

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO**

**Caracterização Físico-Química e Morfológica de Amidos  
do Tipo Ceroso de Genótipos Seleccionados de Mandioca**  
*(Manihot esculenta Crantz)*

**Thaís Barbosa dos Santos**

**2018**



UFRRJ

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DE  
AMIDOS DO TIPO CEROSO DE GENÓTIPOS SELECIONADOS  
DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)**

**THAÍS BARBOSA DOS SANTOS**

*Sob a Orientação do Professor*

**Ph.D. Carlos Wanderlei Piler de Carvalho**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do Grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Abril de 2018

S237c Santos, Thaís Barbosa dos, 1990-  
Caracterização físico-química e morfológica de amidos  
do tipo ceroso de genótipos selecionados de mandioca  
(Manihot esculenta Crantz) / Thaís Barbosa dos Santos.  
- 2018.  
60 f.: il.

Orientador: Carlos Wanderlei Piler de Carvalho.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência  
e Tecnologia de Alimentos, 2018.

1. Amido de mandioca. 2. Amilopectina. 3. Amido  
ceroso. 4. Viscosidade de pasta. 5. Difração de Raio  
x. I. Carvalho, Carlos Wanderlei Piler de, 1967-,  
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**THAÍS BARBOSA DOS SANTOS**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26 / 04 / 2018.

---

Carlos Wanderlei Piler de Carvalho (Ph.D.)  
Embrapa Agroindústria de Alimentos  
(Orientador)

---

Caroline Mellinger Silva (D.Sc.)  
Embrapa Agroindústria de Alimentos

---

Cristina Yoshie Takeiti (D.Sc.)  
Embrapa Agroindústria de Alimentos

Ao meu noivo, Anderson, pela parceria e apoio em todos os momentos e aos meus pais, Eliete e Sérgio, que sempre deram suporte a minha formação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, principalmente, a Deus pela força incondicional e por me permitir concluir este trabalho.

A toda minha família, em especial minha mãe, Eliete, por toda dedicação e paciência, ao meu pai, Sérgio, por toda educação e apoio nas horas de dificuldades, ao meu irmão, Thiago, pelo companheirismo durante toda a minha vida e à minha avó, Marisa, pelos bons momentos que tivemos juntas.

Ao meu orientador, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho, pelo direcionamento nas escolhas que levaram à apresentação desta dissertação.

Ao CNPq pelo apoio financeiro, extremamente importante para a manutenção dos estudos.

Aos amigos da Embrapa e UFRRJ, em especial Davy e Márcio pela colaboração neste trabalho.

A todos aqueles que ajudaram na concretização desta dissertação.

Obter este título não é apenas ter um diploma em mãos. É a prova do merecimento de uma jornada traçada com orgulho, disciplina e muita determinação...

## RESUMO

SANTOS, Thaís Barbosa dos. **Caracterização Físico-Química e Morfológica de Amidos do Tipo Ceroso de Genótipos Selecionados de Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 2018. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

O amido é um polissacarídeo, constituído de cadeias lineares (amilose) e cadeias ramificadas (amilopectina). O amido ceroso possui como característica um alto percentual de amilopectina (maior que 95%) em sua composição, podendo ser encontrado na natureza sem a necessidade de modificações químicas e geração de maiores resíduos; possui grande potencial de uso na indústria como agente espessante, com baixa retrogradação. A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma raiz tuberosa, nativa, amplamente cultivada nas regiões tropicais, como na América Latina, sendo muito utilizada como fonte de amido. A Embrapa possui o banco de germoplasma da mandioca, a ser explorado na produção de amido para uso industrial, sendo de fundamental importância novos conhecimentos relacionados à caracterização destes amidos como subsídios na produção sustentável de novos ingredientes com propriedades tecnológicas diferenciadas. Sendo assim, a partir da pré-seleção de 803 genótipos do banco de germoplasma brasileiro de mandioca, utilizando a análise de componentes principais (ACP) e determinação do melhor número de grupos (*NbClust*) foi possível a definição de 17 amidos de diferentes genótipos de mandioca que mais se aproximaram à propriedade de pasta das amostras de amidos cerosos de mandioca de referência (7734-7WX e 7745-5WX). Após seleção dos genótipos de interesse foi realizada a caracterização físico-química e morfológica destes amidos comparando-os, também, com amidos cerosos de milho (WX-Milho) e comercial, por meio das análises de determinação de propriedades de pasta, microscopia eletrônica de varredura, microscopia óptica, perfil de cristalinidade relativa, distribuição do comprimento da cadeia ramificada da amilopectina, poder de inchamento e índice de solubilidade. A análise dos resultados permitiu a identificação de genótipos com características próximas às amostras cerosas de referência, como os genótipos BGM0975, BGM0996, BGM1733, BGM1884, BGM0083, BGM1637, BGM0995 por apresentarem baixa viscosidade no ciclo de resfriamento ou viscosidade de retrogradação, sugerindo funcionalidade destes amidos similar aos amidos cerosos de referência para uso na indústria de sopas, cremes e bebidas, como agente espessante por apresentarem muito baixa retrogradação. A análise morfológica permitiu a identificação de grânulos com formatos arredondados e diâmetros similares, já para os amidos ceroso de milho e comercial, formatos poliédricos. Para os resultados de cristalinidade relativa às amostras analisadas não apresentaram diferenças significativas quando comparadas às amostras de referência. Na análise de distribuição do comprimento da cadeia ramificada da amilopectina, o genótipo BGM0036 obteve resultados mais próximos à amostra de amido ceroso de mandioca. O aumento da temperatura resultou no aumento da solubilidade e poder de inchamento, exceto em BGM1773 que é o maior grânulo. Sendo assim, este estudo teve como objetivo a seleção e a caracterização físico-química e morfológica de amidos do tipo ceroso de genótipos selecionados do banco de germoplasma brasileiro de mandioca.

**Palavras-chave:** Amido de mandioca, amilopectina, amido ceroso, viscosidade de pasta, difração de raio-x.

## ABSTRACT

SANTOS, Thaís Barbosa dos. **Physicochemical and Morphological Characterization of Waxy Type Starches of Selected Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Genotypes.** 2018. 60p. Dissertation (Master in Food Science). Institute of Technology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Starch is a polysaccharide, consisting of linear chains (amylose) and branched chains (amylopectin). Waxy starch has a high percentage of amylopectin (greater than 95%) in its composition and can be found in nature without the need for chemical modifications and generation of residues; has a great potential of use in the industry as thickening agent, with low retrogradation. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is a native tuberous root widely cultivated in tropical regions, as in Latin America, and is widely used as a source of starch. Embrapa has the cassava germplasm bank, to be exploited in the production of starch for industrial use, being of fundamental importance new knowledge related to the characterization of these starches as subsidies in the sustainable production of new ingredients with differentiated technological properties. Thus, from the pre-selection of 803 genotypes of the brazilian cassava germplasm bank, using principal component analysis (PCA) and determination of the best number of groups (NbClust), it was possible to define 17 starches of different genotypes of cassava starch that came closest to the paste properties of the reference cassava waxy starch (7734-7WX and 7745-5WX). After selection of the genotypes of interest, the physicochemical and morphological characterization of these starches was performed, comparing them with waxy maize starches (WX-Maize) and commercial starches by means of the determination of paste properties, electron microscopy scanning, optical microscopy, relative crystallinity, branched chain length distribution of amylopectin, swelling power and solubility index. The analysis of the results allowed the identification of genotypes with characteristics close to the reference waxy samples, such as genotypes BGM0975, BGM0996, BGM1733, BGM1884, BGM0083, BGM1637, BGM0995, because they have low viscosity in the cooling cycle or retrograde viscosity, suggesting the functionality of these starches similar to reference waxy starches, for use in the soups, creams and beverages industry, as thickening agents because they exhibit very low retrogradation. The morphological analysis allowed the identification of granules with rounded shapes and similar diameters, already for waxy maize starches and commercial maize starches, polyhedral formats. For the crystallinity results relative to the analyzed samples, there were no significant difference when compared to the reference samples. In the analysis of branched chain length distribution of amylopectin, genotype BGM0036 obtained results closer to the cassava waxy starch sample. The increase in temperature resulted in increased solubility and increased swelling power, except in BGM1773 which is the largest granule. Therefore, this study aimed at the selection and physical-chemical and morphological characterization of waxy-type starches from genotypes selected from the brazilian cassava germplasm bank.

**Key words:** Cassava starch, amylopectin, waxy starch, paste viscosity, x-ray diffraction.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Arbusto de mandioca e raiz tuberosa do genótipo de mandioca BGM0036 do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA).....	3
Figura 2. Morfologia de grânulos de amido por microscopia eletrônica de varredura ....	5
Figura 3. (A) Coloração diferencial com iodo em raízes e (B) Coloração diferencial com iodo em caules de um clone de mandioca (manchado de azul) e AM206-5 (manchado de marrom avermelhado).....	6
Figura 4. Estrutura molecular (A) Amilose e (B) Amilopectina .....	9
Figura 5. Ilustração das frações da cadeia de amilopectina .....	10
Figura 6. (A) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização de anéis e centro ou hilum, (B) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C, e (C) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido .....	10
Figura 7. Micrografias das dispersões de amido sob luz polarizada .....	12
Figura 8. Relação entre a tensão cisalhante ( $T_c$ ) e a taxa de deformação ( $D$ ) no fluido plástico de Bingham (a), pseudoplástico (b), newtoniano (c) e dilatante (d).....	14
Figura 9. Curva de viscosidade típica do RVA.....	15
Figura 10. Etapa de filtração do processo de extração do amido de mandioca.....	18
Figura 11. Esquema do desenvolvimento do projeto, tendo início a partir da realização das 47 análises em RVA.....	19
Figura 12. Análise de Componentes Principais dos genótipos de amido de mandioca e milho.....	25
Figura 14. Dendograma com divisão das amostras em 3 grupos. ....	26
Figura 15. Análise de viscosidade das amostras selecionadas .....	28
Figura 16. Géis de amidos selecionados.....	29
Figura 17. Grânulos de amido de mandioca e milho, observados em Microscópio Eletrônico de Varredura, com aumento de 1500 X.....	31
Figura 18. Micrografias dos grânulos de amido selecionados, observados em microscópio óptico sob luz polarizada, com aumento total de 400 X.....	33
Figura 19. Difratoograma de amidos analisados em Raio-X .....	35
Figura 20. Distribuição normalizada do comprimento de cadeia de amilopectina .....	36
Figura 21. Poder de inchamento das amostras próximas às referências cerosas.....	39
Figura 22. Índice de solubilidade das amostras próximas às referências cerosas .....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química da raiz de mandioca atóxica crua (100 g).....	4
Tabela 2. Resultados obtidos no RVA.....	23
Tabela 3. Divisão das amostras em três grupos.....	27
Tabela 4. Divisão das amostras em cinco grupos.....	27
Tabela 5. Cristalinidade relativa e Tipo característico das amostras.....	34
Tabela 6. Distribuição do comprimento de cadeia ramificada da amilopectina dos amidos de mandioca e milho por HPAEC-PAD.....	37
Tabela 7. Poder de inchamento (g/g) das amostras selecionadas.....	38
Tabela 8. Índice de Solubilidade (%) das amostras selecionadas.....	40

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	2
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
3.1	Mandioca ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	3
3.2	Amido de Mandioca.....	4
3.2.1	Ocorrência de amido ceroso obtido em mandioca.....	5
3.3	Estudo das Características e Propriedades Tecnológicas dos Amidos .....	7
3.3.1	Composição química do amido .....	8
3.3.2	Característica dos grânulos de amido.....	10
3.3.3	Inchamento e solubilidade.....	12
3.3.4	Gelatinização e retrogradação .....	13
3.3.5	Propriedades reológicas do amido.....	14
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
4.1	Objetivo Geral.....	17
4.2	Objetivos Específicos .....	17
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	18
5.1	Local de Execução .....	18
5.2	Materiais .....	18
5.3	Métodos .....	20
5.3.1	Determinação de propriedades de pasta .....	20
5.3.2	Análise estatística.....	21
5.3.3	Caracterização dos amidos .....	21
5.3.3.1	Microscopia eletrônica de varredura .....	21
5.3.3.2	Microscopia óptica .....	21
5.3.3.3	Cristalinidade relativa.....	21
5.3.3.4	Distribuição do comprimento da cadeia ramificada da amilopectina ...	21
5.3.3.5	Poder de inchamento e índice de solubilidade .....	22
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
6.1	Determinação de Propriedades de Pasta .....	23
6.2	Análise Estatística.....	24
6.3	Propriedade de Pasta das Amostras Seleccionadas .....	27
6.4	Microscopia Eletrônica de Varredura .....	30
6.5	Microscopia Óptica.....	32
6.6	Cristalinidade Relativa.....	34
6.7	Distribuição do Comprimento da Cadeia Ramificada da Amilopectina.....	35
6.8	Poder de Inchamento e Índice de Solubilidade.....	38
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	42
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	43

# 1 INTRODUÇÃO

A utilização de amido na alimentação humana tem sido objeto de estudo de inúmeras pesquisas. De ampla utilização não somente para a indústria de alimentos, como também em diferentes setores industriais, os grânulos de amido, segundo suas origens, têm características próprias. Por outro lado, a produção de amido não satisfaz, em sua totalidade, ao crescente número de aplicações demandadas para esta matéria-prima.

Extensivamente distribuído na natureza, o amido está presente em cereais, tubérculos, raízes, leguminosas e outras fontes. Estruturalmente, é composto por cadeias de amilose e amilopectina, sendo sua funcionalidade tecnológica, em grande parte, atribuída à proporção entre estas cadeias.

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma raiz tuberosa amplamente cultivada na América Latina, Ásia e África, possuindo de 73,7 a 84,9% de amido em sua matéria seca.

O amido de mandioca é de mais fácil extração quando comparado ao de milho, devido à mandioca possuir em sua composição baixos índices de proteínas e lipídeos, facilitando a extração.

Seu potencial tecnológico pode representar um grande diferencial na valorização da cultura da mandioca para o país por apresentar outros perfis diferenciados de características físico-químicas e morfológicas.

A existência de diferentes genótipos de mandioca passíveis de serem explorados apresenta variada funcionalidade que deve ser estudada. Esta variabilidade se caracteriza por apresentar, por exemplo, perfil de viscosidade de pasta diferenciado.

Amidos do tipo ceroso (*waxy*) apresentam baixa viscosidade no ciclo de resfriamento ou viscosidade de retrogradação associado ao alto teor de amilopectina, acima de 95%, enquanto amidos resistentes (*high amylose*) com alto teor de amilose tendem a produzir géis com alta viscosidade no resfriamento, fatos estes, relacionados com o balanço entre amilose e amilopectina na estrutura dos grânulos, entre outros fatores.

Considerando a necessidade de estudo das propriedades do amido de mandioca de diferentes genótipos selecionados quanto às propriedades de pasta, o objetivo deste projeto foi caracterizar os amidos, sem a necessidade de modificações químicas e geração de maiores resíduos, previamente selecionados do banco de acessos genéticos da Embrapa, quanto ao perfil de viscosidade de pasta que se assemelhavam aos amidos do tipo ceroso: como o amido de milho *waxy* e de dois amidos cerosos de mandioca de genótipos provenientes do CIAT (*International Center for Tropical Agriculture*, Colombia), quanto às características físico-químicas e morfológicas.

## 2 JUSTIFICATIVA

A mandioca é uma das plantas nativas da América do Sul de maior importância agrícola, fazendo parte da alimentação de mais de 700 milhões de pessoas, especialmente nos países em desenvolvimento e entre mais de 100 países que produzem a mandioca, o Brasil é o quarto maior produtor do mundo, segundo a Associação Brasileira de amido de Mandioca (ABAM, 2016).

De acordo com o último levantamento da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) referente ao ano de 2016, a produção mundial de raiz de mandioca correspondeu a 277,1 milhões de toneladas, sendo 21,08 milhões de toneladas a produção brasileira. O maior produtor mundial é a Nigéria, que no ano de 2016 computou 57,13 milhões de toneladas, seguido por Tailândia e Indonésia (CONAB, 2018).

Além do uso convencional do consumo da mandioca *in natura*, a indústria de extração de amido para aplicações alimentícias, também se destaca no cenário nacional com a produção 616,2 mil toneladas de amido (CONAB, 2018). No entanto, além da tradicional demanda por amido de milho, a demanda por diferentes fontes de amido é crescente por parte de diversos setores industriais.

O amido do tipo ceroso ou *waxy* tem grande potencial de uso na indústria de sopas, cremes e bebidas como agente espessante, mas com muito baixa retrogradação. O uso deste tipo de amido significa menor necessidade de uso de modificação química, assim reduzindo o potencial poluidor dos agentes químicos e de tempo usado neste processo.

A Embrapa possui o banco de germoplasma da mandioca ainda não explorado para a produção de amido para uso industrial, sem a necessidade de modificações químicas. Sendo assim, é de fundamental importância a caracterização destes amidos, não havendo necessidade da utilização de espécies geneticamente modificadas que resultariam na necessidade da criação de uma infraestrutura de alto custo ou mesmo de modificações químicas resultando na geração de maiores resíduos.

Novos conhecimentos mostram-se extremamente valiosos, não somente para caracterização de espécies de diferentes genótipos de mandioca na obtenção de novas fontes de amido, como também no fornecimento de subsídios para produção de novos alimentos com potenciais propriedades tecnológicas, visando a utilização de outros recursos disponíveis na natureza, como é o caso da utilização da mandioca, no entanto com potencial pouco explorado.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta perene, arbustiva, pertencente à família das Euforbiáceas. Cultivada no Brasil pelos índios, a parte mais importante desta planta é a raiz. Rica em fécula, é utilizada na alimentação humana e animal ou como matéria-prima para diversas indústrias (OLSEN; SCHAAL, 1999; FILHO; BAHIA, 2009).

Em relação ao cultivo, a mandioca normalmente é plantada no início da estação chuvosa, quando a umidade e o calor tornam-se elementos essenciais para a brotação e o enraizamento. Sem época estabelecida de maturação, após oito meses já pode ser colhida, observando-se o teor de amido, que varia com as estações do ano, ou então em função da agroindústria e do mercado (Figura 1).



**Figura 1.** Arbusto de mandioca e raiz tuberosa do genótipo de mandioca BGM0036 do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA).

Foto: Eder Oliveira.

Esta margem de segurança na colheita ocorre em função da mandioca poder permanecer armazenada no solo, sendo colhida com um ciclo (8 a 12 meses) ou dois ciclos (13 a 24 meses) (MATTOS, 2000).

Diversas vantagens estão relacionadas ao seu cultivo: fácil propagação, elevada tolerância a longas estiagens, rendimentos satisfatórios mesmo em solos de baixa fertilidade, potencial resistência a pragas e doenças (CEREDA, 2002).

Em relação às características físicas médias da raiz da mandioca, Costa (2005) obteve valores médios de massa de 522 g, comprimento de 40,72 cm e diâmetro de 12,42 cm. A composição centesimal das raízes de mandioca pode ser observada na Tabela 1, extraída conforme Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) em raízes de mandioca crua (UNICAMP, 2011).

**Tabela 1.** Composição química da raiz de mandioca atóxica\* crua (100 g).

Nutrientes	Quantidade (g/100 g)
Umidade	61,8
Carboidratos	36,2
Fibra dietética	1,9
Proteínas	1,1
Cinzas	0,6
Lipídeos	0,3

\*Variedade destinada ao consumo humano

Fonte: (UNICAMP, 2011).

Presente em todos os estados brasileiros, o cultivo da mandioca tem sua maior concentração na Região Nordeste, participando com valores superiores a 35 % da produção nacional. A Região Norte também se caracteriza como importante produtor e consumidor dos produtos de mandioca. Já a Região Sul, além de importante produtora de raiz, possui o maior número de indústrias, principalmente as de fécula (amido de mandioca), consideradas em sua maioria de médio e grande porte (FAO, 2010).

Na região Sudeste se destacam os estados de São Paulo e Minas Gerais. Com menos de 10% da produção nacional de mandioca em raiz, o maior centro de comercialização do país está localizado na cidade de São Paulo, possuindo também excelentes centros de pesquisa em Botucatu e Campinas (BRASIL, 2011).

Do ponto de vista do consumidor vem decrescendo a demanda por raízes *in natura*, em função da elevada perecibilidade das mesmas e do aspecto visual pouco atrativo, o que se reflete na diminuição crescente da oferta de mandioca em supermercados de grandes centros consumidores na forma *in natura*, no entanto, o consumo na forma processada é crescente (RINALDI, 2015).

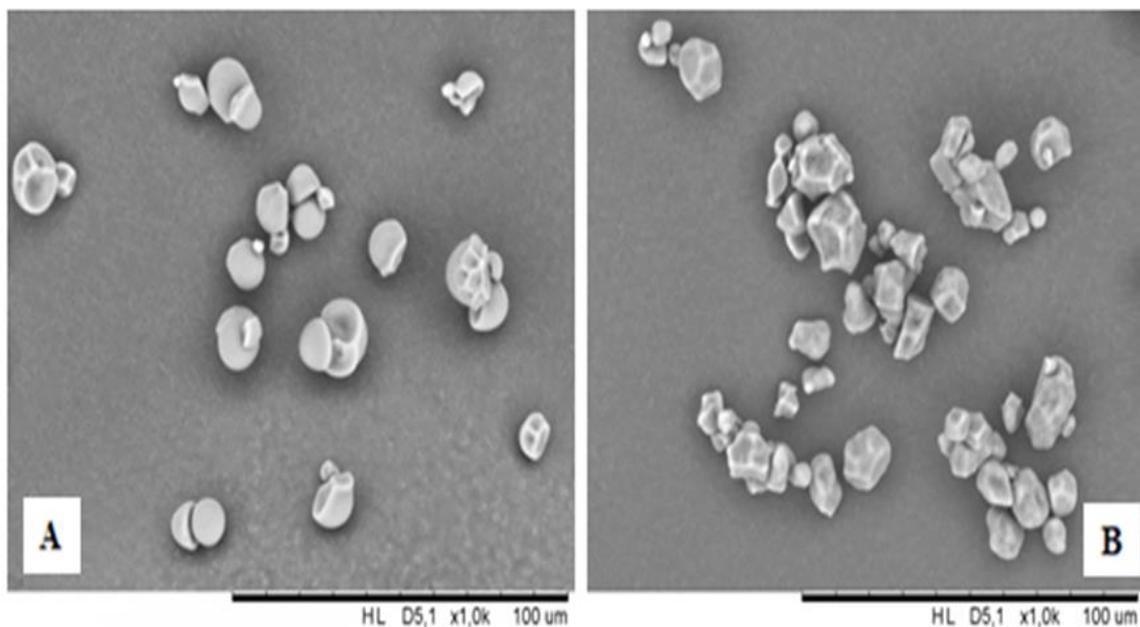
Fato este confirmado pelo Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - MDIC (2016), ao afirmar que as exportações e importações da raiz da mandioca, se comparadas à fécula, tem menor volume de exportação e de importação, sendo uma alternativa para redução da perecibilidade na forma *in natura*, o seu uso na forma de amido.

### 3.2 Amido de Mandioca

O amido é o material de reserva das raízes de mandioca com teores que variam entre 20 e 30 % da matéria fresca e cerca de 80 a 90 % na matéria seca (VILELLA; FERREIRA, 1987).

É facilmente extratível das raízes de mandioca, por esta conter baixos níveis de proteína e gordura. Quando devidamente extraído, o amido de mandioca é branco, puro e os seus baixos níveis de gordura e proteínas tornam-se muito desejáveis na produção de alimentos (BAGUNA et al., 2003).

Os grânulos de amido de mandioca (Figura 2. A) apresentam diâmetros similares aos de amido de milho (Figura 2. B), porém são morfologicamente diferentes. São ovais ou redondos sendo alguns côncavos ou convexos característicos (CEREDA, 2002).



**Figura 2.** Morfologia de grânulos de amido por microscopia eletrônica de varredura (A) Amido de mandioca e (B) Amido de milho.

Quanto a sua classificação, os amidos de mandioca são denominados normais (teores de amilose entre 20 e 30 %), resistentes (teores de amilose acima de 50 %) ou cerosos (teores de amilopectina acima de 95 %).

### 3.2.1 Ocorrência de amido ceroso obtido em mandioca

Na busca por amidos com características especiais, a indústria tem implementado diversas estratégias para desenvolver clones de mandioca de alto valor comercial, identificando clones com propriedades novas e especiais. Porém, além da identificação dos genótipos, onde as variações de qualidade de amidos são interessantes, a disponibilidade para testes especiais são essenciais, demandando também, maiores investimentos no desenvolvimento destes clones (CEBALLOS et al., 2006).

O amido livre de amilose (ou ceroso) foi identificado naturalmente pela primeira vez em germoplasma de milho na China (COLLINS, 1909). A natureza recessiva dessa característica também foi relatada há cerca de um século. Durante a Segunda Guerra Mundial, os Estados Unidos não podiam importar tapioca da Tailândia, sendo assim, a indústria procurou alternativas ao amido de mandioca e descobriu que as propriedades funcionais do amido ceroso de milho se assemelhavam mais estreitamente às da tapioca, quando comparado ao amido milho normal (FERGASON, 2001).

As mutações espontâneas de amido ceroso também foram encontradas em cevada, trigo, arroz, batata, inhame e sorgo. Estes amidos sem amilose geralmente mostram pastas mais claras e uma melhor estabilidade ao congelamento-descongelamento, que são propriedades altamente desejáveis em muitas aplicações de alimentos (KARLSTRÖM et al., 2017).

O Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado na Colombia, tornou-se pioneiro na descoberta de um amido de mandioca livre de amilose, proveniente de mutação natural (CEBALLOS et al., 2007). Em comparação com as várias mutações reportadas para os amidos provenientes de outras culturas, como milho e batata, a mandioca oferece comparativamente muito pouca variação (CARVALHO et al., 2004). Há duas razões para isso: a mandioca é raramente autopolinizável, e na

ocorrência de autopolinização, a maioria destas mutações é recessiva na natureza, existindo pouca oportunidade para que elas se expressem (NEUFFER; COE; WESSLER, 1997).

No entanto, mesmo que as mutações na raiz de mandioca fossem expressivas, a possibilidade de verificar autopolinizações seria de difícil detecção porque as raízes não amadurecem de forma exposta, como os grãos de cereais. Quando os grãos de cereais como o milho atingem a maturidade fisiológica, diferentes mutações de amido tornam-se visualmente distintas e facilmente detectadas, devido ao crescimento exposto dos cereais sobre a terra (NEUFFER; COE; WESSLER, 1997).

Os primeiros estudos, usando teste de iodo, descobriram que mutantes de amido ceroso poderiam ser facilmente distinguidos, pois soluções de iodo mancharam distintamente os amidos cerosos, que apresentaram cor amarronzada devido à carência ou redução drástica dos níveis de amilose (CEBALLOS et al., 2007).

Para a descrição morfológica do amido de mandioca, diferentes genótipos mencionados na literatura foram utilizados pelo projeto de 'reprodução de mandioca' no CIAT. Quando as mudas de uma planta fornecem resultados promissores durante o rastreio de rotina do germoplasma, várias estacas são obtidas e o genótipo é clonado para posterior avaliação (ALVES, 2002).

Em dezembro de 2004, no CIAT, várias autopolinizações foram realizadas em um genótipo de mandioca. Entre muitas famílias avaliadas, foram utilizadas 79 semente da família S1 AM206, que foram germinadas, em abril de 2005. Apenas 40 plantas eram viáveis e foram transplantadas para o campo em junho de 2005. Destas, 17 plantas sobreviveram com um bom desenvolvimento após nove meses.

Em março de 2006, a raíze do genótipo AM206-5 S1 mostrou-se com coloração distinta quando tratada com uma solução de iodo (Figura 3).



**Figura 3.** (A) Coloração diferencial com iodo em raízes e (B) Coloração diferencial com iodo em caules de um clone de mandioca (manchado de azul) e AM206-5 (manchado de marrom avermelhado).

Fonte: Ceballos et al. (2007).

Houve uma coloração diferencial com a solução de iodo em raízes e caules de AM206-5, em comparação com os de outros genótipos. Raízes e caules de AM206-5 apresentaram coloração marrom-avermelhada, enquanto as raízes e caules de outros genótipos apresentaram a coloração azul-escura típica. Indicando que era, de fato, um amido ceroso. Todas as análises convergiram para apoiar a hipótese de que o genótipo AM206-5 teria seu amido sem amilose. Sendo este, o primeiro relatório de descoberta de um amido ceroso de mandioca, depois de milhares de avaliações feitas em diferentes variedades de germoplasma de mandioca (CEBALLOS et al., 2007).

Os resultados combinados relatados neste estudo produzem provas convincentes de que a mandioca apresenta mutação que ocorre naturalmente. Estes resultados são importantes não só por causa das aplicações comerciais de um amido com concentrações diferenciadas de amilopectina, mas também porque eles demonstram que a autopolinização de mandioca é susceptível de produzir resultados interessantes, sendo o primeiro relatório de mutação de um amido ceroso que ocorre naturalmente na mandioca segundo Ceballos et al. (2007).

Neste sentido, o desenvolvimento de variedades de amido ceroso tem sido um objetivo para pesquisas relacionadas à mandioca. As variedades cerosas aumentam e melhoram as necessidades de uso específico e, portanto, implicam maiores preços de venda das raízes e/ou fortalecem o mercado de amido de mandioca. Por outras palavras, uma variedade comercial com amido sem amilose beneficiaria agricultores e processadores (KARLSTRÖM et al., 2017).

É inegável que o amido ceroso de mandioca oferece vantagens suficientes para a indústria como diferentes texturas de gel, além de maior resistência ao congelamento e descongelamento em comparação a outros cereais. Consequentemente, projetos para desenvolver variedades comerciais de mandioca não transgênicas que produzem amido sem amilose estão sendo iniciados, evidenciando o interesse gerado por este amido ceroso (KARLSTRÖM et al., 2017).

### **3.3 Estudo das Características e Propriedades Tecnológicas dos Amidos**

Amidos são citados como os produtos amiláceos extraídos de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes ou rizomas, segundo a Resolução RDC nº 263/2005 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2005).

O amido é constituído unicamente de carboidratos. No entanto, o produto final comercial apresenta substâncias tais como matéria graxa, proteínas e cinzas, que são originárias da própria planta. As quantidades dessas substâncias dependem da composição da planta e do método de extração e purificação (CEREDA, 2002).

As variações nos métodos e nas condições de extração do amido podem resultar em diferenças notáveis na composição, nas propriedades físico-químicas e nas propriedades funcionais do amido (ZHU, 2014).

Exerce função biológica de reserva de carbono e energia em plantas; e para o consumo humano é o polissacarídeo digerível e abundante mais importante, que fornece de 70 a 80 % das calorias consumidas em todo o mundo (ALCÁZAR-ALAY e MEIRELES, 2015). É obtido de sementes de milho, trigo, arroz, de tubérculos e raízes, particularmente de batata, batata-doce e mandioca (ZOBEL; STEFHEN, 1995).

Os países tropicais como o Brasil possuem uma grande quantidade de espécies amiláceas, porém pouco estudadas e cujas características poderiam atender à determinadas demandas das indústrias de alimentos (PERONI, 2003), como por exemplo, na produção de alimentos congelados, sobremesas e alimentos instantâneos.

Isto porque as propriedades do amido variam, entre diferentes amostras de plantas e variedades dentro de cada espécie, e estas propriedades são importantes para as diversas aplicações nos mais diversos processos industriais (ALCÁZAR-ALAY e MEIRELES, 2015; VAMADEVAN; BERTOFT, 2015).

No entanto, para servir como fonte comercial de amido, as matérias-primas vegetais precisam dispor de quantidade viável deste polímero natural e o mesmo deve ser de fácil extração. Além destas questões econômicas e tecnológicas inerentes à própria matéria- prima, o amido deve ter propriedades adequadas para a comercialização (APLEVICZ; DEMIATE, 2007; MARCON; AVANCINI; AMANTE, 2007).

Na extração do amido obtém-se um produto com alto grau de pureza, devendo apresentar baixos conteúdos de proteínas, lipídeos, cinzas e fibras. As condições empregadas no processo variam de acordo com a espécie de amido e sua fonte botânica, devendo-se evitar ao máximo o dano mecânico ou modificação dos grânulos para manutenção das características do amido (CEREDA; LEONEL, 2000).

Segundo a Associação Brasileira de Amido de Mandioca, o amido de mandioca é utilizado em pães de queijo, biscoitos, bolos, tortas, pudins, cremes, confeitos, achocolatados, casquinha de sorvete, embutidos, além disto, o pão sem glúten, contendo fécula de mandioca, atende o mercado dos celíacos (pessoas que possuem sensibilidade ao glúten do trigo), possuindo diversas outras aplicações como a utilização em sobremesas instantâneas e produção de gomas (ABAM, 2016).

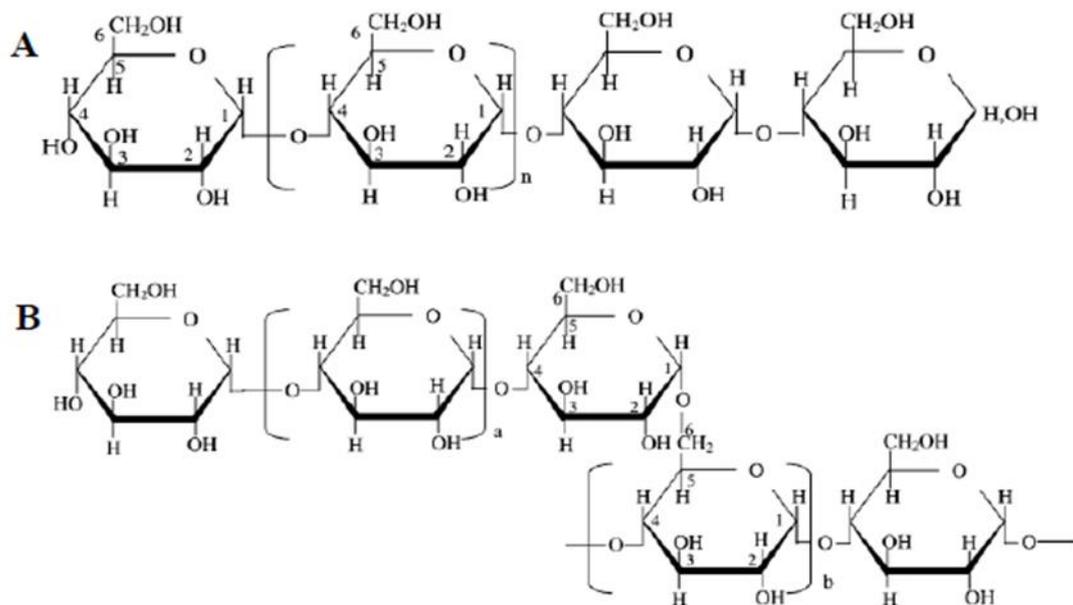
O emprego industrial de amido se deve à sua característica única de poder ser usado diretamente na forma de grânulos, de grânulos intumescidos, na forma dispersa, como filme obtido da secagem de uma dispersão ou após extrusão, depois da conversão a uma mistura de oligossacarídeos ou a glucose, que pode ser isomerizada enzimaticamente para frutose (SILVA et al., 2006).

O comprimento das cadeias do amido, proporção de amilose/amilopectina, grau de ramificação da amilopectina definem o tamanho, a estrutura e utilidade dos grânulos de amido em cada espécie de planta. Outras características associadas com o grânulo como forma, o tipo de superfície e outros compostos associados ao amido influenciam, também, as propriedades do amido para sua aplicação (ALCÁZAR-ALAY e MEIRELES, 2015; VAMADEVAN; BERTOFT, 2015).

Assim, a compreensão da estrutura dos grânulos de amido é de extrema importância nos mais diversos processos industriais a que normalmente são submetidos, para isso, torna-se fundamental o entendimento das necessidades tecnológicas no produto para avaliação da escolha do amido com propriedades físico-químicas adequadas, as quais influenciam as propriedades tecnológicas do alimento (BEMILLER, 1997).

### **3.3.1 Composição química do amido**

Quimicamente, o amido em sua forma nativa, é um polissacarídeo formado por monossacarídeos de glucose unidos por ligações glicosídicas  $\alpha$ -D-(1,4) e  $\alpha$ -D-(1,6) e é composto por duas estruturas principais de polímeros de glucose (Figura 4), a amilose e a amilopectina (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006).



**Figura 4.** Estrutura molecular (A) Amilose e (B) Amilopectina.

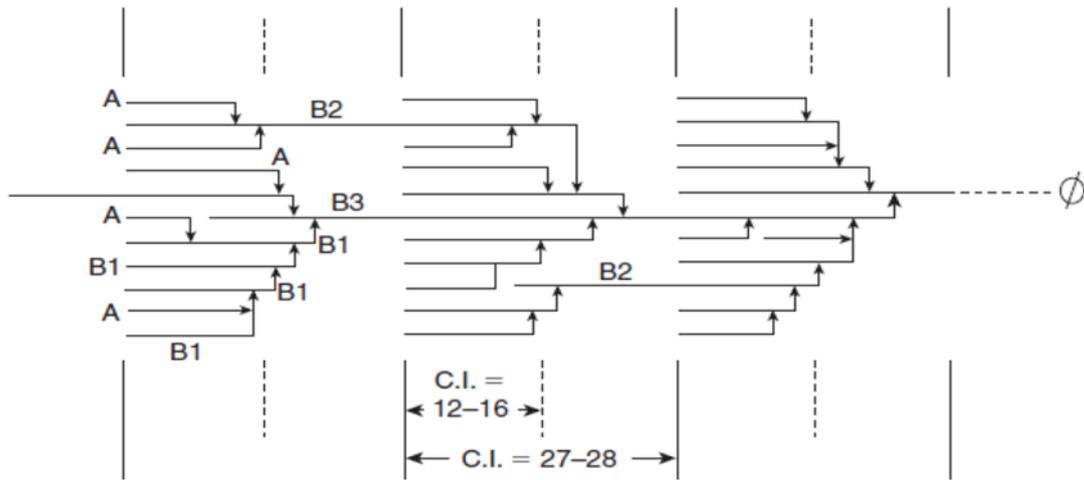
Fonte: Morrison e Boyd (1996).

A amilose apresenta cadeia linear onde as unidades de glucose possuem ligações glicosídicas  $\alpha$ -D-(1,4). Pode estar presente sob a forma de complexo amilose-lípido ou de amilose livre. Os complexos amilose-lípido, embora detectados no amido nativo, possivelmente são formados em maior extensão durante o tratamento hidrotérmico ou a gelatinização (ELIASSON, 2004; TESTER et al., 2004; VANDEPUTTE; DELCOUR, 2004).

O teor de amilose nos grânulos de amido varia de acordo com a fonte vegetal de origem, porém, geralmente encontra-se nos intervalos de 20 a 30 % em amidos normais de cereais. O amido de milho contém entre 25 a 28 % de amilose, enquanto o de mandioca possui em média 17 %. Algumas variedades de amido, referidas pelo termo ceroso ou *waxy* são constituídas totalmente por amilopectina, enquanto outros amidos possuem teores de amilose acima de 50 % e são denominados amido resistente ou *high-amylose* (WEBBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009).

Não se sabe com certeza o comprimento das cadeias de amilose, mas sabe-se que contém milhares de unidades de glucose, de tal modo que a massa molecular varia de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$  g.mol<sup>-1</sup>. A amilopectina é uma molécula muito maior, que apresenta centenas de milhares a milhões de unidades de glucose por molécula (JANE, 2003). Esta possui em sua estrutura ligações glicosídicas  $\alpha$ -D-(1,4) e  $\alpha$ -D-(1,6). É estrutural e funcionalmente, a mais importante das duas frações, pois sozinha é suficiente para formar o grânulo, como ocorre em variedades que são desprovidos de amilose (OATES, 1997; TESTER et al., 2004).

Hizukuri (1986) investigou a distribuição de comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com monitoramento fotométrico de dispersão da luz laser e refratometria diferencial. Os resultados da amilopectina desramificada mostraram uma distribuição polimodal das cadeias com quatro populações (A, B1, B2 e B3). A fração A correspondeu as cadeias A, enquanto as cadeias B, representadas por B1, B2 e B3 (Figura 5).

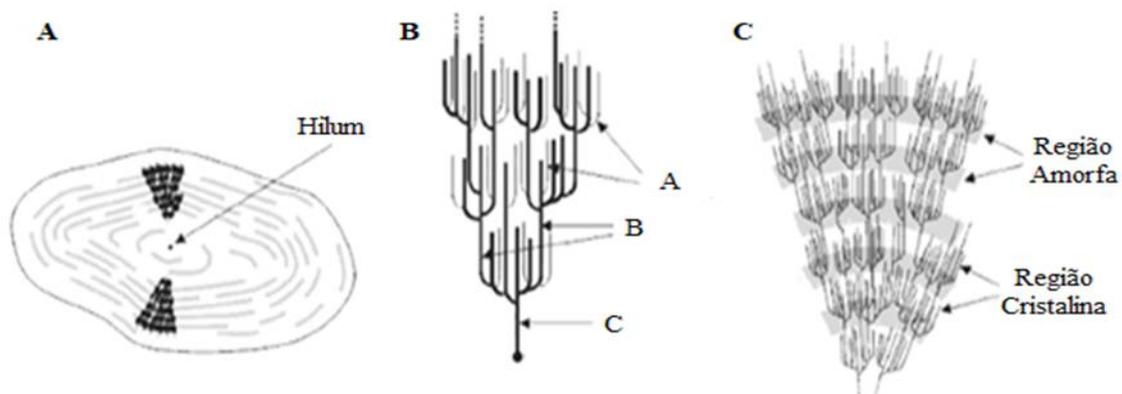


**Figura 5.** Ilustração das frações da cadeia de amilopectina.  
 Fonte: Hizukuri (1986).

Segundo Hanashiro, Abe e Hizukuri (1996), as cadeias A apresentam grau de Polimerização (GP) variando de 6 a 12, enquanto as cadeias B1, B2 e B3 têm GP de 13 a 24, 25 a 36, e maior que 37, respectivamente.

### 3.3.2 Característica dos grânulos de amido

Dentre os polissacarídeos, somente o amido se organiza na forma de grânulos, que são pequenas unidades individuais e relativamente densas. Os grânulos se desenvolvem ao redor do ponto de nucleação, que é denominado hilum (Figura 6. A), sendo a forma e o tamanho variáveis entre os vegetais (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004; LIU, 2005). As cadeias de polissacarídeos do grânulo de amido se associam entre si por meio de ligações de hidrogênio, resultando em cristalinidade atribuída a amilopectina. Os grânulos de amido apresentam estruturas cristalinas com padrões de difração de raio-x tipo A, B e C (Figura 6. B e C) variando com as fontes botânicas, dos quais os tipos A e B encontram-se presentes nos cereais e a forma C, considerada uma mistura das anteriores, é encontrada na maioria dos tubérculos, leguminosas e sementes (ELIASSON, 2004).



**Figura 6.** (A) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização de anéis e centro ou hilum, (B) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C, e (C) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido.

Fonte: Adaptado de Parker e Ring (2001).

Segundo Oates (1997), uma característica estrutural que tem sido identificada por meio de hidrólise enzimática controlada são os chamados anéis de crescimento. Internamente, o material do grânulo está presente na forma de anéis concêntricos, conhecidos como anéis de crescimento (Figura 6. A).

Essas estruturas são visíveis sob microscópio óptico em grânulos grandes (batata e trigo), mas são raramente vistas nos pequenos (cevada e arroz). A existência de anéis de crescimento sugere que o amido seja depositado em um ritmo diário, fazendo com que os grânulos aumentem seu tamanho. Um modelo para esse desenvolvimento sugere que a primeira camada de crescimento esteja no centro (hilum), que contém grande proporção de terminais redutores das moléculas de amido e é normalmente menos organizado que o resto do grânulo (BAKER et al., 2001).

Os anéis de crescimento são organizados em regiões cristalinas e amorfas alternadas, motivo pelo qual é frequentemente descrito como um polímero semicristalino ou parcialmente cristalino. A fusão desses cristais e o rompimento dessa estrutura organizada formam a base para a gelatinização (ELIASSON, 2004).

As cadeias de amilopectina estão organizadas de maneiras diferentes, sugerindo uma classificação de cadeias A, B e C (Figura 6. B). O tipo A é composto por uma cadeia não redutora de unidades de glúcoses unidas por ligações  $\alpha$ -(1,4), sendo unida a uma cadeia tipo B por meio de ligações  $\alpha$ -(1,6). As cadeias do tipo B são compostas por glúcoses ligadas em  $\alpha$ -(1,4) e  $\alpha$ -(1,6), contendo uma ou várias cadeias tipo A e podem conter cadeias tipo B unidas por meio de um grupo hidroxila primário. A cadeia C é única em uma molécula de amilopectina, sendo composta por ligações  $\alpha$ -(1,4) e  $\alpha$ -(1,6) (LAJOLO; MENEZES, 2006).

A região cristalina é constituída pelas duplas hélices das cadeias paralelas A e B da amilopectina, sendo mais compacta, enquanto que a região amorfa, menos ordenada, contém os pontos de ramificação das cadeias laterais da amilopectina e possivelmente alguma amilose (Figura 6. C) (ELIASSON, 2004).

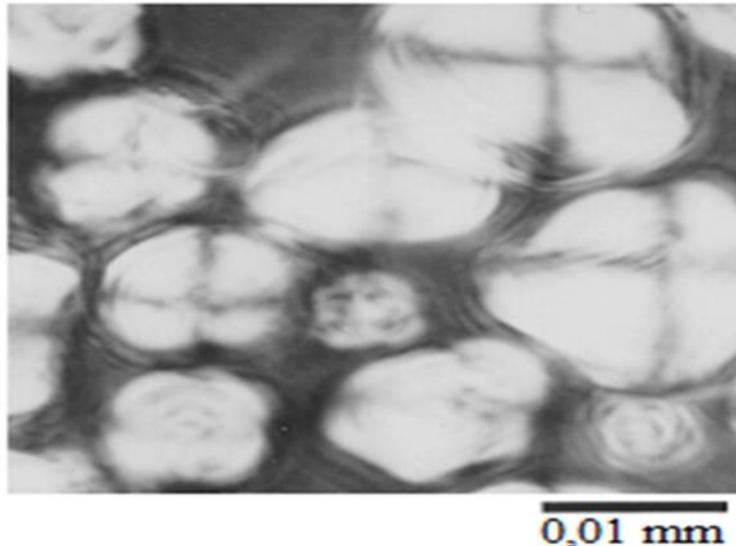
Os grânulos de amido nativos contêm entre 15 e 45 % de material cristalino, que correspondem a duas formas (A ou B) ou a uma forma intermediária (C), baseada em variações no conteúdo de água e na configuração de empacotamento de duplas hélices (IMBERTY et al., 1991).

Na região amorfa, amilose e amilopectina estão em conformação desordenada. Entende-se que a amilopectina é responsável pela organização estrutural, embora provavelmente a amilose, também, interfira com as suas propriedades. Os fatores genéticos e ambientais que afetam a biossíntese de amilopectina podem influenciar a sua arquitetura molecular, por sua vez, a morfologia dos grânulos (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015; VAMADEVAN; BERTOFT, 2015).

Presente em todos os amidos nativos, a cruz de malta caracteriza a orientação radial das macromoléculas. O hilum, encontrado no centro da cruz, é considerado o ponto original de crescimento do grânulo (ELIASSON, 2004; LAJOLO; MENEZES, 2006).

Quando observados em microscópio óptico sob luz polarizada, os grânulos de amido apresentam birrefringência o que indica certo grau de organização molecular. A parte linear da molécula de amilopectina forma estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por ligações de hidrogênio entre grupamentos de hidroxila. São elas que dão origem às regiões cristalinas dos grânulos (SOUZA; ANDRADE, 2000).

A refração pelas regiões cristalinas do amido resulta no modelo típico de Cruz de Malta (Figura 7).



**Figura 7.** Micrografias das dispersões de amido sob luz polarizada.  
Fonte: Souza e Andrade (2000).

Todos os grânulos de amido na sua forma nativa exibirão birrefringência, que é proporcional à sua estrutura cristalina. Padrões fracos de birrefringência são indicativos de desorganização da região cristalina e a perda de birrefringência está associada com deformação devido à modificação do grânulo de amido (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015).

O tamanho e forma dos grânulos podem ser avaliados, também, através da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). O tamanho e a forma dos grânulos de amido variam em parâmetros como diferentes espécies, estágio de desenvolvimento da planta, sendo um parâmetro diferencial para amidos de diferentes fontes botânicas (LEONEL, 2007).

### **3.3.3 Inchamento e solubilidade**

O inchamento e a solubilidade do grânulo variam de acordo com a fonte do amido, fornecendo evidências da interação entre as cadeias nos domínios amorfos e cristalinos dos polissacarídeos. A extensão destas interações é influenciada pelas características dessas moléculas (distribuição e peso molecular, grau e comprimento de ramificações e conformação) e pela proporção amilose e amilopectina, associadas entre si por ligações de hidrogênio, formando áreas cristalinas radialmente ordenadas, presente no grânulo de amido (CIACCO; CRUZ, 1982 ; SINGH et al., 2003).

As áreas cristalinas mantêm a estrutura do grânulo e controlam o comportamento do amido em água, fazendo com que este absorva uma quantidade limitada de água, embora seja constituído por polímeros solúveis ou parcialmente solúveis (CIACCO; CRUZ, 1982). Os grânulos de amido são insolúveis em água fria (VAMADEVAN; BERTOFT, 2015); à temperatura ambiente podem absorver até 30 % do seu peso em água, sem inchar visivelmente (WATERSHOOT et al., 2015). Quando as moléculas de amido são aquecidas em excesso de água, a estrutura semicristalina é desfeita e as moléculas de água são associadas aos grupos hidroxil nas moléculas de amilose e amilopectina, por ligação de hidrogênio. Essa associação permite ao grânulo de amido inchar, aumentar o tamanho e a solubilidade (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015).

O poder de inchamento é uma medida da capacidade de hidratação dos grânulos, porque a sua determinação consiste no peso do grânulo intumescido (inchado) e da água oclusa (MARCON; AVANCINI; AMANTE, 2007). A absorção de água com consequente inchamento do grânulo de amido contribui para a separação de fases de amilose-amilopectina e a perda de cristalinidade, que por sua vez promove a lixiviação da amilose, ou seja, processo de saída da amilose do grânulo através da sua dissolução em água (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015).

No entanto, a alteração no amido, que ocorre principalmente como resultado de métodos de moagem e de isolamento de amido, também influencia o poder de inchamento e a solubilidade. A capacidade de inchamento do amido está diretamente relacionada com o teor de amilopectina, pois a amilose atua como um diluente e inibe o inchamento (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015; VAMADEVAN; BERTOFT, 2015).

Com a entrada de água, grande parte da amilose deixa os grânulos e contribui para o índice de solubilização, determinado após centrifugação do gel de amido, no sobrenadante. A tendência para a saída da amilose está na dependência da conformação do grânulo e no envolvimento deste com as regiões amorfas, constituídas principalmente pela amilopectina (MARCON; AVANCINI; AMANTE, 2007).

A solubilidade do grânulo de amido varia de 3 a 37 %, em temperaturas na faixa de 84 a 95 °C. A lixiviação da amilose se inicia a baixa temperatura (< 70 °C) e a amilopectina é lixiviada em maiores temperaturas (> 90 °C) (WATERSCHOOT et al., 2015). Assim, a avaliação do poder de inchamento e do índice de solubilização contribui para estimar o tipo de organização no interior dos grânulos (MARCON; AVANCINI; AMANTE, 2007).

### **3.3.4 Gelatinização e retrogradação**

As propriedades de gelatinização de amidos estão relacionadas a uma série de fatores incluindo proporção e tipo de cristalinidade, tamanho e estrutura do grânulo (LINDEBOOM; CHANG; TYLER, 2004).

A amilopectina tem um papel principal na cristalinidade dos grânulos de amido que está diretamente relacionada à gelatinização. Altas temperaturas de gelatinização têm sido relatadas como resultantes do alto grau de cristalinidade, que fornece estabilidade estrutural aos grânulos e maior resistência a gelatinização (SINGH et al., 2003).

A amilose reduz o ponto de fusão das regiões cristalinas e a energia para iniciar a gelatinização devido às cadeias longas de amilopectina requererem uma maior temperatura para dissociarem completamente, comparada àquela requerida para cadeias mais curtas das duplas hélices. Assim, amidos com altos conteúdos de amilose têm maior região amorfa, e perdem cristalinidade em temperaturas menores de gelatinização (SINGH et al., 2003).

Durante a gelatinização, a estrutura cristalina do amido é rompida devido à baixa energia das ligações de hidrogênio e das moléculas de água interagirem com os grupos hidroxilas da amilose e da amilopectina, causando um aumento do tamanho dos grânulos e solubilização parcial do amido (HOOVER, 2001).

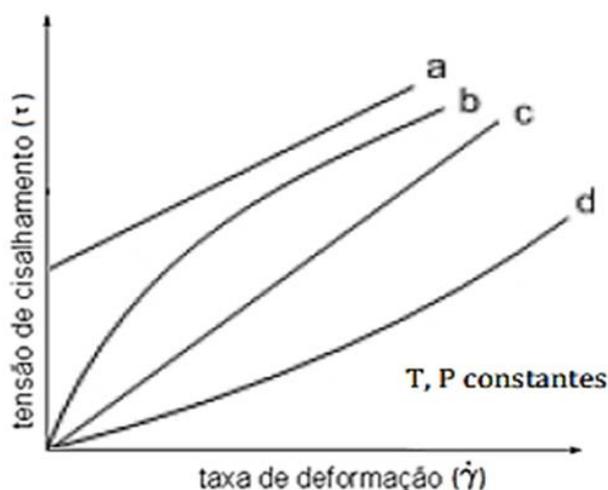
Quando ocorre o resfriamento, alguns polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar, formando um precipitado ou gel levando a um aumento na opacidade da pasta. Este processo é chamado retrogradação ou *setback* (WHISTLER; BEMILLER, 1997).

A retrogradação é um processo de cristalização das moléculas de amido que ocorre pela forte tendência de formação de ligações de hidrogênio entre moléculas adjacentes. A associação das moléculas do amido propicia o desenvolvimento de uma rede tridimensional mantida coesa pelas áreas cristalinas. Esta rede é formada por grânulos de amido parcialmente inchados e componentes do amido em solução. A formação desta rede durante o resfriamento resulta no aparecimento de gel (HOOVER, 2001). Com o tempo, este gel formado tem a tendência de liberar água. Esta liberação de água é conhecida como sinérese e é comumente encontrada em alguns produtos como molhos em geral (CEREDA, 2002).

### 3.3.5 Propriedades reológicas do amido

Para o controle das propriedades reológicas finais de produtos alimentícios à base de amido, é necessário ter conhecimento da influência da temperatura e seus efeitos no comportamento reológico do amido nas diferentes etapas do processo (LAGARRIGUE; ALVAREZ, 2001).

Os géis de amido são fluidos não newtonianos (Figura 8) que podem exibir uma tensão de cisalhamento inicial a baixas taxas de deformações (RAO; OKECHUKWU; OLIVEIRA, 1997).



**Figura 8.** Relação entre a tensão cisalhante ( $T_c$ ) e a taxa de deformação ( $D$ ) no fluido plástico de Bingham (a), pseudoplástico (b), newtoniano (c) e dilatante (d).

Fonte: Fagundes et al. (2014).

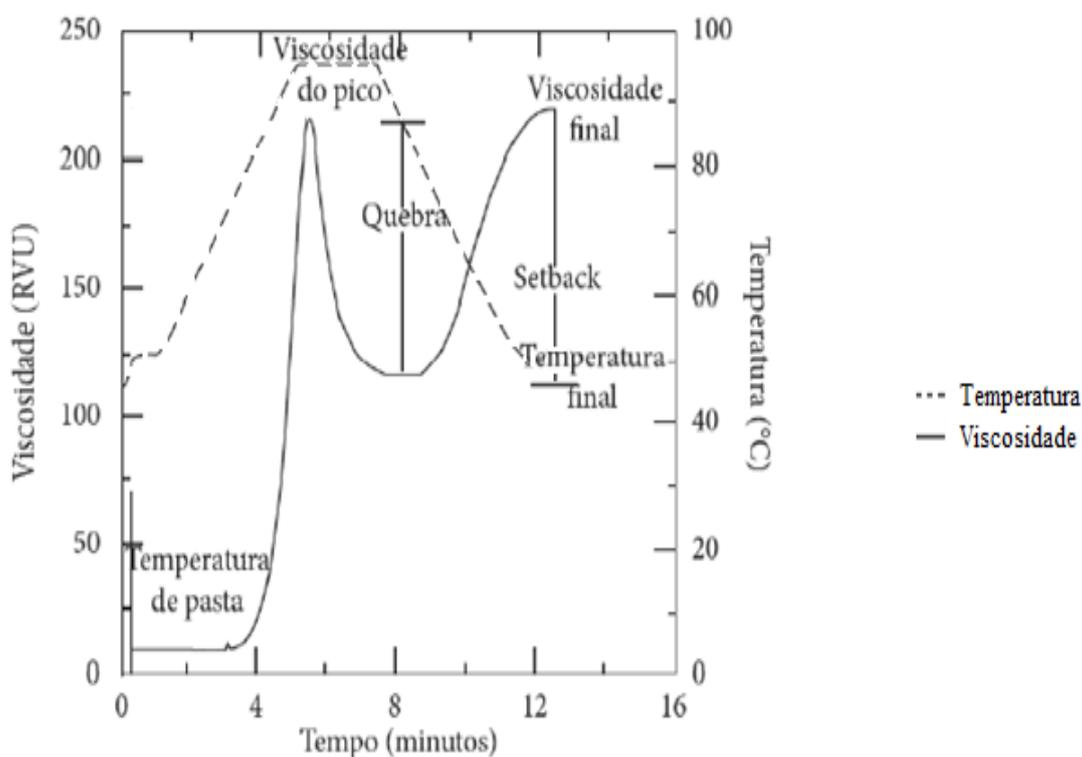
A viscosidade nesses fluidos muda quando a taxa de cisalhamento é variada. Portanto, os parâmetros experimentais de um viscosímetro rotativo terão efeito sobre a viscosidade medida de um fluido não newtoniano. Essa viscosidade medida é chamada de “viscosidade aparente” do fluido e é real somente quando parâmetros experimentais explícitos são definidos (SILVA, 2016).

As propriedades reológicas do amido são estudadas através do comportamento das curvas de viscosidade, os quais são influenciados pela temperatura, concentração e tensão de cisalhamento. As alterações na viscosidade dependem da concentração da suspensão de amido e pode ser medida com um *Rapid Visco Analyser* (RVA), que descreve a viscosidade em função da temperatura e do tempo pela propriedade de pasta (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015; WATERSCHOOT et al., 2015; SINGH et al., 2003).

As características do amido nativo, os efeitos das modificações físicas ou químicas dos grânulos, os parâmetros do processo, a presença de outros compostos no amido e as fontes botânicas são fatores críticos que regem o comportamento e as características da pasta do amido (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015).

De acordo com Cereda (2002), a gelatinização dos grânulos e a consequente formação de pasta dependem de vários fatores, como o tipo de amido, a concentração da dispersão, a temperatura utilizada e a intensidade de cisalhamento durante o aquecimento.

As pastas de amidos que contêm teores relativamente elevados de amilose se tornam opacas e formam géis durante o resfriamento. Pastas obtidas de féculas de batata ou de mandioca, por outro lado, geralmente permanecem mais claras (menos opacas) e, embora ao resfriarem apresentem certo aumento de viscosidade, não chegam a formar géis opacos. No caso de pastas de amido ceroso, as mesmas se comportam como as obtidas de féculas, tendo inclusive menor tendência à retrogradação (SILVA et al., 2006). O perfil de empastamento de amidos obtidos pelo RVA (Figura 9) inclui variáveis para determinação de pico de viscosidade, tempo para atingir este pico, quebra, viscosidade final e temperatura de pasta (THOMAS; ATWELL, 1999).



**Figura 9.** Curva de viscosidade típica do RVA.

Fonte: Newport Scientific (1998).

Durante a fase inicial de aquecimento, um aumento na viscosidade é registrado no RVA quando os grânulos começam a inchar. Neste ponto, polímeros com menor massa molecular, particularmente moléculas de amilose, começam a ser lixiviadas dos grânulos. Um pico de viscosidade é obtido durante o empastamento, quando os grânulos, em sua maioria, estão totalmente inchados, havendo também grânulos intactos e o alinhamento molecular dos polímeros solubilizados.

Durante a temperatura aproximada de 95 °C e agitação constante os grânulos começam a quebrar, a solubilização dos polímeros continua e o alinhamento molecular ocorre dentro do campo de atrito do instrumento, causando uma diminuição da viscosidade (THOMAS; ATWELL, 1999).

Ao ocorrer resfriamento, alguns polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar, formando um precipitado ou gel ocorrendo um aumento na opacidade da pasta. Este processo é chamado retrogradação ou *setback* (WHISTLER; BEMILLER, 1997) e ocorre aumento da viscosidade.

Dependendo do tipo de amido (da fonte botânica, ou se é um amido natural ou modificado), do nível de sólidos, do pH e do regime de aquecimento, vários perfis de gelatinização e empastamento podem ser gerados (THOMAS; ATWELL, 1999).

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

A partir da pré-seleção de 47 amidos, selecionar e caracterizar amidos de mandioca com propriedades de pasta semelhantes aos amidos de referência do tipo ceroso (*waxy*) 7734-7WX e 7745-5WX.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Determinar as propriedades reológicas das suspensões em analisador rápido de viscosidade (RVA);
- Selecionar amostras por meio de análises estatísticas;
- Determinar a morfologia dos amidos por microscopia eletrônica de varredura e microscopia ótica com luz polarizada;
- Determinar o perfil cristalinidade relativa;
- Determinar a distribuição da cadeia ramificada da amilopectina;
- Determinar o poder de inchamento do amido e índice de solubilidade.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Local de Execução

As análises foram realizadas na Embrapa Agroindústria de Alimentos: Laboratórios de Propriedades Físicas da planta piloto IV e no Laboratório de Cereais da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de São José do Rio Preto, SP.

### 5.2 Materiais

A partir de avaliações preliminares, utilizando os dados de leitura de viscosidade de pasta de 883 amostras de amido de mandioca extraídas de plantas cultivadas entre 2013 a 2016 no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA); foram selecionadas através da Análise de Componentes Principais (ACP) 106 amostras que mais se aproximaram com as amostras de amido do tipo ceroso, 7734-7WX e 7745-5WX.

A Análise de Componentes Principais indicou 106 amostras com características procuradas, as quais foram plantadas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura. Deste total, 47 genótipos resultaram em colheita das raízes que foram utilizadas para a extração do amido.

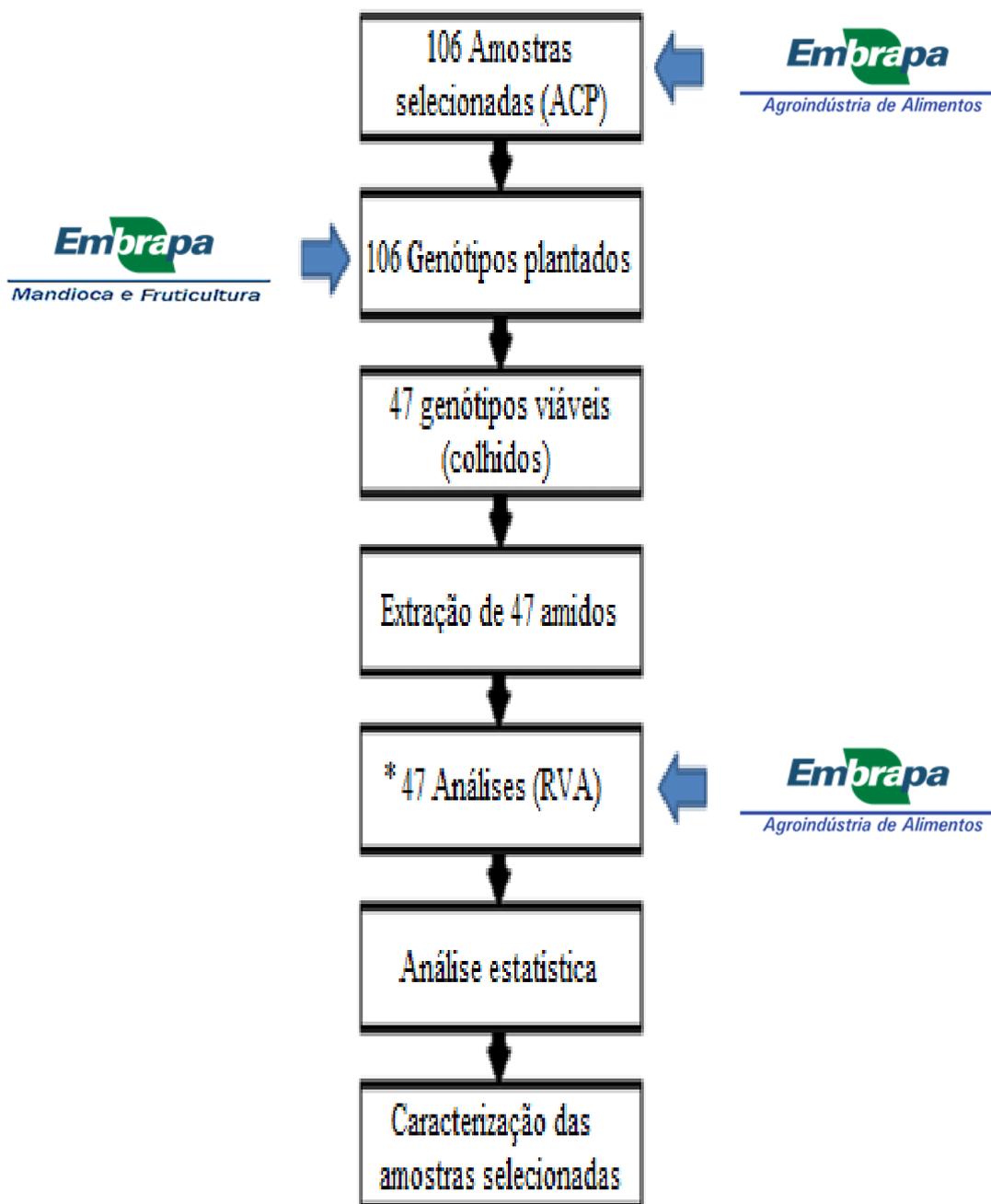
A extração do amido, realizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura consistiu, após higienização, no corte das raízes de mandioca em pedaços menores para facilitar a etapa de trituração, em liquidificador com hélice não cortante, durante 1 minuto na proporção de 1:1 (500 g de mandioca picada para 500 mL de água gelada). Posteriormente, o material foi filtrado em peneira de 150 mesh (poro da peneira de 0,105 mm), com auxílio de um pano “voil” (Figura 10).



**Figura 10.** Etapa de filtração do processo de extração do amido de mandioca.

A suspensão do amido recuperado, foi mantida em câmara fria a 5 °C durante 12 horas, para decantação do amido. Após as 12 horas, o sobrenadante foi descartado, sendo lavado o amido com álcool etílico PA. O amido foi seco em estufa com circulação de ar forçado a 40 °C para obtenção de umidade entre 10 a 12 %, sendo triturados, apenas o suficiente para quebrar o amido.

Após obtenção dos amidos, foi realizada a análise em RVA e segunda análise estatística para caracterização das amostras (Figura 11).



**Figura 11.** Esquema do desenvolvimento do projeto, tendo início a partir da realização das \*47 Análises em RVA.

Visando uma maior comparação de resultados, a amostra de amido ceroso de milho (*waxy maize*, denominada como WX-Milho) doada, gentilmente, pela *Ingredion* (Mogi Mirim, SP) foi analisada, juntamente com as amostra de amido de milho comercial e comparada com as demais amostras de amido de mandioca.

## 5.3 Métodos

### 5.3.1 Determinação de propriedades de pasta

As propriedades de pasta para as amostras de amido foram determinadas utilizando um analisador rápido de viscosidade RVA 4 (*Newport Scientific*, Sidney, Austrália) e o *software Thermocline for Windows*. A análise foi realizada utilizando 3,0 g ( $\pm 0,1$  g) de amido (*ma*) e 25,0 g ( $\pm 0,1$  g) de água destilada (*mw*), ajustando a umidade (U) para 14 % base úmida, segundo Equação 1 e 2.

$$ma = \frac{3 \times 86}{100 - U} \quad \text{Equação (1)}$$

$$mw = 25 + (3 - ma) \quad \text{Equação (2)}$$

O padrão de análise utilizado foi *Standard I analysis profile*, sendo as amostras mantidas a 50 °C por 1 min, aquecidas até 95 °C até 4 min 42 s e mantidas nesta temperatura até 7 min 12 s, resfriadas a 50 °C até 11 min e mantidas nesta temperatura, até o total de 13 minutos de análise. As amostras foram homogeneizadas à 960 rpm por 10 segundo inicialmente e até o final da análise à 160 rpm.

A viscosidade foi expressa em cP (centipoise) (1 cP = 1 mPa.s). Os parâmetros considerados foram:

- a) Temperatura de inicial de formação de pasta: correspondente ao ponto onde se inicia a formação da curva;
- b) Viscosidade máxima ( $V_{Máx}$ ): é o valor da viscosidade no ponto máximo da curva, obtido durante o ciclo de aquecimento, expresso em cP;
- c) Viscosidade mínima, menor valor da viscosidade após ter atingido a temperatura constante 95 °C ( $V_{Min}$ );
- d) Quebra da viscosidade (*breakdown*) é a diferença entre a viscosidade máxima e a viscosidade mínima a 95 °C;
- e) Viscosidade máxima no resfriamento é maior valor da viscosidade após redução da temperatura após 95 °C;
- f) Tendência à retrogradação (TR) ou *Setback*: é a diferença entre o menor valor de viscosidade mínima durante a manutenção à 95 °C e a viscosidade final;
- g) Viscosidade final no ciclo de resfriamento ( $V_{Final}$ ) é o valor da viscosidade em cP, ao final da análise (a 50 °C);
- h) Viscosidade máxima a “frio” é o valor máximo de viscosidade até 50 °C antes de iniciar o aquecimento.

### **5.3.2 Análise estatística**

Utilizando os resultados da análise de propriedade de pasta de 47 genótipos viáveis na colheita, foi realizada a segunda análise estatística para a determinação das amostras que mais se aproximavam ao perfil das amostras de referência 7745-5WX, 7734-7WX e amido ceroso de milho (WX-Milho). Foi utilizado o *Software R*, (versão 3.2.4, Califórnia, USA), método denominado *NbClust package* (2015), que consiste na determinação da escolha das amostras por 30 diferentes métodos estatísticos para a determinação do grupo com o perfil mais próximo das amostras cerosas de referência, sendo considerada as variáveis de temperatura inicial de pasta, viscosidade máxima, viscosidade mínima no resfriamento, break down, viscosidade máxima no resfriamento, setback, viscosidade final e viscosidade máxima no frio, totalizando 8 variáveis.

### **5.3.3 Caracterização dos amidos**

#### **5.3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura**

Na determinação das morfologias dos amidos, com umidades padronizadas em dissesecador contendo sílicas em gel, estes foram dispostos em um porta amostra com fita carbono dupla face e sob vácuo foi analisado por meio de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) TM 3000 (Hitachi, Tóquio, Japão) a 15 kV, de aceleração, 1750 mA de corrente, com 1500X de ampliação, sendo as imagens determinadas em software TM 3000S (Hitachi, Tóquio, Japão).

#### **5.3.3.2 Microscopia óptica**

Uma pequena quantidade do amido foi colocada sobre uma lâmina histológica e imersa em uma gota de água destilada, recobertos com uma lamínula, observados e fotografados com um aumento total de 400 X, em microscópio óptico Leitz Laborlux S (Leica, Farnalício, Portugal), com polarização, sendo analisada a morfologia dos grânulos de amido e a birrefringência (presença da “cruz de Malta” nos grânulos). As imagens coletadas foram registradas por câmera digital (MShot, Guangzhou, China) acoplada a lente ocular do microscópio óptico.

#### **5.3.3.3 Cristalinidade relativa**

A determinação do perfil de difração foi realizada em um difrator de raios-X D2 Phaser (Bruker AXS, Rheinfelden Alemanha) que operou com diferença de potencial máxima e igual a 40 kW, corrente elétrica de 30 mA, utilizando radiação gerada a um comprimento de onda de 0,154 nm, ângulo de difração  $2\Theta$ , no intervalo de 2 a 32°, segundo Hayakawa et al. (1997). A cristalinidade foi determinada utilizando-se o software Diffrac.Eva V3.2 (Bruker AXS, Rheinfelden Alemanha) para as análises dos amidos com as umidades padronizadas.

#### **5.3.3.4 Distribuição do comprimento da cadeia ramificada da amilopectina**

O perfil de distribuição do comprimento da cadeia ramificada da amilopectina foi analisado por cromatografia de troca aniônica de alto desempenho com amperometria pulsada como detecção (HPAEC-PAD) (ICS 3000, Dionex Corporation, Sunnyvale, EUA).

O amido nativo de mandioca e amido *waxy* de milho comercial foram inicialmente desengordurado após o procedimento proposto por Jane e Chen (1992). Os amidos (50 mg) foram dispersos em 5 mL de sulfóxido de dimetila (DMSO) (90%, v/v). A dispersão foi mantida em banho fervente com agitação durante 1 h e, em seguida, à temperatura ambiente por 16 h. Uma alíquota de 0,5 mL foi homogeneizada com 2 mL de etanol absoluto e centrifugada a 1200 g por 10 min.

O precipitado seguiu o procedimento descrito por Wong e Jane (1995), para desengorduramento. Posteriormente, adicionou-se 1,8 mL de água ultrapura (18 MΩ / cm) a 5 mg de amido desengordurado e a solução foi agitada em banho de água a ferver durante 30 min. Após o resfriamento a temperatura ambiente, 4 µL (10%, p / v) de solução de azida, 0,2 mL de tampão de acetato (0,1 M, pH 3,5) e 3 µL de isoamilase (Megazyme, 3U) foram adicionados à dispersão.

A suspensão foi incubada a 40 ° C com rotação a 100 rpm durante 16 h, sendo ajustada para pH 6,5 com 20 µL de NaOH 1 M e 30 µL de NaOH 0,1 M, posteriormente, foi colocada em banho-maria em ebulição por 15 minutos para inativar a enzima antes de ser arrefecida até a temperatura ambiente.

As amostras foram então filtradas em filtro Milipore (0.22 µm), e 20 µL de alíquotas foram injetadas em coluna CarboPac PA-200 (250 x 3 mm) no sistema HPAEC-PAD. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Cereais da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de São José do Rio Preto, SP.

### 5.3.3.5 Poder de inchamento e índice de solubilidade

Os amidos foram caracterizados quanto ao poder de inchamento e índice de solubilidade, segundo o método descrito por de Tsai, Li e Lii (1997), com algumas modificações, em triplicata, para todos os ensaios. O procedimento consistiu em pesar em balança digital uma massa (m) de 0,5 g (± 0,0005 g) em base seca modelo AG204 (Mettler Toledo GmbH, Greifensee, Suíça), modificando o método de Tsai, Li e Lii (1997) em tubos de centrífuga, previamente tarados. Foram adicionados 10 mL de água destilada e o material foi homogeneizado com agitador tipo Vortex Genie 2 (Scientific Industries Inc, Bohemia, NY, EUA).

Posteriormente, os tubos foram aquecidos a 60, 70, 80 e 90 °C, com agitação, durante 1 hora, em um agitador horizontal mecânico tipo Bath Shaker, (Eberbach, Ann Arbor, Michigan, USA). Após este período os tubos permaneceram em banho de água gelada e posteriormente foram centrifugados (8000 x g) por 20 min. Universal 320R (Hettich, Tuttlingen, Alemanha).

O líquido sobrenadante obtido após a centrifugação foi vertido sobre cadinho previamente tarado, e seco em estufa com circulação de ar a 105 °C por 4 h. Os cadinhos foram transferidos para um dessecador por 30 min para resfriar e atingir a temperatura ambiente e, em seguida foram pesadas para calcular o peso dos sólidos solúveis no sobrenadante (P<sub>1</sub>) e o material aderido ao tubo foi pesado (P<sub>s</sub>).

O Índice de solubilidade em água (ISA) e Poder de Inchamento (PI) foram calculados utilizando as Equações 3 e 4, respectivamente.

$$ISA = \frac{P_1}{0,5} \times 100\% \quad \text{Equação (3)}$$

$$PI = \frac{P_s}{[0,5(100\% - ISA)]} \quad (\text{g/g}) \quad \text{Equação (4)}$$

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Determinação de Propriedades de Pasta

As leituras do perfil de viscosidade de pasta, de 47 genótipos de amido de mandioca e 1 amido ceroso de milho (WX-Milho) estão dispostas na Tabela 2, quanto aos parâmetros de temperatura inicial de pasta, viscosidade máxima, viscosidade mínima no resfriamento, break down, viscosidade máxima no resfriamento, setback, viscosidade final e viscosidade máxima no frio, totalizando 8 variáveis.

**Tabela 2.** Resultados obtidos no RVA.

(continua)

Amostra	Temp. Inicial de Pasta (°C)	Visc. Máx.	Visc. Mín. Resf.	Break down	Visc. Máx. Resf.	Setback	Visc. Final	Visc Máx "frio"
BGM0036	69,8	3775,5	1375,0	2400,5	2275,0	900,0	2275,0	42,5
BGM0037	69,8	3871,0	1504,0	2367,0	2741,0	1237,0	2728,5	14,0
BGM0080	71,1	3859,0	1460,0	2399,0	2617,0	1157,0	2604,5	21,0
BGM0083	70,2	3916,0	1278,0	2638,0	2114,5	836,5	2114,5	9,5
BGM0087	67,8	3758,5	1383,5	2375,0	2211,0	827,5	2206,5	47,0
BGM0120	69,8	4915,0	1791,0	3124,0	3043,0	1252,0	2984,0	43,5
BGM0288	70,2	3795,0	1400,5	2394,5	2601,0	1200,5	2590,0	10,5
BGM0364	72,8	3645,5	1465,0	2180,5	2606,0	1141,0	2580,5	14,0
BGM0368	71,1	4365,5	1623,5	2742,0	2894,0	1270,5	2891,5	15,5
BGM0380	73,2	3794,0	1366,0	2428,0	2380,5	1014,5	2380,5	84,5
BGM0489	69,0	5109,0	1857,0	3252,0	3376,0	1519,0	3328,5	38,0
BGM0557	70,12	3944,5	1448,0	2496,5	2741,0	1293,0	2734,0	40,0
BGM0561	69,8	4575,5	2018,5	2557,0	3172,0	1153,5	3116,5	85,0
BGM0575	69,4	5042,0	1828,0	3214,0	3237,5	1409,5	3152,5	83,0
BGM0591	67,8	5450,0	1965,0	3485,0	3204,5	1239,5	3172,0	31,0
BGM0914	70,2	4196,0	1490,5	2705,5	2330,5	840,0	2330,5	37,5
BGM0934	68,5	5141,5	1786,0	3355,5	2574,5	788,5	2569,5	84,5
BGM0962	67,8	4506,0	1514,0	2992,0	2245,0	731,0	2236,0	65,0
BGM0975	69,4	3848,0	1064,5	2783,5	1460,0	395,5	1452,0	72,0
BGM0995	68,5	4187,0	1586,5	2600,5	2157,0	570,5	2136,5	34,5
BGM0996	68,1	3696,5	1242,0	2454,5	1746,5	504,5	1736,5	16,0
BGM1044	69,0	5145,5	1939,5	3206,0	3331,0	1391,5	3285,0	61,5
BGM1103	71,1	4123,0	1656,0	2467,0	2709,0	1053,0	2698,5	15,0
BGM1134	67,0	5891,5	2290,0	3601,5	3565,0	1275,0	3520,0	73,5
BGM1142	69,0	5393,0	1862,5	3530,5	2662,5	800,0	2657,0	19,0
BGM1158	64,1	6390,0	2652,0	3738,0	3658,0	1006,0	3527,0	13,0
BGM1265	69,0	4538,5	1593,0	2945,5	2310,5	717,5	2294,5	74,5
BGM1291	69,4	4944,0	1818,5	3125,5	3139,0	1320,5	3108,5	53,5
BGM1335	70,6	4109,0	1627,5	2481,5	2624,0	996,5	2617,0	9,0
BGM1358	67,8	5754,0	2071,5	3682,5	3321,0	1249,5	3259,5	51,5

**Tabela 2.** Resultados obtidos no RVA.

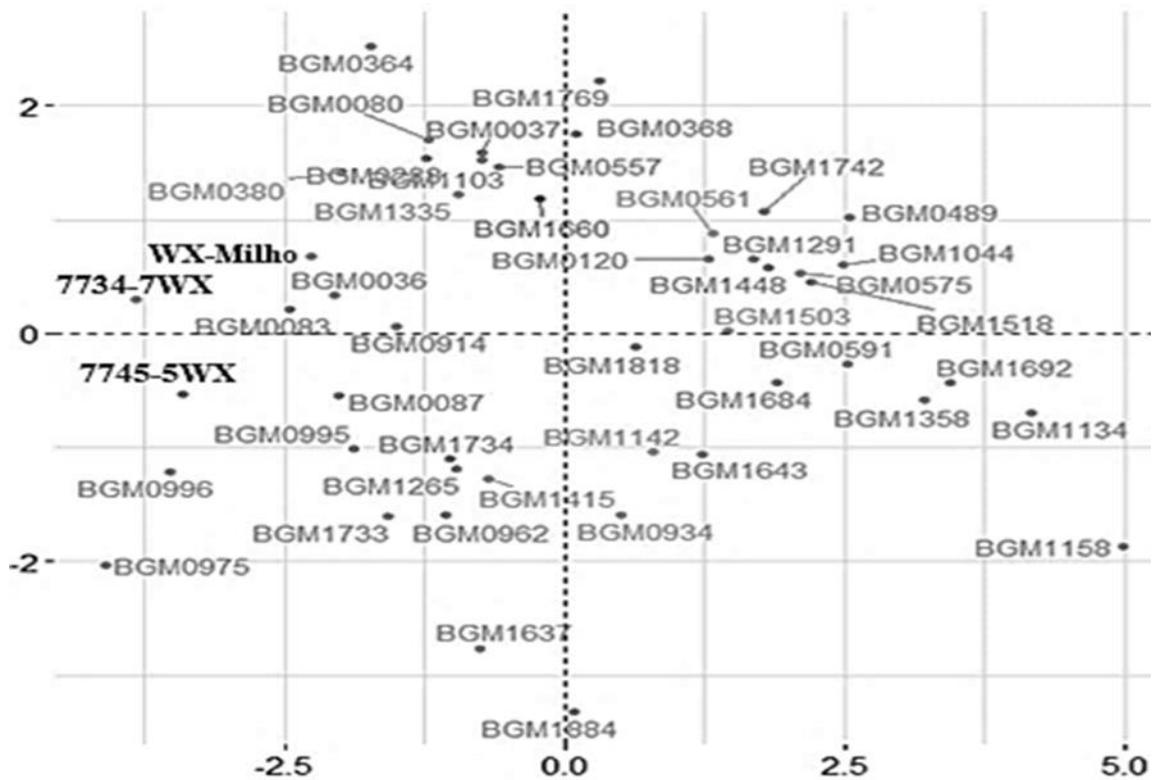
(continuação)

Amostra	Temp. Inicial de Pasta (°C)	Visc. Máx.	Visc. Mín. Resf.	Break down	Visc. Máx. Resf.	Setback	Visc. Final	Visc. Máx. "frio"
BGM1415	69,0	4676,0	1764,0	2912,0	2383,5	619,5	2359,5	71,0
BGM1448	69,8	5051,0	1763,5	3287,5	3159,5	1396,0	3058,0	71,0
BGM1503	69,0	4957,5	1713,0	3244,5	3004,5	1291,5	2975,0	77,0
BGM1518	68,5	4990,0	2168,5	2821,5	3319,5	1151,0	3229,5	56,0
BGM1637	66,6	4966,5	1566,0	3400,5	2137,0	571,0	2122,0	52,0
BGM1643	68,1	5284,5	1839,0	3445,5	2800,5	961,5	2779,0	50,0
BGM1660	67,8	3705,0	1593,5	2111,5	2902,0	1308,5	2826,0	43,0
BGM1684	68,9	5438,0	1975,0	3463,0	3022,0	1047,0	2998,5	43,0
BGM1692	67,8	5879,5	1981,5	3898,0	3361,0	1379,5	3277,0	19,0
BGM1733	67,8	4393,5	1470,0	2923,5	2125,5	655,5	2106,5	48,0
BGM1734	68,1	4515,0	1688,5	2826,5	2323,5	635,0	2313,5	28,0
BGM1742	69,0	4777,5	2193,5	2584,0	3308,5	1115,0	3221,0	23,5
BGM1769	71,5	4020,0	1979,5	2040,5	3128,5	1149,0	3085,5	64,0
BGM1818	69,8	4904,0	1741,5	3162,5	2784,0	1042,5	2772,0	64,0
BGM1884	67,0	5707,0	1349,5	4357,5	2132,5	783,0	2110,5	49,5
7734-7WX	70,2	3143,0	1348,5	1794,5	1941,0	592,5	1865,5	43,5
7745-5WX	67,8	3151,5	1568,5	1583,0	2002,0	433,5	1945,0	45,5
WX-Milho	72,8	4088,0	1657,5	2430,5	2269,0	611,5	2154,0	41,5

Devido a grande quantidade de resultados a serem analisados simultaneamente relacionados à propriedade de pasta, utilizou-se a análise estatística para esta avaliação.

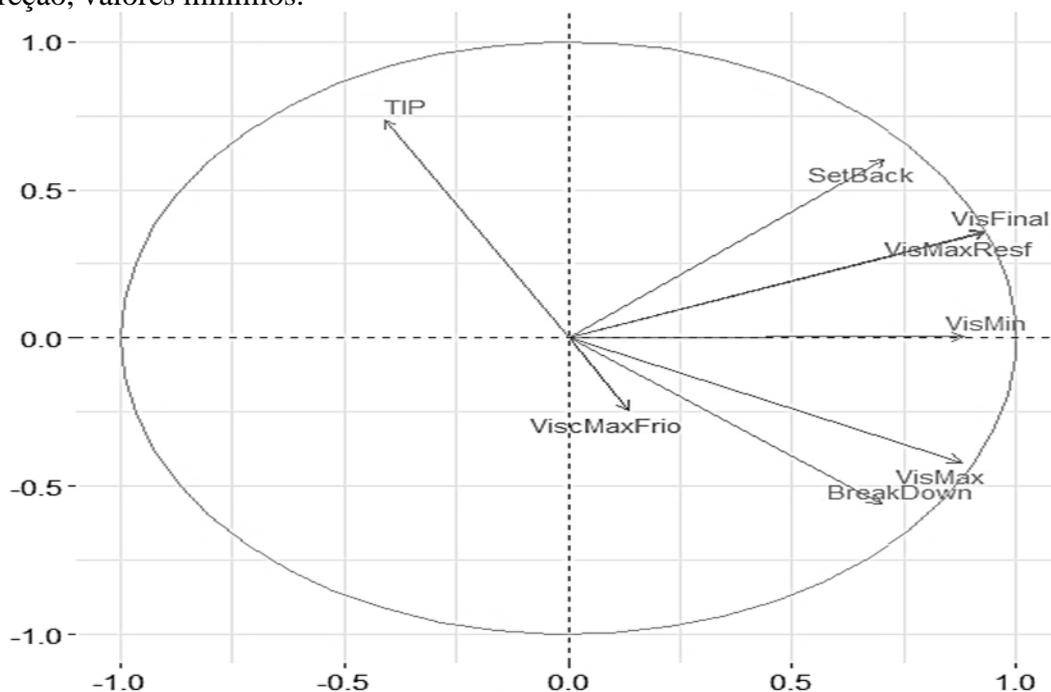
## 6.2 Análise Estatística

Para a análise estatística, por meio do uso do *Software R*, os valores da Tabela 02 foram normalizados, objetivando a comparação das 8 variáveis (temperatura inicial de pasta, viscosidade máxima, viscosidade mínima no resfriamento, break down, viscosidade máxima no resfriamento, setback, viscosidade final e viscosidade máxima no frio), em uma mesma escala para posterior Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando-se o programa R, visando à elaboração da estratificação dos genótipos de amido de mandioca e milho (Figura 12).



**Figura 12.** Análise de Componentes Principais dos genótipos de amido de mandioca e milho.

A distribuição das amostras da Figura 12 em quadrantes, pode ser melhor compreendida através dos vetores da Figura 13, cujas setas demonstrando as regiões com valores máximos das variáveis, assim como sentido contrário as setas, na mesma direção, valores mínimos.



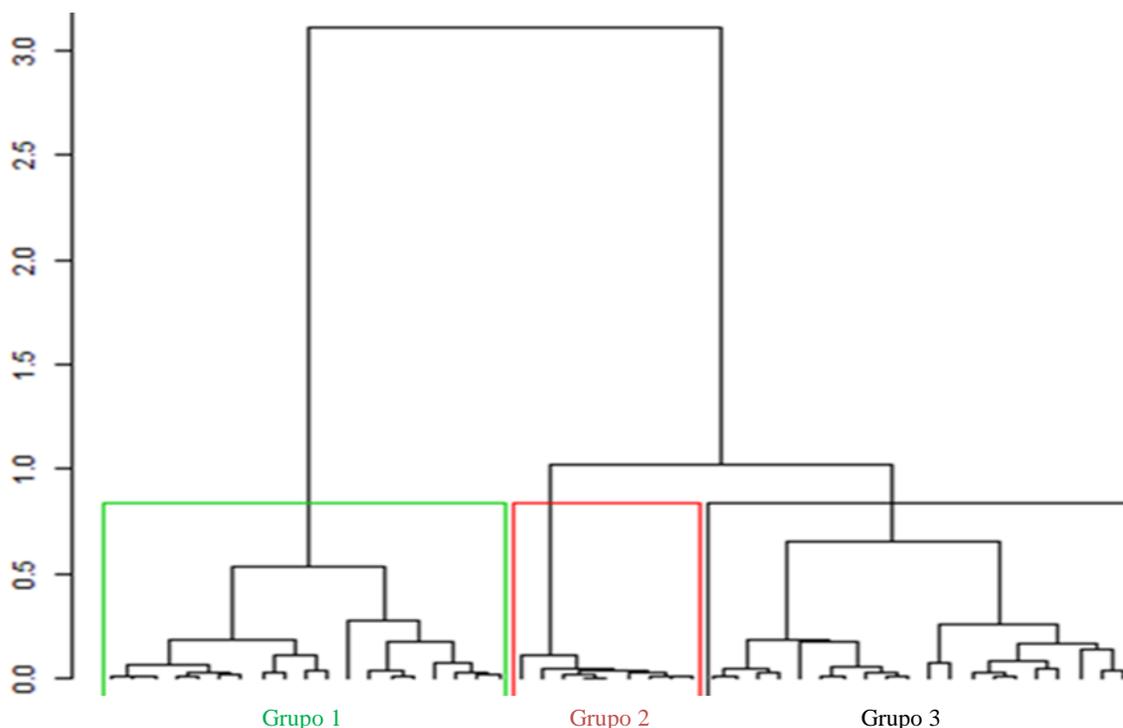
**Figura 13.** Comportamento das variáveis (temperatura inicial de pasta, viscosidade máxima, viscosidade mínima, break down, viscosidade máxima de resfriamento, setback, viscosidade final e viscosidade máxima de frio).

As amostras analisadas possuem diferenças de viscosidade de pasta em seus grânulos, que resultam em divisões de características de viscosidade, permitindo agrupá-las. Assim, para extrair informações úteis dos materiais caracterizados, emprega-se o sistema aplicativo para análise multivariada de dados, através da determinação de componentes principais (ACP) (FUKUSAKI; KOBAYASHI, 2005).

Estas aproximações analíticas podem permitir a caracterização das relações das amostras (scores dos planos ou eixos). A análise de componentes principais (ACP) vem sendo utilizada de forma eficaz em muitos estudos como uma técnica de redução de dados, uma vez que preserva a variância total mínima e também é utilizada como um meio de identificar domínios de dados (MALINOWSKI, 1991; JOLLIFFE, 2002).

Para suprir a divergência na escolha das amostras, foi utilizado o método de determinação de melhor número de grupos (*NbClust package*) na escolha da divisão de grupos para a determinação das amostras que mais se aproximavam das referências 7734-7WX e 7745-5WX, e posterior caracterização, que consiste na determinação do número destes grupos por 30 diferentes métodos estatísticos.

Baseado no método *NbClust package* foi proposta a divisão por 3 grupos. Utilizou-se a análise de Dendograma do programa R, para a divisão de 3 grupos na elaboração desta estratificação (Figura 14) das amostras que mais se aproximavam das referências 7734-7WX e 7745-5WX.



**Figura 14.** Dendograma com divisão das amostras em 3 grupos.

A divisão em grupos dos 47 amidos, sendo dois amidos cerosos de mandioca e um amido ceroso de milho, permitiu a formação dos três grupos, conforme Tabela 3, possibilitando a determinação da escolha de 20 amostras (Grupo 3), sendo estas as mais próximas das amostras de referência (7734-7WX e 7745-5WX). Para caracterização dos amidos, também foi analisada a amostra de milho comercial como mais um parâmetro de caracterização, totalizando 21 amostras. Exceto para análise de Distribuição do Comprimento da Cadeia Ramificada da Amilopectina, sendo utilizada a escolha de 9 amostras, devido ao alto custo da análise.

**Tabela 3.** Divisão das amostras em três grupos.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
BGM1503	BGM1660	BGM1265
BGM1448	BGM0364	BGM1415
BGM0575	BGM0368	BGM0934
BGM0120	BGM1335	BGM1818
BGM1291	BGM1103	BGM1884
BGM1044	BGM0557	BGM0995
BGM0489	BGM0080	BGM1734
BGM1742	BGM0288	BGM1637
BGM1518	BGM0037	BGM1733
BGM1769		BGM0962
BGM0561		<b>WX-Milho</b>
BGM1158		BGM0380
BGM1142		BGM0087
BGM1643		BGM0036
BGM1684		BGM0914
BGM1134		BGM0996
BGM1692		BGM0083
BGM0591		BGM0975
BGM1358		<b>7734-7WX</b>
		<b>7745-5WX</b>
19 amostras	9 amostras	20 amostras

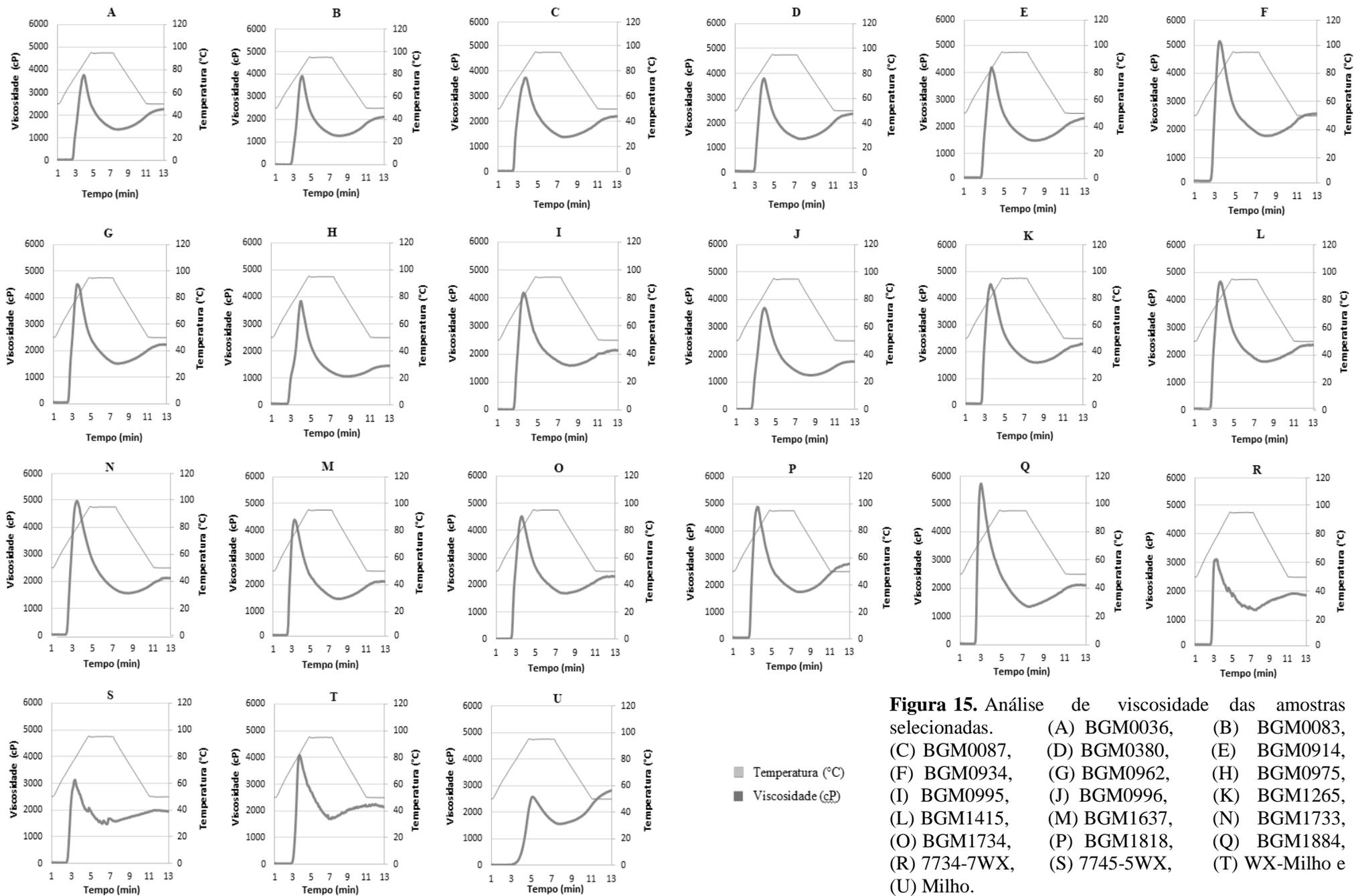
Para a determinação das amostras para a análise de distribuição do comprimento de cadeia ramificada da amilopectina foi utilizada a análise de Dendograma do programa R, com divisão de 5 grupos (Tabela 4), Sendo assim, foi escolhido o Grupo 3, por este conter as amostras mais próximas das referências (7734-7WX e 7745-5WX), sendo analisadas todas as amostras deste grupo, exceto a amostra 7734-7WX.

**Tabela 4.** Divisão das amostras em cinco grupos.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
BGM0557	BGM0962	BGM0036	BGM0120	BGM0591
BGM1103	BGM1142	BGM0087	BGM0489	BGM1158
BGM1335	BGM1733	BGM0914	BGM1818	BGM1358
BGM1660	BGM1734	BGM0995	BGM1742	BGM1692
BGM0037	BGM0934	BGM0996	BGM0561	BGM1134
BGM0080	BGM1265	BGM0083	BGM0575	
BGM0288	BGM1415	BGM0975	BGM1044	
BGM0364	BGM1637	<b>7734-7WX</b>	BGM1291	
BGM0368	BGM1884	<b>7745-5WX</b>	BGM1448	
BGM0380		<b>WX-Milho</b>	BGM1503	
BGM1769			BGM1518	
			BGM1643	
			BGM1684	
11 amostras	9 amostras	10 amostras	13 amostras	5 amostras

### 6.3 Propriedade de Pasta das Amostras Seleccionadas

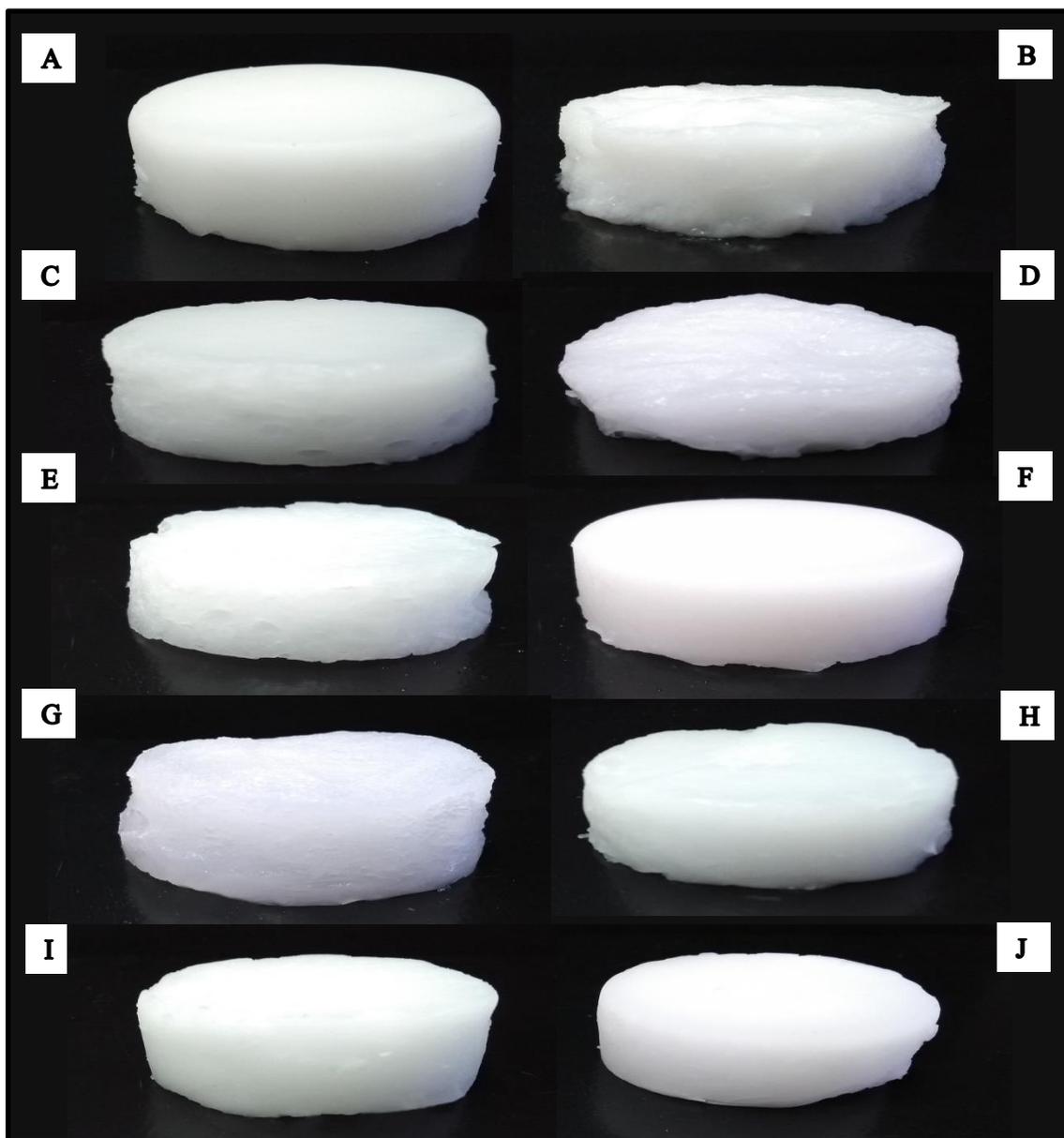
As curvas de viscosidade de pasta das amostras seleccionadas, dos amidos cerosos e amido de milho comercial estão dispostas na Figura 15.



**Figura 15.** Análise de viscosidade das amostras selecionadas. (A) BGM0036, (B) BGM0083, (C) BGM0087, (D) BGM0380, (E) BGM0914, (F) BGM0934, (G) BGM0962, (H) BGM0975, (I) BGM0995, (J) BGM0996, (K) BGM1265, (L) BGM1415, (M) BGM1637, (N) BGM1733, (O) BGM1734, (P) BGM1818, (Q) BGM1884, (R) 7734-7WX, (S) 7745-5WX, (T) WX-Milho e (U) Milho.

Em relação à característica do gel e à viscosidade final, o amido de milho normal se caracteriza pela formação de um gel opaco com maior consistência, sendo bastante utilizado em sopas desidratadas e molhos que requerem viscosidade (PARKER; RING, 2001). Esta afirmação esteve de acordo com o maior valor de viscosidade final (2823.5 cP) encontrado comparado às amostras selecionadas (Tabela 2).

Neste sentido, as amostras que obtiveram menores resultados de viscosidade final foram BGM0975, 7734-7WX, BGM0996, 7745-5WX, BGM1733, BGM1884, BGM0083, BGM1637, BGM0995 e WX-Milho respectivamente (Figura 16).



**Figura 16.** Géis de amidos selecionados. (A) BGM0975, (B) 7734-7WX, (C) BGM0996, (D) 7745-5WX, (E) BGM1733, (F) BGM1884, (G) BGM0083, (H) BGM1637, (I) BGM0995 e (J) WX-Milho.

Os géis feitos com esses amidos são fracos, altamente viscosos no cozimento e claros, indicando aplicações que requerem estas características, como agente espessante de baixa retrogradação no preparo de sopas, cremes e bebidas, sem a necessidade de modificações químicas e geração de maiores resíduos.

Pastas obtidas de amido de mandioca permaneceram mais claras (menos opacas) e, embora no resfriamento apresentem baixo aumento de viscosidade final, não formaram géis opacos. No caso de pastas de amido ceroso de milho, as mesmas se comportam como as obtidas de féculas, tendo inclusive menor tendência à retrogradação.

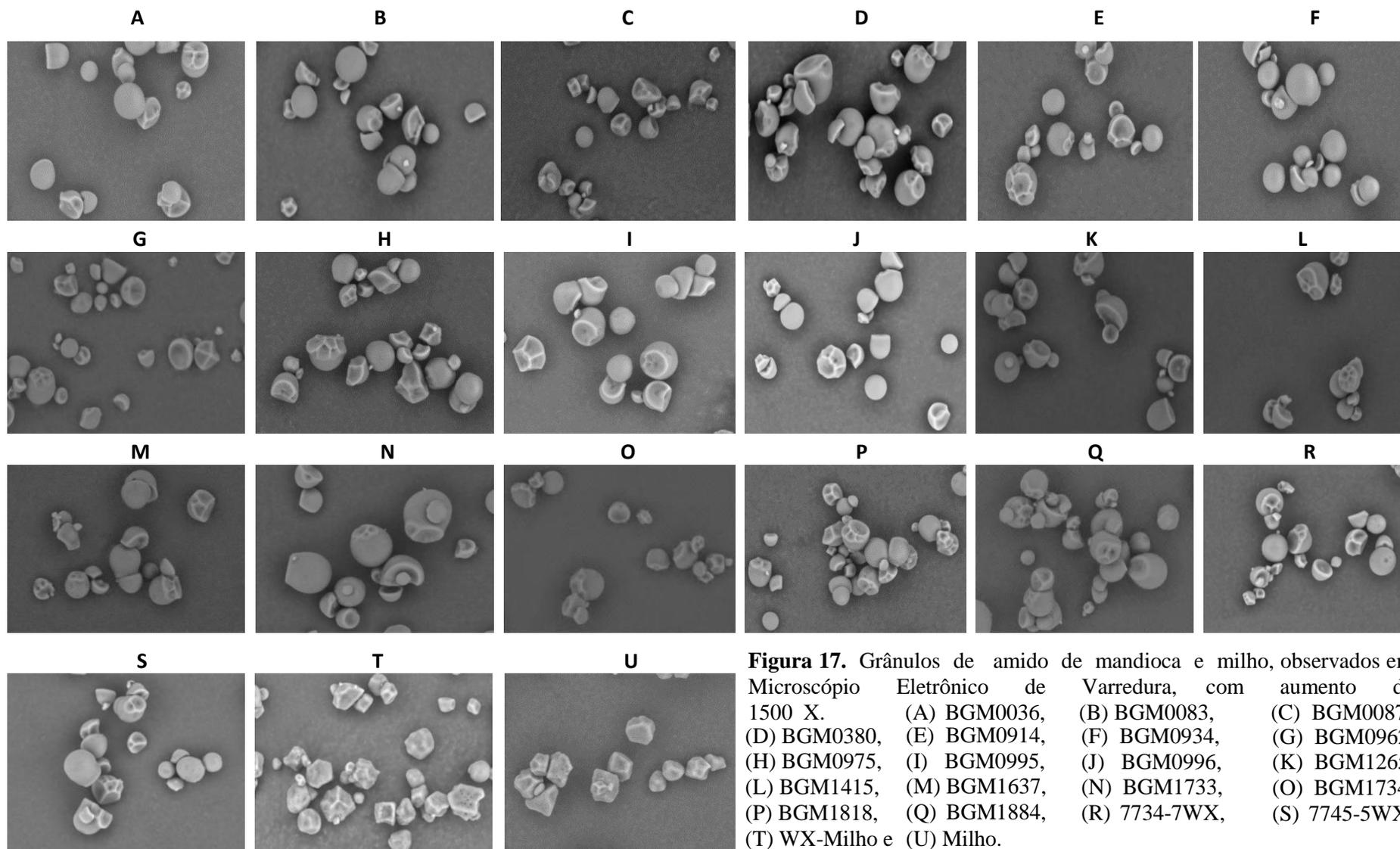
Shirai et al. (2007), em seu trabalho encontrou valores de temperatura de pasta para o amido nativo de mandioca semelhantes aos obtidos neste trabalho (valor médio de 68,9 °C), e valores de amido ceroso de milho e milho comercial (72,8 e 79,5 °C), respectivamente, indicando que o amido de mandioca é menos resistente ao aquecimento quando comparado ao amido de milho.

Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores que chegaram à conclusão que amidos que têm temperatura de pasta mais baixa, possuem menor resistência à dissociação das ligações de hidrogênio intramoleculares e maior facilidade de expansão (SILVA et al., 2006).

O menor valor de temperatura inicial de pasta de 66,6 °C referiu-se ao genótipo BGM1637 indicando uma menor resistência ao aquecimento. O genótipo BGM1733, que apresentou maior tamanho dos grânulos de amido, obteve o segundo menor valor de temperatura inicial de pasta de 67,8 °C, indicando uma possível correlação entre as duas propriedades.

#### **6.4 Microscopia Eletrônica de Varredura**

O tamanho e forma dos grânulos de amido estão entre os fatores de importância na determinação de seus usos potenciais. Por exemplo, grânulos pequenos (2,0 µm) podem ser usados como substitutos de gordura devido ao tamanho similar ao das gotículas de lipídeos, embora o tamanho de grânulo desejável para esta finalidade seja obtido somente com modificação. Outras aplicações, nas quais o tamanho dos grânulos é importante, é a produção de filmes plásticos biodegradáveis e de papéis (LEONEL, 2007). A morfológica dos amidos de mandioca e milho estão disposta na Figura 17.



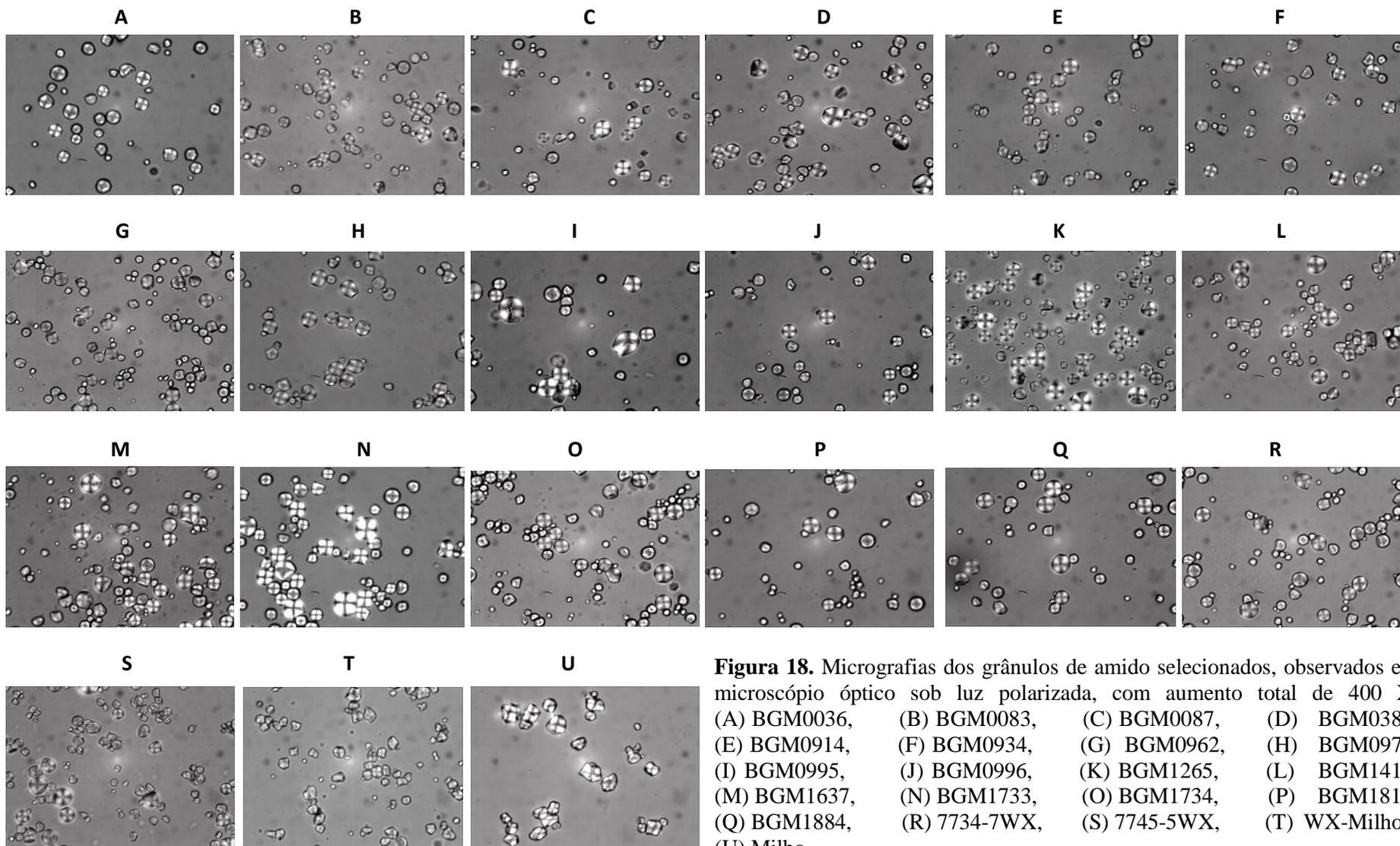
**Figura 17.** Grânulos de amido de mandioca e milho, observados em Microscópio Eletrônico de Varredura, com aumento de 1500 X. (A) BGM0036, (B) BGM0083, (C) BGM0087, (D) BGM0380, (E) BGM0914, (F) BGM0934, (G) BGM0962, (H) BGM0975, (I) BGM0995, (J) BGM0996, (K) BGM1265, (L) BGM1415, (M) BGM1637, (N) BGM1733, (O) BGM1734, (P) BGM1818, (Q) BGM1884, (R) 7734-7WX, (S) 7745-5WX, (T) WX-Milho e (U) Milho.

Os amidos de mandioca de maneira geral apresentaram formatos arredondados com superfície lisa e com alguns formatos de extremidade côncava, apresentando variação em seu tamanho entre 5 e 20  $\mu\text{m}$  para um mesmo genótipo. O genótipo BGM1733, no entanto, apresentou o maior tamanho entre os grânulos com aproximadamente 25  $\mu\text{m}$ . Resultados semelhantes foram reportados por Leonel (2007) que encontrou grânulos de amidos de mandioca com diâmetro entre 15 e 20  $\mu\text{m}$  e Cereda et al. (2001), apresentando diâmetro entre 5 a 35  $\mu\text{m}$ . O genótipo BGM0934 apresentou a mais homogênea distribuição de tamanho dos grânulos, podendo ser estudado, por exemplo, para a produção de papel.

Comparado ao amido de mandioca, os grânulos de amido de milho apresentaram diâmetros similares, no entanto, em relação ao formato são poliédricos isentos de cantos arredondados, como observado no amido de mandioca. Os grânulos de amido de milho com alto teor de amilopectina (Figura 17. T) apresentaram morfologia próxima ao amido de milho comercial (Figura 17. U), com superfície rugosa, possuindo tanto formato arredondado esférico como formato arredondado com aristas. Alguns “orifícios” foram visualizados nos grânulos de amido ceroso de milho e milho comercial também observados por Singh et al. (2003). Estudos de microscopia eletrônica sugerem orifícios com diâmetros entre 0,1 e 0,3  $\mu\text{m}$ , enquanto canais interiores teriam entre 0,07 e 0,1  $\mu\text{m}$  (ELIASSON, 2004). No entanto, estudos detalhados devem ser realizados para a determinação desta relação.

## 6.5 Microscopia Óptica

Na análise de Microscopia Óptica, em solução aquosa, o grânulo de amido apresenta birrefringência quando visto microscopicamente sob luz polarizada. Pode-se observar o modelo de “Cruz de Malta”, que caracteriza a orientação radial das macromoléculas, sendo o “hilum” o ponto original de crescimento do grânulo (Figura 18).



**Figura 18.** Micrografias dos grânulos de amido selecionados, observados em microscópio óptico sob luz polarizada, com aumento total de 400 X. (A) BGM0036, (B) BGM0083, (C) BGM0087, (D) BGM0380, (E) BGM0914, (F) BGM0934, (G) BGM0962, (H) BGM0975, (I) BGM0995, (J) BGM0996, (K) BGM1265, (L) BGM1415, (M) BGM1637, (N) BGM1733, (O) BGM1734, (P) BGM1818, (Q) BGM1884, (R) 7734-7WX, (S) 7745-5WX, (T) WX-Milho e (U) Milho.

Nos grânulos de amido de mandioca e milho, analisados em microscópio óptico sob luz polarizada foi possível observar a cruz de malta cêntrica ao hilum presente nos grânulos de amido. Mishra e Raí (2005), também observaram formato arredondado para o grânulo de amido de mandioca e grânulos com extremidades truncadas. A visualização da cruz de malta (birrefringência) caracterizou a presença de cristalinidade, indicando que o processo de obtenção destes amidos foi pouco severo.

As amostras cerosas de amido de mandioca apresentaram distinção de formas nesta análise, sendo a amostra 7734-7WX semelhante aos demais amidos de mandioca e a amostra 7745-5WX possuindo alguns grânulos semelhantes ao amido ceroso de milho. Conforme observado em microscopia eletrônica de varredura o amido do genótipo BGM1733 apresentou maior tamanho quando comparado aos demais amidos.

A microscopia ótica ressaltou a distinção de formato dos amidos de mandioca com o amido de milho quando comparado à microscopia eletrônica de varredura, revelando o posicionamento do hilum, e uma melhor visualização e a distribuição do tamanho dos amidos.

## 6.6 Cristalinidade Relativa

Os grânulos de amido, por serem parcialmente cristalinos, proporcionam padrões específicos de difração de Raio X. Segundo Cheethan e Tao (1998), o índice de cristalinidade relativa de amidos nativos varia de 15 a 45 %, dependendo da espécie vegetal e vários são os métodos utilizados para a sua avaliação. Os resultados de cristalinidade e seus respectivos desvios padrões são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Cristalinidade relativa e Tipo característico das amostras.

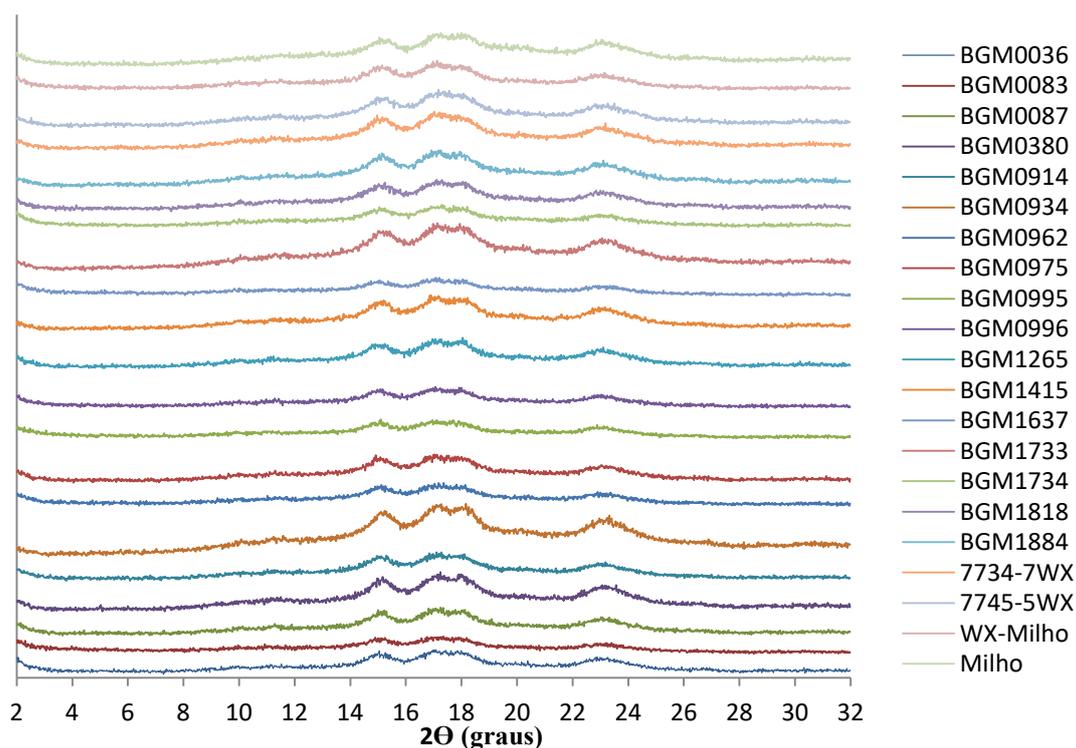
<b>Amostra</b>	<b>Cristalinidade</b>	<b>Tipo</b>
BGM0036	26,85 ± 0,07 <sup>ab</sup>	A
BGM0083	25,30 ± 3,11 <sup>ab</sup>	A
BGM0087	26,05 ± 2,19 <sup>ab</sup>	A
BGM0380	28,80 ± 0,57 <sup>ab</sup>	A
BGM0914	24,25 ± 0,07 <sup>ab</sup>	A
BGM0934	29,15 ± 1,63 <sup>ab</sup>	A
BGM0962	21,90 ± 3,82 <sup>ab</sup>	A
BGM0975	25,25 ± 2,76 <sup>ab</sup>	A
BGM0995	24,50 ± 1,56 <sup>ab</sup>	A
BGM0996	23,05 ± 3,75 <sup>ab</sup>	A
BGM1265	27,45 ± 1,34 <sup>ab</sup>	A
BGM1415	28,45 ± 3,04 <sup>ab</sup>	A
BGM1637	19,60 ± 2,69 <sup>b</sup>	A
BGM1733	27,25 ± 0,92 <sup>ab</sup>	A
BGM1734	21,15 ± 2,90 <sup>ab</sup>	A
BGM1818	25,05 ± 5,30 <sup>ab</sup>	A
BGM1884	25,55 ± 3,75 <sup>ab</sup>	A
7734-7WX	29,20 ± 0,28 <sup>ab</sup>	A
7745-5WX	29,75 ± 2,90 <sup>ab</sup>	A
WX-Milho	30,00 ± 0,14 <sup>a</sup>	A
Milho	24,05 ± 0,64 <sup>ab</sup>	A

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

De acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), todas as amostras se aproximaram às duas amostras de referência de amido ceroso de mandioca, não apresentando diferença significativa em relação à cristalinidade. No entanto, as amostras BGM1637 e WX-Milho apresentaram diferenças significativas quando comparadas entre si.

As amostras que apresentaram baixa cristalinidade (menor que 20 %) foram os genótipos BGM0962, BGM1637, BGM1734; e maior cristalinidade (maior que 30 %) as amostras BGM0934, 7745-5WX e WX-Milho; apresentando as demais amostras cristalinidade entre 20 e 30 %.

Todas as amostras apresentaram padrão característico A, e a cristalinidade no intervalo de 2 a 32° pode ser melhor observada de acordo com o difratograma da Figura 19.

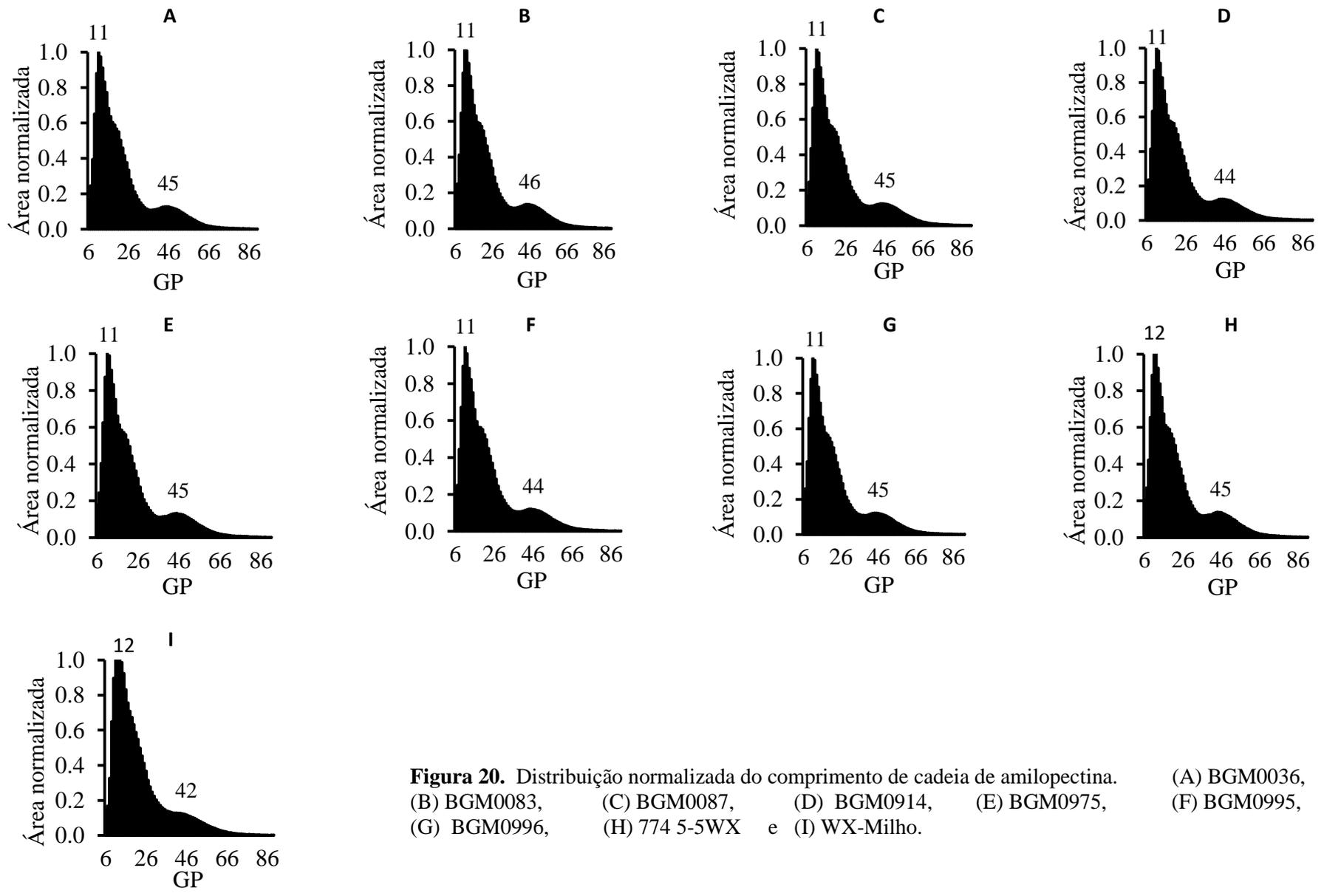


**Figura 19.** Difratograma de amidos analisados em Raio-X.

O granulos analisados apresentaram três picos principais em torno dos ângulos de difração de 15, 17 e 23°, picos estes característicos dos grânulos de estrutura tipo A.

### 6.7 Distribuição do Comprimento da Cadeia Ramificada da Amilopectina

A avaliação da distribuição de comprimento das cadeias de amilopectina sugere relação entre a estrutura molecular do amido e seu comportamento quando comparada às propriedades físico-químicas, como a cristalinidade. A amilopectina é formada por unidades de glucose unidas em  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6, formando uma estrutura ramificada. As proporções em que essas estruturas aparecem diferem em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e, mesmo em uma mesma variedade, podendo suas cadeias individuais variar entre 10 e 100 unidades de glucose (DERNADIN; SILVA, 2008). Neste sentido, foram analisadas as distribuições dos comprimentos de cadeia lateral de amilopectina de 9 amostras (Figura 20), segundo critério de escolha da análise estatística por Dendograma com divisão de 5 grupos (Tabela 4).



**Figura 20.** Distribuição normalizada do comprimento de cadeia de amilopectina. (A) BGM0036, (B) BGM0083, (C) BGM0087, (D) BGM0914, (E) BGM0975, (F) BGM0995, (G) BGM0996, (H) 774 5-5WX e (I) WX-Milho.

A distribuição normalizada do comprimento de cadeias ramificadas da amilopectina dos amidos de mandioca e milho mostra que os amidos apresentaram distribuição bimodal com um pico principal no GP (grau de polimerização) 11 e 12 para os amidos de mandioca e 12 para o amido de milho analisado, e um segundo pico no GP 44, 45 e 46 para os amidos de mandioca e no GP 42 para o amido de milho. Os dados da Tabela 6 apresentam o valor percentual das distribuições entre os graus de polimerização 6-12, 13-14, 25-36 e GP maior que 37 unidades de glucose, assim como o maior grau de polimerização encontrado.

**Tabela 6.** Distribuição do comprimento de cadeia ramificada da amilopectina dos amidos de mandioca e milho por HPAEC-PAD.

Amostra	GP 6-12	GP 13-24	GP 25-36	GP >37	Maior GP
<b>BGM0036</b>	25,27±0,25 <sup>a</sup>	44,10±0,28 <sup>a</sup>	14,34±0,15 <sup>a</sup>	16,29±0,38 <sup>a</sup>	90
<b>BGM0083</b>	24,95±0,04 <sup>b</sup>	43,40±0,02 <sup>b</sup>	14,47±0,01 <sup>ab</sup>	17,19±0,01 <sup>b</sup>	90
<b>BGM0087</b>	25,74±0,17 <sup>ceg</sup>	42,85±0,19 <sup>cfh</sup>	14,82±0,01 <sup>c</sup>	16,59±0,03 <sup>ac</sup>	91
<b>BGM0914</b>	25,53±0,16 <sup>acdeh</sup>	43,77±0,07 <sup>ac</sup>	14,50±0,07 <sup>abd</sup>	16,20±0,16 <sup>d</sup>	91
<b>BGM0975</b>	25,49±0,15 <sup>acdeh</sup>	43,46±0,04 <sup>acd</sup>	14,15±0,01 <sup>e</sup>	16,90±0,12 <sup>e</sup>	91
<b>BGM0995</b>	26,18±0,31 <sup>f</sup>	43,27±0,06 <sup>e</sup>	14,55±0,13 <sup>abdfh</sup>	16,00±0,12 <sup>adf</sup>	91
<b>BGM0996</b>	25,96±0,18 <sup>fg</sup>	43,36±0,36 <sup>ef</sup>	14,59±0,21 <sup>abdfg</sup>	16,08±0,34 <sup>adfg</sup>	92
<b>7745-5WX</b>	25,53±0,08 <sup>acefgh</sup>	42,97±0,16 <sup>adgh</sup>	14,45±0,05 <sup>abdfh</sup>	17,05±0,02 <sup>eh</sup>	91
<b>WX-Milho</b>	22,96±0,01 <sup>id</sup>	48,86±0,25 <sup>i</sup>	15,57±0,05 <sup>i</sup>	14,60±0,19 <sup>i</sup>	89

Média seguida do desvio-padrão. GP: Grau de polimerização.

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

O genótipo BGM0036 foi o que mais se aproximou da amostra de amido ceroso de mandioca (7745-5WX), não apresentando diferença significativa nos graus de polimerizações 6-12, 13-24 e 25-36 (Tabela 6).

O maior GP detectado variou de 89 a 92 unidades de glucose. Isso mostra que os amidos selecionados e analisados apresentaram distribuição do tamanho de cadeia similar ao amido do tipo ceroso de mandioca. Por outro lado, diferiram do amido de milho.

O amido de mandioca em relação a cadeias curtas (GP 6-12) apresentou maior quantidade (24,95 a 26,18 %) em relação ao amido de milho *waxy* estudado (22,96 %), e uma proporção de cadeias longas (GP>37) entre 16 a 17,19 % comparado a 14,60 % do amido de milho. Campanha (2010) observou proporções similares de cadeias curtas e de cadeias longas, para estes amidos; confirmando os resultados obtidos neste trabalho em relação à cristalinidade relativa e seu padrão cristalino A.

Isto porque os grânulos de amido possuem diferentes polimorfismos exibindo diferentes padrões cristalinos (A, B e C), os quais dependem do comprimento das cadeias ramificadas de suas amilopectinas. Amidos com cadeias ramificadas mais longas apresentam padrão de raios-X tipo B, enquanto os amidos com cadeias ramificadas mais curtas exibem padrão de raios-X tipo A (JANE; WONG; MCPHERSON, 1997).

O amido de mandioca apresentou um ombro no GP 19-21, sendo que este ombro também foi observado por Campanha (2010) no GP 18-21. As altas proporções de cadeias curtas GP < 10, as quais não são capazes de formar duplas hélices estáveis e pode estar 'penduradas' no interior da região cristalina (GENKINA et al., 2007) causando defeito na estrutura cristalina, o que acarreta em um ombro de maior ou menor

intensidade na distribuição das cadeias laterais da amilopectina. O amido de milho *waxy* não apresentou ombro em sua estrutura, como também observado por Jane et al. (1999).

## 6.8 Poder de Inchamento e Índice de Solubilidade

Segundo Singh et al. (2003), quando as moléculas de amido são aquecidas em excesso de água, a estrutura cristalina é rompida, e as moléculas de água formam ligações de hidrogênio entre a amilose e amilopectina, expondo seus grupos hidroxila, o que causa um aumento no inchamento e na solubilidade do grânulo. Estas interações são influenciadas pela proporção amilose: amilopectina e pelas características dessas moléculas (distribuição e massa molecular, grau e comprimento de ramificações e conformação). O presente trabalho mostra os valores da análise de poder de inchamento (Tabela 7) e o Índice de Solubilidade (Tabela 8) em quatro temperaturas analisadas.

**Tabela 7.** Poder de Inchamento (g/g) das amostras selecionadas.

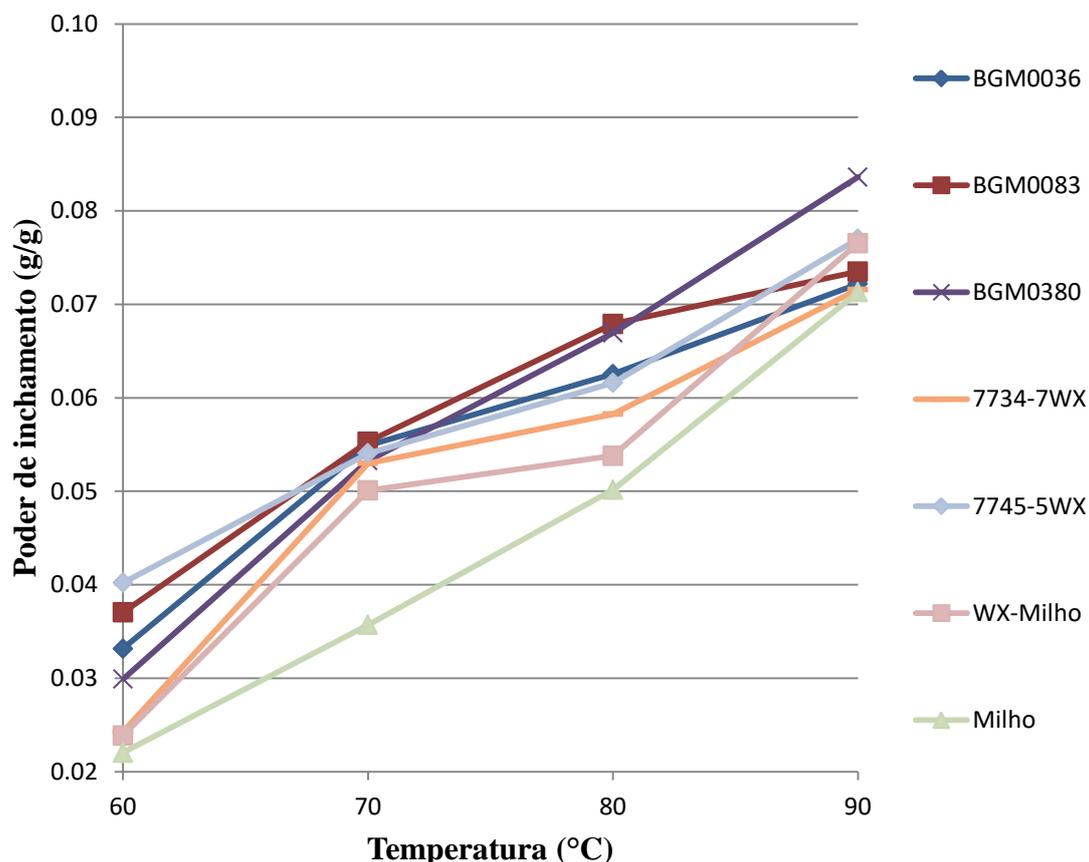
Amostra	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
BGM0036	0,03 ± (0,00) <sup>ghij</sup>	0,05 ± (0,00) <sup>de</sup>	0,06 ± (0,00) <sup>efg</sup>	0,07 ± (0,01) <sup>b</sup>
BGM0083	0,04 ± (0,00) <sup>fghi</sup>	0,06 ± (0,00) <sup>de</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>def</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM0087	0,05 ± (0,00) <sup>bcdef</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>bc</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>bcde</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM0380	0,03 ± (0,01) <sup>hij</sup>	0,05 ± (0,00) <sup>e</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>def</sup>	0,08 ± (0,01) <sup>ab</sup>
BGM0914	0,05 ± (0,00) <sup>defg</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>c</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>a</sup>	0,08 ± (0,01) <sup>ab</sup>
BGM0934	0,06 ± (0,02) <sup>abcd</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>bc</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>a</sup>	0,09 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM0962	0,07 ± (0,01) <sup>a</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>	0,08 ± (0,01) <sup>ab</sup>	0,10 ± (0,01) <sup>a</sup>
BGM0975	0,05 ± (0,00) <sup>bcde</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>cd</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>def</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>b</sup>
BGM0995	0,07 ± (0,00) <sup>ab</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>abc</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>abcd</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM0996	0,06 ± (0,00) <sup>abcd</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>c</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>cde</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>b</sup>
BGM1265	0,05 ± (0,01) <sup>cdef</sup>	0,07 ± (0,01) <sup>c</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>a</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM1415	0,07 ± (0,00) <sup>ab</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>	0,08 ± (0,01) <sup>abc</sup>	0,09 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM1637	0,07 ± (0,00) <sup>a</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>abc</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>abcd</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM1733	0,06 ± (0,00) <sup>abc</sup>	0,07 ± (0,01) <sup>bc</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>def</sup>	0,07 ± (0,01) <sup>b</sup>
BGM1734	0,07 ± (0,00) <sup>ab</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>abc</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>a</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>
BGM1818	0,06 ± (0,00) <sup>abcd</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>c</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>abc</sup>	0,09 ± (0,03) <sup>ab</sup>
BGM1884	0,07 ± (0,01) <sup>a</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>a</sup>	0,09 ± (0,00) <sup>a</sup>	0,09 ± (0,00) <sup>ab</sup>
7734-7WX	0,02 ± (0,00) <sup>ij</sup>	0,05 ± (0,00) <sup>e</sup>	0,06 ± (0,00) <sup>fgh</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>b</sup>
7745-5WX	0,04 ± (0,00) <sup>efgh</sup>	0,05 ± (0,00) <sup>e</sup>	0,06 ± (0,00) <sup>efg</sup>	0,08 ± (0,00) <sup>ab</sup>
WX-Milho	0,02 ± (0,00) <sup>ij</sup>	0,05 ± (0,00) <sup>e</sup>	0,05 ± (0,00) <sup>gh</sup>	0,08 ± (0,02) <sup>ab</sup>
Milho	0,02 ± (0,00) <sup>j</sup>	0,04 ± (0,01) <sup>f</sup>	0,05 ± (0,01) <sup>h</sup>	0,07 ± (0,00) <sup>b</sup>

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os genótipos BGM1884, BGM0934 apresentaram alta viscosidade máxima e alto poder de inchamento, entretanto, amostras com baixa viscosidade de maneira geral apresentaram baixo poder de inchamento, neste sentido, o aumento da temperatura resultou em um aumento no poder de inchamento, exceto em BGM1773 que é o maior grânulo, indicando uma maior dificuldade de entrada de água em seu interior.

O aumento da viscosidade máxima indica um maior poder de inchamento dos grânulos de amido, esse aumento pode ser resultado de um relaxamento de sua estrutura, facilitando a entrada de água e permitindo seu maior intumescimento (KARIM et al., 2008).

A Figura 21 apresenta as amostras que mais se aproximaram ao poder de inchamento das amostras de referência (7734-7WX e 7745-5WX), segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Tabela 7), e comparadas com os amidos de milho ceroso e amido de milho comercial.



**Figura 21.** Poder de inchamento das amostras próximas às referências cerosas.

Quando comparadas aos amidos cerosos de mandioca, as amostras que mais se aproximaram aos valores de poder de inchamento destes amidos foram os genótipos BGM0036, BGM0083 e BGM380, em todas as faixas de temperaturas analisadas, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). No entanto, a amostra BGM0380 apresentou maior poder de inchamento nas temperaturas analisadas de 70 e 90 °C e BGM0083 na temperatura de 80 °C.

O genótipo BGM0036 apresentou valores mais próximos em relação ao poder de inchamento, quando comparado às amostras cerosas de amido de mandioca. Este resultado também concordou com a baixa viscosidade final encontrada (característico de amidos cerosos) e resultados da determinação de cadeia lateral de amilopectina mais próximos quando comparado às amostras de amido ceroso de mandioca, indicando uma maior proximidade deste genótipo ao perfil ceroso analisado.

A comparação com o amido ceroso de milho mostrou que os amidos de mandioca com o comportamento mais próximo, relacionado ao poder de inchamento desse amido, também foram os genótipos BGM0036, BGM0083 e BGM380 e a referência 7734-7WX. O amido de milho comercial apresentou baixo poder de inchamento sugerindo quantidades maiores de amilose quando comparado aos outros amidos analisados.

Outro aspecto a ser considerado nesta avaliação é o maior teor de grânulos inteiros, observáveis no MEV, influenciando o poder de inchamento dificultando a penetração de água.

A análise do índice de solubilidade de modo geral não esteve relacionada ao poder de inchamento, conforme Tabela 8.

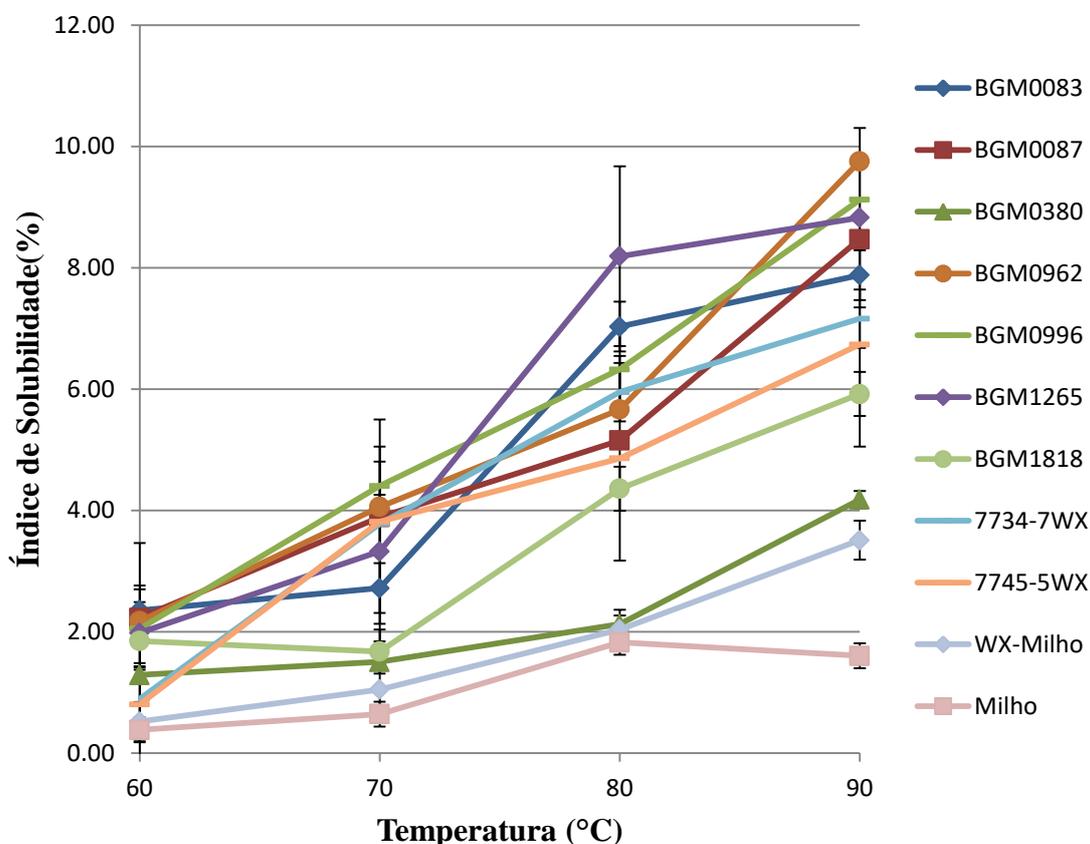
**Tabela 8.** Índice de solubilidade (%) das amostras selecionadas.

Amido	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
BGM0036	2,56 ± (0,17) <sup>abcd</sup>	3,97 ± (0,44) <sup>abcde</sup>	5,92 ± (1,31) <sup>ab</sup>	7,00 ± (2,34) <sup>abcd</sup>
BGM0083	2,35 ± (0,12) <sup>abcde</sup>	2,72 ± (0,10) <sup>bcdef</sup>	7,03 ± (0,38) <sup>ab</sup>	7,88 ± (1,04) <sup>abc</sup>
BGM0087	2,23 ± (0,47) <sup>bcde</sup>	3,89 ± (0,52) <sup>abcde</sup>	5,15 ± (0,43) <sup>abcde</sup>	8,47 ± (0,65) <sup>ab</sup>
BGM0380	1,29 ± (0,22) <sup>efg</sup>	1,51 ± (0,04) <sup>def</sup>	2,13 ± (0,17) <sup>cde</sup>	4,18 ± (0,14) <sup>cde</sup>
BGM0914	2,96 ± (0,69) <sup>abc</sup>	4,90 ± (1,38) <sup>ab</sup>	6,39 ± (2,71) <sup>ab</sup>	6,86 ± (1,06) <sup>abcd</sup>
BGM0934	3,06 ± (0,10) <sup>abc</sup>	3,99 ± (0,49) <sup>abcde</sup>	6,70 ± (2,60) <sup>ab</sup>	7,33 ± (1,43) <sup>abc</sup>
BGM0962	2,17 ± (0,45) <sup>bcde</sup>	4,06 ± (1,41) <sup>abcd</sup>	5,67 ± (2,26) <sup>abcd</sup>	9,75 ± (2,11) <sup>a</sup>
BGM0975	3,42 ± (0,82) <sup>a</sup>	4,41 ± (0,70) <sup>abcd</sup>	5,89 ± (0,62) <sup>ab</sup>	9,63 ± (1,23) <sup>ab</sup>
BGM0995	3,02 ± (0,52) <sup>abc</sup>	3,12 ± (0,43) <sup>bcdef</sup>	6,94 ± (0,54) <sup>ab</sup>	7,35 ± (0,78) <sup>abc</sup>
BGM0996	2,06 ± (0,57) <sup>bcde</sup>	4,40 ± (0,19) <sup>abcd</sup>	6,33 ± (0,94) <sup>ab</sup>	9,12 ± (0,88) <sup>ab</sup>
BGM1265	1,98 ± (0,35) <sup>cde</sup>	3,32 ± (0,98) <sup>abcdef</sup>	8,19 ± (2,18) <sup>a</sup>	8,83 ± (2,41) <sup>ab</sup>
BGM1415	2,63 ± (0,12) <sup>abcd</sup>	4,24 ± (0,20) <sup>abcd</sup>	5,76 ± (0,68) <sup>abc</sup>	8,29 ± (1,99) <sup>ab</sup>
BGM1637	3,10 ± (0,86) <sup>ab</sup>	6,14 ± (0,25) <sup>a</sup>	8,20 ± (1,16) <sup>a</sup>	10,42 ± (0,90) <sup>a</sup>
BGM1733	2,40 ± (0,19) <sup>abcd</sup>	5,05 ± (0,65) <sup>ab</sup>	7,91 ± (1,79) <sup>ab</sup>	9,76 ± (0,74) <sup>a</sup>
BGM1734	2,60 ± (0,13) <sup>abcd</sup>	4,56 ± (1,60) <sup>abc</sup>	7,39 ± (1,73) <sup>ab</sup>	8,70 ± (1,27) <sup>ab</sup>
BGM1818	1,85 ± (0,19) <sup>def</sup>	1,67 ± (0,16) <sup>edef</sup>	4,36 ± (0,34) <sup>bcde</sup>	5,92 ± (0,76) <sup>bcd</sup>
BGM1884	2,11 ± (0,43) <sup>bcde</sup>	4,61 ± (1,35) <sup>abc</sup>	7,05 ± (1,37) <sup>ab</sup>	10,03 ± (2,94) <sup>a</sup>
7734-7WX	0,89 ± (0,14) <sup>fg</sup>	3,78 ± (0,83) <sup>abcde</sup>	5,95 ± (0,32) <sup>ab</sup>	7,16 ± (0,63) <sup>abcd</sup>
7745-5WX	0,80 ± (0,14) <sup>efg</sup>	3,81 ± (3,77) <sup>abcde</sup>	4,86 ± (1,49) <sup>abcde</sup>	6,73 ± (1,34) <sup>abcd</sup>
WX-Milho	0,52 ± (0,31) <sup>g</sup>	1,05 ± (0,05) <sup>ef</sup>	2,04 ± (0,53) <sup>de</sup>	3,51 ± (0,40) <sup>de</sup>
Milho	0,38 ± (0,04) <sup>g</sup>	0,64 ± (0,33) <sup>f</sup>	1,83 ± (0,19) <sup>e</sup>	1,60 ± (0,26) <sup>e</sup>

Valores seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Algumas amostras tendo apresentado o maior poder de inchamento nas temperaturas de 60 a 90 °C, não apresentaram maior índice de solubilização. Este fato pode ser justificado por, talvez, grande parte da amilose deste cultivar estar muito fortemente envolvida com a amilopectina no arranjo cristalino do grânulo como propõe Amante (1986).

A Figura 22 apresenta as amostras que mais se aproximaram ao poder de inchamento das amostras de referência (7734-7WX e 7745-5WX), segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Tabela 8), e comparadas com os amidos de milho ceroso e amido de milho comercial.



**Figura 22.** Índice de solubilidade das amostras próximas às referências cerosas.

Quando comparada aos amidos cerosos de mandioca, a amostra que mais se aproximou ao índice de solubilidade foi o genótipo BGM1818, em todas as faixas de temperaturas analisadas, segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Já as amostras BGM0083, BGM0087, BGM0380, BGM0962, BGM0996 e BGM1265 se aproximaram em todas as faixas de temperaturas analisadas, apenas à referência 7745-5WX.

A comparação com o amido ceroso de milho mostrou que as amostras mais próximas ao comportamento deste amido, relacionada ao índice de solubilidade, foi o genótipo BGM380, a referência 7745-5WX e o amido de milho comercial, que apresentou menor índice de solubilidade quando comparado aos outros amidos analisados.

De maneira geral, foi possível verificar que a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura, de modo mais acentuado na temperatura de 60 a 80 °C para os amidos de mandioca e 70 a 80 °C para os amidos de milho, indicando a gelatinização ou intumescimento do amido próximo a esta temperatura, conforme resultados obtidos na análise de pasta.

## 7 CONCLUSÕES

A partir de avaliações preliminares, utilizando os dados de leitura de viscosidade de pasta de 883 genótipos de mandioca do banco de germoplasma brasileiro e através das análises estatísticas para seleção dos genótipos a serem estudados, foi possível a seleção e caracterização físico-química e morfológica de 17 diferentes genótipos de amido de mandioca, obtidos sem a necessidade de modificações químicas e geração de maiores resíduos, que foram comparados com os amidos cerosos de referência (7734-7WX e 7745-5WX), com o amido ceroso de milho (WX-Milho) e uma amostra de amido de milho comercial.

De maneira geral, os resultados de determinação de propriedade de pasta para os amidos de mandioca selecionados sugerem potencial de aplicação em produtos que demandam uma maior quantidade de amilopectina, por apresentarem baixa viscosidade no ciclo de resfriamento ou viscosidade de retrogradação, permitindo reconhecer a funcionalidade destes amidos, como amidos cerosos, para uso na indústria de sopas, cremes e bebidas, como agente espessante por apresentarem muito baixa retrogradação.

As análises morfológicas de microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica dos amidos de mandioca, de maneira geral, apresentaram formatos arredondados e diâmetros similares, no entanto, o amido ceroso de milho e amido de milho comercial apresentaram formatos poliédricos isentos de cantos arredondados. O genótipo BGM1733 apresentou maior tamanho quando comparado aos demais amidos.

Para os resultados de cristalinidade relativa às amostras analisadas não apresentaram diferenças significativas quando comparadas às amostras de referência, no entanto, as amostras BGM1637 e WX-Milho apresentaram diferenças significativas, quando comparadas entre si. Quanto ao padrão cristalino dos amidos analisados, os resultados estiveram relacionados à análise de distribuição do comprimento da cadeia ramificada da amilopectina, por serem todos do tipo A, apresentando assim, maior proporção de cadeias ramificadas curtas, sendo o genótipo BGM0036, nesta análise, o que mais se aproximou à amostra de amido ceroso de mandioca.

As amostras que mais se aproximaram aos valores de poder de inchamento das amostras de referência foram os genótipos BGM0036, BGM0083 e BGM380, em todas as faixas de temperaturas analisadas, e o genótipo BGM1818 para a análise de solubilidade. O aumento da temperatura resultou no aumento da solubilidade e no aumento do poder de inchamento, exceto em BGM1773 que é o maior grânulo, indicando uma maior dificuldade de entrada de água em seu interior.

Este estudo possibilitou a seleção e a caracterização físico-química e morfológica de amidos do tipo ceroso de genótipos selecionados do banco de germoplasma brasileiro de mandioca, no entanto, de forma a completar a avaliação dos genótipos selecionados, torna-se necessário outros estudos, como por exemplo, testes de congelamento e descongelamento, determinação de tamanho de partículas e teores de amilose, para complementação de informações de determinação prática de aplicação, assim como a correlação estatística destas variáveis, de modo a obter informações mais concretas e profundas relacionadas a aplicação destes amidos.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAM. **Notícias**. 2016. Disponível em: <<http://www.abam.com.br/noticias-detalle.php?id=MDAwNjE=>>. Acesso em: 12 jan. 2017.

ALCÁZAR-ALAY, S. C.; MEIRELES, M. A. A. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. **Food Science and Technology** (Campinas). v. 35, 2015. p. 215-236.

ALVES, A. A. C. Cassava botany and physiology. **In Cassava: Biology, Production and Utilization**. CABI Publishing: Wallingford, 2002. pp 67-89.

AMANTE, E. R. **Caracterização de Amidos de Variedades de Mandioca (Manihot esculenta, Crantz) e de Batata-doce (Ipomoea batatas)**. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1986.

APLEVICZ, K. S.; DEMIATE, I. M. Caracterização de amidos de mandioca nativos e modificados e utilização em produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, 2007.p. 478-484.

ASCHERI, D.P.R et al.. Obtenção de farinhas mistas pré-gelatinizadas a partir de arroz e bagaço de jabuticaba: efeito das variáveis de extrusão nas propriedades de pasta. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, 2006. p. 115-144.

BAGUMA, Y. et al.. Expression patterns on the gene encoding starch branching enzyme II in the storage roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant Sci.** 2003. 164, 833-839.

BAKER, A.A. et al.. Internal structure of the starch granule revealed by AFM. **Carbohydrate Research**, v.330, 2001. p.249-256.

BEMILLER, J, N. Starch modification: challenges and prospects. **Starch/Stärke**, v.49, n.4. 1997, p.127-131.

BRASIL. **Resolução** n. 263, de 22 de setembro de 2005. Altera a Resolução n. 12, de 24 de julho de 1997. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Padrões de identidade e qualidade para os alimentos (e bebidas). Diário Oficial da União. Brasília: DF, Brasil, set 2005.

BRASIL. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento Departamento de Economia Rural. **Análise da Conjuntura Agropecuária Safra 2011/12**. 2011. Disponível em : <[http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/mandiocultura\\_2011\\_12.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/mandiocultura_2011_12.pdf)> Acesso em 10 de jan. 2017.

CAMPANHA, R. B. **Características físico-químicas e estruturais de amidos nativos e suas dextrinas Naegeli**. 79f. (Dissertação de Mestrado). Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Alimentos – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2010.

CARVALHO, L. J. C. B.; et al.. Identification and characterization of a novel cassava (*Manihot esculenta* Crantz) clone with high free sugar content and novel starch. **Plant Mol. Biol.**, v.56, 2004. P.643-659.

CEBALLOS, H. et al.. Development and Identification of High-Value Cassava Clones. **Acta Hortic.**, v.703, 2006. p. 63-70.

CEBALLOS, H. et al.. Discovery of an Amylose-free Starch Mutant in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. June 26, 2007.

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

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo, Fundação Cargill, p. 221 (Serie: Culturas de tuberosas amiláceas Latino-americanas, v.1) 2001.

CEREDA, M. P.; LEONEL, M. Extração da fécula retida no resíduo fibroso do processo de produção de fécula de mandioca. **Ciência e tecnologia de alimentos**. vol. 20. n. 1, abril, 2000.

CHEETHAN, N. W. H.; TAO, L. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: a X-ray powder diffraction study. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, n.4, p. 277-284, 1998.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. Fabricação de amido e sua utilização. São Paulo: **Secretaria de Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia**. 1982. p. 152.

COLLINS G. N. A new type of Indian Corn from China.1909. *Bureau Plant Industry*. 161 1–30.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Análise Mensal. Mandioca. Fev. 2018. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuaria-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-mandioca> >. Acesso em: 15 mai. 2018.

COSTA, M. G. S. **Parâmetros para elaboração de mandioca pronta para consumo armazenada sob refrigeração**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola)-Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.

DERNADIM, C.C; SILVA, L.P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. 2008. **Ciência Rural**. Santa Maria. ISSN 0103-8478.

ELIASSON, A.C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 2004. p. 605.

FAGUNDES, F. M; MOREIRA, B.A; AROUCA, F.O; DAMASCENO, J. J. R. Monitoramento da Variação da Concentração de Sólidos em Ensaio de Sedimentação Gravitacional Utilizando Fluidos Pseudoplásticos. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis, SC. 2014.

FAO. *Faostat database gateway*. 2010. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 20 de out. 2016.

FERGASON V. “High-amylose and waxy corns,” in *Speciality Corns*, ed. Hallauer A. R., editor. 2001 (Boca Raton, FL: CRC Press ), 63–84.

FILHO, G. de A. F.; BAHIA, J. J.S. **Mandioca**. 2009. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/mandioca.htm>> Acesso em 10 de out. 2016.

FUKUSAKI, E.; KOBAYASHI, A. **Plant Metabolomics: Potential for Practical Operation**. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v.100, 2005. p. 347–354.

HANASHIRO, I.; ABE, J.-I.; HIZUKURI, S. A periodic distribution of the chain length of amylopectin as revealed by high-performance anion-exchange chromatography. *Carbohydrate Research*, v. 283, n. 22, p.151–159, 1996.

HAYAKAWA, K. et al.. Quality characteristics of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.): properties of starch gelatinization and retrogradation. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 5, 1997. p. 576-580.

HIZUKURI, S. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. **Carbohydrate Research**, v. 147 , p. 342–347, 1986.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, 2001. p. 253-267.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/defaulttab.shtm>> Acesso em: 15 out. 2016.

IMBERTY, A. et al.. **Recent advances in knowledge of starch structure**. *Starch/Stärke*, v.43, n.10, 1991. p. 375-384.

JANE, J.; CHEN, J. F. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. **Cereal Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 60–65, 1992.

JANE, J.; CHEN, Y. Y.; LEE, L. F.; MCPHERSON, A. E.; WONG, K. S.; RADOSAVLJEVIC, M; KASEMSUWAM, T. Effect of amylopectin branch length and amylase content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 5, p. 665–680, 1999.

JANE, J. Starch: structure and properties. In: TOMASIK, Piotr. **Chemical and functional properties of food saccharides**. Boca Raton: CRC Press, 2003. p. 81-102.

JANE, J. L.; WONG, K. S.; MCPHERSON, A. E. Branch-structure difference in starches of A- and B-type Xray patterns revealed by their Naegeli. **Carbohydrate Research**, v. 300, p. 219–227, 1997.

- JOLLIFFE, I. T. **Principal Component Analysis**. 2a ed, New York, Springer. 2002.
- KARIM, A.A.; NADIHA, M.Z.; CHEN, F.K.; PHUAH, Y.P.; CHUI, Y.M.; FAZILAH, A. Pasting and retrogradation properties of alkali-treated sago starch. *Food Hydrocolloids*, v.22, p.1044-1053, 2008.
- KARLSTRÖM et al.. Biological Implications in Cassava for the Production of Amylose-Free Starch: Impact on Root Yield and Related Traits. *Front Plant Sci*. 2016; 7: 604.
- LAGARRIGUE, S.; ALVAREZ, G. The rheology of starch dispersions at high temperatures and high rates: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 50, n. 4, 2001. p. 189-202.
- LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. **Carboidratos em alimentos regionales Iberoamericanos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006. p. 648.
- LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27. n. 3. p. 579-588, jul.-set. 2007.
- LINDEBOOM, N.; CHANG, P. R.; TYLER, R. T. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. **Starch/Stärke**, v. 56, n. 3-4, 2004. p. 89-99.
- LIU, Q. Understanding starches and their role in foods. In: CUI, S. W. (ed). **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties and Applications**. 2005. p. 309-305.
- MALINOWSKI, R. E. *Factor Analysis in Chemistry*. 2nd Ed., Wiley: New York, 1991.
- MARCON, M. J. A; AVANCINI, S. R. P; AMANTE, E. R. **Propriedades Químicas e Tecnológicas do Amido de Mandioca e do Polvilho Azedo**. Florianópolis: Ed. UFSC, 2007.
- MATTOS, P. L. P de.; GOMES, J de. C. O cultivo da mandioca. Cruz das Almas, **BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 2000. p. 122.
- MDIC. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Aprendendo a Exportar**. Requisitos Técnicos. 2016.
- MISHRA, S.; RAI, T. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocolloids*, p. 1-10, 2005.
- MORRISON, R.T.; BOYD, R. N. **Química Orgânica**. 13. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996. p. 1335-1339.
- NbClust: An R Package for Determining the Relevant Number of Clusters in a Data Set. 2015. Disponível em: < <https://cran.r-project.org/package=NbClust>>. Acesso em 20 de fev 2017.

NEUFFER, M. G.; COE, E.; WESSLER, S. R. **Mutants of Maize**. Col Spring Harbor Laboratory Press: Plainview, NY, 1997.

NEWPORT SCIENTIFIC. **Applications manual for the Rapid Visco Analyser**. Warriewood, Austrália, 1998. p. 123.

NUNES, L. B.; SANTOS, W. de J. dos; CRUZ, R. S. Rendimento de extração e caracterização química e funcional de féculas de mandioca da Região do Semiárido Baiano. *Alimentos e Nutrição*, v. 20, n. 1, p. 129-134, 2009.

OATES, C.G. Towards and understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, 1997. p. 375-382.

OLIVEIRA, D. C. de. Caracterização e potencial tecnológico de amidos de diferentes cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). 2011. 141f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

OLSEN, K.M.; SCHAAL, B.A. Evidence on the origin of cassava: Phylogeography of *Manihot esculenta*. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)**, v.96, 1999. p. 5586-5591.

PARKER, R.; RING, S.G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v.34, 2001. p. 1-17.

PERONI, F.H.G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto. 2003.

RAO, M. A.; OKECHUKWU, P. M. S; OLIVEIRA, J. C. Rheological behavior of heated granule. **Carbohydrate polymers**, n. 33, 1997. p. 273-283.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química dos Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.

RINALDI, M.M. Efeito de diferentes formas de congelamento sobre raízes de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 18, n. 2. abr./jun, 2015. p. 93-101.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant Starch—A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 5, n. 1, 2006. p. 1-17. ISSN 1541-4337.

SALOMÃO JUNIOR, A.; GASI, T. M. T.; PEREIRA, P. C. **Caracterização de indústria de farinha de mandioca**. São Paulo: CETESB, 1994.

SANTOS, A. de O.; OLIVEIRA, L. A. de; JESUS, J. L. de; SANTANA, F. A.; SANTOS, V. S.; OLIVEIRA, E. J. de Caracterização da composição do amido de acessos de mandioca. . In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 14. 2011, Maceió. Anais. Maceió: 2011.

SHIRAI, M. A.; et al.. Características físico-químicas e utilização em alimentos de amidos modificados por tratamento oxidativo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas. v. 27, n. 2, p. 239-247, 2007.

SILVA, G.M. **Comportamento Reológico de Emulsões de água em óleo**. Universidade Federal de Itajubá. 2016. Disponível em: <[http://www.anp.gov.br/CapitalHumano/Arquivos/PRH16/Mauricio-Gon % E7alveseSilva\\_PRH16\\_UNIFEI\\_G.pdf](http://www.anp.gov.br/CapitalHumano/Arquivos/PRH16/Mauricio-Gon%20E7alveseSilva_PRH16_UNIFEI_G.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2017.

SILVA, G.O. et al.. Características Físico-Químicas De Amidos Modificados De Grau Alimentício Comercializados No Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(1): mar, 2006. 188-197. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n1/28869.pdf> >. Acesso em: 20 de mar. 2017.

SINGH, N. et al.. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. Review. **Food Chemistry**, v. 81, 2003. p. 219-231.

SOUZA, R. C. R; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, 2000. p. 24-30.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, n. 2, 2004. p. 151-165.

THOMAS, D. J. ; ATWELL, W. **Practical for guides the food industry- Starch**. Saint Paul: Eagan Press, 1999. p. 94.

TSAI, M. L.; LI, C. F.; LII, C. Y. Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 74, n. 6, 1997. p. 750-757.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**. versão 2. 2. ed. Campinas: UNICAMP; NEPA, 2011. p.113.

VAMADEVAN, V.; BERTOFT, E. Structure function relationships of starch components. **Starch Stärke**, v. 67, n. 1-2, 2015. p. 55-68. ISSN 1521-379X.

VANDEPUTTE, G.E.; DELCOUR, J.A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.58, 2004. p. 245-266.

VILELA, E. R.; FERREIRA, M.G. Tecnologia de produção e industrialização do amido de mandioca. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, 1987. p. 69-73.

WATERSCHOOT, J. et al.. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch - Stärke**, v. 67, n. 1-2, 2015. p. 14-29, ISSN 1521-379X.

WEBBER F.H. COLLARES-QUEIROZ, F.P., CHANG, Y.K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 29(4): dez, 2009. p. 748-753.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. San Diego: Academia Press, 1997. p. 214.

WONG, K. S.; JANE, J. Effects of pushing agents on the separation and detection of debranched amylopectin by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. **Journal of Liquid Chromatography.**, v.18, p. 63-80, 1995.

ZHU, F. Structure, Physicochemical Properties, Modifications, and Uses of Sorghum Starch. **Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, 2014. p. 597-610

ZOBEL, H. F.; STEPHEN, A. M. Starch: structure, analysis and application. In: STEPHEN, A. M. **Food polysaccharides and their application**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 19-66.