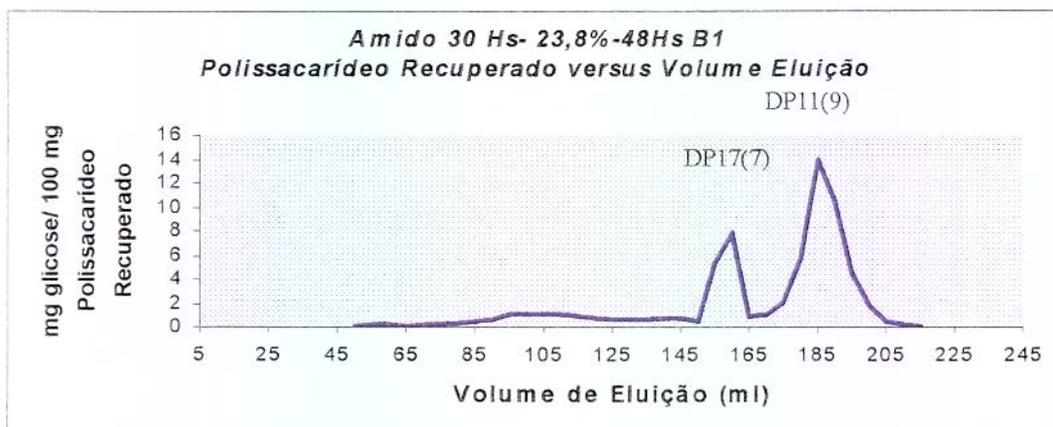


Figura 16. Padrão de eluição da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas e tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade/48 horas após a ação da  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

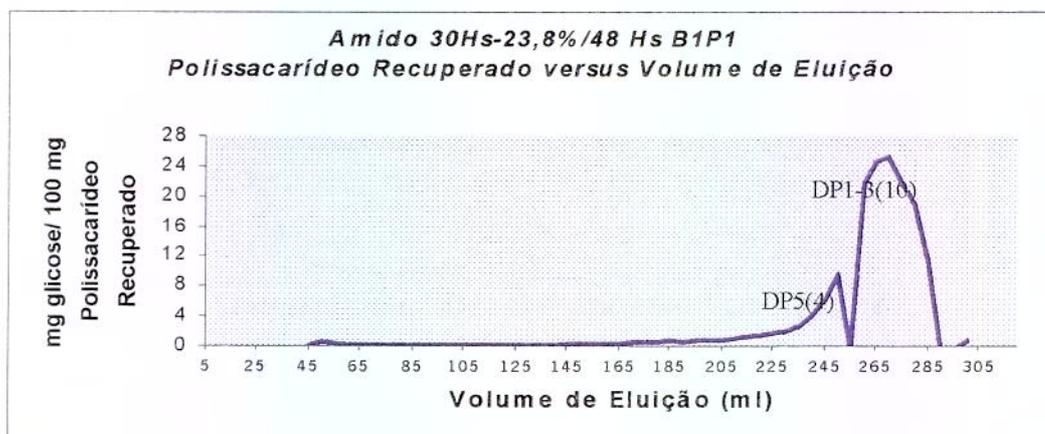


Figura 17. Padrão de eluição da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas e tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade/48 horas após a ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase em gel Sephadex G-50.

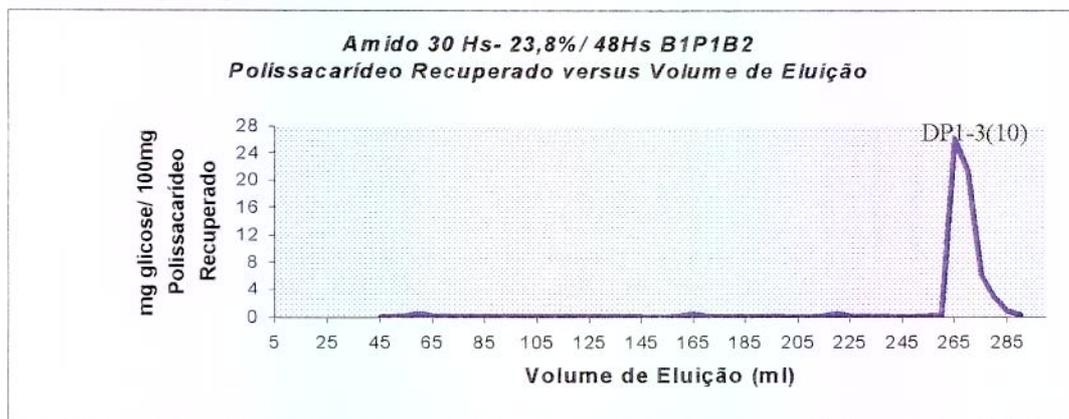


Figura 18. Padrão de eluição da amostra de milho ceroso hidrolisado por 30 horas e tratado hidrotérmicamente 23,8% de umidade/48 horas após a ação da  $\beta$ -amilase seguida da ação da pululanase e  $\beta$ -amilase em gel Sephadex G-50.

## ERRATA

1. Página 56 (foi usado na porcentagem de substituição de 15,86% em relação à **massa total do bolo...**), leia-se (foi usado na porcentagem de substituição de 15,86% em relação à **massa total de gordura do bolo...**).
2. Página 65 (A amostra foi preparada como é mencionado **em 3.2.2.3.**), leia-se (A amostra foi preparada como é mencionado **em 3.2.4.3.**).
3. Página 71 (As cromatografias das soluções de amido **com e sem** hidrólise foram realizadas com 2 ml de amostra **contendo 10 mg ou 20 mg de amido, respectivamente**), leia-se (As cromatografias das soluções de amido **sem e com hidrólise** foram realizadas com 2 ml de amostra **contendo 10 mg ou 20 mg de amido, respectivamente**).
4. Página 113 (Em relação ao bolo padrão, com volume específico de **2,28ml/g...**), leia-se (Em relação ao bolo padrão, com volume específico de **2,30ml/g...**)
5. Página 114 (Estas características foram observadas em bolos produzidos no presente experimento com **4,43%** de amido e 2,80% de gordura...), leia-se (Estas características foram observadas em bolos produzidos no presente experimento com **4,53%** de amido e 2,80% de gordura).
6. Página 115 (4,53% Amido / **2,80%** Gordura) leia-se (4,53% Amido / **28,0%** Gordura).
7. Página 141 (KOMIYA *et al.* (1987) observaram que o amido de milho tratado com ácido sulfúrico apresentou um aumento gradual do valor da razão entre área cristalina e área total com o aumento do tempo de hidrólise até 8 dias, não se alterando muito **após** 10 dias.), leia-se (KOMIYA *et al.* (1987) observaram que o amido de milho tratado com ácido sulfúrico apresentou um aumento gradual do valor da razão entre área cristalina e área total com o aumento do tempo de hidrólise até 8 dias, não se alterando muito **até** 10 dias.).
8. Em **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** incluir:  
SAIR, L. Heat-moisture treatment of starch. **Cereal Chemistry**, Minnesota , v. 40, n. 8, 1967.