

Caracterização de amido de pinhão modificado com soluções de ácido clorídrico 0,1 e 0,2M em presença de etanol e metanol.

¹L. S. Ribeiro, ¹L. P. Cordoba, ²L. G. Lacerda, ³M. Lazzarotto ¹E. Schnitzler.

¹Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG. Av. Carlos Cavalcanti, 4748 - CEP 84.030-900 - Ponta Grossa - PR – Brasil.

²Universidade Positivo – UNICENP. Curitiba – PR - Brasil.

²EMBRAPA Florestas - Estrada da Ribeira, km 111 - P.O. Box 319 - 83411-000 - Colombo, PR- Brasil

Resumo

O amido de pinhão possui propriedades interessantes, porém pouco foi estudado até o momento. Proveniente do Sul do Brasil, a semente da *Araucária angustifolia* serve de alimento para diversas culturas da região. Os amidos nativos de diversas fontes botânicas possuem características de interesse industrial, porém algumas só são adquiridas ou melhoradas mediante a aplicação de agentes que modifiquem as estruturas originais dos grânulos, como ácidos e oxidantes. O presente trabalho teve como objetivo estudar propriedades do amido de pinhão nativo e este modificado, utilizando ácido clorídrico 0,1M e 0,2M, em meio etanólico e metanólico. Pelas curvas DSC foi possível determinar as temperaturas “onset”, de pico e de conclusão do processo de gelatinização das amostras, além de se determinar a entalpia envolvida no processo. Pelas imagens NC-AFM pode-se medir o tamanho dos grânulos dos amidos e a rugosidade dos mesmos antes e após as modificações. Por meio da técnica TG-DTG, foi possível observar um perfil de perda de massa semelhante para todas as amostras, com 3 etapas definidas, sendo a 1ª referente à desidratação da amostra e a 2ª e 3ª referente à decomposição da matéria orgânica à cinzas. Através da análise de propriedade de pasta (RVA) se observou o perfil reológico das amostras, podendo determinar temperatura de pico, viscosidade final e retrogradação.

Palavras-chave: Amido de pinhão; amido modificado; análise térmica; DSC; NC-AFM.

Abstract

The "Pinhão" starch has interesting properties but it was not very much studied at the present moment. Usually found at the south of Brazil, the seed of *Araucaria angustifolia* is used as food to many cultures of the region. The native starches of several botanic sources have characteristics of industrial interest, perhaps some of them is just acquired or boosted by the application of agents which modify the original structure of the grains, as acids or oxidants. This work has as objective study the properties of the "Pinhão" starch and the modified samples, using hydrochloric acid in the concentrations 0,1 and 0,2M, in the ethanol and methanol as solvents. Analyzing the DSC curves it was possible to determinate the ‘onset’, peak and conclusion temperatures of the gelatinization process of the samples. Furthermore, it was determined the enthalpy of the process. The images obtained in the NC-AFM allowed to measure the size and the roughness of the grains before and after the modifications. Using the TG-DTG technique it was observed a similar profile of weight loss to all the samples, with three defined stages. The first peak refers to dehydration of the sample; the second and third refers to decomposition of the organic matter to ash. The pasta properties was obtained using the RVA, and it was possible to determinate the rheological profile of the samples, as the peak temperature, final viscosity and retrogradation.

Keywords: "Pinhão" starch; modified starch; thermal analysis; DSC; NC-AFM.

Introdução

O amido é um polissacarídeo, hidrato de carbono polimérico, de origem vegetal, normalmente obtido de cereais (milho comum, milho ceroso, milho de alto teor de amilose, trigo, arroz), tubérculos e raízes, em especial batata e mandioca. As propriedades dos amidos podem variar conforme sua fonte (raízes, tubérculos, sementes, cereais) e entre as diferentes variedades de amido, varia também a sua composição, a morfologia, estrutura molecular e arranjo de amilose e amilopectina dentro do grânulo de amido [1].

A *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze é uma espécie encontrada na América do Sul, compondo a Mata Atlântica. Sua semente é conhecida por pinhão, e possui alto teor de conteúdo amiláceo (entre 68-72% da matéria seca), é considerado uma

boa fonte de carboidratos complexos. O amido do pinhão pode ser facilmente obtido por decantação, após moagem das sementes sem casca e dispersão da farinha em água, e posterior filtração [2-4].

O pinhão é uma boa fonte de hidratos de carbono complexos (amido e fibras alimentares), Mg e Cu, e possui baixos teores de proteína (~3%), lipídios, (~1%), açúcares solúveis (~2,4%) e menos de 0,2 mg de compostos fenólicos, detectados em 100 g da semente [4].

A utilização de agentes ácidos na modificação de amidos já é bem conhecida e aplicada de maneira bem usual na indústria de alimentos. As variedades obtidas com a aplicação de ácidos apresentam características diversificadas em relação a forma nativa, principalmente no que diz respeito a diminuição da retrogradação e da viscosidade conferida as formulações. O meio aquoso é sempre utilizado nas modificações, porém alguns outros solventes orgânicos também têm sido estudados, como os alcoóis [5].

O objetivo desse trabalho foi estudar a ação do ácido clorídrico a diferentes concentrações, em meio etanólico e metanólico, sobre a estrutura do amido nativo de pinhão. Para caracterização, as técnicas utilizadas foram: Calorimetria exploratória diferencial (DSC); TG-DTG (Termogravimetria - Termogravimetria derivada); Rápido Viscoanálise (RVA) e Microscopia de força atômica (AFM).

Materiais e Métodos

As amostras de pinhão foram adquiridas no comércio da região de Ponta Grossa/PR. O amido foi obtido a partir da farinha de pinhão submetida às etapas de maceração, centrifugação e filtração com o auxílio de agentes ácido (ácido clorídrico) e alcalino (hidróxido de sódio) para purificação. Foram utilizadas peneiras com 180 MESH para reter fibras e proteínas. Após a filtração, o amido purificado foi disposto em estufa a 40°C e em seguida em dessecador para equilíbrio da umidade.

As amostras foram modificadas utilizando soluções de ácido clorídrico em etanol e metanol, nas concentrações de 0,1 e 0,2 mol/L, totalizando 4 amostras modificadas. O procedimento foi o seguinte: as amostras de 20 gramas de amido nativo foram dispostas em béqueres com 100 mL de cada solução ácida. Estes conjuntos foram mantidos em agitadores magnéticos durante uma hora, e posteriormente lavados e filtrados para retirada total do ácido e do solvente orgânico. O teste com nitrato de prata foi utilizado para garantir que não permaneceram íons cloreto no amido modificado. As amostras foram identificadas como: (a) amido de pinhão nativo, e as tratadas com: (b) HCl 0,1M + Etanol, (c) HCl 0,1M + Metanol, (d) HCl 0,2M + Etanol e (e) HCl 0,2M + Metanol.

A análise de termogravimetria (TG) foi realizada utilizando o sistema de análise térmica DTG-60 (Shimadzu, Japão), onde a amostra de amido foi aquecida 30°C a 600°C, utilizando cadinhos de alumina abertas com aproximadamente 5,0 mg da amostra, sob um fluxo de ar sintético de 50mL/min, a uma taxa de aquecimento de 10°C/min. Com o auxílio do software TA-60WS, calculou-se a primeira derivada (DTG) e então obteve-se as porcentagens de perda de massa e as etapas de perda.

No viscosímetro RVA-4 (Newport Sci., Austrália) foram obtidas as curvas de propriedade de pasta (RVA). Preparou-se uma suspensão de aproximadamente 3g de amido para 25g de água, considerando a umidade do amido para que o total na suspensão fosse de 8%. Durante toda a análise a amostra foi submetida a um aquecimento controlado e ciclo de arrefecimento sob cisalhamento constante.

Para as curvas DSC inicialmente realizou-se o intumescimento dos grânulos do amido, com uma prévia hidratação da amostra em tubo de ensaio por meia hora, na proporção 1:4, sendo 1 de amido e 4 de água. Com o auxílio de um pipetador automático adicionou-se 20µL da suspensão em um cadinho de alumínio previamente tarado e este foi selado. A análise foi realizada com a razão de aquecimento de 10°C/min até 100°C, com fluxo de ar sintético de 50 mL/min.

A Microscopia de força atômica modo não-contato (NF-AFM) foi realizada no microscópio de força atômica SPM-9600 (Shimadzu). Esta análise permitiu calcular o diâmetro médio (dA) e a rugosidade média (ra) dos grânulos, além de permitir a obtenção de imagens da superfície dos grânulos nativo e modificados em alta resolução 2D e 3D.

Resultados e Discussão

Observando os valores da análise térmica (DSC) na Tabela 1, percebe-se uma tendência de aumento em todas as temperaturas envolvidas no processo de gelatinização (To, Tp e Tc) em relação à amostra nativa. Para os valores de entalpia de gelatinização, todas as amostras modificadas apresentaram uma queda significativa em relação à amostra nativa (a), decrescendo da seguinte forma: inicialmente (c), seguidas pelas amostras (b), (d) e (e) que não diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 5% da amostra nativa (a).

Outros autores [6] encontram comportamento inverso para amido de milho ceroso tratado com ácido clorídrico, com diminuição nas temperaturas do processo de gelatinização. O decréscimo no valor da entalpia de gelatinização das amostras também foi observado pelos autores [6], devido à ação hidrolítica do ácido e a menor tendência a gelatinização, embora outros pesquisadores [7] relatem um aumento desse valor para o amido de mandioca ácido-modificado, mostrando que as características obtidas variam com o ácido e a fonte botânica do amido.

Tabela 1 - Resultados referentes às análises DSC e AFM das amostras de amido de pinhão modificadas e nativa

Samples	DSC gelatinization				AFM	
	$T_o/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$	$T_c/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_{\text{gel}}/\text{J.g}^{-1}$	$d_a/\mu\text{m}$	r_a/nm
(A)	55.25±0.10 ^d	62.37±0.04 ^e	65.39±0.15 ^c	13.34±0.55 ^a	14.03±2.03 ^a	364.015
(B)	60.65±0.15 ^b	69.26±0.17 ^b	71.55±0.17 ^b	6.71±0.58 ^c	14.27±4.70 ^a	346.831
(C)	59.35±0.01 ^c	67.71±0.01 ^d	69.66±0.04 ^d	9.67±0.12 ^b	14.79±8.13 ^a	330.006
(D)	63.02±0.01 ^a	70.45±0.19 ^a	72.74±0.16 ^a	5.80±0.37 ^c	13.55±3.83 ^a	369.326
(E)	60.50±0.01 ^b	68.61±0.01 ^c	70.63±0.03 ^c	6.69±0.10 ^c	14.92±8.03 ^a	327.50

(*) T_o “onset” initial temperature, T_p peak temperature, T_c “endset” conclusion temperature, ΔH_{gel} gelatinisation enthalpy, (d_a) Average diameter, (r_a) Average roughness. Averages followed by the same letters in the same column do not differ statistically by Tukey’s test ($p < 0.05$).

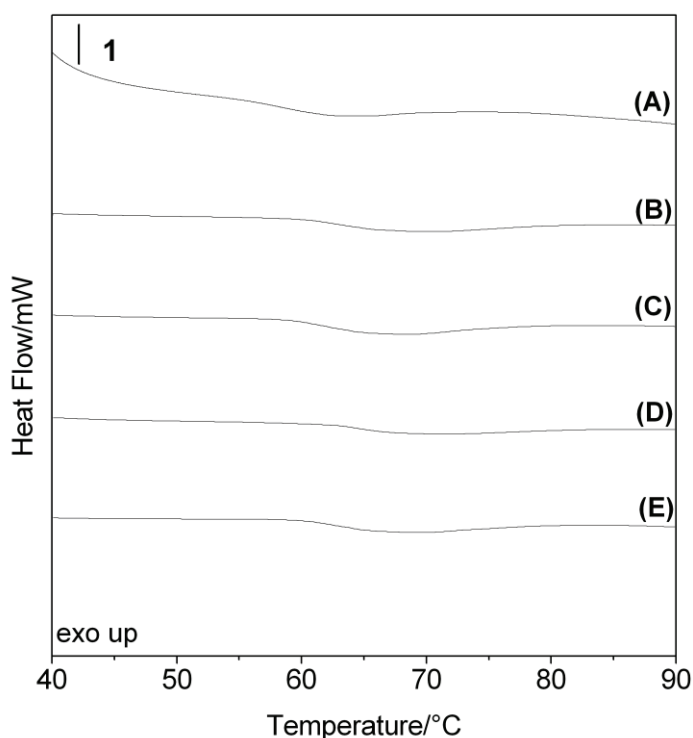


Figura 2 - Curvas obtidas na análise DSC para as amostras modificadas e nativa

Na Figura 3, pode-se observar as depressões e protuberâncias características de cada amostra analisada no microscópio de força atômica modo não contato (NC-AFM). Essa técnica permitiu calcular o diâmetro médio (d_a) das partículas e a rugosidade média (r_a) superfície dos grânulos (Tabela 1). A maior rugosidade média foi obtida para a amostra (d), decrescendo gradualmente para as amostras (a), (b), (c) e (e). O diâmetro médio e a rugosidade dos grânulos encontradas corroboram com os valores obtido pelo autor [8] para amostras diversas de amido de pinhão.

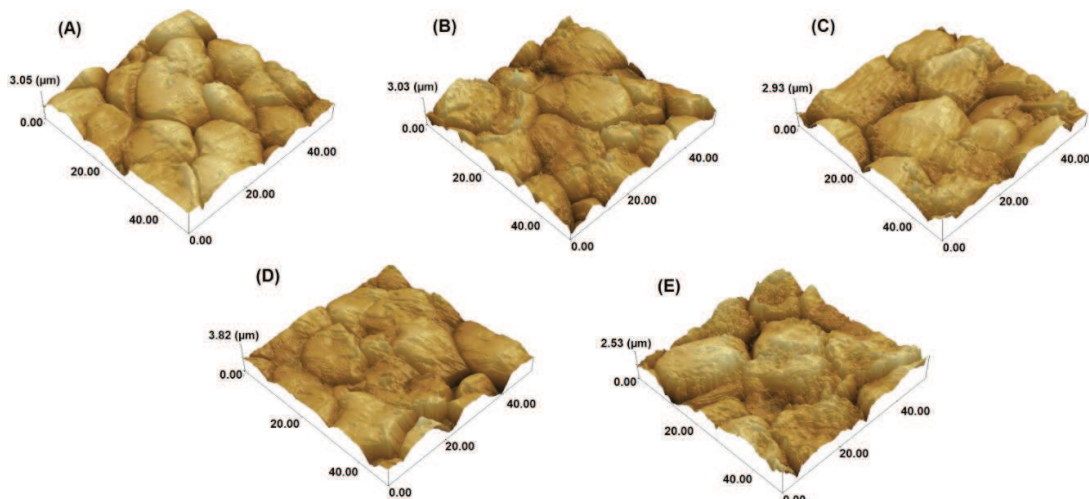


Figura 3 - Imagens obtidas no Microscópio de força atômica modo não-contato (NC-AFM)

Pelos valores obtidos no TG e DTG (Tabela 2), pode-se observar que a umidade inicial das amostras variou de 8,44% a 10,12%, que são os valores apresentados na primeira perda de massa (que ocorreu de 30 a 145°C), que pode ser entendido pela desidratação das amostras. A segunda e a terceira perda de massa, que ocorreu com perfil semelhante em todas as amostras, é entendida pela oxidação e decomposição da matéria orgânica à cinzas. Os valores finais de cinzas das amostras foram respectivamente: 2,19; 1,95; 2,17; 4,44 e 2,53%, sendo a porcentagem de massa que restou no cadinho após a terceira perda de massa. A amostra nativa (a) apresentou a menor temperatura de pico (T_p) para a primeira perda, e houve um ligeiro aumento dessa temperatura para as amostras nativas, sendo a maior 60,64°C na amostra (e).

Tabela 2 - Valores obtidos das curvas TG-DTG para as amostras de amido de pinhão nativo e modificados com: (b) HCl 0,1M + Etanol, (c) HCl 0,1M + Metanol, (d) HCl 0,2M + Etanol e (e) HCl 0,2M + Metanol.

Samples	TG Results		DTG Results	
	Step	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
(A)	1 st	10.12	30-139	51.35
	stability	-	139-239	-
	2 nd	70.26	239-388	317.32
	3 rd	17.43	388-549	501.56
(B)	1 st	9.70	30-136	58.35
	stability	-	136-252	-
	2 nd	70.94	252-409	313.45
	3 rd	17.41	409-578	504.90
(C)	1 st	9.53	30-140	59.34
	stability	-	140-242	-
	2 nd	70.00	242-400	314.20
	3 rd	18.30	400-574	500.27
(D)	1 st	8.44	30-145	58.50
	stability	-	145-235	-
	2 nd	71.84	235-406	315.42
	3 rd	15.28	406-566	494.76
(E)	1 st	9.57	30-144	60.64
	stability	-	144-223	-
	2 nd	67.66	223-401	311.02
	3 rd	20.24	401-582	504.67

Δm mass loss (%), ΔT temperature range, T_p peak temperature

Na Figura 3 observa-se que apesar dos diferentes graus de modificação, com diferentes solventes e concentrações, o perfil de perda de massa de todas as amostras não variou, sendo de fácil observação as 3 perdas de massa com picos evidentes em cada etapa. A curva DTG auxilia na observação da diminuição da massa da amostra ao longo do tempo de aquecimento, enquanto que na TG observam-se os picos dessas perdas.

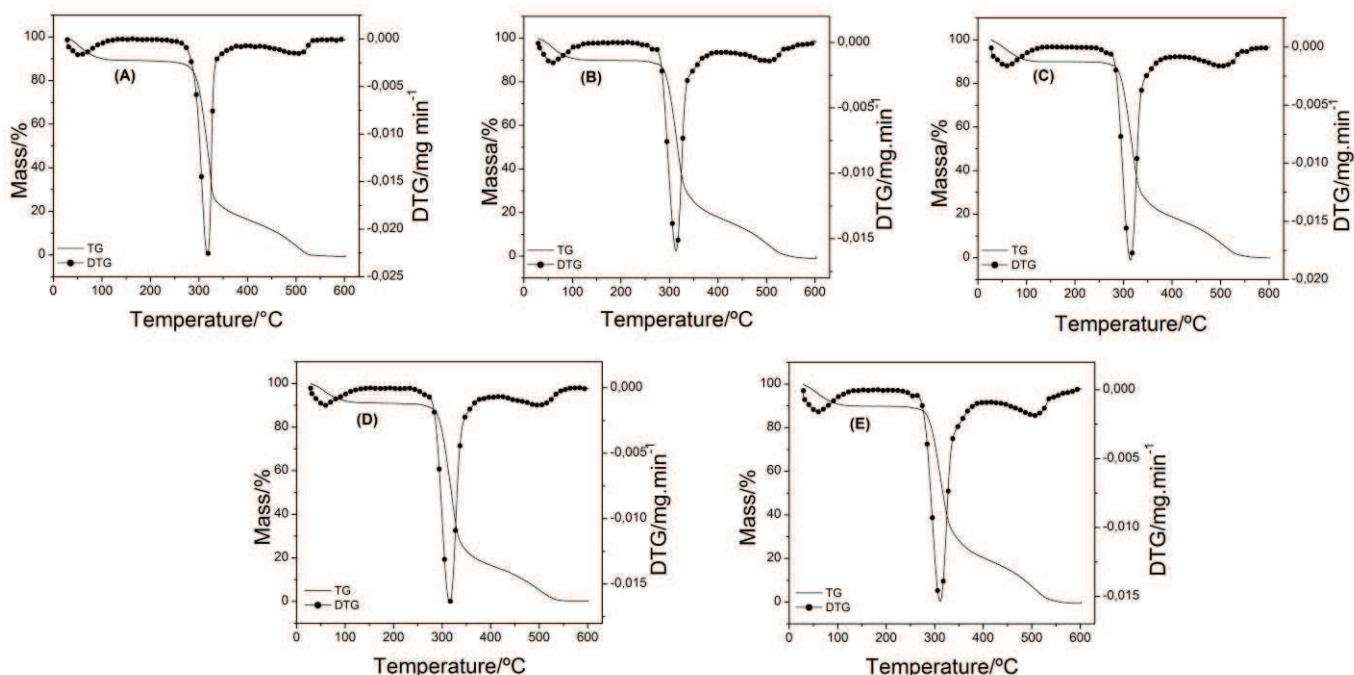


Figura 3 - Curvas TG-DTG para o amido de pinhão nativo (a) e para as amostras modificadas: (b) HCl 0,1M + Etanol, (c) HCl 0,1M + Metanol, (d) HCl 0,2M + Etanol e (e) HCl 0,2M + Metanol.

Os perfis reológicos das amostras de amido modificadas e nativa estão expressos na Figura 4. Percebe-se que as formas das curvas foram bem semelhantes, havendo diferença nos valores de viscosidade de pico, quebra e viscosidade final, assim como para a temperatura de pasta.

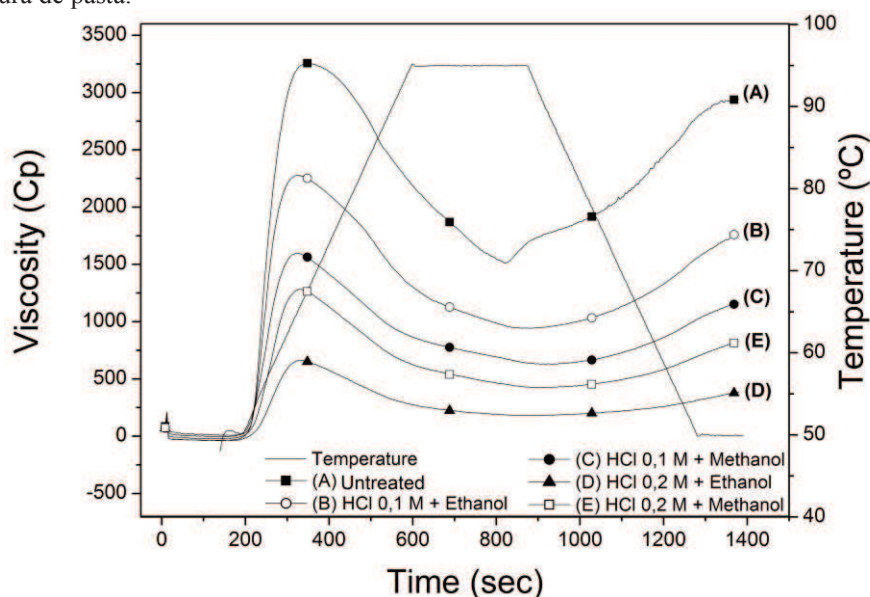


Figura 4 - Perfis reológicos obtidos no RVA para as amostras modificadas e nativa.

Houve diminuição na tendência de retrogradação para todas as amostras modificadas, pois a maior viscosidade final foi apresentada pela amostra nativa (a). A amostra (d) apresentou as maiores diferenças quanto aos parâmetros avaliados em relação ao nativo, por apresentar valores significativamente menores que as outras amostras para os valores de retrogradação (setback), menor diferença de viscosidade entre o pico máximo e a viscosidade mínima a 95°C (break) e baixo valor de viscosidade final (480 cP).

Os autores [6,7] descrevem comportamento semelhante para amidos de milho ceroso e de mandioca tratados com ácido, em meio aquoso, demonstrando a ação hidrolítica do ácido, que segue uma tendência crescente com a concentração utilizada.

Tabela 3 – Dados (RVA) obtidos a partir dos perfis reológicos das amostras modificadas e nativa

Samples	Pasting temperature/°C	Viscosity peak/cP	Peak time/sec	Setback/cP	Break/cP	Final viscosity/cP
(A)	64.43 ± 0.11 ^c	3256.00± 4.24 ^a	347.90±5.8 ^a	1434.00±2.83 ^a	1748.50±2.12 ^a	2944.50±0.71 ^a
(B)	64.45 ± 0.07 ^c	2275.50± 3.54 ^b	324.05±0.07 ^c	816.40±0.57 ^b	1332.50± 3.54 ^b	1759.40±0.57 ^b
(C)	63.98 ± 0.04 ^d	1599.5±0.71 ^c	319.90±0.14 ^c	534.50±0.71 ^c	970.50± 0.71 ^c	1164.50±0.71 ^c
(D)	66.85 ± 0.21 ^a	661.00±1.41 ^e	337.50±2.12 ^{ab}	207.00±2.83 ^e	480.00± 1.41 ^e	386.25±0.35 ^e
(E)	64.88 ± 0.18 ^b	1284.50±2.12 ^d	328.10±0.14 ^{bc}	399.57±3.44 ^d	856,50± 3.54 ^d	826.07±0.10 ^d

Averages followed by the same letters in the same column do not differ statistically by Tukey's test ($p < 0.05$).

cP "centipoises", sec "seconds".

Conclusão

Conforme a técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC) os amidos modificados apresentaram um ligeiro aumento das temperaturas "onset", de pico e de conclusão em relação à amostra nativa, entretanto quando observada a entalpia de gelanização, esta ocorreu de maneira inversamente proporcional, diminuindo significativamente conforme o tratamento realizado com as amostras.

A microscopia de força atômica modo não-contato (NC-AFM) permitiu avaliar a morfologia dos grânulos, assim como a rugosidade das amostras modificadas e nativa. Pode-se perceber uma mudança na superfície dos grânulos, com uma diminuição na rugosidade média, apenas a amostra (d) diferiu das demais e apresentou ligeiro aumento em relação ao amido nativo (a).

Na termogravimetria (TG) observou-se perfis semelhantes para todas as amostras com 3 perdas de massa definidas, sendo a primeira desidratação, seguida de uma pequena estabilidade e da decomposição e oxidação da matéria orgânica, restando às cinzas. Quando utilizado o recurso da DTG, pôde-se calcular com maior facilidade a temperatura de pico de cada perda de massa e definir a faixa de temperatura na qual cada uma ocorreu.

O viscosímetro RVA permitiu analisar o perfil reológico das amostras, sendo observada uma tendência decrescente nos valores calculados, como pico de viscosidade e viscosidade final, respectivamente nas amostras analisadas. A tendência a retrogradação das amostras modificadas diminuiu, sendo que a amostra (d) apresentou os menores valores para todos os parâmetros.

Referências

- [1] Hoover R. The impact of heat-moisture treatment on molecular structures and properties of starches isolated from different botanical sources. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2010;50:835-847.
- [2] Bello-Pérez LA, García-Suárez FJ, Méndez-Montealvo G, Nascimento JRO, Lajolo FM, Cordenunsi BR. Isolation and Characterization of Starch from Seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel Starch for Application in Food Industry. *Starch/Stärke.* 2006;58:283-291.
- [3] Cladera-Oliveira F, Petterman AC, Noreña CPZ, Wada K, Marczak LDF. Thermodynamics properties of moisture desorption of raw pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds). *Int. J. Food Sci. Technol.* 2008;43:900-907.
- [4] Cordenunsi BR, Menezes EW, Genovese MI, Colli C, Souza AG, Lajolo FM. Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. *J. Agric. Food Chem.* 2004;52:3412-3416.
- [5] Thys RCS, Aires AG, Marczak LDF, Noreña CPZ. The effect of acid hydrolysis on the technological functional properties of pinhão (*Araucaria brasiliensis*) starch. *Ciênc. Tecnol. Alim.* 2013; 33: 89-94.
- [6] Oliveira CS, Andrade MMP, Colman TAD, Costa FJOG, Schnitzler E. Thermal, structural and rheological behaviour of native and modified waxy corn starch with hydrochloric acid at different temperatures. *J. Therm. Anal. Calorim.* 2014;115:13-18.
- [7] Beninca C, Colman TAD, Lacerda LG, Filho MAS, Bannach G, Schnitzler E. The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. *Thermochim. Acta.* 2013;552:65-69.
- [8] Costa FJOG, Leivas CL, Waszczynskyj N, Godoi RCB, Helmb CV, Colman TAD, Schnitzler E. Characterisation of native starches of seeds of *Araucaria angustifolia* from four germplasm collections. *Thermochim. Acta.* 2013;565:172-177.