UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

GISELLE VALLIM CORRÊA RAMOS

Efeito do tratamento com ozônio sobre as propriedades estruturais, térmicas, reológicas e funcionais do amido de quinoa

Pirassununga
2019

GISELLE VALLIM CORRÊA RAMOS

Efeito do tratamento com ozônio sobre as propriedades estruturais, térmicas, reológicas e funcionais do amido de quinoa

(Versão Corrigida)

Dissertação de mestrado apresentado à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do título de Mestre no programa de Ciências e Engenharia de Materiais

Área de Concentração: Desenvolvimento, caracterização e aplicação de materiais voltados à agroindústria.

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Freitas Moraes

Pirassununga
2019

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R175e

Ramos, Giselle Vallim Correa
Efeito do tratamento com ozônio sobre as propriedades estruturais, térmicas, reológicas e funcionais do amido de quinoa / Giselle Vallim Correa Ramos ; orientadora Izabel Cristina Freitas Moraes. -- Pirassununga, 2019.
82 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. amido de quinoa. 2. modificação por ozônio. 3. reologia. 4. DSC. 5. Chenopodium quinoa. I. Moraes, Izabel Cristina Freitas, orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por guiar meus caminhos.

À professora Izabel Cristina Freitas Moraes por toda a orientação nesses anos de mestrado e pela confiança para a realização desta dissertação.

Ao professor Paulo José do Amaral Sobral e professora Ivanise Guilherme Branco, que permitiram a realização de parte dos experimentos em seus laboratórios.

Aos laboratórios de Tecnologia de Alimentos (LTA/ZEA), Laboratório de Análise de Alimentos (Bromatologia/ZAZ) e Laboratório de Multiusuários de Caracterização de Materiais (ZEB) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (USP) pelo uso de equipamentos e realização de análises.

Ao Laboratório de Engenharia de Bioprocessos da UNESP, Campus Assis pelo uso de equipamentos e auxílio técnico.

Aos técnicos, Camila Velludo Molina, Marcelo Thomazini, Ana Mônica Bittante, Rodrigo Vinicius Lourenço, Nilson Ferreira, Josiane Gonçalves Borges e Leonardo Martins Pozzobon pela colaboração em diferentes análises e no auxílio do uso de equipamentos.

Aos amigos do departamento e Laboratório de Tecnologia de Biopolímeros, Paula Figueiredo, Santiago López, Lía Castillo, Letícia dos Santos Ferreira, Carla Luciano, pela troca de experiências durante a pesquisa e momentos de descontração e amizade.

Ao meu esposo, Paulo, por toda a paciência, carinho e apoio incondicional, em todos os momentos.

Aos meus pais, Celina e Edson, pela minha formação pessoal e por sempre apoiarem minhas decisões quando precisei.

Aos meus sogros, Dona Dita e Sr. Sebastião pela compreensão e incentivo.

Ao Frodo e Amy pelos momentos de carinho e diversão.

Ao projeto CAPES pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiameto 001.

RESUMO

RAMOS, G. V. C. **Efeito do tratamento com ozônio sobre as propriedades estruturais, térmicas, reológicas e funcionais do amido de quinoa.** 2019. 82f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

O mercado de amidos modificados está em constante evolução, visando superar uma ou mais limitações dos amidos nativos e proporcionar a produção de amidos com novas propriedades funcionais e de valor agregado. A modificação do amido por ozônio é considerada uma tecnologia verde, pois não gera resíduo e tem se mostrado uma técnica oxidante eficaz em estudos recentes. O amido de quinoa tem grânulos muito pequenos com propriedades únicas. Por tanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento com ozônio sobre as propriedades estruturais, térmicas, funcionais e reológicas do amido de quinoa. Os tempos de aplicação do ozônio, nomeados como tempo de geração de ozônio (TGO), na suspensão de amido (10%, m/m) foram 10, 20 e 30 min. O teor de amilose, os valores de pH e a cristalinidade relativa diminuíram com o aumento do TGO. Por outro lado, o conteúdo de grupos carbonila/ carboxila, claridade de pasta e capacidade de absorção de óleo aumentaram com o aumento do TGO se comparado ao amido de quinoa nativo. A análise por cromatografia de permeação em gel indicou despolimerização da amilose como resultado da hidrólise do amido. Os resultados mostraram que 30 min de tratamento com ozônio aumentou significativamente o diâmetro médio das partículas e a análise morfológica apresentou um achatamento de alguns dos grânulos de amido, indicando modificação branda. O tratamento com ozônio aumentou a temperatura de início da gelatinização e diminuiu a entalpia de gelatinização do amido de quinoa. Após a retrogradação, não foi observada nenhuma diferença significativa ($p < 0,05$) nas propriedades térmicas, analisadas por DSC, entre as amostras tratadas com ozônio e no amido nativo. A viscosidade aparente de pico (39%), *breakdown* (88%) e o *setback* (53%) aumentaram significativamente para a amostra tratada com ozônio por 10 min, quando comparado ao amido nativo, porém sem mudanças significativas entre os diferentes TGO. As curvas de fluxo obtidas para as pastas / géis de amido de quinoa (5% b.s., 25 ºC) nativo e tratados com ozônio apresentaram comportamento não-Newtoniano e pseudoplástico, que foi modelado pela equação Lei da Potência (R^2 >

0,998). A viscosidade aparente, a pseudoplasticidade e o índice de consistência dessas amostras aumentaram com o aumento do TGO. Nos testes de varredura de frequência, a viscoelasticidade para as amostras gelatinizadas de amido de quinoa (5% b. s., 25 ºC) não foi alterada após o tratamento do amido com ozônio e apresentaram comportamento de gel fraco (G'>G"). Concluiu-se que os tempos de aplicação de ozônio foram suficientes para promover alterações tanto nas propriedades estruturais, como nas propriedades funcionais e reológicas do amido de quinoa, ampliando seu espectro de uso em aplicações industriais.

Palavras-chave: ozônio, *Chenopodium quinoa*, oxidação de amido, propriedades de pasta, DSC, curvas de fluxo, viscoelasticidade.

ABSTRACT

RAMOS, G.V. C. **Effect of ozone treatment on structural, thermal, rheological and functional properties of quinoa starch**. 2019. 82f. Dissertation (master degree) – Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2019.

The market for modified starches is constantly evolving, aiming to overcome one or more limitations of native starches and to provide the production of starches with new functional and value-added properties. Starch modification using ozone is considered a green technology, since, it does not generate residues and has been shown to be an effective oxidizing technique in recent studies. Quinoa starch has very small granules with unique properties. Then, the objective of this work was to evaluate the effect of ozone treatment on the structural, thermal, functional and rheological properties of quinoa starch. The ozone application times, named as ozone generation time (OGT), in a starch suspension (10% wt) were 10, 20 and 30 min. The amylose content, pH values and relative crystallinity decreased with increasing OGT. In contrast, the content of carbonyl / carboxyl groups, paste clarity and oil absorption capacity increased with increasing OGT when compared with native quinoa starch. Gel permeation chromatography analysis indicated amylose depolymerization as a result of starch hydrolysis. The results showed that 30 min of treatment with ozone increased significantly the average diameter and the morphological analysis presented flattening of some of granules, indicating slight modification. The treatment with ozone increased the gelatinization onset temperature and decreased the gelatinization enthalpy of quinoa starch. No significant changes ($p < 0.05$) were observed in thermal properties after retrogradation, analyzed by the DSC, of ozone treated samples and of native starch. The apparent peak viscosity (39%), breakdown (88%) and setback (53%) increased significantly for the sample treated with ozone for 10 min, when compared with native starch, but without significant changes between the different OGT. The flow curves obtained for quinoa starch (5% wt, 25 °C) pastes / gels presented non-Newtonian and pseudoplastic behavior, which were modeled by the Power Law Equation ($R^2 > 0.998$). The apparent viscosity, pseudoplasticity, and consistency index of these samples increased with the increase in OGT. In the frequency sweep tests, the viscoelasticity of the gelatinized quinoa starches samples (5% wt, 25 °C) was not altered after the ozone treatment and presented a weak gel behavior (G'> G"). In conclusion, the ozone application times were sufficient to promote changes on the structural, functional and rheological properties of quinoa starch, increasing its spectrum of use in industrial applications.

Key words: ozone, *Chenopodium quinoa*, starch oxidation, pasting properties, DSC, flow curve, viscoelasticity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular da amilose e amilopectina. 16
Figura 2 – Padrão de cristalinidade tipo A e B da amilopectina. 19
Figura 3 – Estrutura dos grânulos de amido e da amilopectina. (A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e o centro ou *hilum*. 21
Figura 4 – Representação da organização dos bloquetes. 22
Figura 5 – Representação longitudinal do grão de quinoa. O pericarpo (PE) cobre o grão; (T) Episperma ou Testa; (C) cotilédones; (EN) endosperma; (R) radícula e (P) perisperma. 25
Figura 6 – Estrutura utilizada na modificação do amido de quinoa por ozônio. (A) cilindro de oxigênio; (B) gerador de ozônio; (C) reator de vidro; (D) agitador magnético; (E) filtros de carvão ativado; (F) solução de iodeto de potássio. 33
Figura 7 – Curva viscoamilográfica obtida pelo RVA, com identificação dos parâmetros avaliados. 40
Figura 8 – Valores de pH dos amidos de quinoa nativo e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 43
Figura 9 – Teores de grupos carbonila (colunas em azul) e carboxila (colunas em vermelho) dos amidos de quinoa nativo e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 44
Figura 10 – Teores de amilose (%) dos amidos de quinoa nativo e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 45
Figura 11 – Perfis de eluição obtidos por cromatografia de permeação em gel dos amidos de quinoa nativo (linha vermelha) e ozonizados com diferentes tempo de geração de ozônio (TGO): 10 min (linha azul), 20 min (linha verde) e 30 min (linha preta). 47
Figura 12 – Difratogramas dos amidos de quinoa nativo (linha vermelha) e ozonizados com diferentes tempo de geração de ozônio (TGO): 10 min (linha azul), 20 min (linha verde) e 30 min (linha preta). 48

Figura 13 – Perfil de distribuição do tamanho de partículas dos amidos nativos (linha vermelha) e ozonizados com diferentes tempo de geração de ozônio (TGO): 10 min (linha azul), 20 min (linha verde) e 30 min (linha preta). 50
Figura 14 – Micrografias dos amidos nativos (A) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (B), 20 min (C) e 30 min (C). Aumento de 10.000 x. 51
Figura 15 – Valores de capacidade de absorção de óleo para os amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).....55
Figura 16 – Valores de transmitância, para os amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).....56
Figura 17 – Curvas de fluxo de calor obtidas por calorimetria diferencial de varredura dos amidos nativos (0 min, verde) e ozonizado por 30 min (vermelho). Linhas contínuas representam a gelatinização das amostras e linhas tracejadas, as amostras retrogradadas (analisadas após 11 dias de armazenamento). 59
Figura 18 – Curva típica de viscosidade de pastas/géis dos amidos nativos (vermelho) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (cinza). A linha contínua representa a rampa de temperatura. 63
Figura 19 – A) Curvas de fluxo descendentes e (B) Viscosidade aparente em função da taxa de deformação das pastas/géis de amidos (5% m/m) nativos (vermelho) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (preto). Pontos representam os dados experimentais e linhas contínua, o modelo de Lei da Potência (LP).....67
Figura 20 – Módulos de armazenamento (G’) e de perda (G”) para amido de quinoa (20% m/m) nativo (G’: círculo aberto vermelho e G”: triângulo aberto vermelho) e submetido a 30 minutos de TGO (G’: círculo fechado preto e G”: triângulo fechado preto) em função da temperatura (ºC).....69
Figura 21 – Módulo elástico (G’) em função da deformação para os géis/pastas de amidos (5% m/m) nativo (vermelho) e ozonizados em diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (preto).....71
Figura 22 – Módulos viscoelásticos (G’ e G”) em função da frequência para pastas/géis de amidos (5% m/m) nativo (vermelho) e ozonizados em diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (preto). G’: símbolos fechados; G”: símbolos abertos.....72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cristalinidade relativa (%) dos amidos de quinoa nativo (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).....49
Tabela 2 - Diâmetro médio dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 50
Tabela 3 - Poder de Inchamento ($g.g^{-1}$) em diferentes temperaturas, dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 53
Tabela 4 - Índice de Solubilidade (%) em diferentes temperaturas, dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 54
Tabela 5 - Parâmetros de cor dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 58
Tabela 6 - Propriedades térmicas de gelatinização dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).....59
Tabela 7 - Propriedades térmicas de retrogradação dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).....61
Tabela 8 - Propriedades de pasta dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 63
Tabela 9 - Propriedades reológicas (k e n, modelo Lei da Potência) para pastas/géis de amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO). 68
Tabela 10 - Temperaturas de gelatinização para as amostras de pastas/géis de amidos de quinoa nativo (0 min) e oxidados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).....70

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13
2. OBJETIVO GERAL 15
2.1. Objetivos específicos 15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16
3.1. Amido 16
3.1.1. Composição química 16
3.1.2. Outros constituintes 18
3.1.3. Estrutura do grânulo 18
3.1.4. Gelatinização e Retrogradação 22
3.2. Amido de quinoa 23
3.3. Amido modificado 27
3.4. Modificação do amido por ozônio 27
4. MATERIAL E MÉTODOS 31
4.1. Material 31
4.2. Extração e composição química do amido 31
4.3. Modificação do amido por ozônio 32
4.4. Caracterização do amido 33
4.4.1. pH 33
4.4.2. Grupos carboxila e carbonila 33
4.4.3. Amilose aparente 35
4.4.4. Cromatografia por permeação em gel 35
4.4.5. Difração por raios X (DRX) 36
4.4.6. Distribuição de tamanho granular 36
4.4.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 37
4.4.8. Poder de inchamento (PI) e Índice de solubilidade (IS) 37
4.4.9. Capacidade de absorção de óleo (CAO) 38
4.4.10. Claridade de pasta 38
4.4.11. Parâmetros de cor 39
4.4.12. Calorimetria diferencial de varredura (DSC) 39
4.4.13. Propriedades de pasta 40
4.4.14. Comportamento reológico das suspensões, pastas ou géis do amido 41

4.4.14.1. Curvas de Fluxo 41
4.4.14.2. Ensaios em cisalhamento oscilatório.....42
4.4.15. Análises estatísticas 42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 43
5.1. Efeito do ozônio na estrutura do amido 43
5.1.1. pH e conteúdo de grupos carbonila e carboxila.....43
5.1.2. Teor de amilose.....45
5.1.3. Distribuição de tamanho molecular 46
5.1.4. Difração por raios X e cristalinidade relativa.....48
5.1.5. Distribuição de tamanho granular.....49
5.1.6. Morfologia dos grânulos 51
5.2. Efeito do ozônio nas propriedades do amido.....52
5.2.1. Poder de inchamento (PI) e Índice de solubilidade (IS).....52
5.2.2. Capacidade de absorção de óleo (CAO).....54
5.2.3. Claridade de pasta 56
5.2.4. Parâmetros de cor 57
5.2.5. Calorimetria diferencial de varredura.....58
5.2.6. Propriedades de pasta 61
5.2.7. Comportamento reológico 65
5.2.7.1. Curvas de Fluxo 66
5.2.7.2. Ensaios oscilatórios.....68
6. CONCLUSÃO.....73
REFERÊNCIAS.....74

1. INTRODUÇÃO

O amido é um polissacarídeo formado por unidades de glicose, unidas por ligações glicosídicas α-(1→4) e α-(1→6), sendo constituído por 2 principais macromoléculas: amilose e amilopectina (DENARDIN; SILVA, 2009). É uma importante fonte de carboidrato e reserva de energia para as plantas, sendo presente de forma abundante na natureza e podendo ser encontrado em tubérculos, grãos, sementes, frutas e raízes. Trata-se de um recurso com alta disponibilidade, baixo custo e renovável. As propriedades dos amidos variam muito de acordo com a fonte vegetal em que é encontrado, o que pode influenciar as possíveis aplicações industriais (OLADEBEYE et al., 2013).

Os amidos mais amplamente utilizados comercialmente (milho, batata, mandioca, trigo) possuem vasta literatura a seu respeito (FONTAN, 2008). Pesquisas são desenvolvidas com amidos de fontes não convencionais, na busca de um amido com propriedades específicas, principalmente para resistir às diversas condições de processamento em suas aplicações industriais, tais como altas variações de viscosidade, baixa estabilidade ao cisalhamento em altas temperaturas, baixa estabilidade do gel de amido em baixas temperaturas, entre outras.

A quinoa, um pseudocereal, considerada uma fonte não convencional de amido (FLEMING; GALWEY, 1995), é encontrada principalmente nos países andinos e apresenta um cultivo em crescente expansão. No Brasil, atualmente, a quinoa tem sua semeadura dependente do cultivo de outras culturas de verão, tais como soja e milho, sendo considerada uma cultura ainda pouco difundida no país. Pesquisas tem sido feitas com o objetivo de desenvolver grãos mais adaptados às condições climáticas brasileiras, principalmente na região do cerrado, no Paraná (SPEHAR; ROCHA; SANTOS, 2011; VASCONCELOS et al., 2012).

O componente principal da quinoa é o amido (30 a 70 g/100 g de sólido), possui propriedades atrativas, tais como tamanhos de grânulos pequenos (~0.5 a 3 µm) (LI; ZHU, 2018a), o que possibilita sua aplicação como estabilizante de emulsão (emulsão de *Pickering*) e alto teor de amilopectina, com cadeias curtas e muito longas, o que lhe confere propriedades singulares, como baixas temperaturas de gelatinização e retrogradação lenta (ARAUJO-FARRO et al., 2010; LI; ZHU, 2018a).

Ressalta-se também o interesse na modificação dos amidos visando a ampliação do seu espectro de aplicação industrial em diferentes áreas: alimentícia,

farmacêutica, metalúrgica, papel, construção civil e têxtil entre outras (WURZBURG, 1986; KAUR et al., 2012). Em geral, no setor alimentício, o amido é usado para alterar ou controlar diversas características, como textura, aparência, umidade, consistência e estabilidade no *shelf life*, além de melhorias no processo produtivo.

A modificação do amido pode ser alcançada por métodos químicos, físicos, genéticos e enzimáticos. O método de ozonização pode ser usado na modificação química dos grânulos de amido (ÇATAL; IBANOĞLU, 2012). O tratamento por ozônio é considerado uma tecnologia limpa e muito promissora para o mercado. A oxidação do amido com ozônio (agente oxidante), pode ser feita em suspensão aquosa ou pelo contato do gás com o material seco. Durante a ozonização ocorre a formação de grupos carbolina e carboxila em substituição aos grupos hidroxila, havendo a hidrólise das moléculas, com a quebra das ligações glicosídicas e a despolimerização das cadeias (OLADEBEYE et al., 2013).

Muitos estudos foram realizados com o objetivo de estudar a extração e a caracterização do amido de quinoa (ATWELL et al., 1983; FLEMING; GALWEY, 1995; JAMES, 2008; RAYNER et al., 2012; VALENCIA, 2016; JAN; PANESAR; SINGH, 2017; LI; ZHU, 2018a). No entanto, há poucos estudos feitos sobre modificação do amido de quinoa e não foi encontrado trabalho sobre a modificação do amido de quinoa utilizando o ozônio. Em vista do que foi exposto, e das particularidades apresentadas para cada fonte botânica após o processo de ozonização, este trabalho avaliou a modificação do amido de quinoa nativo por ozônio em diferentes tempos e sua caracterização quanto às propriedades estruturais, reológicas e funcionais.

2. OBJETIVO GERAL

Os objetivos deste trabalho foram modificar o amido de quinoa com aplicação de ozônio em suspensão e avaliar o efeito do tempo de geração de ozônio (TGO) nas suas características estruturais, morfológicas e funcionais.

2.1. Objetivos específicos

Os objetivos específicos desse trabalho consistiram em:

- Avaliar as alterações estruturais nos amidos nativo e tratados com ozônio pelas análises de difração por raios X (DRX), de distribuição de tamanho de partícula, de cromatografia por permeação em gel (GPC) e morfológicas, por microscopia eletrônica de varredura (MEV)
- Determinar o teor de amilose e conteúdo de grupos carboxilas e carbonilas dos amidos nativo e modificados;
- Caracterizar as propriedades térmicas dos amidos, por calorimetria diferencial de varredura (DSC), em função do TGO;
- Avaliar as mudanças nas propriedades funcionais (claridade de pasta, poder de inchamento, índice de solubilidade, capacidade de absorção de óleo e propriedades de pasta) e no comportamento reológico dos amidos modificados em cisalhamento estacionário e oscilatório em comparação com o amido nativo.

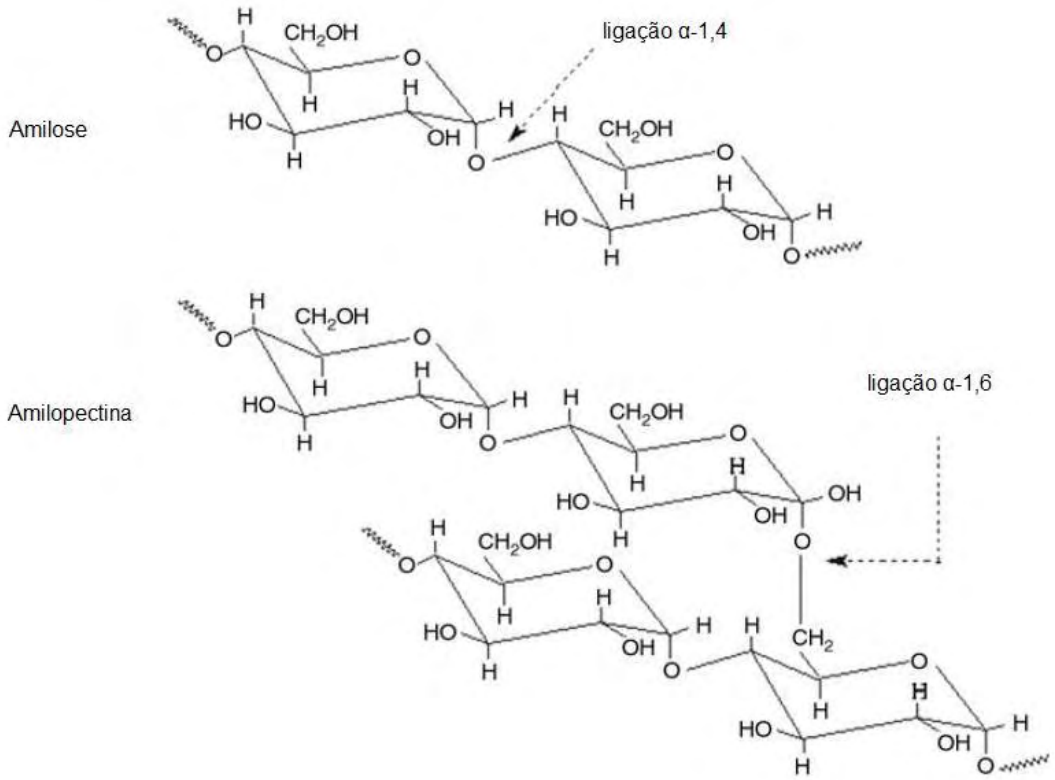
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Amido

3.1.1. Composição química

O amido é o biopolímero renovável mais abundante, depois da celulose, encontrado na natureza. Pode ser extraído de grãos, tubérculos (mandioca, batata) e cereais (milho, trigo, arroz) (OLADEBEYE et al., 2013). A estrutura do grânulo é considerada parcialmente cristalina e é formada por dois principais polissacarídeos: a amilose e a amilopectina (Figura 1), em que a proporção entre essas macromoléculas varia principalmente de acordo com a fonte vegetal em que é encontrado e o estágio de amadurecimento da planta (VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997).

Figura 1 – Estrutura molecular da amilose e amilopectina.



Fonte: Van Soest e Vliegenthart (1997).

As propriedades funcionais do amido variam principalmente de acordo com a razão entre amilose / amilopectina presente no grânulo, assim como sua organização

física na estrutura (WURZBURG, 1986). Geralmente, o grânulo de amido apresenta de 20 a 30% de amilose e de 70 a 80% de amilopectina (DENARDIN; SILVA, 2009). Os amidos de cereais, por exemplo, possuem de 72 a 82% de amilopectina em sua constituição. Já amidos de alta amilose, possuem de 50 a 70% de amilose e os cerosos (alguns tipos de milho, cevada, arroz) possuem apenas 1% de amilose (WEBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009).

A amilose, formada por unidades de glicose, através de ligações α-(1→4), possui uma cadeia essencialmente linear, apresentando poucas ramificações (WURZBURG, 1986), sendo a principal responsável pela formação da região amorfa do grânulo. As cadeias de α-D-Glicose presentes na amilose geralmente formam estruturas espirais, devido à facilidade de formação de ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila, adquirindo uma conformação helicoidal. O interior da hélice é hidrofóbico, admitindo a formação de complexos com ácidos graxos livres, alguns alcoóis e com o iodo (TESTER, 1997). A amilose é capaz de interagir com o iodo e produzir um complexo de inclusão helicoidal. Este complexo apresenta cor azul comum à absorção máxima nos comprimentos de onda de 620 nm a 680 nm (BELLO-PÉREZ; MONTEALVO; ACEVEDO, 2006). A amilose apresenta massa molecular da ordem de $1,5.10^5$ a 10^6 Daltons e tamanho médio de 10^3 unidades de glicose (XIE; LIU; CUI, 2005).

A amilopectina é formada por unidades de glicose, unidas através de ligações α-(1→4) e α-(1→6) e possui alto grau de ramificação, sendo a principal responsável pela região cristalina do grânulo (WURZBURG, 1986). O grau de polimerização dessa macromolécula é da ordem de 10^4 a 10^5 unidades de glicose, apresenta massa molecular de $0,5 \times 10^8$ a 10^9 Daltons e possui comprimento de ramificações variável, geralmente de 20 a 30 unidades de glicose (XIE; LIU; CUI, 2005). Na presença de iodo, resulta em uma coloração avermelhada.

Amidos com amilopectina que apresentam altas e baixas proporções de cadeias curtas apresentam padrões cristalinos A e B, respectivamente (BULÉON et al., 1998). A região onde se concentra a amilopectina é mais densa ou cristalina. Por ser mais compacta, esta região dificulta a entrada de moléculas como as de água e enzimas, apresentando-se mais resistente ao processo hidrolítico (FRANCO et al., 2001).

3.1.2. Outros constituintes

O grânulo de amido tem componentes em pequenas quantidades que são compostos de proteínas, lipídeos e cinzas (minerais e sais) (XIE; LIU; CUI, 2005). Os lipídeos são considerados a fração mais importante associada aos grânulos de amido, podendo se complexar com a amilose, alterando as propriedades reológicas do amido. Geralmente são observados altos conteúdos de lipídeos em amidos de cereais, que são caracterizados pela presença de ácidos graxos livres (AGL) e lisofosfolípideos (LFL), os quais são correlacionados positivamente com o teor de amilose (MORRISON; LAW; SNAPE, 1993). Os amidos de tubérculos e raízes possuem pouco ou nenhum fosfolipídeo, os cerosos, igualmente apresentam baixos valores de lipídeos, já os de alta amilose possuem maior quantidade de lipídeos (XIE; LIU; CUI, 2005).

Proteínas e substâncias orgânicas são consideradas impurezas e não são complexadas com os polissacarídeos formadores dos grânulos. Os amidos apresentam pequenas quantidades de minerais, os quais não interferem nas suas propriedades funcionais, com exceção do fósforo que pode aparecer ligado covalentemente aos grânulos, modificando as propriedades funcionais tais como claridade, viscosidade e consistência de pasta (SPIER, 2010). As três formas principais do fósforo encontrado nos grânulos de amido são: fosfolipídeos, monoésteres de fosfato e fosfatos inorgânicos (JANE; WONG; MCPHERSON, 1997).

Em amidos de cereais o fósforo se apresenta na forma de lisofosfolipídeos (LFL) e pode formar complexo com a amilose, o que reduz a capacidade do amido de se ligar com a água, tornando suas pastas menos viscosas e mais opacas. Em amidos provenientes de raízes e tubérculos, o fósforo se apresenta na forma de monoésteres, aumentando sua capacidade de ligação com a água e poder de inchamento (HOOVER, 2001).

3.1.3. Estrutura do grânulo

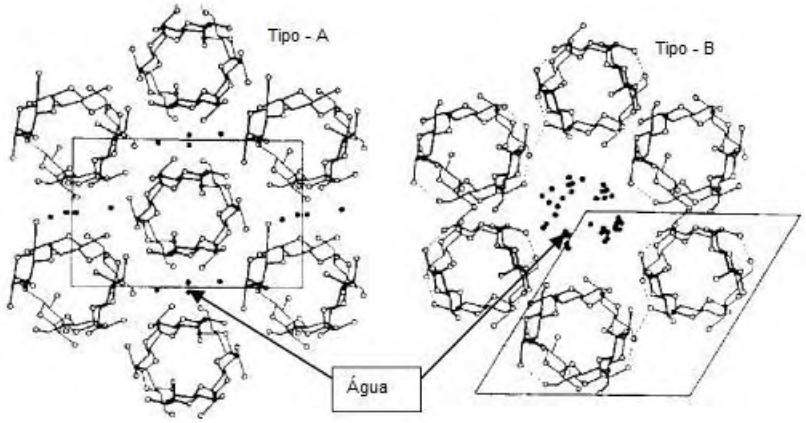
O grânulo de amido é composto por regiões amorfas e cristalinas. A região cristalina é formada essencialmente por cadeias de amilopectina orientadas em duplas hélices, com ligações de hidrogênio, sendo uma das fases mais estruturadas e compactas, e de difícil acesso à entrada de água ou reagentes químicos. Já a região

amorfa é composta por diferentes materiais, como amilose livre e amilopetina ramificada, em uma conformação aleatória, com ligações mais fracas, comparadas à região cristalina (XIE; LIU; CUI, 2005).

Como os grânulos de amido são parcialmente cristalinos (15 a 45%), os mesmos apresentam padrões específicos de difração em raios X, variando de acordo com a fonte vegetal (CHEETHAM; TAO, 1998). Existem três tipos de padrões cristalinos de amido: padrão A, B e C, que dependem do comprimento de cadeia da amilopectina (JANE; WONG; MCPHERSON, 1997) e também um padrão mais recente, o tipo V, que se apresenta quando a amilose forma um complexo com compostos orgânicos ou iodo (BULÉON et al., 1998; TESTER; KARKALAS; QI, 2004). Em geral, o tipo A é encontrado em cereais, o tipo B provém de tubérculos e grãos com elevada concentração de amilose, o tipo C é a combinação dos outros dois padrões (BELLO-PÉREZ; MONTEALVO; ACEVEDO, 2006) e o tipo V provém de moléculas de amilose co-cristalizadas com compostos como iodo, álcoois ou ácidos graxos (BULÉON et al., 1998; TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

Segundo Tester, Karkalas e Qi (2004), as duplas hélices das duas formas polimórficas tipos A e B são praticamente idênticas quanto à estrutura helicoidal. Contudo, no padrão tipo A, o empacotamento das duplas hélices formadas pelas cadeias laterais de amilopectina é mais denso, formando uma estrutura mais compacta com 8 moléculas de água por célula unitária monocíclica, enquanto no tipo B, o empacotamento é mais aberto, formando uma estrutura hexagonal com 36 moléculas de água (Figura 2).

Figura 2 – Padrão de cristalinidade tipo A e B da amilopectina.



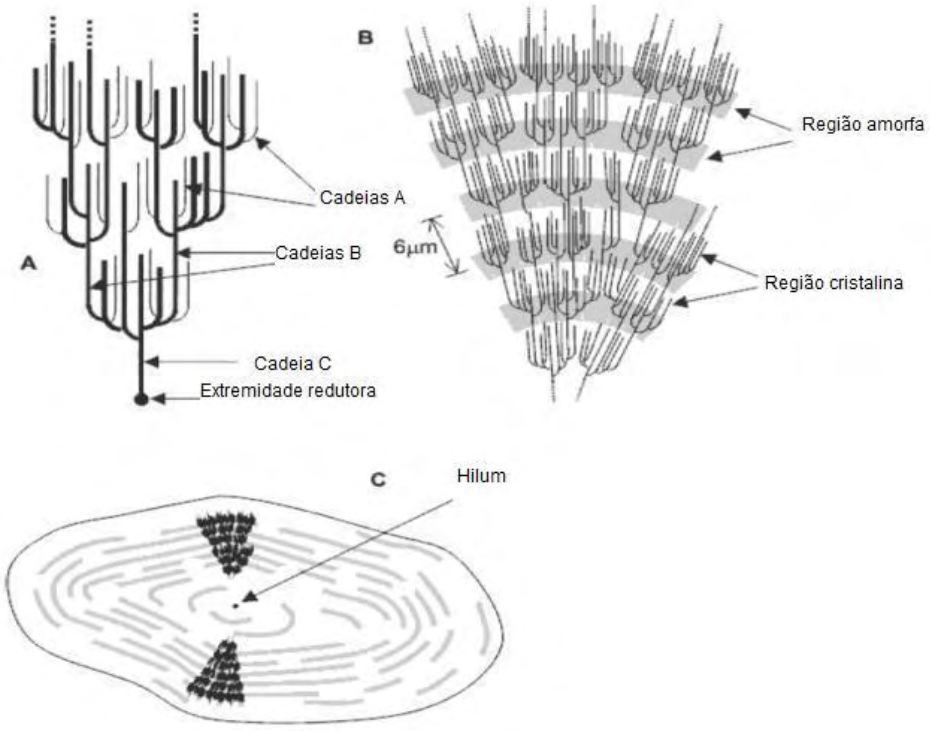
Fonte: Tester, karkalas e Qi (2004).

Os formatos dos grânulos de amido podem ser regulares ou irregulares, podendo se apresentar em formas geométricas arredondadas, ovais e até mesmo poliédricas e triangulares e seus diâmetros variam geralmente de 1 a 100 µm (XIE; LIU; CUI, 2005; LEONEL, 2007).

A Figura 3(A e B) mostra um esquema de organização das cadeias de amilopectina, sua estrutura em *clusters* e a estrutura interna do grânulo de amido. As cadeias de amilopectina se organizam ainda em *clusters* e são identificadas como A, B e C (cadeia principal). As cadeias A se encontram na periferia da molécula, podendo se ligar às cadeias B ou C por ligações α-(1→6), não possuindo ramificação, já as cadeias B são ramificadas e podem se conectar por ligações α-(1→6) às outras cadeias, enquanto a cadeia C leva o grupo redutor do polissacarídeo e possui alto grau de ramificação (TESTER; KARKALAS; QI, 2004). Cada *cluster* possui uma região com pontos de ramificação (região amorfa) com segmentos curtos da cadeia de amilopectina, que forma duplas hélices (região cristalina) (SMITH; DENYER; MARTIN, 1997).

O grânulo de amido apresenta uma estrutura hierárquica (Figura 3) e se desenvolve a partir de um centro de nucleação, conhecido como *hilum* (Figura 3C). Sua estrutura é formada por camadas alternadas de anéis de crescimentos radiais, formadas a partir do centro da estrutura até a superfície do grânulo (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997). Nesses anéis de crescimento estão alternadas as regiões cristalinas e amorfas (COPELAND et al., 2009). Os anéis amorfos possuem as duas macromoléculas (amilose e amilopectina), que se posicionam de forma desordenada (BULÉON et al., 1998). Dentro das lamelas, as camadas cristalinas concêntricas são formadas quando as duplas hélices de amilopectina se empacotam de forma ordenada (COPELAND et al., 2009). O empacotamento denso das estruturas parcialmente cristalinas dos grânulos de amido torna-o insolúvel em água na temperatura ambiente (JANE, 2006).

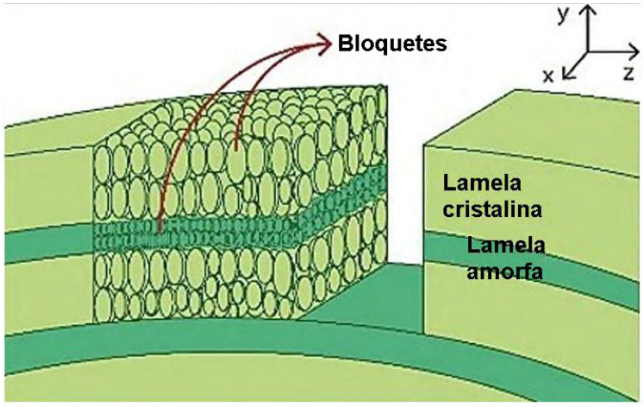
Figura 3 – Estrutura dos grânulos de amido e da amilopectina. (A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e o centro ou *hilum*.



Fonte: Denardin e Silva (2009)

A organização da estrutura do grânulo de amido é muito complexa e existem vários estudos na literatura quanto à sua disposição. Gallant, Bouchet e Baldwin (1997) propuseram, em sua representação esquemática dos grânulos, que as lamelas amorfas e cristalinas se organizam em estruturas maiores, denominadas bloquetes (Figura 4). A organização dos bloquetes nas lamelas e a presença de canais radiais influenciam diretamente as propriedades do amido (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997).

Figura 4 – Representação da organização dos bloquetes.



Fonte: Castanha, Matta Jr. e Agusto (2017)

3.1.4. Gelatinização e Retrogradação

O amido nativo é praticamente insolúvel em água fria. Os grupos hidroxila e os átomos de oxigênio presentes na D-Glicose são sítios de ligação com a água, que geram característica hidrofílica ao amido. A insolubilidade se deve às ligações de hidrogênio entre as cadeias de amido. No entanto, quando há excesso de água e aquecimento, os grânulos de amido sofrem um inchamento irreversível, produzindo uma pasta viscosa, fenômeno conhecido como gelatinização (PENG; ZHONGDONG; KENNEDY, 2007).

O fenômeno da gelatinização pode ser caracterizado pela perda da ordem cristalina (birrefringência), inchamento dos grânulos, lixiviação da amilose e ruptura da estrutura dos grânulos (HOOVER, 2001). A temperatura de gelatinização pode variar de 55 a 70 ºC, dependendo da fonte do amido (ATWELL et al., 1983; LAGARRIGUE et al., 2008).

Quando resfriadas, as pastas de amido tendem a formar géis, em que as moléculas de amido tendem a se rearranjar, formando estruturas fortemente unidas e ordenadas, mantidas pelas ligações de hidrogênio e ocorrendo a perda de seus sítios reativos, fenômeno conhecido como retrogradação (KOKSEL et al., 2008). A forte interação das cadeias entre si promove a saída de água, conhecida como sinerese (DENARDIN; SILVA, 2009). Sob condições favoráveis, esta estrutura ordenada pode se desenvolver em forma cristalina (ATWELL et al., 1988). O amido retrogradado torna-se mais resistente a agentes químicos e é insolúvel em água fria (KOKSEL et al., 2008).

A retrogradação é um processo contínuo e sua cinética difere para a amilose e para a amilopectina. A amilose retrograda rapidamente, reassociando com moléculas de amilose adjacentes por meio de ligações de hidrogênio, formando uma estrutura cristalina de dupla hélice. A retrogradação da amilopectina é um processo lento, podendo levar horas ou dias, e é caracterizado pela formação de regiões cristalinas em função da associação das ramificações de cadeia curta (DENARDIN; SILVA, 2009).

Fatores importantes que podem influenciar o fenômeno da retrogradação são a fonte do amido, a concentração, as condições de aquecimento / resfriamento, pH, presença de solutos (lipídeos e açúcares) e, um dos mais importantes, a proporção de amilose no grânulo, sendo que quanto maior for o teor de amilose, maior será a tendência de reassociação ou retrogradação (DENARDIN; SILVA, 2009).

3.2. Amido de quinoa

Na América do Sul, existem numerosas fontes de amido que ainda são pouco estudadas, consideradas como fontes de amido não convencionais, e podem apresentar características físico-químicas diferenciadas dos amidos amplamente comercializados, como os amidos de milho, batata, trigo, arroz, mandioca (tapioca) (FONTAN, 2008).

As propriedades morfológicas e térmicas de amidos nativos andinos foram estudadas para avaliar seu potencial como matéria-prima de plásticos biodegradáveis, mostrando temperaturas de gelatinização, para todas as variedades estudadas, na faixa de 54 a 74 ºC, sugerindo que esses materiais poderiam ser processados como termoplásticos para fabricação de embalagens, já que possuem picos endotérmicos associados à gelatinização (TORRES et al., 2011).

No Quadro 1 foram compiladas características de alguns amidos de fontes não convencionais em comparação às de fontes de amidos mais utilizadas comercialmente.

Quadro 1 – Teor de amilose, temperatura de gelatinização, padrão cristalino e diâmetro médio de amidos de fontes convencionais e não convencionais.

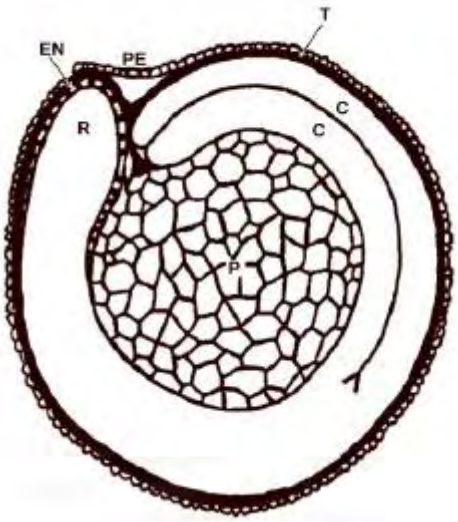
Fonte de amido	**Teor amilose (%)**	**Temperatura de gelatinização (ºC)**	**Padrão cristalino**	**Tamanho do grânulo (µm)**	**Referências**
Milho	25 a 28	62 a 72	A	20	Lima et al. (2012)
Batata	28	56 a 66	B	30 a 40	Leonel (2007); Lima et al. (2012)
Mandioca	17	58 a 78	A	14 a 17	Leonel (2007)
Trigo	26	52 a 63	A	5 a 22	Lima et al. (2012)
Quinoa	3,5 a 22,5	45 a 60	A	0,5 a 3	Atwell et al. (1983); Li, Zhu (2018b)
Semente de jaca	24 a 32	72 a 81	A	1,2 a 6,4	Luciano et al. (2017)
Cañihua	12 a 14	54 a 69	A	<1,0	Ramos (2014); López (2016)
Inhame	15 a 27	79 a 88	B	7 a 50	Otegbayo, Oguniyan, Akinwumi (2014)

Fonte: Própria autoria.

A quinoa (*Chenopodium quinoa*) é uma planta originária da região dos Andes (FLEMING; GALWEY, 1995), onde tem sido cultivada há milhares de anos. No final dos anos de 1970, o cultivo da mesma teve uma rápida expansão e passou do plantio doméstico (como grãos básicos comestíveis) para a exportação (LI; ZHU, 2018a). A produção mundial permaneceu crescente no período de 1992 a 2014, superando as 192 mil toneladas em 2014 (FAO, 2013). No Brasil, a Embrapa já fornece a quinoa variedade BRS Syetetuba, cultivar adaptada às condições de solo e clima do cerrado brasileiro. Estudos com esse cultivar indicam resultados favoráveis para desencadear a produção comercial de quinoa no Brasil (SPEHAR; ROCHA; SANTOS, 2011).

Os grãos de quinoa são formados por: pericarpo, episperma (testa), perisperma e embrião (radícula e cotilédones) (Figura 5). O pericarpo é rico em minerais, principalmente, cálcio e potássio. O embrião, que contém dois cotilédones, possui 86% do total de proteína e 49% do total de lipídeos e no perisperma encontra-se o maior teor de amido (PREGO; MALDONADO; OTEGUI, 1998; JAMES, 2008).

Figura 5 – Representação longitudinal do grão de quinoa. O pericarpo (PE) cobre o grão; (T) Episperma ou Testa; (C) cotilédones; (EN) endosperma; (R) radícula e (P) perisperma.



Fonte: Prego, Maldonado e Otegui (1998).

As sementes da quinoa podem variar a cor (vermelha, preta ou branca) e a planta possui alta adaptabilidade às diferentes condições ambientais. A quinoa é considerada um pseudocereal, sendo uma dicotiledônia, diferente dos cereais, que são originários de monocotiledôneas (FLEMING; GALWEY, 1995). A diversidade de cores e variedades dos grãos de quinoa levam a diferentes características quanto aos teores de amido, proteínas, minerais, açúcares, vitaminas, saponinas, capacidade antioxidante, dependendo do genótipo estudado (REPO-CARRASCO-VALENCIA et al., 2010).

Nos últimos anos tem crescido o interesse no grão devido às suas propriedades nutricionais, sendo fonte de amido, proteína, fibra, gordura, minerais, polifenóis e vitaminas (LI; ZHU, 2018a). O conteúdo de proteínas nos grãos de quinoa varia de 12 a 23%, sendo superior ao encontrado em alguns cereais, como cevada (11,0%, b.s.), arroz (7,5%, b.s.) e milho (13,4%, b.s.), e semelhante ao de trigo (15,4%) (JAMES, 2008). O teor de lipídeos nos grãos varia de 6,5 a 7,5%, com predomínio dos ácidos graxos, linoleico e oleico e a composição do perfil de ácidos graxos é similar à da soja (RUALES; NAIR, 1992).

Estudos relacionados à aplicação e caracterização físico-química do amido de quinoa ainda são pouco explorados, sendo os grãos de quinoa de cor branca, cultivar Real, a variedade que possui um pouco mais de literatura publicada (FLEMING;

GALWEY, 1995; ARAUJO-FARRO et al., 2010; VALENCIA, 2016; LI; ZHU, 2018a). Fleming e Galwey (1995) estudaram as propriedades físico-químicas dos grãos e amido de quinoa, Araujo-Farro et al (2010) estudaram a aplicação do amido de quinoa variedade Real para a produção de filmes biopoliméricos e Valencia (2016) estudou as características físico-quimicas e propriedades funcionais de grãos e amidos de quinoa das variedades branca, vermelha e preta. No entanto, se comparado com estudos de outros tipos mais conhecidos de fontes amido, como batata e milho, ainda há uma carência de estudos relacionados ao amido de quinoa (WANG; ZHU, 2016; LI; ZHU, 2018a).

O amido de quinoa apresenta um padrão cristalino tipo A, com cristalinidade relativa variando de 21,5 a 43%. Os grânulos do amido de quinoa são pequenos em comparação à outras fontes de amido e possuem tamanho da ordem de 0,5 a 3 µm (LI; ZHU, 2018b). A composição química da molécula apresenta baixos teores de amilose, em torno de 3,5 a 22,5% (ATWELL et al., 1983; VALENCIA, 2016; LI; ZHU, 2018b), e possui amilopectina com grandes quantidades de cadeias curtas e super longas (ATWELL et al., 1983). Essa característica da amilopectina na quinoa dá à estrutura do amido propriedades físico-quimicas diferentes, como por exemplo: baixas temperaturas de gelatinização (45 a 60 ºC) e retrogradação lenta (ATWELL et al., 1983). Essas propriedades estão levando à procura dessa fonte de amido para estudos na área de alimentos, além de outras áreas, como a aplicação em filmes e em emulsões *Pickering* (ARAUJO-FARRO et al., 2010; LI; ZHU, 2018a).

O amido da quinoa apresenta maior viscosidade, maior capacidade de ligação com água e maior poder de inchamento do que o amido de trigo, cevada ou milho, por exemplo, e sua resistência à retrogradação, sugere aplicações em produtos congelados, molhos, sopas cremosas, recheios de tortas, etc.(AHAMED et al., 1997).

Devido às propriedades do amido de quinoa é possível obter, a partir destes: polímeros e filmes biodegradáveis, produtos extrusados e *snacks* pré-fritos (AHAMED et al., 1997), pastas e macarrão sem glúten (CAPERUTO; AMAYA-FARFAN, J.; CAMARGO, 2001), produtos para alimentação infantil (RUALES; NAIR, 1992), produtos, produtos de panificação como pão sem glúten (ALVAREZ-JUBETE et al., 2010), pães enriquecidos, panqueca e biscoitos (SPEHAR, 2006).

3.3. Amido modificado

O amido em sua forma nativa tem limitações para a sua aplicação associadas à baixa solubilidade em água fria, baixa estabilidade em variações de temperatura e cisalhamento. A sua modificação possibilita a aquisição de propriedades funcionais mais adequadas e controladas, como: solubilização, viscosidade, estabilidade, clareamento do gel, menor retrogradação e maior capacidade para a formação de filmes, o que amplia seu espectro de aplicação em diversos produtos ou processos industriais (ÇATAL; IBANOĞLU, 2012).

A modificação do amido pode ser obtida por métodos químicos, físicos, enzimáticos e genéticos. Alguns exemplos de modificação do amido por métodos físicos são os tratamentos térmicos, como a modificação por baixa umidade e alta temperatura (TBU) ou alta umidade e baixa temperatura (*annealing*), modificando propriedades físicas e estruturais do grânulo (PARK et al., 2016; KIM et al., 2017). Exemplos de métodos de modificação por via enzimática são a adição de enzimas para auto-organização de cadeias e produção de nanopartículas (JIANG et al., 2016). Modificações por métodos genéticos visam o aprimoramento genético do grânulo, como na produção de amido resistente (RAHMAN et al., 2007). Os métodos químicos se dão pela ação de um agente químico na modificação da estrutura do grânulo, como por exemplo o uso de ozônio para a produção de amido oxidado (ÇATAL; IBANOĞLU, 2012).

O mercado de amidos modificados está em constante evolução, com inúmeras possibilidades de produção de amidos com novas propriedades funcionais e de valor agregado conforme exigido pelas indústrias, com destaque para a alimentícia, farmacêutica, têxtil e de papel. A modificação adequada do amido multiplica seu potencial tecnológico e sua utilização industrial (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015).

3.4. Modificação do amido por ozônio

A ozonização é considerada uma tecnologia verde, que não gera resíduos após o processamento. O ozônio possui um potencial eletroquímico elevado (E^0 = +2.075 V), o que o torna um forte agente oxidante (MAHAPATRA; MUTHUKUMARAPPAN; JULSON, 2005).

Durante a oxidação, sucedem-se duas reações principais. Primeiramente ocorre a oxidação dos grupos hidroxila (C−OH) a grupos carbonila (C=O) e carboxila (COOH). A seguir, ocorre a hidrólise e a quebra das ligações glicosídicas e a consequente despolimerização das cadeias (WURZBURG, 1986).

Porém, o mecanismo da ozonização em si, ainda não é totalmente compreendido. Têm sido feitos estudos e hipóteses para elucidar o que realmente ocorre durante o processo de oxidação do amido pela aplicação do ozônio (ÇATAL; IBANOĞLU, 2012; CASTANHA; MATTA JR.; AUGUSTO, 2017). Castanha, Matta Jr. e Augusto (2017) pressupõem que ocorra o mesmo mecanismo do ataque enzimático ou ácido em dispersão de amido, ou seja, acontece a degradação preferencial da região amorfa e, após certo período, a degradação da região cristalina (CASTANHA; MATTA JR.; AUGUSTO, 2017). A aplicação de ozônio pode ser feita em meio gasoso ou liquido (suspensão), sendo que o ozônio consegue se difundir mais facilmente no amido em soluções aquosas do que na forma de gás (ÇATAL; IBANOĞLU, 2012).

Alguns fatores, como pH, temperatura, concentração do reagente, organização do grânulo de amido, estrutura molecular podem afetar diretamente a eficiência da oxidação (SPIER, 2010). O Quadro 2 apresenta um levantamento bibliográfico de estudos recentes que utilizaram o ozônio como forma de modificação do grânulo de amido de diferentes fontes botânicas, as principais variáveis envolvidas em cada estudo e as caraterizações feitas posteriormente.

Quadro 2 – Principais variáveis envolvidas na modificação do amido por ozônio e caracterizações.

Fonte	Forma de aplicação	Variáveis de processo	Propriedades avaliadas	Referência
Mandioca	Amido em suspensão (2:3 m/v)	t_{O3} = 60 min C_{O3} =13 mg.L^{-1} pH 3,5 a 9,0	Morfológica (MEV); Estruturais (DRX, FTIR); Teor de carbonila e carboxila; Funcionais (propriedades de pasta, RVA)	Klein et al. (2014)
Milho, Batata	Amido em suspensão (1:10 m/m)	t_{O3} = 60 min C_{O3} = 4,2 mg.L^{-1}	Morfológica (MEV); Térmicas (DSC); Funcionais (propriedades de pasta, RVA)	Çatal e Ibanoglu (2012)
Taioba, Inhame	Amido em pó	t_{O3}= 5 a 15 min	Estruturais (DRX); Térmicas (DSC); Teores de amilose (GPC), de carbonila e de carboxila; Funcionais (poder de inchamento e solubilidade, propriedades de pasta)	Oladebeye et al. (2013)
Sagu, Milho, Tapioca	Amido em pó	t_{O3}= 1 a 10 min	Teores de carbonila e de carboxila; Funcionais (poder de inchamento e solubilidade, viscosidade intrínseca, propriedades de pasta)	Chan et al. (2009)
Batata	Amido em suspensão (1:10 m/m)	t_{O3} = 15 a 60 min C_{O3} =47 mg.L^{-1}	Morfológica (MEV); Estruturais (DRX); Teores de amilose, de açúcares redutores, de carbonila e de carboxila; Funcionais (propriedades de pasta, RVA)	Castanha, Matta Jr. e Augusto (2017)
Mandioca	Amido em suspensão (2:3 m/m)	t_{O3} = 60 min C_{O3} =36 mg.L^{-1}	Estruturais (DRX, tamanho médio); Teores de amilose, de carbonila e de carboxila; Térmicas (DSC); Funcionais (propriedades de pasta, RVA; expansão no forno, claridade da pasta)	Matta Jr. et al. (2019)

Sendo: t_{O3} = tempo de geração de ozônio; C_{O3} = concentração do ozônio aplicado.

Fonte: Própria autoria.

A oxidação como um método de modificação do amido contribui com maior fluidez da pasta de amido devido à quebra oxidativa das moléculas (WURZBURG,

1986), sendo que estas pastas apresentam alto teor de sólidos, além de elevada transparência e resistência à retrogradação, alterando principalmente propriedades como o poder de inchamento, viscosidade máxima, propriedades térmicas, retrogradação e transparência da pasta (TORNEPORT; SALOMONSSON; THEANDER, 1990).

A despolimerização e a degradação da amilose influenciam o inchamento dos grânulos de amido, já que com a amilose degradada, os grânulos podem absorver a água mais facilmente e apresentam poder de inchamento maior (CHAN; BHAT; KARIM, 2009). Castanha, Matta Jr. e Augusto (2017) avaliaram as propriedades do grânulo do amido de batata após sua modificação com ozônio e constataram aumento na solubilidade do amido, assim como mudanças significativas nas propriedades de pasta, com redução da viscosidade aparente de pico e aumento na textura de gel e claridade de pasta. O Quadro 3 reúne uma síntese de trabalhos recentes feitos com ozônio, abordando o impacto da ozonização sobre as propriedades de amidos de diferentes fontes botânicas (PANDISELVAM et al., 2019).

Quadro 3 – Impacto do ozônio nas propriedades de amidos modificados.

Fonte de amido	**Resultado da aplicação de ozônio**	**Referências**
Batata	Melhoria nas propriedades de pasta e nas texturas dos géis	Castanha, Matta Jr. e Augusto (2017)
Trigo	Maior estabilidade ao cozimento, baixo potencial de retrogradação e capacidade de gelatinização	Çatal e Ibanoglu (2014)
Arroz	Aumento na viscosidade de pasta	Ding et al. (2015)
Arroz	Aumento na viscosidade e textura de géis	İbanoglu, Özaslan e Ibanoglu (2018)
Mandioca	Aumento do branqueamento, da claridade de pasta e viscosidade	Walapatit et al. (2005)

Fonte: Pandiselvam et al. (2019)

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Os grãos de quinoa, variedade Real, safra 2016, foram adquiridos no comércio local de Pirassununga (SP, Brasil, latitude: 21°59′45″ S, longitude: 47°25′32″ O). Todos os reagentes utilizados foram de padrão analítico.

4.2. Extração e composição química do amido

A extração do amido de quinoa foi feita conforme metodologia descrita em Rayner et al. (2012), com algumas modificações. Os grãos de quinoa foram macerados em água por 24 horas a 4 ºC. Em seguida, os grãos foram triturados em liquidificador industrial (Skymsen, Siemsen Ltda, Brazil) na proporção de 1 kg de quinoa para 2 kg de água (ARAUJO-FARRO et al., 2010; RAYNER et al., 2012). A suspensão foi filtrada em tecido, usado na produção de queijos, para a separação de fibras e grãos não triturados. O resíduo sólido foi lavado com água destilada, triturado e filtrado novamente. O líquido obtido após a filtração foi passado por uma peneira de 270 *mesh* (0,053 mm) e deixado em repouso por 4 h, em refrigeração.

Após esse período, o amido sedimentou e o sobrenadante foi removido por sifonamento. A camada de precipitado foi re-dispersa em água destilada e levada à centrífuga (Thermo IEC, Centra GP8R, EUA) a 3000 x g por 10 minutos. O sobrenadante e a camada marrom (associada às proteínas, na superfície do precipitado) foi removida após centrifugação, manualmente. Na sequência, o isolamento do amido foi feito com quatro lavagens: duas vezes com solução de NaOH 0,3%, na proporção de 1:3 (m/v), uma com água destilada e a última, com ácido cítrico (1 M), sendo que o ácido foi adicionado até que houvesse a neutralização da suspensão. Entre as lavagens, o sobrenadante e a camada proteica foram removidos após centrifugação a 3000 x g por 10 minutos.

Em seguida, o amido obtido foi desidratado em estufa a 30 °C até umidade de aproximadamente 10%. O amido seco foi reduzido a pó com auxílio de pistilo e almofariz e a padronização de sua granulometria foi feita através de peneira 100 *mesh* (0,149 mm). As amostras foram armazenadas em recipientes de vidro fechados.

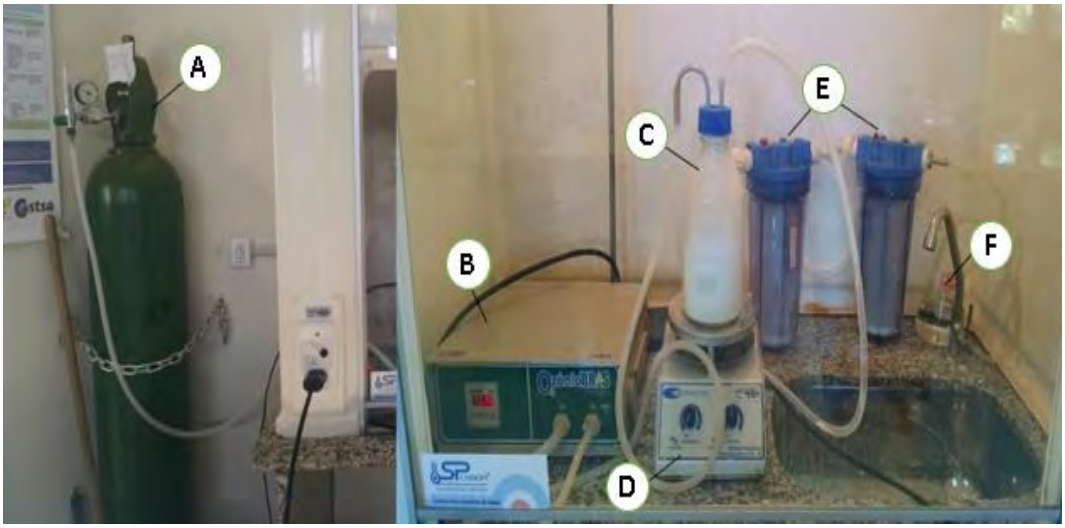
A composição química do amido foi determinada de acordo com método descrito em *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists* (AACC, 1995). O amido apresentou, 0,105 ± 0,01% de cinzas, 0,63 ± 0,00% de proteínas, 0,12 ± 0,01% de fibras e 0,06 ± 0,01% de lipídeos totais (g/ 100 g sólido) e 12,2 ± 0,3% de umidade (g/100 g total).

4.3. Modificação do amido por ozônio

A modificação do amido de quinoa com ozônio foi feita no Laboratório de Engenharia de Bioprocessos, Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Assis (SP), conforme metodologia proposta por Castanha, Matta Jr. e Augusto (2017) com algumas modificações. A Figura 6 representa o esquema utilizado para a modificação do amido de quinoa com ozônio. O ozônio foi produzido por um gerador de ozônio (marca OzonioBras, modelo GOB – gerador de ozônio de bancada). O gerador de ozônio foi alimentado por gás oxigênio, proveniente de um cilindro de gás oxigênio industrial. O gás rico em ozônio foi direcionado para um reator de vidro de 2 L de capacidade através de um tubo, com uma rolha porosa (difusor) de gás no final. As suspensões de amido (10% m/m), preparadas com água destilada a 4 ºC, foram colocadas dentro do reator e mantidas sob agitação, utilizando um agitador magnético. O gás foi disperso através de pequenas bolhas, que aumentam a difusão do ozônio na suspensão. O fluxo de gás no reator foi mantido constante à 1,0 $L.min^{-1}$ e a concentração do gás foi mantida em 17,4 mg $O_3.L^{-1}$. Foram utilizados três tempos de geração de ozônio (TGO) diferentes (10, 20 e 30 minutos). A amostra com TGO zero (ou amido nativo) foi o controle. Após o TGO especificado, as amostras permaneceram no reator recebendo somente oxigênio por 10 minutos para eliminar o ozônio residual.

O ozônio liberado do reator passou por dois filtros de carvão ativado, conectados por mangueiras em sequência ao reator e, finalmente, por uma solução de iodeto de potássio 3%, a fim de destruir o ozônio residual, retornando o gás como oxigênio para o ambiente.

Figura 6 – Estrutura utilizada na modificação do amido de quinoa por ozônio. (A) cilindro de oxigênio; (B) gerador de ozônio; (C) reator de vidro; (D) agitador magnético; (E) filtros de carvão ativado; (F) solução de iodeto de potássio.



Fonte: autoria própria.

Foi feita a sedimentação da suspensão e o líquido sobrenadante descartado. O amido foi seco em estufa a 30 ºC, até uma umidade de aproximadamente 10%. O amido foi triturado com o auxílio de pistilo e almofariz, com a granulometria padronizada por peneira de 100 *mesh* (0,149 mm) e armazenado a 25 ºC em recipientes de vidro fechados para análises posteriores.

4.4. Caracterização do amido

4.4.1. pH

O pH foi determinado em uma suspensão de 10% (m/m) de amido (b.s.), previamente agitada por 30 minutos com o auxílio de um pHmetro (marca: Tecnal, modelo: Tec-3MP) (IAL, 2008).

4.4.2. Grupos carboxila e carbonila

O teor de carboxila foi determinado utilizando a metodologia descrita por Chattopadhyay, Singhal e Kulkarni (1998), com modificações. Uma suspensão de 3 g de amido e 25 mL de HCl 0,1 M, em um béquer de 100 mL, foi agitado por 30 min com o auxílio de agitador magnético. Em seguida, a amostra foi centrifugada (centrífuga

Thermo IEC, Centra GP8R, EUA) a 3000 x g, sendo centrifugada novamente com 400 mL de água destilada para a lavagem. O sobrenadante foi descartado e foram adicionados 300 mL de água destilada ao amido. Na sequência, a suspensão foi transferida para um erlenmeyer de 500 mL e levada a um banho com água em ebulição, por 15 minutos até completa gelatinização, sendo posteriormente resfriada a 40 ºC e titulada com NaOH 0,1 M até pH 8,3. O branco foi feito seguindo o mesmo procedimento, porém, utilizando a amostra de amido de quinoa nativo. O resultado foi expresso em quantidade de grupos carboxila por 100 unidades de glicose (Eq. 1).

$$\frac{COOH}{100GU} = \frac{(Va - Vb).M.0{,}045.100}{W} \qquad (1)$$

Em que: Va é o volume de NaOH utilizado nas amostras (mL); Vb, o volume de NaOH utilizado no branco (mL), M, a molaridade do NaOH e W, a massa da amostra (b.s.)

O teor de carbonila foi determinado segundo o método utilizado por Smith (1967), com modificações. Uma suspensão de 4 g de amido e 100 mL de água destilada, em um erlenmeyer de 250 mL, foi levada a um banho com água em ebulição por 30 minutos até a completa gelatinização, resfriada até 40 ºC e posteriormente, seu pH foi ajustado com HCl 0,1 M para 3,2. Foi adicionada à amostra 15 mL de solução de hidroxilamina, sendo levada a um banho a 40 ºC por 4 h. O excesso de hidroxilamina foi titulado com HCl 0,1 M até pH 3,2. O branco foi feito seguindo o mesmo procedimento, porém, sem a amostra de amido. O resultado foi expresso em quantidade de grupos carbonila por 100 unidades de glicose (Eq. 2).

$$\frac{\mathrm{CO}}{100\mathrm{GU}} = \frac{(\mathrm{Vb} - \mathrm{Va}).\mathrm{M}.0{,}028.100}{\mathrm{W}} \qquad (2)$$

Em que Va é o volume de HCl utilizado nas amostras (mL), Vb, o volume de HCl utilizado no branco (mL), M, a molaridade do HCl e W, a massa da amostra (b.s.)

A solução de hidroxilamina foi preparada através da dissolução de 10 g de cloridrato de hidroxilamina em 40 mL de NaOH 0,5 M e água destilada até completar 200 mL de solução (CASTANHA; MATTA JR.; AUGUSTO, 2017).

4.4.3. Amilose aparente

O teor de amilose aparente do amido de quinoa foi determinado conforme a metodologia ISO 6647 (ISO, 1987). As amostras de amido foram previamente desengorduradas segundo a metodologia de Kasemsuwan et al. (1995). Para isso, uma amostra de 0,5 g de amido foi dispersa em 25 mL de dimetilsulfoxido 90% (DMSO) e aquecida em banho de água fervente sob agitação constante por 1 hora. Posteriormente, a amostra foi resfriada a temperatura ambiente e agitada por 24 horas. Em seguida, o amido foi precipitado com 75 mL de etanol absoluto e separado por centrifugação (5000 x g / 15 min), sendo o precipitado suspenso em etanol absoluto, filtrado com o auxílio de funil de buchner e papel de filtro e seco em estufa a 30 °C durante 24 horas.

Para a determinação do teor de amilose aparente, foram adicionados 100 mg do amido desengordurado, 1 mL de etanol 95% e 9 mL de NaOH 1 M em um balão de 100 mL, ficando a solução sob repouso por 24 horas. Após essa etapa, o volume do balão foi completado com água destilada e uma alíquota de 5 mL transferida para outro balão volumétrico (100 mL) contendo 50 mL de água destilada. Em seguida, foram adicionados 1 mL de ácido acético 1 M e 2 mL de solução de iodo, sendo a solução homogeneizada e deixada ao abrigo da luz por 20 minutos. Após esse período, a leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro (marca FEMTO, modelo CIRRUS 805T) a 620 nm e a amilose determinada a partir de uma curva padrão feita a partir de padrões de amilose (SIGMA Tipo III, A-0512) e amilopectina (SIGMA A-8515). O teor de amilose foi determinado referindo-se a absorbância à curva padrão.

4.4.4. Cromatografia por permeação em gel

O perfil de distribuição de tamanho molecular das moléculas de amido foi determinado por cromatografia de permeação em gel (GPC), de acordo com Song e Jane (2000), com modificações, utilizando uma coluna de vidro (2,6 cm de diâmetro e 70 cm de altura) com gel Sepharose CL-2B (Sigma, Suécia). 0,1 g de amido foi misturado com 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO; 90%, Labsynth, Brasil) e aquecido em banho de água fervente por 1 h, depois mantido a 25 °C por 24 h, sob agitação

constante. Uma alíquota de 3 mL desta solução foi misturada com 10 mL de etanol absoluto e depois centrifugada por 30 min a 3000 x g. O amido precipitado foi dissolvido em 9 mL de água destilada fervente e colocado em banho-maria por 30 min. Uma alíquota de 8 mL foi então eluída na coluna cromatográfica, com solução eluente (25 $mmol.L^{-1}$ de NaCl e 1 $mmol.L^{-1}$ de NaOH), a uma taxa de 60 $mL.h^{-1}$. Um coletor de frações (Gilson, modelo FC203B, Middleton, Inglaterra) foi usado para separar a amostra em porções de 4 mL, e estas porções foram então analisadas quanto ao *blue value* (BV), em 620 nm (JULIANO, 1971).

4.4.5. Difração por raios X (DRX)

As amostras de amido tiveram sua umidade equilibrada por 10 dias em dessecador, com o auxílio de um pesa-filtro, na presença de solução saturada de $BaCl_2$. Posteriormente, as amostras foram analisadas em um difratômetro de raios X (marca Rigaku, modelo MiniFlex600), com ângulo 2θ variando de 4º a 36º e uma taxa de varredura de $2º.min^{-1}$, 40 kV e 15 mA. A cristalinidade relativa (RC) foi calculada segundo método descrito por Rabek (1980), como a razão entre a área da região cristalina (Ac) e a área total da curva (Ac + Aa), em que Aa é a área da região amorfa. O cálculo das áreas foi feito no programa Origin (OriginLab) versão 9.6.

4.4.6. Distribuição de tamanho granular

A análise de distribuição de tamanho de partículas foi feita utilizando um analisador de tamanho de partícula por difração a laser (marca Shimadzu, modelo SALD-201V) e o *software Sald Wing-1*. Aproximadamente 0,01 g de amido foi adicionado a um tubo de ensaio e disperso em 10 mL de álcool anidro, utilizando um agitador de tubos tipo Vórtex (marca IKA, modelo Vortex1), por 30 segundos. Foi transferido 1 mL dessa dispersão para a cubeta do equipamento e seu volume foi completado com o álcool anidro e a leitura foi feita no aparelho.

O tamanho médio das partículas foi expresso pelo diâmetro médio (em número de partículas), calculado a partir da curva de distribuição de tamanho. As leituras foram obtidas pelo *software* do equipamento e foi feito o cálculo para a distribuição de tamanho de partículas utilizando o método por número de partículas (d_{10}), dado pela Eq. (3) (MCCLEMENTS, 2004):

$$dNL \text{ ou } d10 = \frac{\sum_{i=1} n_i d_i}{\sum_{i=1} n_i} \quad (3)$$

Em que: ni = número de partículas para cada faixa de tamanho

di = (dmin + dmax)/2 para cada faixa de tamanho

4.4.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foi feita a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar a morfologia dos grânulos de amido, utilizando um microscópio eletrônico (MEV, TM-3000, HITACHI). As amostras foram armazenadas em sílica gel e vácuo por 12 horas. Foram utilizados 15 kV e aumento de aproximadamente 10.000 vezes (LUCIANO et al., 2017).

4.4.8. Poder de inchamento (PI) e Índice de solubilidade (IS)

O poder de inchamento e o índice de solubilidade para o amido de quinoa foram determinados de acordo com metodologia de Schoch (1964). Tubos de centrífuga (50 mL) foram pesados vazios. Amostras de amido de 0,5 g (b.s.) foram adicionados aos tubos de centrífuga, juntamente com 20 g de água destilada. Os tubos foram agitados em vórtex (marca IKA, modelo Vortex1) por 30 segundos e a cada 5 minutos, em banho (marca: Marconi, modelo: MA-184) com temperaturas de 50, 60 e 70 ºC por 30 minutos. Os tubos foram centrifugados em centrífuga (marca Eppendorf, modelo 5430R) a 5000 x g por 15 minutos e o sobrenadante foi colocado sobre placas de petri (previamente pesadas e submetidas à estufa por 1 h/105 ºC). O sobrenadante foi levado à estufa a 105 ºC/24 h e posteriormente pesado para se obter a massa do resíduo da evaporação. O sedimento que ficou nos tubos foi também pesado nos próprios tubos, obtendo-se a massa do resíduo da centrífuga. O poder de inchamento (PI) e o índice de solubilidade (IS) foram obtidos pelas Eq. (4) e Eq. (5):

$$PI\ (g.g^{-1}) = \frac{PRC}{PA - PRE} \quad (4)$$

$$IS\ (\%) = \frac{PRE}{PA}.100 \quad (5)$$

Em que PRC é a massa do resíduo da centrífuga (g), PRE, a massa do resíduo da evaporação (g) e PA, a massa peso da amostra (g)

4.4.9. Capacidade de absorção de óleo (CAO)

A capacidade de absorção de óleo foi determinada de acordo com o método descrito por Beuchat (1977). Em tubos de centrifuga (50 mL) previamente secos e pesados, foram adicionados 1,0 g de cada amostra de amido (b.s.) e 10 mL de óleo de soja. A suspensão foi homogeneizada durante 30 segundos em vórtex (marca IKA, modelo Vortex1) e deixada em repouso por 30 minutos. Os tubos foram centrifugados por 15 minutos a 5000 x g em centrífuga (marca Eppendorf, modelo 5430R). Descartou-se o sobrenadante e os tubos foram novamente pesados. Para determinar a absorção de óleo (CAO), a massa do óleo absorvido foi expressa em capacidade de absorção de óleo (%) (Eq. 6).

$$CAO\ (\%) = \frac{PS-PAS}{PAS}.100 \quad (6)$$

Em que: PS é a massa do precipitado (g); PAS é a massa da amostra inicial seca (g).

4.4.10. Claridade de pasta

A claridade de pasta foi obtida a partir da transmitância (%T) das amostras de amido, segundo metodologia de Craig et al. (1989) com modificações. Foram pesados 0,2 g de amido em tubos de ensaio e adicionados 20 mL de água em cada tubo. Os tubos foram levados para um banho (marca: Marconi, modelo: MA-184) em ebulição por 30 minutos, sob agitação por 30 segundos e a cada 5 minutos com o auxÍlio de vortéx (marca IKA, modelo Vortex1). As amostras foram resfriadas e mantidas à temperatura ambiente (em repouso) por 24 h, sendo feita a leitura em espectrofotômetro (marca FEMTO, modelo CIRRUS 805T) a 650 nm.

4.4.11. Parâmetros de cor

Foi feita análise da cor das amostras utilizando colorímetro (marca Hunterlab, modelo Mini Scan XEPlus). As leituras foram obtidas pelo programa acoplado ao aparelho *Universal Software V4.10*. As amostras de amido foram colocadas no porta amostra do equipamento em forma de pó. Os parâmetros de cor do padrão CIELab (L*, a*, b*) foram determinados em triplicata, sendo que L* representa a luminosidade numa escala de 0 (preta) a 100 (branca), a* representa a variação do verde (negativo) ao vermelho (positivo), e b* representa a variação do azul (negativo) ao amarelo (positivo). A diferença total de cor (ΔE*) foi calculada segundo a Eq. (7), calculando-se a diferença entre o amido nativo e cada tratamento individual (GENNADIOS et al., 1996).

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (7)$$

4.4.12. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As propriedades térmicas das amostras de amido foram avaliadas utilizando um calorímetro de varredura diferencial (DSC TA2010, TA Instrument). As amostras de amido foram pesadas (2 mg) em porta amostra de alumínio e misturadas com água deionizada usando uma proporção de amido 1:3 de água. Os recipientes foram selados e equilibrados a temperatura ambiente durante 2 h antes da análise. A varredura foi realizada a 10 °C /min entre 30 e 130 °C. Um porta amostra de alumínio vazio foi usado como referência. As temperaturas de transição foram determinadas diretamente das curvas térmicas usando o programa *Universal Analysis V1.7F* (TA Instruments). As mesmas amostras utilizadas para a análise de gelatinização foram armazenadas por 11 dias a 4 °C para a avaliação da retrogradação, utilizando o mesmo equipamento e condições de trabalho. A taxa de retrogradação foi calculada pela razão entre a entalpia de gelatinização e a entalpia de retrogradação (Eq. 8) (MATTA JR. et al., 2019).

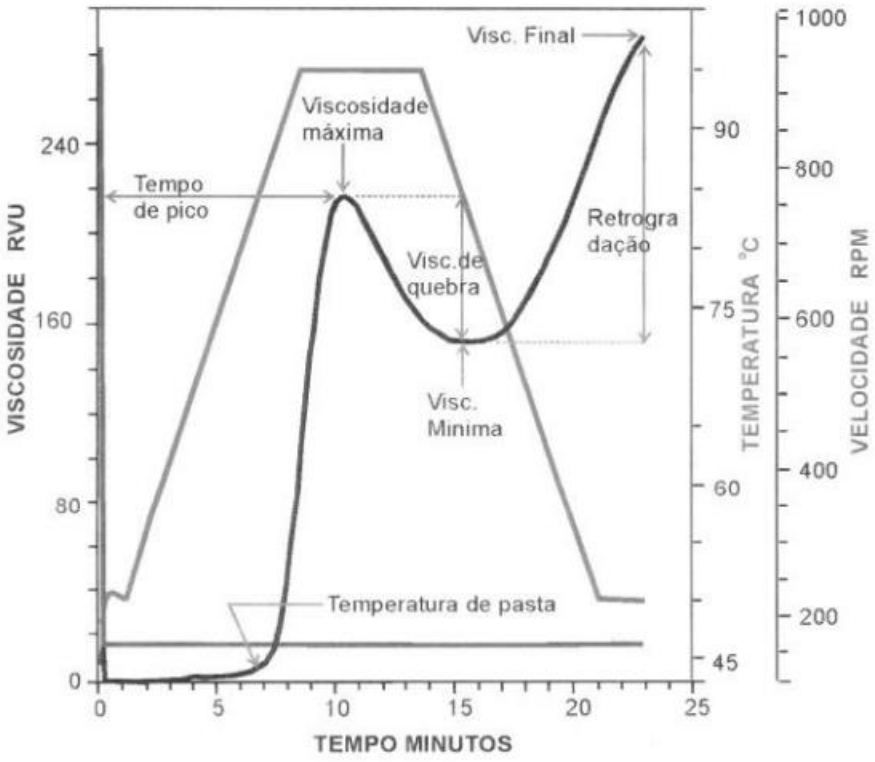
$$\%\,\mathrm{Re}\,trogradaçãO = \frac{\Delta Hret}{\Delta Hgel}.100 \quad (8)$$

Os parâmetros analisados foram temperatura inicial (T_0), temperatura de pico (Tp), temperatura final (Tf), variação de temperatura ($\Delta T = Tf - T_0$) e a variação de entalpia (ΔH).

4.4.13. Propriedades de pasta

A propriedade de pasta foi determinada utilizando o reômetro rotacional AR 2000 (TA Instruments, New Castle, EUA), com a geometria *Starch Pasting Cell (SPC)*. Foi preparada uma supensão de 3 g de amido (com correção de 14% de umidade) e 25 g de água destilada. No ensaio, a suspensão foi mantida a 50 ºC por 1 minuto, posteriormente aquecida a 95 ºC a uma taxa de 6 ºC/min, mantida a 95 ºC por 5 minutos e resfriada a 50 ºC a uma taxa de 6 ºC/min, sendo por final, mantida a 50 ºC por 2 minutos e a velocidade angular foi mantida em 16,76 rad/s. Foram avaliados temperatura de pasta, viscosidade máxima, viscosidade de quebra (ou *Breakdown*), viscosidade final e tendência à retrogradação (*Setback*) (Figura 7).

Figura 7 – Curva viscoamilográfica obtida pelo RVA, com identificação dos parâmetros avaliados.



Fonte: Domingues (2002).

4.4.14. Comportamento reológico das suspensões, pastas ou géis do amido

O comportamento reológico das amostras foi feito utilizando o reômetro rotacional AR 2000 (TA Instruments, New Castle, EUA), com sistema *peltier* para controle de temperatura. As geometrias utilizadas foram: cilindros concêntricos (raio interno = 14 mm; raio externo = 15 mm; altura = 42 mm e *Gap* de 5920 µm) para as curvas de fluxo e placa-placa rugosa (40 mm e Gap de 1000 µm) para varreduras de temperatura e análises em cisalhamento oscilatório. Os dados foram obtidos diretamente do *software Rheology Advantage Data Analysis* V.5.3.1 (AR 2000, TA Instruments, New Castle, DE, USA).

4.4.14.1. Curvas de Fluxo

Nos ensaios de curvas de fluxo foram preparadas suspensões de 5% m/m de amido (bs). As suspensões foram previamente agitadas e levadas ao banho maria a 95 ºC por 30 minutos, com agitação mecânica, sendo posteriormente resfriadas a temperatura ambiente (25 ºC). As amostras gelatinizadas foram colocadas na geometria do reômetro e a temperatura da análise foi controlada pelo sistema *peltier*. Foram utilizadas rampas de taxa de deformação descendentes (100 a 0,01 s^{-1}) e ascendentes (0,01 a 100 s^{-1}) a 25 ºC e como resposta foi obtida as tensões de cisalhamento. O programa utilizado para o ajuste dos modelos reológicos foi o *software* do reômetro (*Advantage / Universal Analysis (UA) Software v 5.5.24*). Para descrever as propriedades das amostras foram testados quatro modelos bem conhecidos (Lei da Potência, Herschel-Bulkley, Casson e Plástico de Bingham). O modelo Lei da Potência é apresentado na Eq. (9).

$$\tau = k.\dot{\gamma}^n \qquad (9)$$

Em que τ é a tensão de cisalhamento, k, o índice de consistência, $\dot{\gamma}$, a taxa de deformação e n, o índice de comportamento de escoamento (sendo n > 1 para fluido dilatante, n < 1, fluido pseudoplástico, n = 1 fluido newtoniano).

4.4.14.2. Ensaios em cisalhamento oscilatório

Nas análises de varredura de temperatura foram feitas suspensões de 20% m/m de amido (b.s.), previamente agitadas por 30 min e colocadas na geometria do reômetro. Foram realizadas rampas de aquecimento (30 a 90 ºC) a uma taxa de 2 ºC / min, frequência de 1 Hz e deformação de 1%. A temperatura de gelatinização foi obtida pelo pico obtido na curva da primeira derivada de G' em função da temperatura.

Nos ensaios de varreduras de deformação e de frequência foram preparadas suspensões de 5% m/m de amido (b.s.). As suspensões foram previamente agitadas e levadas ao banho-maria a 95 ºC por 30 minutos, com agitação mecânica, sendo posteriormente resfriadas a temperatura ambiente (25 ºC).

O regime de viscoelasticidade linear (RVL) foi determinado nos ensaios de varredura de deformação, com amplitude de 0,01 a 100%, frequência 1 Hz e 25 ºC. No intervalo linear, os módulos G' e G" são independentes da deformação oscilatória. O valor de deformação obtido dentro da RVL foi usado nos ensaios de varredura de frequência.

A análise de varredura de frequência foi feita de 0,1 a 10 Hz a 25 ºC. As respostas desse teste foram os módulos viscoelásticos (G', módulo elástico e G", módulo de perda), tangente do ângulo de fase ($\tan\delta = G''/G'$) e viscosidade complexa (η^*).

4.4.15. Análises estatísticas

O processo de oxidação do amido foi realizado em duplicata para cada tempo de geração de ozônio. As análises de caracterização foram realizadas em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ($p<0,05$) utilizando o programa *SAS* (*Statistical Analysis System*) versão 9.4.

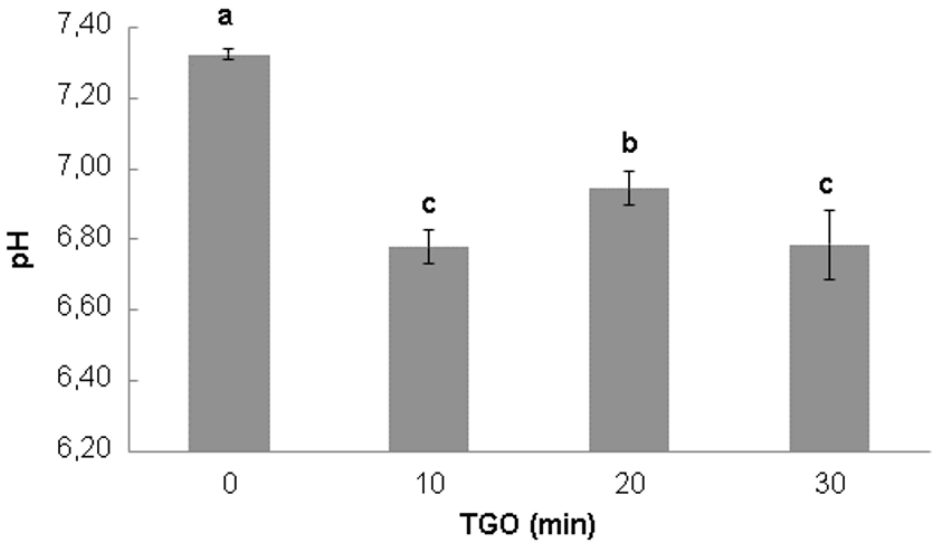
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Efeito do ozônio na estrutura do amido

5.1.1. pH e conteúdo de grupos carbonila e carboxila

Os valores de pH, assim como os teores de carbonila e carboxila dos amidos de quinoa nativo e submetidos ao tratamento com ozônio são apresentados nas Figuras 8 e 9, respectivamente. O pH das amostras variaram de 6,78 a 7,32 e os amidos modificados apresentaram valores significativamente menores quando comparado ao nativo. Não houve diferença significativa entre as amostras submetidas a TGO de 10 e 30 min. A redução do pH está associada ao grau de substituição dos grupos hidroxila por grupos carbonila / carboxila durante a oxidação do amido, com o uso do ozônio, sugerindo que essa substituição ocorreu nas amostras para todos os TGO usados nesse trabalho.

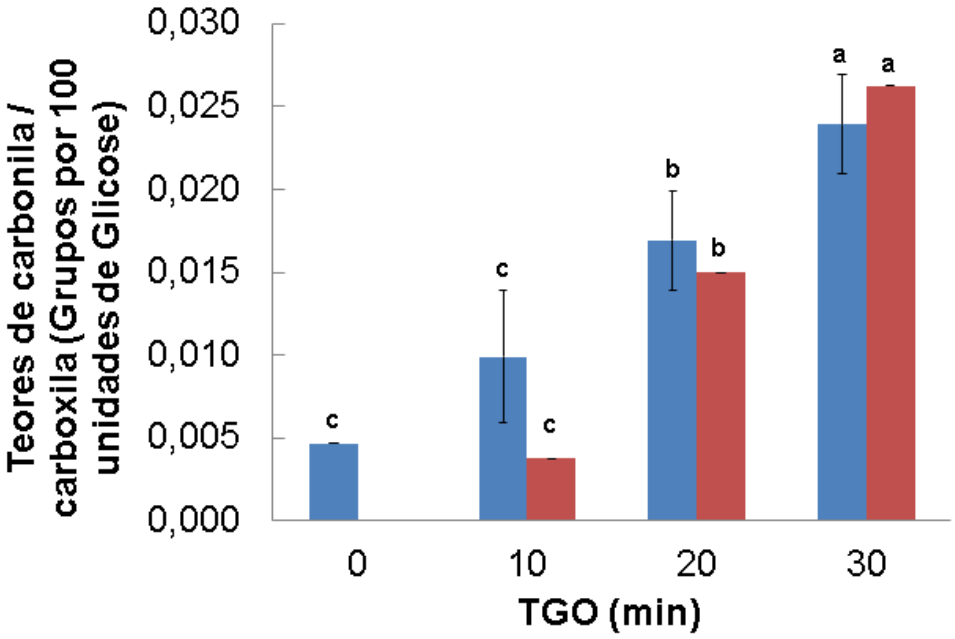
Figura 8 – Valores de pH dos amidos de quinoa nativo e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).



As barras de erros representam os desvios. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

Figura 9 – Teores de grupos carbonila (colunas em azul) e carboxila (colunas em vermelho) dos amidos de quinoa nativo e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).



As barras de erros representam os desvios. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

Os teores de carbonila e carboxila para os amidos submetidos ao tratamento de ozônio variaram de 0,010 a 0,024% e de 0,004 a 0,026%, respectivamente (Figura 9). Nessa figura, observa se que os teores de grupos carbonila e carboxila dos amidos modificados aumentaram com o aumento do TGO e foram maiores quando comparados ao amido nativo, indicando que houve formação dos mesmos em substituição aos grupos hidroxila. O conteúdo de grupos carbonilas nos amidos é maior que o de grupos carboxilas, com exceção do tratamento de 30 min. Esse resultado sugere que houve uma modificação mais branda para as amostras submetidas ao TGO de 10 e 20 min, já que a reação de substituição, embora possa ocorrer de forma paralela, tende a formar primeiramente grupos carbonila, para em seguida formar grupos carboxila (WURZBURG, 1986). Quanto maior o teor de carbonila / carboxila, maior o grau de substituição devido à oxidação e mais intensa a modificação (WURZBURG, 1986)

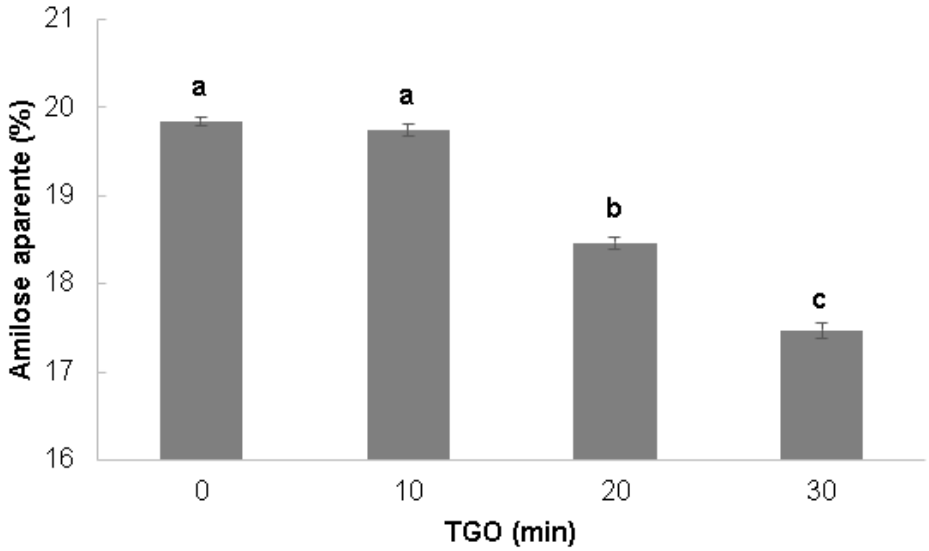
O aumento dos teores de carbonila e carboxila nos amidos de quinoa ozonizados (Figura 9) foram menores do que os reportados por Castanha, Matta Jr e Augusto (2017) e Chan, Bhat e Karim (2009), que oxidaram amidos de batata (15, 30, 45 e 60 min TGO) e milho, sagu e tapioca (1, 3, 5 e 10 min TGO), respectivamente.

Chan, Bhat e Karim (2009) relataram que os teores de carboxila de amidos oxidados variaram de 0,001 a 0,063% e os teores de carbonila variaram de 0,025 a 0,250%. Castanha, Matta Jr e Augusto (2017) observaram aumento de 0,08 a 0,20% para o conteúdo de carbonila e de 0,03 para 0,10% de conteúdo de carboxila. Maiores teores de carbonila / carboxila indica que esses autores obtiveram uma modificação mais agressiva dos grânulos, o que pode ser explicado pelo maior tempo de aplicação e/ou concentração de ozônio utilizados por esses autores, além da fonte de amido utilizada.

5.1.2. Teor de amilose

O conteúdo de amilose é responsável por várias propriedades no amido, podendo afetar o poder de inchamento, a solubilidade e as propriedades de formação do gel (SINGH; KAUR, 2017). O valor de amilose aparente encontrado para o amido de quinoa nativo foi de 19,8% (Figura 10) e está de acordo com o reportado por Valencia (2016), que observaram valores de 20,0 a 21,6% para o amido de quinoa variedade branca *Syetetuba* Brasil.

Figura 10 – Teores de amilose (%) dos amidos de quinoa nativo e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).



As barras de erros representam os desvios. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

Na Figura 10 pode-se observar que o teor de amilose aparente diminuiu com o aumento do TGO, sugerindo que essas moléculas sofreram uma despolimerização após 20 min de oxidação por ozônio. Não houve diferença significativa entre o amido nativo e o amido com 10 minutos de TGO. A redução do teor de amilose ocorre porque essa molécula é mais suscetível à oxidação, já que se encontra, em sua maior parte, na região amorfa do grânulo, apresentando uma configuração espacial não ordenada ou aleatória (SANDHU; SINGH; LIM, 2007).

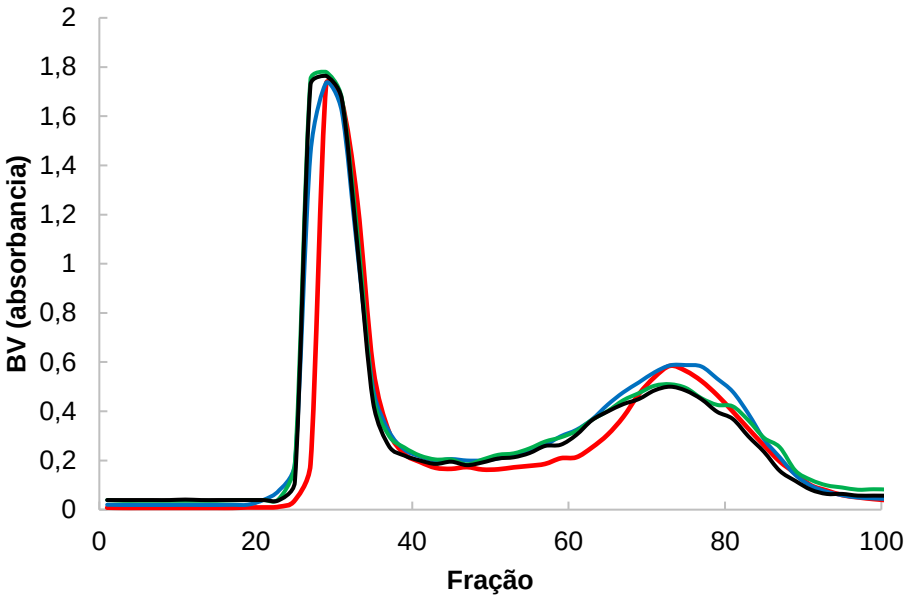
Na literatura, há divergência em relação ao comportamento do teor de amilose após a oxidação de amidos, variando de acordo com a fonte botânica, tempo e temperatura de tratamento, tipo e concentração do agente oxidante. De forma geral, há uma redução no teor de amilose para os amidos oxidados. Na Figura 10 pode-se observar uma redução de 6,5% e 12,1% do teor de amilose aparente, quando o amido de quinoa nativo foi submetido ao tratamento com ozônio por 20 e 30 minutos, respectivamente. Esse comportamento também foi observado por Castanha, Matta Jr e Augusto (2017), que determinaram uma redução no conteúdo de amilose aparente de 25% quando o amido de batata foi oxidado por 60 min com ozônio.

No entanto, Oladebeye et al. (2013) observaram um aumento no teor de amilose com o aumento do TGO (5 a 15 min) em amidos de inhame e taioba oxidados por ozônio (método a seco), atribuindo esse aumento à despolimerização parcial da lamela cristalina do grânulo.

5.1.3. Distribuição de tamanho molecular

Foi feita a cromatografia por permeação em gel (GPC) para avaliar a distribuição de tamanho molecular das amostras de amidos nativo e modificados por ozônio através das respostas do *blue value* (BV) ou reação com iodo (Figura 11). A amilopectina, devido ao seu alto grau de ramificação, sai nas primeiras frações da eluição da coluna, pois possui uma elevada massa molecular. Já a amilose, que possui cadeias essencialmente lineares e apresenta massa molecular menor, sai no segundo pico de eluição, formando complexos com o iodo de coloração azul (HIZUKURI; ABE; HANASHIRO, 2006; CASTANHA; MATTA JR.; AUGUSTO, 2017).

Figura 11 – Perfis de eluição obtidos por cromatografia de permeação em gel dos amidos de quinoa nativo (linha vermelha) e ozonizados com diferentes tempo de geração de ozônio (TGO): 10 min (linha azul), 20 min (linha verde) e 30 min (linha preta).



Fonte: autoria própria.

No 1º pico de eluição não se observou diferença entre as amostras na intensidade (altura), indicando que tanto o amido nativo como as amostras submetidas ao tratamento com ozônio não apresentaram grandes mudanças em relação à quantidade de amilopectina após a oxidação.

No 2º pico (amilose) (Figura 11), no entanto, observa-se um alargamento da base nas amostras que foram submetidas ao processo de ozonização, o que sugere um aumento de materiais intermediários, com cadeias de tamanhos mais heterogêneos. Além disso, houve uma redução na intensidade do 2º pico para as amostras com TGO de 20 e 30 min, indicando uma redução no teor de amilose, o que corrobora com os resultados de teor de amilose aparente (Figura 10, seção 5.1.2). Esse resultado indica que a oxidação do amido foi branda, com despolimerização principalmente das moléculas de amilose, encontradas prioritariamente na região amorfa dos grânulos, sem modificação significativa da amilopectina, encontrada na região cristalina e, portanto, de mais difícil acesso aos reagentes e ataques químicos.

No entanto, dependendo das condições de processo (concentração do reagente, tempo, modo de aplicação, entre outros), diferentes comportamentos podem ser obtidos. Castanha, Matta Jr. e Augusto (2017) constataram uma redução gradual da massa molecular de amido de batata, pela análise de CPG, onde

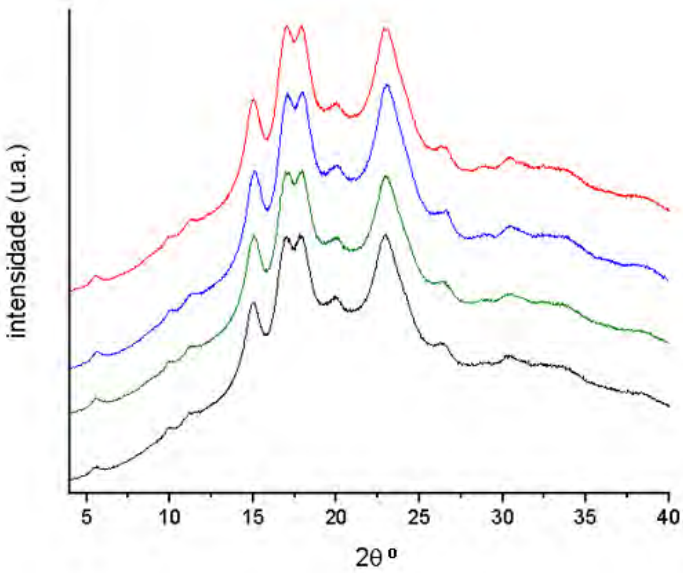
observaram picos menores para a amilopectina e aumento do 2º pico de eluição (tanto em intensidade como na largura da base) em função do tempo de ozonização (15 a 60 min). A partir de 30 minutos de ozonização, o 1º pico praticamente desapareceu (referente à amilopectina e moléculas de cadeias maiores), o que pode ser atribuído a uma oxidação mais agressiva do amido.

Já Matta Jr. et al. (2019) observaram um aumento nos picos de eluição (1º e 2º) para amido de mandioca ozonizado por 60 minutos, comparado ao amido de mandioca nativo, e atribuíram esse resultado a um aumento da afinidade amido-iodo após processamento com ozônio.

5.1.4. Difração por raios X e cristalinidade relativa

O amido de quinoa apresentou padrão de cristalinidade tipo A, com picos em 15º, 17º, 18º e 23º (Figura 12), sendo esse padrão cristalino reportado por outros autores para o amido de quinoa nativo (VALENCIA, 2016). Todas as amostras apresentaram o mesmo padrão de cristalinidade, não sendo observada mudanças após o tratamento com ozônio.

Figura 12 – Difratogramas dos amidos de quinoa nativo (linha vermelha) e ozonizados com diferentes tempo de geração de ozônio (TGO): 10 min (linha azul), 20 min (linha verde) e 30 min (linha preta).



Fonte: autoria própria.

A cristalinidade relativa (CR) diminuiu com o aumento do TGO (Tabela 1), variando de 18,1 a 15,7%. A similaridade entre os difractogramas e a ligeira redução na cristalinidade relativa dos amidos de quinoa, indica que provavelmente houve mudanças na região parcialmente cristalina do amido, porém, sem mudanças significativas no domínio cristalino (XIE; LIU; CUI, 2005). Klein et al. (2014) também reportaram uma redução na CR, de 32% para 28%, para o amido de mandioca oxidado por 60 minutos com ozônio a pH 9,5, e concluíram que a região parcialmente cristalina do amido foi afetada para as condições de processo estudadas (concentração de ozônio: 13 $mg.L^{-1}$, amido em suspensão de 2:3 m/v).

Tabela 1 - Cristalinidade relativa (%) dos amidos de quinoa nativo (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	CR (%)
0	18,1
10	17,6
20	16,0
30	15,7

Fonte: autoria própria.

Por outro lado, Castanha, Matta Jr e Augusto (2017) reportaram não haver diferença significativa entre as cristalinidades relativas dos amidos de batata nativo e oxidados submetido a 60 minutos de ozônio, concluindo que não houve alteração no domínio cristalino dos grânulos.

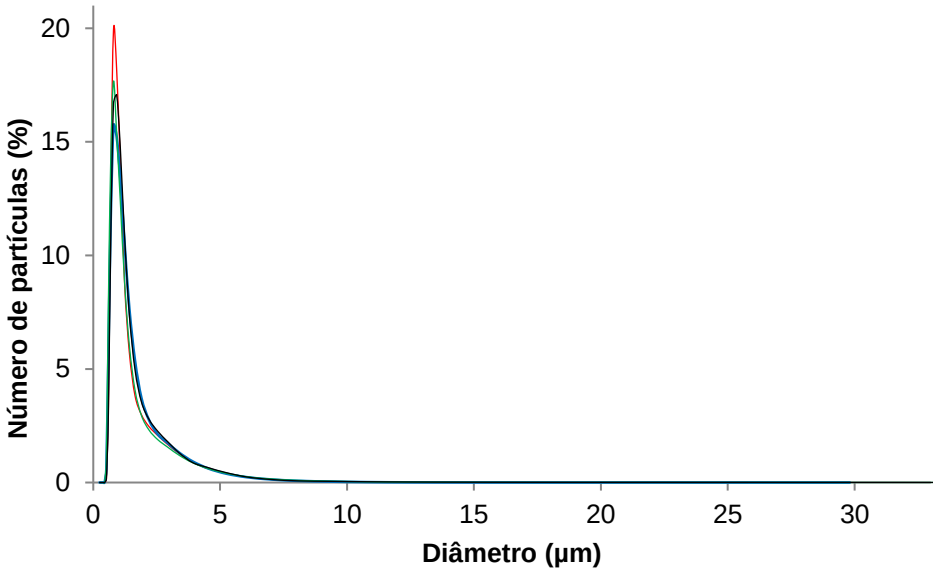
5.1.5. Distribuição de tamanho granular

O tratamento com ozônio não influenciou a distribuição do tamanho dos grânulos de amido de quinoa (Figura 13), sendo uma distribuição monomodal para todos as amostras de amido.

Os diâmetros médios dos grânulos de amidos de quinoa foram calculados com base no diâmetro D[1,0], e variaram de 1,28 a 1,52 µm (Tabela 2), sendo que foi observada diferença significativa somente entre o amido nativo e o ozonizado com 30 minutos. O diâmetro médio do amido de quinoa foi semelhante ao encontrado na literatura (0,5 a 3 µm) para o amido de quinoa nativo (LI; ZHU, 2018b). O amido de

quinoa tem uma tendência à aglomeração das partículas e, com a formação de grupos carboxilas após a oxidação, esses aglomerados podem apresentar tamanhos maiores, já que ocorre a repulsão entre as cadeias devido à esses grupos serem carregados negativamente, permitindo se obter partículas com maiores diâmetros (XIE; LIU; CUI, 2005).

Figura 13 – Perfil de distribuição do tamanho de partículas dos amidos nativos (linha vermelha) e ozonizados com diferentes tempo de geração de ozônio (TGO): 10 min (linha azul), 20 min (linha verde) e 30 min (linha preta).



Fonte: autoria própria.

Tabela 2 - Diâmetro médio dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	Diâmetro médio (µm)
0	1,30 ± 0,02[b]
10	1,45 ± 0,16[a,b]
20	1,28 ± 0,10[b]
30	1,52 ± 0,15[a]

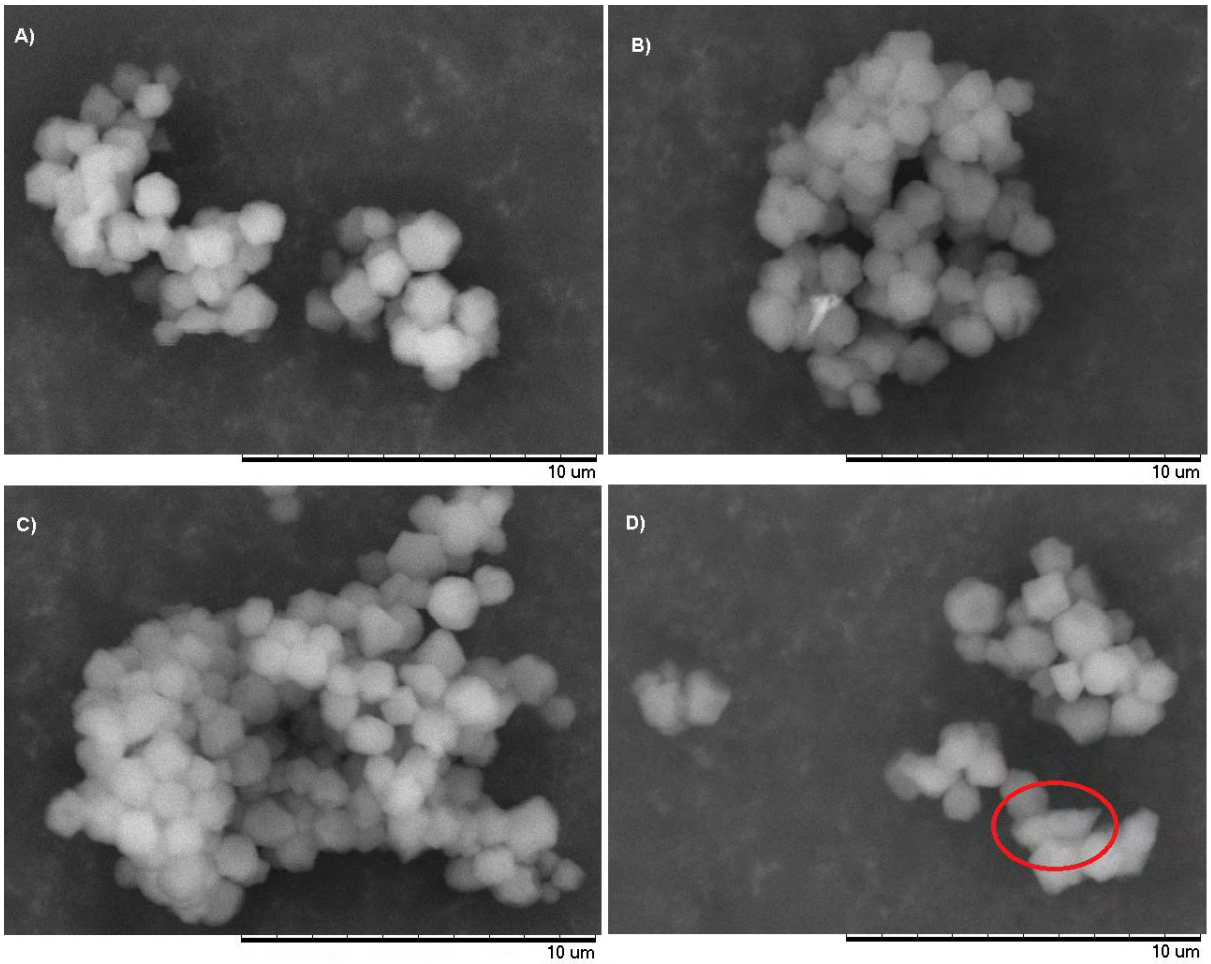
Média ± desvio padrão (n=6). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

5.1.6. Morfologia dos grânulos

As micrografias dos amidos nativos e ozonizados obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) são mostradas na Figura 14. Nessa figura pode-se observar que os grânulos do amido apresentaram formatos hexagonais, característicos do amido de quinoa (LI; ZHU, 2018a), e que para as amostras ozonizadas por 30 min há o achatamento de alguns dos grânulos de amido (destaque Figura 14 D). Não foi possível observar poros e nem rugosidade na superfície dos grânulos de amido, após o tratamento com ozônio. O tamanho muito pequeno do grânulo do amido de quinoa e a tendência em formar aglomerados dificultam a visualização de pequenas alterações nas micrografias.

Figura 14 – Micrografias dos amidos nativos (A) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (B), 20 min (C) e 30 min (D). Aumento de 10.000 x.



Fonte: autoria própria.

Çatal e Ibanoglu (2012) observaram que amidos de batata ozonizados por 60 minutos apresentaram superfícies mais rugosas e fibrosas, porém, os mesmos autores tiveram dificuldades em ver as alterações nos grânulos de amido de milho modificados pelas mesmas condições. Castanha et al. (2017) relataram que o amido de batata nativo apresentou superfície mais lisa e regular quando comparado aos amidos modificados por ozônio, que se tornaram mais heterogêneos, com aparecimento de fissuras e poros na superfície dos grânulos a partir de 30 minutos de modificação.

Diferenças na concentração de ozônio, razão amido e água durante a ozonização, fonte de amido, pH da reação e tempo de reação são responsáveis pela divergência na literatura sobre a intensidade da modificação dos amidos ozonizados em suspensão (KLEIN et al., 2014).

5.2. Efeito do ozônio nas propriedades do amido

5.2.1. Poder de inchamento (PI) e Índice de solubilidade (IS)

O poder de inchamento é usado para estudar as ligações entre as regiões cristalina do amido (SINGH; KAUR, 2017). Os grânulos de amido com área cristalina grande e ligações fortes incham menos em água fria (REDDY et al., 2014). O poder de inchamento dos amidos de quinoa em função da temperatura e do TGO é apresentado na Tabela 3. O amido de quinoa nativo apresentou valores de poder de inchamento de 3,7 a 8,7 $g.g^{-1}$, quando a temperatura aumentou de 50 para 70 ºC, valores menores que os obtidos por Jan, Panesar e Singh (2017) (12,53 g/ g, 95 ºC) para o amido de quinoa nativo. Essa diferença entre os valores de PI pode ser justificada pela temperatura de análise, utilizada.

Tabela 3 - Poder de Inchamento ($g.g^{-1}$) em diferentes temperaturas, dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

	TGO (min)			
Temperatura (ºC)	0	10	20	30
50	$3,74 \pm 0,07^{b,C}$	$4,34 \pm 0,08^{a,C}$	$4,34 \pm 0,02^{a,C}$	$4,30 \pm 0,22^{a,C}$
60	$7,16 \pm 0,06^{b,B}$	$7,34 \pm 0,11^{b,B}$	$7,77 \pm 0,07^{a,B}$	$7,59 \pm 0,05^{a,B}$
70	$8,69 \pm 0,81^{a,A}$	$8,37 \pm 0,03^{a,A}$	$8,77 \pm 0,17^{a,A}$	$8,71 \pm 0,13^{a,A}$

Média ± desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma linha e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

Na Tabela 3, observa-se que houve um aumento significativo do poder de inchamento dos grânulos de amido com o aumento da temperatura, independente do TGO. Em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização (50 ºC), observa-se que os amidos modificados apresentam maior poder de inchamento (4,3 g/g) quando comparado ao amido nativo (3,7 g/g), sugerindo um enfraquecimento das ligações na região cristalina com o processo de ozonização. A 70 ºC, temperatura acima da gelatinização, não foi observado diferença significativa entre o poder de inchamento dos amidos de quinoa nativo e modificados, sendo seu valor de aproximadamente 8,7 ± 0,18 g/ g.

Os resultados obtidos para o poder de inchamento para amidos oxidados são divergentes na literatura. Oladebeye et al. (2013) constataram um aumento no poder de inchamento para amidos de inhame ozonizados, porém, nem sempre foram proporcionais ao TGO. Ao oxidarem amidos de milho, tapioca e sagú por TGOs de 10 min, Chan, Bhat e Karim (2009) obtiveram maior PI para o amido de milho ozonizado, porém, os amidos de tapioca e sagú apresentaram menor PI após a oxidação. Essa diferença foi atribuída às diferentes taxas de despolimerização obtidas para as diferentes fontes de amido estudadas, sendo que o sagú e a tapioca apresentaram maiores taxas de despolimerização. Já Lawal (2004) reportou redução do poder de inchamento de 24,4 para 18,8 $g.g^{-1}$ a 65 ºC e de 32 para 22,5 $g.g^{-1}$ a 75 ºC para amido de taro oxidado por 10 minutos com hipoclorito de sódio, atribuindo a redução desse parâmetro à desintegração estrutural dentro do grânulo após a oxidação.

É conhecido da literatura que a amilopectina influencia o poder de inchamento e a amilose o índice de solubilidade dos grânulos de amido (DENARDIN; SILVA, 2009). O inchamento do amido ocorre concomitante com a perda de birefrigência e

antecede a solubilização (KAUR; SANDHU, 2010). O índice de solubilidade dos amidos de quinoa em função da temperatura e do TGO é apresentado na Tabela 4. O amido de quinoa nativo apresentou valores de IS que variaram de 1,17 para 3,63%, com o aumento da temperatura de 50 para 70 ºC. Comportamento similar foi observado para as amostras ozonizadas, o índice de solubilidade aumentou com o aumento da temperatura.

Tabela 4 - Índice de Solubilidade (%) em diferentes temperaturas, dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

	TGO (min)			
Temperatura (ºC)	0	10	20	30
50	$1,17 \pm 0,07^{b,B}$	$1,69 \pm 0,08^{a,C}$	$1,56 \pm 0,11^{a,B}$	$1,54 \pm 0,04^{a,B}$
60	$2,46 \pm 0,11^{b,A,B}$	$2,71 \pm 0,05^{b,B}$	$3,50 \pm 0,12^{a,A}$	$3,62 \pm 0,45^{a,A}$
70	$3,63 \pm 0,89^{a,A}$	$3,95 \pm 0,49^{a,A}$	$4,04 \pm 0,65^{a,A}$	$4,05 \pm 0,69^{a,A}$

Média ± desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma linha e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

Na temperatura de 50 ºC, houve um aumento significativo do IS de 1,17 para 1,56% (Tabela 4) para amido de quinoa com o processo de oxidação, independente ao tempo de tratamento com ozônio. Na temperatura de 70 ºC, temperatura acima da temperatura de gelatinização do amido de quinoa, não houve diferença significativa entre o amido nativo ou os modificados por ozônio, sendo que o índice de solubilidade apresentou um valor médio de 4,00 ± 0,2%.

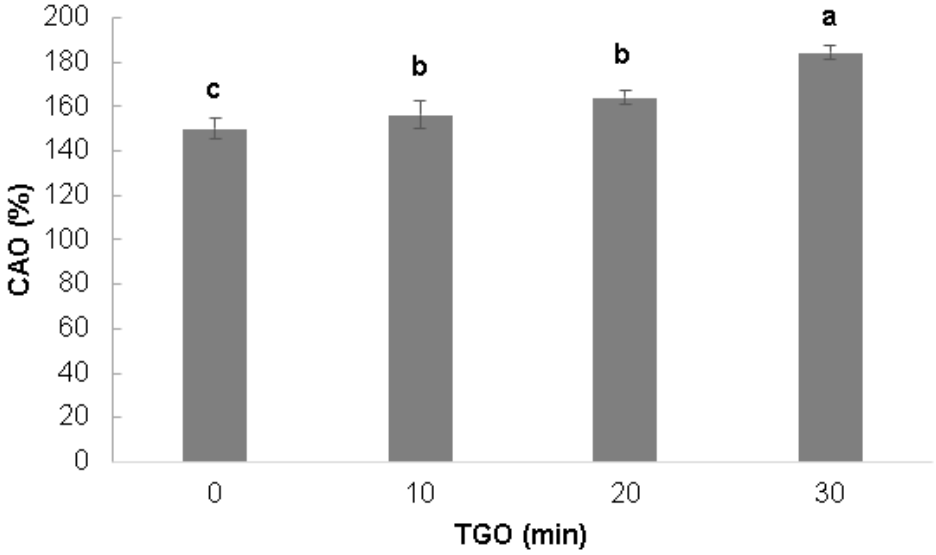
O aumento de IS e PI nos amidos oxidados pode indicar que houve a despolimerização e degradação da amilose, influenciando o inchamento dos grânulos, permitindo absorver água mais facilmente e inchar, elevando a solubilidade dos amidos oxidados em relação aos não oxidados. Além disso, a introdução de grupos carbonilas/carboxilas (eletronegativos) aumentam a repulsão entre as moléculas, podendo facilitar a absorção de água nos amidos oxidados (XIE; LIU; CUI, 2005).

5.2.2. Capacidade de absorção de óleo (CAO)

A Figura 15 mostra os valores para a capacidade de absorção de óleo dos amidos nativo e ozonizados. O amido nativo apresentou uma CAO de 150%, valor próximo ao encontrado por Jan, Panesar e Singh (2017), que obtiveram uma

capacidade de absorção de óleo de 159% para o amido de quinoa nativo. A capacidade de absorção de óleo dos amidos ozonizados aumentou significativamente em relação ao amido nativo. Essa propriedade variou de 150% para 184% quando o TGO aumentou de 0 para 30 minutos.

Figura 15 – Valores de capacidade de absorção de óleo para os amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).



As barras de erros representam os desvios. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

A melhoria na capacidade de absorção de óleo do amido oxidado pode ser explicada pela introdução de grupos carboxila e carbonila, que são mais volumosos, na molécula de amido. Com a repulsão eletronegativa introduzida pelos grupos carboxilas, as hélices das cadeias de amilopectina podem se encontrar mais abertas, facilitando a entrada do óleo na molécula. Outros autores também observaram aumento na capacidade de absorção de óleo em amidos oxidados. Almeida, Bora e Zárate (2013) relataram um aumento de 91 a 109% de CAO para o amido de taro oxidado pelo hipoclorito de sódio.

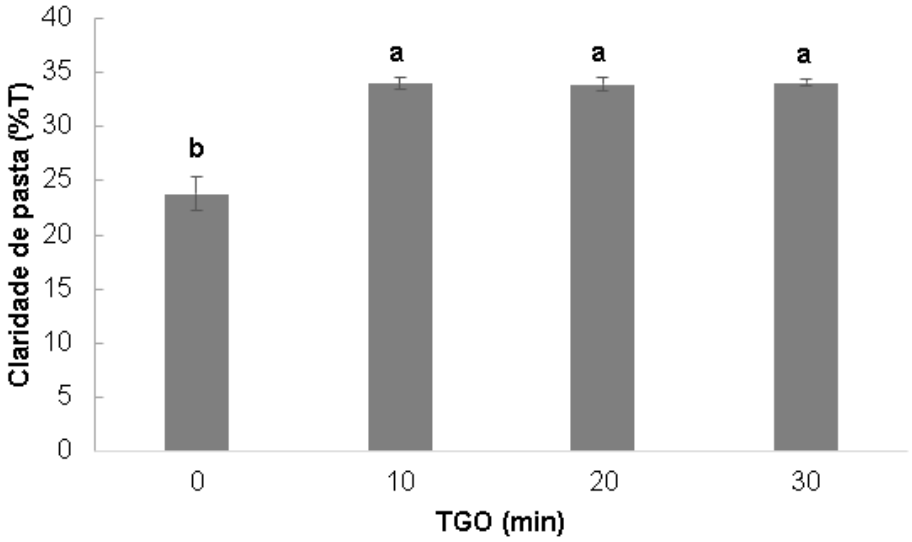
A comparação entre a CAO do amido de quinoa (150%, Figura 15) com o amido de milho (110%), determinado por Jan, Panesar e Singh (2017), indica que o amido de quinoa apresenta melhor capacidade para interagir com lipídios e que a

oxidação do amido de quinoa, melhora essa propriedade, sendo observado um aumento de 33% em relação ao amido nativo quando o TGO foi de 30 minutos.

5.2.3. Claridade de pasta

A claridade de pasta das amostras foi obtida pela leitura da transmitância em espectrofotômetro. A transmitância do amido de quinoa nativo foi de 23,8% (Figura 16), valor maior que o obtido por Jan, Panesar e Singh (2017) (4%). Essa diferença pode ser devido à diferença nos cultivares e origem geográfica.

Figura 16 – Valores de transmitância, para os amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).



As barras de erros representam os desvios. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).
Fonte: autoria própria.

Os valores de transmitância (%) aumentaram com o processo de ozonização (Figura 16), variando de 23,8 para 34%, sem diferença significativa entre as amostras ozonizadas com diferentes TGO. A substituição dos grupos hidroxila por grupos carbonila/carboxila faz com que haja repulsão entre as moléculas vizinhas, reduzindo a associação intercadeias, promovendo uma maior transmitância. Além disso, com a repulsão eletronegativa introduzida pelos grupos carboxilas, as hélices das cadeias de amilopectina podem se encontrar mais abertas, permitindo uma maior entrada de luz na molécula. Esse resultado corrobora com o trabalho de Lawal (2004), que obteve

valores maiores de transmitância (aumento de 24,5 para 34,6%) para os amidos de taro oxidados por 10 minutos, e também com o de Matta Jr. (2015), que observou aumento da claridade de pasta para amidos de milho (alta amilose, ceroso e normal) e mandioca ozonizados por 60 minutos, porém, sem correlação direta com o aumento dos grupos carbonila/carboxila.

Quanto maior o valor da transmitância (%), maior quantidade de luz passará pela amostra, indicando uma pasta mais clara e transparente. No presente estudo, o tratamento com ozônio influenciou de modo a deixar as pastas de amido mais transparentes, característica importante e desejável para determinadas aplicações, como espessante em alimentos ou aplicação têxtil, que requerem pastas claras, de modo a não alterar a cor original do produto (FRANCO et al., 2001; ÇATAL; IBANOĞLU, 2012).

5.2.4. Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor para os amidos nativo e submetidos ao tratamento com ozônio estão apresentados na Tabela 5. Os valores desses parâmetros para o amido de quinoa nativo (L* = 88,9, a* = -0,26, b* = 1,24) foram ligeiramente menores que os encontrados por Jan, Panesar e Singh (2017), que reportaram parâmetros de cor com valores de L* = 97,3, a* = -3,63, b* = 4,93 para o amido de quinoa nativo. O processo de oxidação do amido de quinoa com ozônio alterou significativamente os parâmetros de cor a* e b* e promoveu uma ligeira diferença nos valores de L* (luminosidade). De maneira geral, os valores dos parâmetros de cor (a*, b* e L*) para os amidos de quinoa nativo e ozonizados apresentaram cores claras.

Tabela 5 - Parâmetros de cor dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	L*	a*	b*	ΔE*
0	88,9 ± 0,1[b]	(-0,26) ± 0,02[b]	1,24 ± 0,02[b]	-
10	89,1 ± 0,1[c]	(-0,09) ± 0,03[a]	1,47 ± 0,20[a]	0,83 ± 0,51[c]
20	89,4 ± 0,1[a]	(-0,10) ± 0,01[a]	1,39 ± 0,01[a,b]	0,68 ± 0,07[b]
30	89,2 ± 0,1[a,b]	(-0,11) ± 0,03[a]	1,43 ± 0,02[a]	0,41 ± 0,06[a]

Média ± desvio padrão (n=6). Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

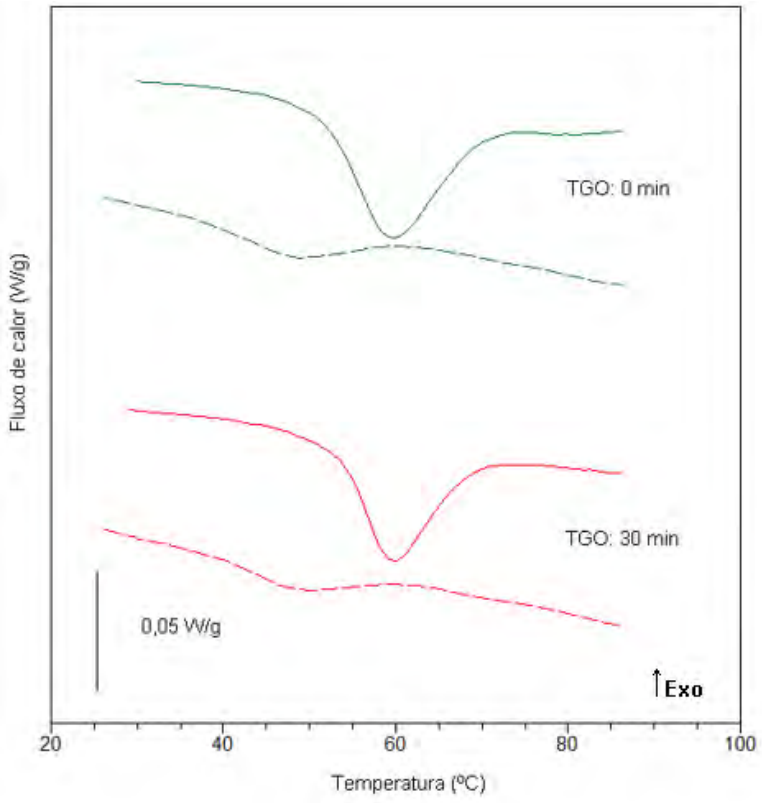
O ΔE* indica a diferença total de cor entre o amido nativo e os amidos tratados com ozônio. Na Tabela 5 observa-se que a amostra com TGO de 10 minutos apresentou maior diferença de cor comparada ao amido nativo (ΔE* = 0,83) e que esse parâmetro diminuiu significativamente para com o aumentou do TGO.

Na literatura, é largamente difundido que a oxidação tende a promover um processo de branqueamento dos amidos, principalmente se utilizado o hipoclorito de sódio, que possui uma ação oxidante mais agressiva. Walapatit et al. (2005) oxidaram amido de mandioca com ozônio em concentrações de 5 a 90 mg O_3/ g amido, obtendo amidos ozonizados com cores mais próximas ao branco, com a luminosidade variando de 93,3 para o amido nativo a 98 para o amido oxidado com a concentração máxima de ozônio (90 mg O_3/ g amido). Esses autores atribuíram esse efeito a vários fatores combinados, como a introdução de grupos mais volumosos (carbonilas / carboxilas) e despolimerização do amido devido à oxidação glicosídica, promovendo um branqueamento dos amidos ozonizados.

5.2.5. Calorimetria diferencial de varredura

A Figura 17 representa o comportamento térmico obtido por calorimetria diferencial de varredura (DSC) das amostras de amidos nativo e ozonizados por 30 minutos, gelatinizadas assim que preparadas e retrogradadas, após 11 dias de armazenamento a 4 ºC. As propriedades térmicas obtidas dessas curvas são apresentadas nas Tabelas 6 e 7.

Figura 17 – Curvas de fluxo de calor obtidas por calorimetria diferencial de varredura dos amidos nativos (0 min, verde) e ozonizado por 30 min (vermelho). Linhas contínuas representam a gelatinização das amostras e linhas tracejadas, as amostras retrogradadas (analisadas após 11 dias de armazenamento).



Fonte: autoria própria.

Tabela 6 - Propriedades térmicas de gelatinização dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	T_0 (ºC)	Tp (ºC)	Tf(ºC)	∆T	∆H (J/g)
0	51,4 ± 0,0[b]	59,6 ± 0,2[a]	74,5 ± 1,0[a]	23,1 ± 0,9[a]	12,1 ± 0,2[a]
10	53,0 ± 0,3[a]	60,0 ± 0,0[a]	76,9 ± 0,5[a]	23,9 ± 0,1[a]	11,3 ± 0,1[b]
20	53,0 ± 0,2[a]	59,3 ± 0,2[a]	75,6 ± 2,6[a]	22,6 ± 0,1[a]	11,2 ± 0,1[b]
30	53,2 ± 0,1[a]	59,6 ± 0,5[a]	74,7 ± 0,7[a]	21,5 ± 0,0[a]	11,4 ± 0,0[b]

Média ± desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$). Resultados expressos em J/g de amido (base seca). Tp, temperatura de pico; **Δ**T= Tf -To; **Δ**H, variação de entalpia.

Fonte: autoria própria.

Os valores apresentados na Tabela 6 são similares aos encontrados por Valencia (2016) para o amido nativo de quinoa (T_0=52,8 ºC, Tp=57,7 ºC, Tf=64 ºC, ∆T= 18,3 ºC e ∆H= 11,2 J/g). Na Tabela 6 observa-se que a temperatura inicial de gelatinização aumentou e a entalpia de gelatinização diminuiu significativamente para as amostras tratadas com ozônio quando comparadas ao amido nativo. Essa

diferença pode ser associada à despolimerização da amilose, indicando um enfraquecimento dos grânulos após a oxidação e permitindo um menor gasto energético durante a gelatinização, já que as moléculas de amilopectina foram preservadas durante a modificação, conforme resultados obtidos na GPC (Figura 11, item 5.1.3). A maior temperatura inicial de gelatinização também pode ser atribuída à despolimerização da região amorfa, que tem efeito desestabilizante sobre a lamela cristalina. Uma vez que as regiões amorfas são degradadas, seu efeito desestabilizante sobre o domínio cristalino é reduzido e a gelatinização passa a ocorrer em temperaturas mais elevadas (SANGSEETHONG; LERTPHANICH; SRIROTH, 2010).

Matta Jr. et al. (2019) não observaram diferença nas propriedades de gelatinização para o amido de mandioca ozonizado por 60 minutos, com exceção da entalpia de gelatinização, que apresentou diferença significativa. Esse aumento foi atribuído à quebra de macromoléculas, especialmente a amilopectina, com possível rearranjo das duplas hélices dessas moléculas, dificultando a dissociação durante a gelatinização do amido oxidado. Chan et al. (2011) avaliaram as propriedades de gelatinização de amidos de milho e de mandioca tratados com ozônio (1 a 10 minutos) e Oladebeye et al. (2013), para os amidos de taioba e inhame ozonizados (5 a 15 minutos) e não observaram diferença nas propriedades térmicas de gelatinização entre os amidos nativo e ozonizados.

As propriedades térmicas do amido dependem do tamanho, microestrutura, grau de cristalinidade dos grânulos e proporção amilose/amilopectina (SANDHU; SINGH; LIM, 2007). A entalpia de gelatinização (ΔH) é a energia térmica necessária para que aconteça o intumescimento das partículas devido à elevação da temperatura e a absorção de água (WEBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009). A entalpia de gelatinização está relacionada diretamente à região cristalina (principalmente as conformações de duplas hélices) que foi quebrada durante o aquecimento do amido, sendo que altas temperaturas de gelatinização indicam estruturas cristalinas mais fortes (JIPING et al., 2007).

Na Tabela 7 observa-se que não houve diferença significativa para as propriedades térmicas das amostras retrogradadas com a variação do TGO e os valores encontrados foram similares aos observados por Valencia (2016) para o amido de quinoa nativo retrogradado (T_0=38,5 ºC, Tp=47,3 ºC, Tf=56,9 ºC, ΔT=18,4, ΔH=2,1 J/g e %R=19).

Tabela 7 - Propriedades térmicas de retrogradação dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	T_0 (ºC)	Tp (ºC)	Tf(ºC)	∆T	∆H (J/g)	%R
0	38,8 ± 0,0ª	48,5 ± 0,6ª	58,9 ± 2,1ª	20,1 ± 2,1ª	2,1 ± 0,4ª	17,5 ± 2,1ª
10	38,1 ± 0,1ª	48,3 ± 1,5ª	60,6 ± 0,5ª	22,5 ± 0,5ª	2,0 ± 0,7ª	17,6 ± 6,6ª
20	39,0 ± 1,3ª	47,9 ± 0,6ª	61,3 ± 2,2ª	22,3 ± 0,9ª	2,4 ± 0,1ª	20,4 ± 0,4ª
30	38,8 ± 0,7ª	48,7 ± 0,5ª	59,2 ± 0,0ª	20,4 ± 0,7ª	2,5 ± 0,0ª	21,8 ± 0,1ª

Média ± desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$). Resultados expressos em J/g de amido (base seca). Tp, temperatura de pico; **Δ**T= Tf -To; **Δ**H, variação de entalpia; %R, porcentagem de retrogradação.

Fonte: autoria própria.

Na literatura, tem sido sugerido que a fração responsável pela retrogradação, quando avaliada pelo DSC, é a amilopectina (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000). Ao contrário do que é observado com a amilose, a cristalização da amilopectina é um processo lento, continuando ao longo de um período de vários dias ou semanas (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000). Em vista disso, o resultado obtido para a retrogradação (Tabela 7) se correlaciona com o observado pela GPC (Figura 11, seção 5.1.3), que sugere que não houve alterações nas moléculas de amilopectina, mantendo o grau de retragadação para todas as amostras analisadas. Esse resultado, novamente, demonstra ter sido uma modificação branda do amido, sem alterações na região cristalina do mesmo.

Matta Jr. et al. (2019) observaram aumento de todos os parâmetros de retrogradação para o amido de mandioca ozonizado, atribuindo o menor tamanho das moléculas, sobretudo da amilopectina, a uma maior capacidade de reassossiação, aumentando todas as propriedades térmicas, inclusive a entalpia de retrogradação, o que pode ser correlacionado à um tratamento mais agressivo do amido.

5.2.6. Propriedades de pasta

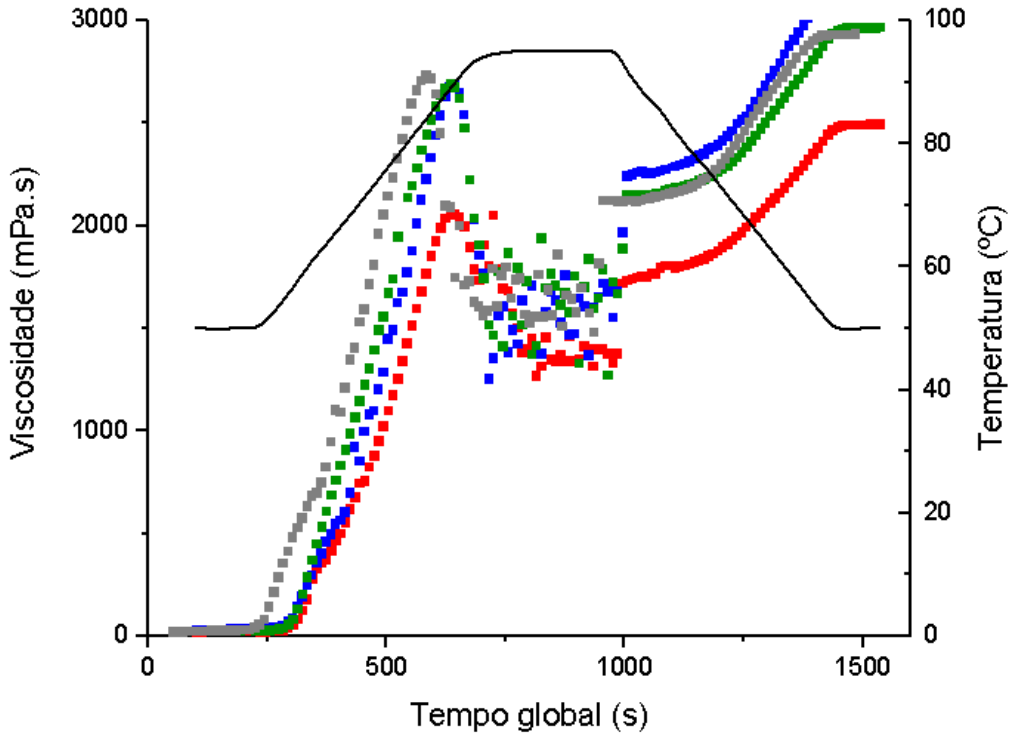
As propriedades de pasta dos amidos estão apresentadas na Figura 18 e resumidas na Tabela 8. Os valores de propriedades de pasta do amido de quinoa nativo determinados por Jan, Panesar e Singh (2017) (temperatura de pasta: 69,45 ºC, viscosidade aparente de pico 4637 mPa.s, viscosidade mínima 3694 mPa.s, viscosidade final 4869 mPa.s, viscosidade de quebra 943 mPa.s e retrogradação 1175

mPa.s) foram maiores que os apresentados na Tabela 8. Essas diferenças podem ser explicadas por diferenças nas variedades do cultivar e origem geográfica do grão de quinoa além de diferenças durante o processo de extração e purificação do amido.

Os valores de viscosidade aparente de pico do amido de quinoa aumentaram após o tratamento com ozônio, efeito que pode ser explicado pela reticulação (formação de ligações cruzadas) induzida pela oxidação das moléculas de amido (KAUR; SINGH; SINGH, 2006). Comparando com o amido de quinoa nativo, as viscosidades aparentes de pico para os TGO de 10, 20 e 30 min aumentaram aproximadamente em 39, 37 e 28%, respectivamente (Tabela 8). No entanto, foi observada uma tendência de redução nos valores de viscosidades de pico e final com o aumento do TGO (20 e 30 minutos), que pode ser atribuída ao aumento da clivagem das ligações glicosídicas, conforme se aumentou o tempo de aplicação de ozônio.

O mesmo comportamento também foi observado por Ding et al. (2015) para amido de arroz oxidado com ozônio, que justificaram a redução da viscosidade de pico pela degradação das moléculas de amido com o aumento do tempo de tratamento com ozônio. Esses autores determinaram maiores valores de viscosidade aparente de pico para o amido de arroz tratados com ozônio por 30 e 60 minutos quando comparado ao amido nativo. O efeito da oxidação sobre a viscosidade máxima do amido pode depender da fonte do polissacarídeo, do tipo e da intensidade do tratamento oxidativo (CHAN; BHAT; KARIM, 2009).

Figura 18 – Curva típica de viscosidade de pastas/géis dos amidos nativos (vermelho) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (cinza). A linha contínua representa a rampa de temperatura.



Fonte: autoria própria.

Tabela 8 - Propriedades de pasta dos amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	Temperatura de pasta (ºC)	Viscosidade máxima (mPa.s)	Viscosidade mínima (mPa.s)	Viscosidade final (mPa.s)	Viscosidade de quebra (mPa.s)	Retrogradação (mPa.s)
0	53,5 ± 0,0[a]	2014 ± 62[b]	1404 ± 18[b]	2411± 123[c]	610 ± 80[b]	1007± 141[c]
10	54,0 ± 1,0[a]	2800 ± 100[a]	1654 ± 61[a]	3195 ± 82[a]	1146 ± 59[a]	1541 ± 135[a]
20	54,7 ± 0,5[a]	2767 ± 111[a]	1629 ± 89[a]	3081 ± 168[a,b]	1138 ± 106[a]	1452 ± 135[a,b]
30	55,0 ± 1,0[a]	2573 ± 199[a]	1539 ± 121[a,b]	2778 ± 196[b]	1034 ± 86[a]	1238 ± 139[b,c]

Média ± desvio padrão (n=4). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

Na Figura 18 observa-se um deslocamento dos picos de viscosidade para a direita, indicando que as amostras oxidadas atingem o máximo de viscosidade em um tempo menor do que o amido nativo, o que pode ser explicado pelo enfraquecimento dos grânulos após o processo de oxidação.

A amilopectina contribui para o inchamento dos grânulos de amido e empastamento, enquanto a amilose inibe o intumescimento, assim como a presença de lipídeos, pois estes podem formar complexos insolúveis com algumas moléculas de amilopectina. Além disso, o comprimento de cadeia da amilopectina e o tamanho molecular da amilose produzem efeitos sinérgicos sobre a viscosidade de pastas de amido (CRAIG et al., 1989; TESTER; MORRISON, 1990; JANE; CHEN, 1992).

Há controvérsias na literatura quanto à influência da oxidação por ozônio na viscosidade de pastas de amido. Alguns autores, assim como o observado nesse trabalho, reportaram um aumento na viscosidade com amidos tratados por ozônio, atribuindo esse aumento à ocorrência de ligações cruzadas. Matta Jr. (2015) observou um aumento na viscosidade para os amidos de milho ceroso e de mandioca oxidado por ozônio, assim como o observado na Figura 18. No entanto, Castanha; Matta Jr e Augusto (2017) relataram uma redução na viscosidade do amido de batata após a ozonização e atribuíram esse resultado à clivagem parcial das ligações glicosídicas após o tratamento com ozônio. Chan, Bhat e Karim (2009) constataram redução da viscosidade aparente de pico para o amido de sagu tratado com ozônio nos tempos de 1 e 3 min, entretanto, maiores tempos de tratamento provocaram aumento dessa propriedade.

Vários estudos têm considerado hipóteses para explicar as elevações da viscosidade aparente de pico após o processo oxidativo. Uma dessas hipóteses refere-se ao aumento da capacidade de inchamento, que pode estar associada à elevação do teor de carboxilas no amido pelo processo oxidativo, promovendo o aumento da viscosidade de pico (WANG; WANG, 2003).

A viscosidade de quebra (*breakdown*) é uma medida da ruptura do grânulo, ou à menor habilidade do amido em resistir à força de cisalhamento durante o aquecimento. Nesse estudo, a viscosidade de quebra aumentou em 87%, se comparado o amido nativo e o ozonizado por 10 minutos, porém, não houve diferença significativa entre os diferentes TGOs. Esse resultado indica que quanto maior a oxidação, mais fácil será o rompimento dos grânulos (CASTANHA; MATTA JR.; AUGUSTO, 2017). A presença de grupos funcionais e as cargas negativas dos grupos carboxílicos podem afetar esta propriedade. As cargas se repelem, causando elevação do inchamento dos grânulos de amido durante o aquecimento em água e consequente elevação da viscosidade de quebra (SANDHU; SINGH; LIM, 2007). Alguns estudos constataram aumento do *Breakdown* após a oxidação de amidos com

ozônio (CHAN; BHAT; KARIM, 2009; OLADEBEYE et al., 2013), o que corrobora com os resultados apresentados nesse estudo. Em contraponto, Sandhu et al. (2008) observaram que o *Breakdown* diminuiu para o amido de milho normal e aumentou para o amido de milho ceroso, após o processo de oxidação.

Na Tabela 8 pode-se observar um aumento da retrogradação (*setback*) para os amidos tratados com ozônio e uma tendência de redução nesses valores com o aumento de 10 para 30 min de TGO. O amido com 10 minutos de ozonização apresentou um aumento de 52% em relação ao amido nativo. O *setback* indica a tendência à retrogradação do amido, principalmente associada à tendência de reassociação da amilose (CHAN; BHAT; KARIM, 2009). A oxidação pode interferir na retrogradação do amido através da degradação das amilopectinas de cadeias longas, ou mesmo das moléculas de amilose das lamelas amorfas, o que produziria dextrinas com comprimentos mais adequados à reassociação. Outro mecanismo seria pela formação de grupos carboxilas ou carbonilas, o que dificultaria novas associações entre as cadeias, também reduzindo a tendência à retrogradação (KUAKPETOON; WANG, 2006).

SANDHU et al. (2008) também observaram um aumento no *setback* para o amido de milho ceroso oxidado, o que corrobora com os resultados obtidos nesse trabalho. No entanto, alguns estudos apontaram redução do *setback* após a oxidação de amido, como foi observado por e Çatal e Ibanoğlu (2012), que modificaram com ozônio amidos de mandioca e de trigo, respectivamente. Matta Jr. et al. (2019) justificaram um menor *setback* para o amido de mandioca ozonizado por 60 minutos devido à quebra prioritária de moléculas de amilose, com obtenção de cadeias menores com menor tendência à reassociação quando comparada à amilopectina. Além disso, grupos mais volumosos (carboxilas/carbonilas) e eletronegativos que hidroxilas se repelem, dificultando a reassociação molecular.

5.2.7. Comportamento reológico

A determinação das propriedades reológicas de alimentos em cisalhamento estacionário (curvas de fluxo) é importante para o controle de qualidade, desenvolvimento de novos produtos, correlação com a textura do produto e cálculos de engenharia de processos que envolvem projetos de tubulações, bombas, trocadores de calor e outros equipamentos. Os ensaios realizados em cisalhamento

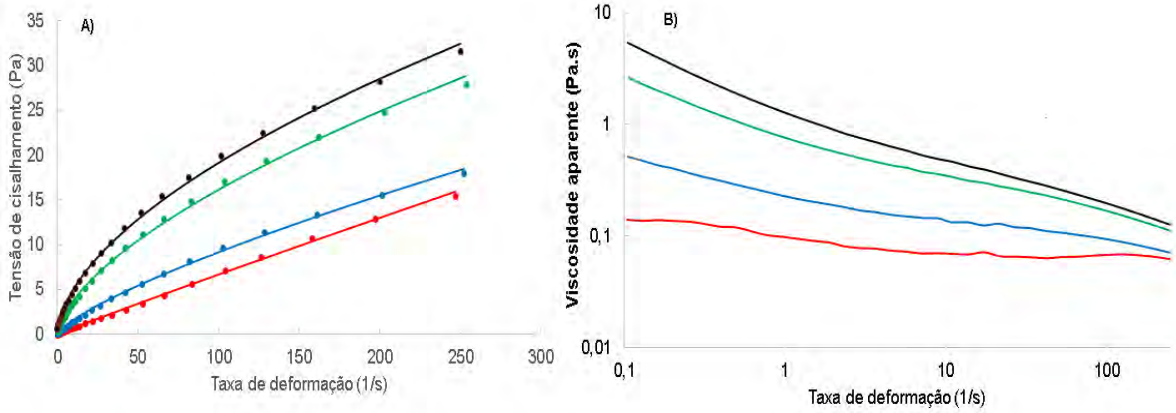
oscilatório são relevantes para a obtenção de propriedades reológicas de diferentes materiais que também podem ser associados à estrutura e funcionalidade de uma macromolécula ou interações de componentes (STEFFE, 1996).

5.2.7.1. Curvas de Fluxo

No cisalhamento em estado estacionário, a velocidade não varia com o tempo e as tensões geradas pelo escoamento podem atuar tanto na direção paralela, tensão de cisalhamento, como na direção perpendicular ao cisalhamento, tensão normal (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989). Esses ensaios são conduzidos a altas taxas de deformação e utilizados na avaliação da influência de diversos fatores tais como temperatura, concentração e presença de partículas em suspensão sobre as propriedades reológicas do material (STEFFE, 1996), e são muito usados na caracterização de diferentes amidos.

As amostras gelatinizadas de amido de quinoa (5% m/m) apresentaram uma relação não linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação (Figura 19A), comportamento de fluido não-Newtoniano e já esperado para suspensões/géis de amido. Há um aumento da tensão de cisalhamento, para uma mesma taxa de deformação, conforme se aumenta o tempo de tratamento do amido com o ozônio. Na Figura 19B, observa-se que, para todas as amostras, a viscosidade diminuiu conforme se aumentou a taxa de deformação, o que caracteriza fluido não-Newtoniano do tipo pseudoplástico. A viscosidade aparente da pasta/gel de amido aumentou após o tratamento com ozônio, apresentando maiores valores com o aumento do TGO.

Figura 19 – A) Curvas de fluxo descendentes e (B) Viscosidade aparente em função da taxa de deformação das pastas/géis de amidos (5% m/m) nativos (vermelho) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (preto). Pontos representam os dados experimentais e linhas contínua, o modelo de Lei da Potência (LP).



Fonte: autoria própria.

Chan, Bhat e Karim (2009) também constataram um aumento na viscosidade de amidos com maiores tempos de tratamento por ozônio (acima de 3 minutos). O aumento na viscosidade obtido pelas curvas de fluxo confirma o comportamento já discutido anteriormente nas propriedades de pasta (seção 5.2.6.), podendo ser atribuído a reticulação das moléculas de amido induzidas pela ozonização (CHAN; BHAT; KARIM, 2009; CHAN et al., 2011).

Os dados obtidos foram modelados pela Lei da Potência apresentando bons coeficientes de determinação (R^2>0,998) (Tabela 9). Nessa tabela pode-se observar que as amostras se tornaram mais pseudoplásticas (menores valores de n) com o aumento do TGO, exibindo bons coeficientes de determinação (R^2>0,998).

Alguns autores também relataram redução no valor de n em amidos oxidados por ozônio em relação aos amidos nativos. Este resultado concorda com o de Sanchez-Rivera et al. (2009), que observaram que o amido de banana oxidado teve uma redução nos valores de n em relação à sua forma nativa. Esses autores explicaram esse resultado pela despolimerização parcial de compostos amorfos e cristalinos da lamela durante a oxidação do amido com ozônio. De acordo com Kuakpetoon e Wang (2006) a oxidação ocorre principalmente nas lamelas amorfas, e a despolimerização da amilose, a partir da oxidação, ocorre na periferia do amido, o que corrobora com os resultados de redução de amilose nos amidos tratados com ozônio apresentados na Figura 10, seção 5.1.2.

Tabela 9 - Propriedades reológicas (k e n, modelo Lei da Potência) para pastas/géis de amidos nativos (0 min) e ozonizados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	K (mPa.s^n)	n	R^2
0	74,7 ± 0,0^b	0,96 ± 0,01^a	0,998
10	308,1 ± 0,0^b	0,75 ± 0,02^b	0,998
20	1020,8 ± 0,2^a	0,61 ± 0,01^c	0,998
30	1175,3 ± 0,2^a	0,58 ± 0,01^d	0,998

Média ± desvio padrão (n=4). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$). K: índice de consistência, n: índice de comportamento de escoamento.
Fonte: autoria própria.

Li e Zhu (2018b) reportaram bons ajustes dos modelos HB (Herschel-Bulkley, R^2 = 0,998) e LP (Lei da Potência, R^2 = 0,987) para as curvas de fluxo de pastas/géis de amido de quinoa nativo (9 cultivares diferentes) (6,7% m/m, b.s.) As propriedades de fluxo obtidas pelo modelo LP apresentaram valores de n e K variando de 0,37 a 0,45 e 8,2 a 29,3 (Pa.s), respectivamente.

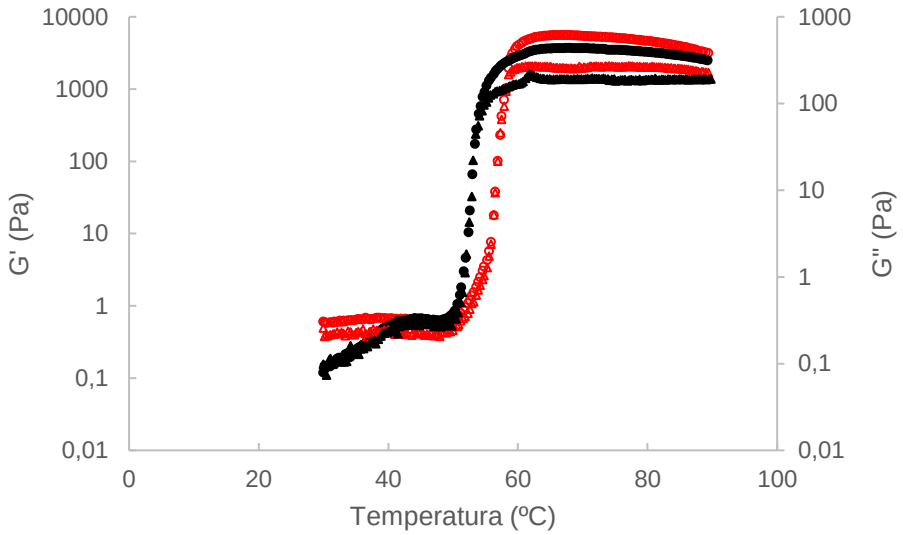
Chan et al. (2011) observaram aumento nos valores de índice de consistência (K) nas amostras de amido após a oxidação e sugeriram que os polímeros com cadeias mais curtas tendem a aproximar-se uns dos outros para formar redes que contribuem para aumentar as propriedades de escoamento do amido oxidado o que pode explicar a maior pseudoplasticidade e viscosidade aparente das amostras com maior TGO.

5.2.7.2. Ensaios oscilatórios

Os ensaios oscilatórios, ou testes dinâmicos, são particularmente úteis para caracterizar a conformação macromolecular e interações intermoleculares em dispersões ou géis e no caso de amidos podem ser úteis na determinação das temperaturas e tempos de gelatinização, bem como no estudo de retrogradação (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000). O módulo de armazenamento (G’) expressa a magnitude da energia que é armazenada no material ou recuperada por ciclo de deformação, e o módulo de perda (G’’) expressa a perda de energia do material, por ciclo de deformação.

O teste de varredura de temperatura foi feito com o objetivo de avaliar a temperatura de gelatinização de cada amostra. Exemplos das curvas desse ensaio são apresentadas na Figura 20 e as temperaturas de gelatinização, na Tabela 10.

Figura 20 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G") para amido de quinoa (20% m/m) nativo (G': círculo aberto vermelho e G": triângulo aberto vermelho) e submetido a 30 minutos de TGO (G': círculo fechado preto e G": triângulo fechado preto) em função da temperatura (ºC).



Fonte: autoria própria.

A temperatura de gelatinização do amido de quinoa nativo (57,4 ºC) foi próxima às relatadas por Li e Zhu (2018b), que analisaram 9 tipos de cultivares de quinoa, encontrando temperaturas de gelatinização no intervalo de 54,3 a 63,7 ºC. A temperatura de gelatinização não apresentou diferença significativa entre as amostras ozonizadas e o amido nativo. Esse resultado corrobora com as temperaturas de pico obtidas pelo DSC (Tabela 6, seção 5.2.5).

Chan et al. (2011) reportaram que não houve mudanças significativas nas temperaturas de gelatinização de amidos de milho, sagu e tapioca com TGOs de 10 minutos. Segundo Ahmad et al. (1999), a temperatura de gelatinização dos amidos dependem da microestrutura e grau de cristalinidade, além do tamanho dos grânulos e da relação amilose / amilopectina.

Tabela 10 - Temperaturas de gelatinização para as amostras de pastas/géis de amidos de quinoa nativo (0 min) e oxidados com diferentes tempos de geração de ozônio (TGO).

TGO (min)	Temperatura de gelatinização (ºC)
0	57,4 ± 0,4ª
10	56,9 ± 0,4ª
20	57,0 ± 0,2ª
30	56,5 ± 1,3ª

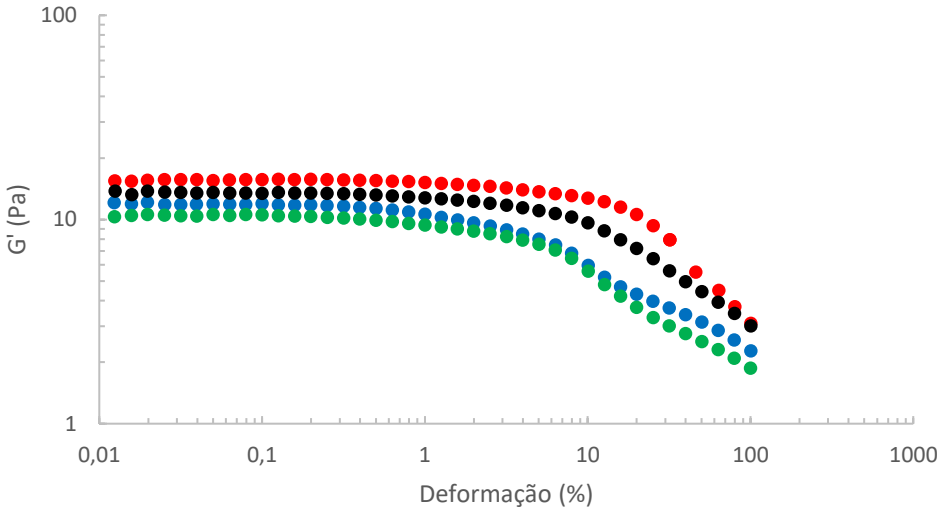
Média ± desvio padrão (n=4). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria.

De acordo com Steffe (1996), nos ensaios de varredura de deformação ou tensão, os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') são medidos em função do aumento da deformação (ou tensão), a uma temperatura e frequência fixas previamente definidas. Esse ensaio é muito utilizado para a obtenção da região de viscoelasticidade linear do material (RVL), já que nessa região os módulos viscoelásticos não dependem da tensão ou da deformação.

Na RVL observa-se um platô nas curvas de G' em função da deformação (Figura 21). Esse intervalo foi menor que 5 % de deformação para o amido nativo e o modificado com 30 minutos de ozônio e menor que 1% de deformação para os amidos modificados com 10 e 20 minutos de ozônio, sendo que a deformação utilizada para as outras analises foi de 1% (dentro do RVL). As amostras tratadas com ozônio por 10 e 20 minutos apresentaram um G' ligeiramente mais baixo que as amostras tratadas com 30 minutos e o amido nativo de quinoa.

Figura 21 – Módulo elástico (G') em função da deformação para os géis/pastas de amidos (5% m/m) nativo (vermelho) e ozonizados em diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (preto).

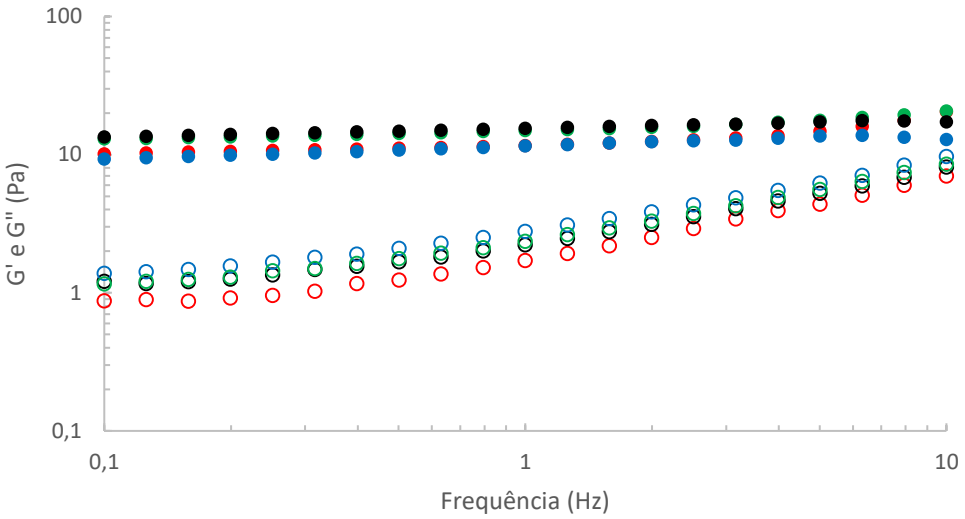


Fonte: autoria própria.

Nos ensaios de varredura de frequência, ou também chamados espectros mecânicos, a deformação (ou tensão) é mantida fixa, assim como a temperatura, e a frequência varia em uma faixa pré-determinada. Esse teste é utilizado para avaliar a estrutura do sistema e comparar diferentes produtos ou o efeito de diferentes aditivos ou processo de tratamento na viscoelasticidade de materiais (STEFFE, 1996).

O comportamento dos módulos G' e G" em função da variação da frequência é mostrado na Figura 22. Nessa figura observa-se que os módulos de armazenamento (G') se mantiveram, em todos os casos, acima dos módulos de perda (G"), indicando um caráter elástico das amostras e comportamento de gel fraco. Esse resultado corrobora com os obtidos por Li e Zhu (2018b), que avaliaram o comportamento reológico de amido de quinoa nativo por varredura de frequência (RVL, 2% de deformação) e obtiveram G' > G", sem cruzamento dos módulos no intervalo de frequência estudado. Após a ozonização do amido de quinoa foram observadas pequenas alterações nos módulos viscoelásticos, como tendência de aumento de G" e redução de G' com o aumento do TGO.

Figura 22 – Módulos viscoelásticos (G’ e G”) em função da frequência para pastas/géis de amidos (5% m/m) nativo (vermelho) e ozonizados em diferentes tempos de geração de ozônio (TGO): 10 min (azul), 20 min (verde) e 30 min (preto). G’: símbolos fechados; G”: símbolos abertos.



Fonte: autoria própria.

De acordo com Steffe (1996), géis físicos ou fracos são dependentes da frequência, e não apresentam *crossing-over*, ou seja, cruzamento dos módulos viscoelásticos, enquanto os géis verdadeiros ou elásticos apresentam módulo de armazenamento (G’) constante em função da frequência. e esses géis possuem tendência à quebra quando submetidos às mesmas condições. Géis fracos possuem tendência a fluir quando submetidos às altas tensões de cisalhamento. Por outro lado, para um gel verdadeiro, o módulo de armazenamento não varia com a frequência.

6. CONCLUSÃO

O efeito do tempo de geração de ozônio (TGO) nas propriedades estruturais, funcionais, térmicas e reológicas do amido de quinoa foi avaliado. A cristalinidade relativa e o teor de amilose diminuíram com o aumento do TGO. A análise química do amido indicou despolimerização da amilose de amostras tratadas com ozônio, a partir de 20 min de TGO. A morfologia apresentou diferença visível somente após 30 min de TGO. Por outro lado, as propriedades funcionais (claridade de pasta, propriedades de pasta e capacidade de absorção de óleo) mostraram um aumento significativo com 10 min de tratamento com ozônio, em comparação com o amido de quinoa não tratado. O poder de inchamento, o índice de solubilidade, ambos a 70 ºC, as temperaturas de gelatinização de pico e final e as propriedades térmicas medidas por DSC para as amostras retrogradadas não foram alteradas após o tratamento do amido de quinoa com ozônio. Em comparação com o amido de quinoa nativo, as viscosidades aparentes de pico para os tratamentos de ozônio a 10, 20 e 30 min aumentaram em 39%, 37% e 28%, respectivamente. Nos testes reológicos, a viscosidade aparente, a pseudoplasticidade e o índice de consistência das amostras aumentaram com o aumento do TGO. Na varredura de frequência, as amostras apresentaram comportamento de gel fraco (G’>G”), não sendo alterado após o tratamento do amido de quinoa com ozônio. As mudanças nas propriedades estruturais, funcionais e reológicas do amido de quinoa confirmam que ele foi efetivamente oxidado pelo ozônio nas condições aplicadas nesse trabalho. Assim, o ozônio pode ser considerado uma alternativa para processos oxidativos na modificação do amido, principalmente em aplicações alimentares como sopas e produtos à base de carne.

REFERÊNCIAS

AACC. **American Association of Cereal Chemists. Aproved Methods**. Saint Paul, Minnesota, 1995. .

AHAMED, N. T. . et al. Deep fat-fried snacks from blends of soya flour and corn, amaranth and chenopodium starches. **Food Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 313–317, 1997.

AHMAD, F. B. et al. Physicochemical characterization of sago starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, p. 361–370, 1999.

ALCÁZAR-ALAY, S. C. .; MEIRELES, M. A. A. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 215–236, 2015.

ALMEIDA, E. C.; BORA, P. S. ;; ZÁRATE, N. A. H. Amido nativo e modificado de taro (Colocasia esculenta L. Schott): Caracterização química, morfológica e propriedades de pasta. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 67–82, 2013.

ALVAREZ-JUBETE, L. . et al. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 770–778, 2010.

ARAUJO-FARRO, P. C. et al. Development of films based on quinoa (Chenopodium quinoa, Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 4, p. 839–848, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.03.051>.

ATWELL, W. A. et al. Characterization of Quinoa Starch. **Cereal Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 9–11, 1983.

ATWELL, W. A. et al. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. **Cereal Foods World**, v. 33, n. 3, p. 306, 1988.

BARNES, H. A. .; HUTTON, J. F. .; WALTERS, K. **An Introduction to Rheology: Rheology Series. Netherlands**. 3. ed. London: Elsevier Science, 1989.

BELLO-PÉREZ, L. A.; MONTEALVO, M. G. M.; ACEVEDO, E. A. Almidón: definicion, estructura y propiedades. In: **Carbohidratos em alimentos regionales iberoamericanos**. São Paulo: Edusp, 2006. p. 17–26.

BEUCHAT, L. R. Functional and Electrophoretic Characteristics of Succinylated Peanut Flour Protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 25, p. 258–261, 1977.

BULÉON, A. et al. Mini review starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85–112, 1998.

CAPERUTO, L. C. .; AMAYA-FARFAN, J.; CAMARGO, C. R. O. Performance of quinoa (Chenopodium quinoa Willd) flour in the manufacture of gluten-free spaghetti. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 1, p. 95–101, 2001.

CASTANHA, N.; MATTA JR., M. D. da; AUGUSTO, P. E. D. Potato starch modification using the ozone technology. **Food hydrocolloids**, v. 66, p. 343–356, 2017.

ÇATAL, H.; IBANOĞLU, Ş. Ozonation of corn and potato starch in aqueous solution: Effects on the thermal, pasting and structural properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 9, p. 1958–1963, 2012.

ÇATAL, H.; IBANOĞLU, Ş. Effect of aqueous ozonation on the pasting , fl ow and gelatinization properties of wheat starch. **Food Science and Technology**, v. 59, n. 59, p. 577–582, 2014.

CHAN, H. T. et al. Molecular structure, rheological and thermal characteristics of ozone-oxidized starch. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1019–1024, 2011.

CHAN, H. T.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Physicochemical and Functional Properties of Ozone-Oxidized Starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8, p. 5965–5970, 2009.

CHATTOPADHYAY, S.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Optimisation of conditions of synthesis of oxidised starch from corn and amaranth for use in film-forming applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 34, n. 97, p. 1–3, 1998.

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

COPELAND, L. et al. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1527–1534, 2009.

CRAIG, S. A. S. et al. Starch Paste Clarity. **Cereal Chemistry**, v. 66, p. 173–182, 1989.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, jun. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009000300052&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 29 maio. 2017.

DING, W. et al. Effect of ozone treatment on physicochemical properties of waxy rice flour and waxy rice starch. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 744–749, 2015.

DOMINGUES, M. A. C. **Efeito da interação genótipo x ambiente no Estado de São Paulo sobre os parâmetros de qualidade do trigo e nas características físico-químicas e funcionais do amido**. 2002. 140 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

FAO. Distribution and Production. International Year of Quinoa Secretariat. **Food and agriculture organization of the united nations**, 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/distribution-and-production/en/>. Acesso em: 1 fev. 2018.

FLEMING, J. E.; GALWEY, N. W. Quinoa (Chenopodium quinoa). In: WILLIAMS, J. T. (Ed.). **Cereals and pseudocereals**. London: Chapman and Hall: Underutilised crop series, 1995. p. 3–83.

FONTAN, G. C. R. **Influência do uso de espessantes nas características sensoriais e físico-químicas de bebida láctea com polpa de umbu**. 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado). Engenharia de Processos de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetininga, 2008.

FRANCO, C. M. L. . et al. Propriedades gerais do amido. In: CEREDA, M. P. (Ed.). **Culturas de Tuberosas Amilaceas Latino Americanas**. 1. ed. Campinas: Fundação Cargill, 2001. p. 221.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v. 8617, n. 97, p. 177–191, 1997.

GENNADIOS, A. et al. Mechanical and Barrier Properties of Egg Albumen Films. **Food Science**, v. 61, n. 3, p. 585–589, 1996.

HIZUKURI, S.; ABE, J.; HANASHIRO, I. Starch: Analytical aspects. In: ELIASSON, A. (Ed.). **Carbohydrates in food**. 2 nd ed. London New York: Boca Raton, CRC Press, 2006. p. 305–390.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. **Carbohydrate Polymers**, p. 253–267, 2001.

IAL. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físicos e químicos para análises de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

İBANOĞLU, Ş.; ÖZASLAN, Z. T.; İBANOĞLU, E. Combined effect ozonation and ultrasonication on rheological and thermal properties of rice starch in aqueous phase. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 10, n. 1, p. 69–74, 2018.

ISO. Determination of amylose content. **Norme ISO 6647, Cereals, pulses and derived products**, p. 4, 1987.

JAMES, L. E. A. Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 58, p. 1–31, 2008.

JAN, K. N.; PANESAR, P. S.; SINGH, S. Process standardization for isolation of quinoa starch and its characterization in comparison with other starches. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 11, n. 4, p. 1919–1927, 2017.

JANE, J. Current understanding on starch granule structures. **Journal of Applied Glycoscience**, v. 53, n. 3, p. 205–213, 2006.

JANE, J. L.; WONG, K. S.; MCPHERSON, A. E. Branch-structure difference in starches of A and B-type x-ray patterns revealed by their naegeli dextrins. **Carbohydrate Research**, v. 300, n. 3, p. 219–227, 1997.

JIANG, S. et al. Evaluation of rheological behavior of starch nanocrystals by acid hydrolysis and starch nanoparticles by self-assembly: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 914–922, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.09.010>.

JIPING, P. et al. Comparative studies on morphological and crystalline properties of B-type and C-type starches by acid hydrolysis. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 989–995, 2007.

JULIANO, B. O. A Simplified Assay for Milled-Rice Amylose. **Analytical Chemistry**, v. 16, n. 10, p. 334–340, 1971.

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

KASEMSUWAN, T. et al. Characterization of the Dominant Mutant Amylose-Extender (Ae1-5180) Maize Starch. **Cereal Chemistry**, v. 72, p. 457–464, 1995.

KAUR, B. et al. Progress in Starch modification in the last decade. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 2, p. 398–404, 2012.

KAUR, L.; SINGH, J.; SINGH, N. Effect of Cross-Linking on Some Properties of Potato (Solanum Tuberosum L.) Starches. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 12, p. 1945–54, 2006.

KAUR, M. .; SANDHU, K. . In vitro Digestibility, Structural and Functional Properties of Starch from Pigeon Pea (Cajanus cajan) Cultivars Grown in India. **Food Research International**, v. 43, p. 263–268, 2010.

KIM, J. H. et al. Starch nanoparticles resulting from combination of dry heating under mildly acidic conditions and homogenization. **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 70–78, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.061>.

KLEIN, B. et al. Ozone oxidation of cassava starch in aqueous solution at different pH. **Food Chemistry**, v. 155, p. 167–173, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.058>.

KOKSEL, H. et al. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 2, p. 275–282, 2008.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Structural characteristics and physicochemical properties of oxidized corn starches varying in amylose content. **Carbohydrate Research**, v. 341, p. 1896–1915, 2006.

LAGARRIGUE, S. et al. Swelling kinetics of waxy maize and maize starches at high temperatures and heating rates. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n. 1, p. 148–155, 2008.

LAWAL, O. S. Composition, physicochemical properties and retrogradation characteristics of native, oxidised, acetylated and acid-thinned new cocoyam (Xanthosoma sagittifolium) starch. **Food Chemistry**, v. 87, n. 2, p. 205–218, 2004.

LEONEL, M. Analysis of the shape and size of starch grains from different botanical species. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 579–588, 2007.

LI, G.; ZHU, F. Quinoa starch: Structure, properties, and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 851–861, 2018a.

LI, G.; ZHU, F. Rheological properties in relation to molecular structure of quinoa starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 767–775, 2018b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.039>.

LIMA, B. N. B. et al. Characterization of Commercial Edible Starch Flours. **Polimeros**, v. 22, n. 5, p. 486–490, 2012.

LÓPEZ, S. R. **Amido e farinha de cañihua (Chenopodium pallidicaule): extração, caracterização e desenvolvimento de filmes biodegradáveis**. 2016. 116 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

LUCIANO, C. G. et al. Evaluation of extraction method on the structure and physicochemical properties of starch from seeds of two jackfruit varieties. **Starch - Stärke**, v. 69, p. 1–10, 2017.

MAHAPATRA, A. K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; JULSON, J. L. Applications of ozone, bacteriocins and irradiation in food processing: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 6, p. 447–461, 2005.

MARK, H. F. Experimental Methods in Polymer Chemistry. In: RABEK, J. F. (Ed.). **Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition**. New York: Wiley, 1980. p. 861.

MATTA JR., M. D. da. **Características estruturais , físico-químicas e funcionais dos amidos de mandioca e de milho com diferentes teores de amilose oxidados por ozônio**. 2015. 122 f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

MATTA JR., M. D. et al. Ozone technology as an alternative to fermentative processes to improve the oven-expansion properties of cassava starch. **Food Research International**, v. 123, p. 56–63, 2019.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practices and Techniques**. 2. ed. University of Massachusetts, Amherst: Boca Raton: CRC Press, 2004.

MEZGER, T. G. **The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers**. 2. ed. Hannover: Vincentz, 2006.

MORRISON, W. R.; LAW, R. V.; SNAPE, C. E. Evidence for inclusion complexes of lipids with v-amylose in maize, rice and oat starches. **Journal of Cereal Science**, v. 18, n. 2, p. 107–109, 1993.

OLADEBEYE, A. O. et al. Functional, thermal and molecular behaviours of ozone-oxidised cocoyam and yam starches. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1416–1423, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.080>.

OTEGBAYO, B.; OGUNIYAN, D.; AKINWUMI, O. Physicochemical and functional characterization of yam starch for potential industrial applications. **Starch - Stärke**, v. 66, p. 235–250, 2014.

PANDISELVAM, R. et al. Ozone: An Advanced Oxidation Technology for Starch Modification. **Ozone: Science & Engineering**, p. 1–17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01919512.2019.1577128>.

PARK, E. Y. et al. Production of starch nanoparticles using normal maize starch via heat-moisture treatment under mildly acidic conditions and homogenization. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 274–282, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.056>.

PENG, L.; ZHONGDONG, L.; KENNEDY, J. F. The study of starch nano-unit chains in the gelatinization process. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 2, p. 360–366, 2007.

PREGO, I. .; MALDONADO, S. .; OTEGUI, M. Seed structure and localization of reserves in Chenopodium quinoa. **Annals of Botany**, v. 82, n. 4, p. 481–488, 1998.

RAHMAN, S. et al. Resistant starch in cereals: Exploiting genetic engineering and genetic variation. **Journal of Cereal Science**, v. 46, n. 3, p. 251–260, 2007.

RAMOS, A. P. **Extração e caracterização de amido de quinoa , cañihua e Mirabilis jalapa**. 2014. 126 f. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2014.

RAYNER, M. et al. Quinoa starch granules as stabilizing particles for production of Pickering emulsions. **Faraday Discussions**, v. 158, p. 139–155, 2012.

REDDY, C. K. . et al. Preparation and Characterization of Resistant Starch III from Elephant Foot Yam (Amorphophallus paeonifolius) Starch. **Food Chemistry**, v. 155, p. 38–44, 2014.

REPO-CARRASCO-VALENCIA, R. . et al. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (Chenopodium quinoa), kañiwa (Chenopodium pallidicaule) and kiwicha (Amaranthus caudatus). **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 128–133, 2010.

RUALES, J. .; NAIR, B. M. Nutritional quality of the protein in quinoa (Chenopodium quinoa, Willd.) seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 42, p. 1–11, 1992.

SANCHEZ-RIVERA, M. M. et al. Physicochemical properties of banana starch oxidized under different conditions. **Starch - Stärke**, v. 61., p. 206–213, 2009.

SANDHU, K. S.; SINGH, N.; LIM, S.-T. A comparison of native and acid thinned normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 1527–1536, 2007.

SANGSEETHONG, K.; TERMVEJSAYANON, N.; SRIROTH, K. Characterization of physicochemical properties of hypochlorite- and peroxide-oxidized cassava starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 446–453, 2010.

SCHOCH, T. J. Swelling power and solubility of granular starches. In: WHISTLER, R. L. .; WOLFROM, M. L. (Ed.). **Methods in Carbohydrate Chemistry; Starch**. New York, London: Academic Press, 1964. p. 106–109.

SINGH, S.; KAUR, M. Steady and dynamic shear rheology of starches from different oat cultivars in relation to their physicochemical and structural properties. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 12, p. 3282–3294, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1286504>.

SMITH, A. M.; DENYER, K.; MARTIN, C. The Synthesis of the Starch Granule. **Plant Physiology**, v. 48, p. 67–87, 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15012257>.

SMITH, R. J. Characterization and analysis of starches. In: WHISTLER, R. L.; PASCHALL, E. F. (Ed.). **Starch: chemistry and technology**. New York and London: Academic Press, 1967. 9p. 620–625.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, n. 4, p. 365–377, 2000.

SPEHAR, C. R. Adaptação da quinoa (Chenopodium quinoa Willd) para incrementar a diversidade agrícola e alimentar no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 23, n. 1, p. 41–62, 2006.

SPEHAR, C. R.; ROCHA, J. E. S.; SANTOS, R. L. B. Desempenho Agronômico E Recomendações Para Cultivo De Quinoa (Brs Syetetuba) No Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 1, p. 145–147, 2011. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat/article/view/9395>.

SPIER, F. **Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado). Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

STEFFE, J. F. **RHEOLOGICAL METHODS IN FOOD PROCESS ENGINEERING**. second ed. Michigan: Freeman Press, 1996.

TESTER, R. F. Properties of damaged starch granules: composition and swelling properties of maize, rice, pea and potato starch fractions in water at various temperatures. **Food hydrocolloids**, v. 11, n. 3, p. 293–301, 1997.

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

TORNEPORT, L. J. .; SALOMONSSON, B. A. C. .; THEANDER, O. Chemical characterization of bromide oxidized potato starch. **Starch - Stärke**, v. 42, n. 11, p. 413–417, 1990.

TORRES, F. G. . et al. Morphological and thermal characterization of native starches from Andean crops. **Starch - Stärke**, v. 63, p. 381–389, 2011.

VALENCIA, Y. K. D. **Características de grãos e amido de diferentes cultivares de quinoa (Chenopodium quinoa Willd .)**. 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

VAN SOEST, J. J. G.; VLIEGENTHART, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Trends in biotechnology**, v. 15, n. 6, p. 208–213, 1997.

VASCONCELOS, F. S. de; et al. Desenvolvimento e produtividade de quinoa semeada em diferentes datas no período safrinha. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 510–515, 2012.

WALAPATIT, S. et al. Modification of Cassava Starch by Ozonation. **The 3rd Conference on Starch Technology, Starch Update**, p. 27:343–47, 2005.

WANG, S.; ZHU, F. Formulation and quality attributes of quinoa food products. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 1, p. 49–68, 2016.

WANG, Y. J.; WANG, L. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, p. 207–217, 2003.

WEBER, 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. v. 29, n. 4, p. 748–753, 2009.

WURZBURG, O. B. Nutritional Aspects and Safety of Modified Food Starches. **Nutrition Reviews**, v. 44, n. 2, p. 74–79, 1986.

XIAO, H.; LIN, Q.; LIU, G.-Q. Effect of Cross-Linking and Enzymatic Hydrolysis Composite Modification on the Properties of Rice Starches. **Molecules**, v. 17, n. 7, p. 8136–8146, 2012.

XIE, S. X.; LIU, Q.; CUI, S. W. Starch Modifications and Applications. In: CUI, S. W. (Ed.). **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**. 1 st ed. London, New York, Singapore: Boca Raton, 2005. p. 357–406.

ZHANG, B. et al. Mechanism for Starch Granule Ghost Formation Deduced from Structural and Enzyme Digestion Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 760–771, 2014.