UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

GABRIELA FELTRE

Estudo das alterações na microestrutura de partículas de amido de milho em
processos de granulação

Pirassununga
2015

GABRIELA FELTRE

Estudo das alterações na microestrutura de partículas de amido de milho em
processos de granulação

“Versão Corrigida”

Dissertação apresentada à Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre
em Engenharia e Ciência de Materiais

Área de Concentração: Engenharia e Ciência de
Materiais

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Cesar Dacanal

Pirassununga
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

F328e	<p>Feltre, Gabriela</p> <p>Estudo das alterações na microestrutura de partículas de amido de milho em processos de granulação / Gabriela Feltre. -- Pirassununga, 2015.</p> <p>138 f.</p> <p>Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia de Alimentos.</p> <p>Área de Concentração: Engenharia e Ciência de Materiais.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Gustavo Cesar Dacanal.</p> <p>1. Aglomeração 2. Amido de milho 3. <i>Dripping</i> 4. <i>High shear</i> 5. Leito fluidizado. I. Título.</p>
-------	---

Dedico este trabalho aos meus pais, Tarcísio e Zezé, e à minha irmã Camila, com todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por minha vida, minha família e por todas as portas que Ele me abriu.

Aos meus pais, Tarcísio e Zezé, que sempre estiveram prontos pra me levantar e encorajar, por todo o seu amor e apoio.

À minha irmã Camila, minha melhor amiga e companheira, com quem divido todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo César Dacanal, pela oportunidade que me proporcionou em estar no mestrado, pelos ensinamentos, conselhos, paciência e por todo o apoio desde o início. Muito obrigada!

A meus avós, com quem tive a oportunidade de conviver durante a minha infância e que muito me ensinaram, cada um à sua maneira.

Ao Daniel, pelo carinho, apoio e incentivo.

A minha família, especialmente a minhas tias Mariinha e Sandra, que sempre torceram por mim.

Aos técnicos de laboratórios, principalmente à Camila, Ana Mônica, Rodrigo e Leonardo, pela ajuda na realização de experimentos e análises.

Às estagiárias do Laboratório de Fluidodinâmica e Caracterização de Sistemas Particulados (LAFLUSP), principalmente à Gisele e Daniela, que participaram do andamento do trabalho.

À Prof. Dra. Samantha Cristina de Pinho, pela colaboração com o trabalho, principalmente na utilização de seus equipamentos.

Ao Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral, por disponibilizar a utilização de diversos equipamentos presentes em seu laboratório.

À Prof. Dra. Carmen Cecilia Tadini, pela colaboração com materiais utilizados no trabalho.

À CAPES, pela ajuda financeira durante a realização desse trabalho.

A Profa. Dra. Eliria Maria de Jesus Agnolon Pallone, por seu empenho e dedicação para que este trabalho pudesse ser realizado da melhor forma possível.

A todos os meus amigos, que de alguma forma estiveram presentes na minha vida.

RESUMO

FELTRE, G. **Estudo das alterações na microestrutura de partículas de amido de milho em processos de granulação**. 2015. 138 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

O amido de milho é uma importante fonte de energia para os seres humanos e é muito utilizado em preparos de diversos pratos. Os grânulos de amido possuem estrutura semicristalina que sofre degradação em elevadas temperaturas e com presença de água. Com o objetivo de alterar a microestrutura dos grânulos de amido de milho, principalmente quanto à sua temperatura de gelatinização, foram realizados processos de aglomeração de três diferentes métodos e avaliadas as modificações ocorridas. Todas as partículas produzidas passaram por análises de DSC, FT-IR, DRX e MEV. O trabalho foi dividido em três diferentes estudos. No Estudo I, foi realizada a aglomeração do amido de milho com solução de alginato de sódio por “high shear” com posterior secagem em leito fluidizado. A partícula depois de seca teve 99,5% de amido em sua composição. Os resultados mostraram que houve aglomeração nos grânulos de amido de milho; porém, devido à baixa fração de alginato de sódio nas partículas, elas não apresentaram diferenças significativas quanto à sua temperatura de gelatinização, sua estrutura e suas ligações, quando comparadas ao amido nativo. No Estudo II, em que foi realizada a aglomeração dos grânulos de amido de milho com solução de alginato de sódio e cloreto de cálcio, por “dripping”, foram obtidas partículas com frações de (0, 50, 60, 70, 80 e 90)% de amido. As modificações aconteceram à medida em que se aumentou a quantidade de alginato de sódio da partícula. As partículas com maiores frações de amido não apresentaram alterações significativas em sua microestrutura e temperatura de gelatinização, quando comparadas ao amido de milho nativo. As partículas com menores frações de amido, ou seja, maiores teores de alginato de sódio, apresentaram alterações em sua microestrutura e cristalinidade, além de maiores temperaturas de gelatinização. No Estudo III, foi realizada a aglomeração do amido de milho com quitosana por “dripping” em soluções de diferentes molaridades de de hidróxido de sódio (NaOH). Dentre as principais modificações observadas, destaca-se o aumento da temperatura de

gelatinização, em partículas que foram precipitadas em soluções alcalinas de NaOH com molaridade de (0,10 e 0,12) M. Para as concentrações molares de (0,14, 0,16, 0,18 e 0,20) M, de NaOH, observou-se que parte dos grânulos de amido de milho foram solubilizados pela solução alcalina, e que as frações sólidas remanescentes apresentaram-se na forma de partículas precipitadas de amido-quitosana, com aparência transparente e amarelada. Os processos de aglomeração do amido de milho nativo pelos métodos “high shear” e “dripping”, utilizando-se soluções de alginato de sódio e quitosana, podem resultar em partículas resistentes à gelatinização, devido à atribuição de uma barreira física por estes ligantes, após as etapas de secagem. O aumento da concentração de alginato resultou em um aumento da temperatura de gelatinização, produzindo partículas de amido resistentes à degradação térmica. Adicionalmente, observou-se que o uso de soluções alcalinas diluídas de NaOH, também permitiu a produção de partículas resistentes à degradação térmica, por meio da precipitação da quitosana. O método “dripping” permitiu a produção de partículas com elevadas concentração de alginato ou quitosana, e foi o método mais indicado para a produção de partículas de amido resistentes à degradação térmica. As partículas aglomeradas pelo método “high shear” tiveram concentração de ligante (alginato de sódio) limitada a 0,5%, e não resultaram em partículas resistentes à degradação térmica.

Palavras-chave: aglomeração, amido de milho, “dripping”, “high shear”, leite fluidizado.

ABSTRACT

FELTRE, G. **Study of variations in the microstructure of corn starch particles in granulation processes**. 2015. 138 p. M. Sc. Dissertation – Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2015.

Corn Starch is an important source of energy for humans and is widely used in food preparations. Starch granules exhibit a semicrystalline structure which undergoes degradation at high temperatures and the presence of water. In order to change the microstructure in corn starch granules, especially regarding its gelatinization temperature, three different methods of agglomeration processes were performed and changes of starch particles were studied. Every produced particle were analysed by DSC, FT-IR, XRD and SEM. The work was divided into three different studies. In Study I, agglomeration of corn starch was carried out with sodium alginate solution by "high shear" with subsequent fluidized bed drying. The dry contained was 99,5% starch in its composition. The results showed that the cornstarch granules agglomerated; however, due to the low fraction of sodium alginate in the particles, they showed no significant differences in gelatinization temperature, its structure and interactions when compared to native starch. In Study II, was performed the agglomeration of corn starch granules with sodium alginate solution and calcium chloride by dripping method and particles obtained contained (0, 50, 60, 70, 80 and 90)% (w/w) of starch. Modifications occurred with increasing the amount of sodium alginate in the particle. Particles with higher starch fractions showed no significant changes in its microstructure and gelatinization temperature, compared to the native corn starch. Particles with lower starch fraction, and higher concentrations of sodium alginate, showed changes in their microstructure and crystallinity, and higher gelatinization temperatures. In Study III, the agglomeration of cornstarch with chitosan by dripping in sodium hydroxide (NaOH) solutions of different molarities was evaluated. Among the main changes increases on the gelatinization temperature of particles precipitated in alkaline NaOH solutions with molarity (0,10 and 0,12) M was observed. For the molar concentrations (0,14, 0,16, 0,18 and 0,20) M NaOH, it was observed that some of granules corn starch were solubilised by the alkaline solution and the remaining solid fraction presented the form of precipitated particles of starch-chitosan with transparent and yellowish appearance.

The native corn starch agglomeration processes by the methods "high shear" and "dripping", using solutions of sodium alginate and chitosan, can result in particles resistant to gelatinization due to the formation of a physical barrier of these ligands, after drying steps. Increasing the alginate concentration resulted in increase in the gelatinization temperature of starch, resulting in particles resistant to thermal degradation. Additionally, it was observed that the use of dilute alkaline solutions of NaOH allowed the production of thermal degradation resistant particles through precipitation of chitosan. The "dripping" method enabled the production of particles with higher concentrations of alginate or chitosan, and was the most suitable method for the production of starch particles resistant to thermal degradation. The particles agglomerated by "high shear" had binder concentration (sodium alginate) limited to 0,5%, and did not result in particles resistant to thermal degradation.

Key-words: agglomeration, corn starch, dripping, high shear, fluidized bed.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microscopia Eletrônica de Varredura de amidos separados de diferentes espécies: (a) arroz, (b) trigo, (c) batata, (d) milho (SINGH et al., 2003).	26
Figura 2 - Estrutura da amilose e da amilopectina. Adaptado de TESTER e KARKALAS (2002) (TESTER <i>et al.</i> , 2004).	27
Figura 3 - Polimorfos tipo A e B da amilose. Adaptado de Wu e Sarko (1978) (TESTER et al., 2004).	30
Figura 4 - Empacotamento das polimorfos dos tipos A e B (PARKER; RING, 2001).	31
Figura 5 - Diagrama representando a estrutura lamelar do grânulo de amido de acordo com Donald et al. (1997). (A) Porções de lamelas microcristalinas separadas pelos anéis de crescimento amorfs. (B) Vista ampliada das regiões amorfas e cristalinas. (C) Estruturas de duplas hélices formadas pelas cadeias adjacentes de amilopectina aumentam a lamela cristalina. Pontos de ramificação constituem as regiões amorfas. (TESTER et al., 2004).	32
Figura 6 - Apresentação dos vários níveis da estrutura da amilopectina (BERTOFT, 2004).	35
Figura 7 - Curva de DSC do amido nativo e de dois amidos modificados (HAN e BEMILLER, 2007).	38
Figura 8 - Estrutura do amido resistente tipo I (RS 1) (SAJILATA et al., 2006).	47
Figura 9 - Estrutura do amido resistente tipo II (RS 2) (SAJILATA et al., 2006).	48
Figura 10 - Apresentação esquemática do amido resistente a enzimas tipo III (RS 3) formado em solução aquosa de amilose. Modelo de micelas. Duplas hélices são ordenadas em uma estrutura cristalina. (C) região particular da cadeia, intercaladas com regiões amorfas degradadas por enzimas (SAJILATA et al., 2006).	49
Figura 11 - Apresentação esquemática do amido resistente a enzima tipo III formada em solução aquosa de amilose. Modelo lamelar. Estruturas lamelares são formadas por dobramentos das cadeias do polímero. As zonas de dobramentos são amorfas (A), enquanto do centro da lamela é cristalino (C). (SAJILATA et al., 2006).	50
Figura 12 - Preparação do amido ligado em cruz (SAJILATA et al., 2006).	52
Figura 13 - Principais etapas da nucleação (IVESON et al., 2001).	58
Figura 14. Diferentes níveis de saturação das pontes líquidas (IVESON et al., 2001).	59

Figura 15 - Processos de aglomeração mais comuns encontrados nas indústrias de alimentos, farmacêutica e química: (a) Spray drying com recirculação de finos, (b) Integrated belt drying, (c) Aglomerador por jato de vapor, (d) Atomização em Leito fluidizado, (e) Misturadores, (f) Umedecimento em granulador vertical, (g) Aglomeração em disco, (h) Extrusão, (i) Compactação por rolos, (j) Tabletting (comprimidos) (PALZER, 2011).	60
Figura 16 – Três diferentes métodos de “dripping”. (a) “dripping” simples; (b) “dripping” com extrusão eletrostática; (c) “dripping” com fluxo de ar coaxial (WHELEHAN; MARISON, 2011).	62
Figura 17 - Atomização do ligante (a) e Leito fluidizado pulsado (b) (DACANAL, 2009).	63
Figura 18 - Estrutura química da quitosana (SANKALIA et al., 2007).	64
Figura 19 - Processo de aglomeração em “high shear” utilizado neste trabalho (Estudo I).	67
Figura 20 - Diagrama de fluxos dos experimentos e das análises que foram realizados neste trabalho.	69
Figura 21 - Estereomicroscópio Stereo Discovery V8 (Zeiss, Alemanha) utilizado para microscopia da partículas aglomeradas.	71
Figura 22 – Equipamento de DSC utilizado para obtenção dos termogramas.	72
Figura 23 - Espectrofotômetro Spectrum One (Perkin Elmer, USA), utilizado para análises de FT-IR.	73
Figura 24 - Equipamento Rigaku MiniFlex 600 XRD, utilizado para análises de DRX.	74
Figura 25 - Almofariz utilizado para trituração de amostras.	74
Figura 26 – Microscópio eletrônico de varredura utilizado para as micrografias.	75
Figura 27 - Fluxograma do processo de produção de partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado (Estudo I).	76
Figura 28- Multiprocessador utilizado como misturador “high shear” (Estudo I).	76
Figura 29 - Leito fluidizado pulsado utilizado na secagem das partículas de amido de milho aglomeradas em “high shear” (Estudo I).	77
Figura 30 - Fluxograma do processo de produção de partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” (Estudo II).	79

Figura 31 - Esquema utilizado para produção das partículas pelo método de “dripping” (Estudo II).....	81
Figura 32 - Estrutura utilizada para produção das partículas pelo método de “dripping” (Estudo II).....	81
Figura 33 - Fluxograma do processo de produção de partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” (Estudo III).....	82
Figura 34- Esquema da produção das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana e precipitadas em soluções alcalinas de NaOH (Estudo III).	82
Figura 35 - Gráfico do Potencial Zeta versus pH.....	85
Figura 36 - Distribuição de tamanho de partículas para as partículas de amido de milho nativo e as partículas produzidas nos ensaios 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10.	86
Figura 37 - Partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado (Estudo I).	88
Figura 38 - Gráfico da relação da umidade em base seca (Y) e o tempo (X).	88
Figura 39 - Gráfico com a relação da umidade adimensional (X_{bs}) e o tempo; Curva ajustada com o modelo exponencial de PAGE.	89
Figura 40 - Distribuição de tamanho de partículas, obtida por peneiragem, para o amido de milho nativo	90
Figura 41 - Distribuição de tamanho de partículas, obtida por peneiragem, para o amido de milho aglomerado com alginato de sódio pelo método “dripping” e secagem em leito fluidizado (Estudo I).	91
Figura 42 - Curvas de DSC das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado (Estudo I).	92
Figura 43 - Espectro de FT-IR das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear”, com secagem em leito fluidizado (Estudo I).	94
Figura 44 - Espectro de DRX das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear”, com secagem em leito fluidizado (Estudo I).	96
Figura 45 - Imagens obtidas por MEV das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado. A) amido nativo-aumento de 500 vezes; B) amido aglomerado-aumento de 500 vezes; C) amido nativo-aumento de 1500 vezes; D) amido aglomerado-aumento de 1500 vezes (Estudo I).	97

Figura 46 - Partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” com diferentes concentrações de amido de milho (Estudo II).....	99
Figura 47 – Micrografias realizadas por estereomicroscópio das partículas aglomeradas com alginato de sódio por “dripping” (Estudo II).	100
Figura 48 - Curvas de DSC das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).	102
Figura 49 - Espectro de FT-IR das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).	105
Figura 50 - Espectro de DRX das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).	106
Figura 51 - Imagens obtidas por MEV (aumento de 100 vezes) das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, seguido de secagem em leite fluidizado, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).....	108
Figura 52 - Imagens obtidas por MEV (aumento de 500 vezes) das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, seguido de secagem em leite fluidizado, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).....	109
Figura 53 - Formação das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).	112
Figura 54 - Partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping”, depois de secas (Estudo III).	114
Figura 55 – Micrografias realizadas por estereomicroscópio das partículas aglomeradas com quitosana por “dripping” (Estudo III).	116
Figura 56 - Curvas de DSC das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).....	118
Figura 57 - Espectro de FT-IR das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).....	121
Figura 58 - Espectro de DRX das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).....	122

Figura 59 - Imagens obtidas por MEV das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).....	124
---	-----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas de amidos de diferentes espécies botânicas (SINGH et al., 2003).....	28
Tabela 2 - Proporção de duplas hélices em amidos de diferentes origens botânicas (TESTER et al., 2004).	29
Tabela 3 - Proporção de material cristalino em amidos de diferentes origens botânicas (TESTER et al., 2004).....	34
Tabela 4 - Parâmetros de gelatinização de amidos de diferentes tipos botânicos (SINGH et al., 2003).....	39
Tabela 5 - Propriedades térmicas durante a retrogradação de amidos de diferentes tipos botânicos (SINGH et al., 2003).	43
Tabela 6 - Classificação do amido (adaptado de Englyst et al., 1992) (LEHMANN e ROBIN, 2007).....	45
Tabela 7 - Classificação dos tipos de amido resistente, tipos de alimentos, e fatores que afetam sua resistência à digestão no cólon. Adaptado de Nugent (2005) (SHARMA et al., 2008).	51
Tabela 8 - Efeitos fisiológicos do amido resistente. Adaptada de Brown (2004) e Champ (2004). (SHARMA et al., 2008).	53
Tabela 9 - Classificação de alimentos de acordo com a faixa de conteúdo de amido resistente (% em massa seca). Adaptada de Goni et al. (1996) (SHARMA et al., 2008).	54
Tabela 10 – Planejamento experimental para o processo de atomização em “high shear” com as variáveis concentração de ligante e vazão de ligante (Estudo I).	67
Tabela 11 - Quantidade de cada componente para a produção das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” (Estudo II).	80
Tabela 12 - Quantidade de cada componente para a produção das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” (Estudo III).	83
Tabela 13 - Planejamento experimental para o processo de atomização em “high shear” com as variáveis concentração de ligante e vazão de ligante.....	87
Tabela 14 - Parâmetros e coeficiente de determinação obtidos do modelo de PAGE.	90
Tabela 15 - Valores de T_o , T_m , T_c e ΔH das partículas aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leite fluidizado (Estudo I).....	92

Tabela 16 – Temperaturas de pico de gelatinização das amostras de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio, após secagem em leito fluidizado (duplicatas).	93
Tabela 17- Valores de T_o , T_m , T_c e ΔH das partículas aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).	102
Tabela 18– Temperaturas de pico de gelatinização das amostras de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, após a secagem (duplicatas).	104
Tabela 19 - Valores de T_o , T_m , T_c e ΔH das partículas aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).	118
Tabela 20 – Temperaturas de pico de gelatinização das amostras de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping”, após a secagem (duplicatas).	120

LISTA DE ABREVIATURAS

	Descrição	Dimensão
SA00	Partícula aglomerada com alginato de cálcio com 0% de amido	-
SA50	Partícula aglomerada com alginato de cálcio com 50% de amido	-
SA60	Partícula de amido aglomerada com alginato de cálcio com 60% de amido	-
SA70	Partícula de amido aglomerada com alginato de cálcio com 70% de amido	-
SA80	Partícula de amido aglomerada com alginato de cálcio com 80% de amido	-
SA90	Partícula de amido aglomerada com alginato de cálcio com 90% de amido	-
SC000	Partícula de quitosana precipitada em solução de NaOH a 0,12 molar (sem amido)	-
SC010	Partícula de amido aglomerada com quitosana precipitada em solução de NaOH a 0,10 molar	-
SC012	Partícula de amido aglomerada com quitosana precipitada em solução de NaOH a 0,12 molar	-
SC014	Partícula de amido aglomerada com quitosana precipitada em solução de NaOH a 0,14 molar	-
SC016	Partícula de amido aglomerada com quitosana precipitada em solução de NaOH a 0,16 molar	-
SC018	Partícula de amido aglomerada com quitosana precipitada em solução de NaOH a 0,18 molar	-
SC020	Partícula de amido aglomerada com quitosana precipitada em solução de	-

NaOH a 0,20 molar

SFB	Partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio em “high shear” com secagem em leito fluidizado	-
CL	Comprimento de cadeia	-
DP	Grau de polimerização	-
RDS	Amido de rápida digestão	-
SDS	Amido de digestão lenta	-
RS	Amido Resistente	-
To	Temperatura de início de gelatinização	°C
Tm	Temperatura de pico de gelatinização	°C
Tc	Temperatura final de gelatinização	°C
ΔH_{gel}	Entalpia de gelatinização	J/g
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura	-
FT-IR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	-
DRX	Difração de Raio X	-
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura	-
dp_{equi}	Diâmetro médio equivalente	μm
D4,3	Diametro médio de Brouckere	μm
A_{pi}	Área 2D da partícula	μm^2
f_i	Fração mássica	-
X1	Variavel codificada para a vazão de solução ligante	-
X2	Variavel codificada para a concentração de solução ligante	-
R ²	Coeficiente de determinação do modelo	-

W_{PAGE}	Umidade do modelo de Page	%
k	Parâmetro de de ajuste para o modelo de secagem de Page	-
n	Parâmetro de de ajuste para o modelo de secagem de Page	-
X_{bs}	Umidade em base seca	%
m_{H_2O}	Massa de água	g
m_s	Massa seca de amostra	g
W	Umidade adimensional com variação de 0 a 1	-
$X_{inicial}$	Umidade no tempo inicial (t=0)	%
$X_{inicial}$	Umidade no tempo inicial (t=0)	%
$X_{inicial}$	Umidade no tempo inicial (t=0)	%
$X_{bs}^{(t)}$	Umidade em base seca da amostra em um instante t qualquer	%
$X_{equilíbrio}$	Umidade de equilíbrio	%
$X_{inicial}$	Umidade no tempo inicial (t=0)	%

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVO	24
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1	Amido	25
3.1.1	Amido nativo	25
3.1.2	Composição do amido e estrutura dos componentes	26
3.1.3	Estrutura interna dos grânulos de amido	28
3.1.4	Empacotamento da amilopectina	30
3.1.5	Cristalinidade do amido	31
3.1.6	Propriedades funcionais do amido	35
3.1.7	Gelatinização do amido	36
3.1.8	Retrogradação do amido	41
3.2	Classificação do amido quanto à digestibilidade	44
3.3	Microestrutura e digestibilidade do amido	45
3.4	Amido Resistente (RS)	47
3.4.1	Amido tipo RS1	47
3.4.2	Amido tipo RS2	48
3.4.3	Amido tipo RS3	48
3.4.4	Amido tipo RS4	52
3.5	Tipos de amidos modificados e técnicas de preparação	54
3.5.1	Modificações físicas	54
3.5.2	Modificação por Conversão	56
3.5.3	Modificação por Derivação	56
3.6	Aglomeração de partículas	58
3.7	Alginato	63
3.8	Quitosana	64
4	MATERIAIS E MÉTODOS	66
4.1	Planejamento Experimental: Seleção de variáveis operacionais do processo “high shear”	66
4.2	Materiais	67
4.3	Métodos	68
4.4	Análises e Caracterização de partículas	69
4.4.1	Análise de Potencial Zeta	70
4.4.2	Diâmetro médio e distribuição de tamanho de partículas	70
4.4.3	Microscopia das partículas	71
4.4.4	Calorimetria Diferencial de varredura (DSC)	72

4.4.5	Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	73
4.4.6	Difração de Raio-X (DRX)	73
4.4.7	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	74
4.5	Estudo I: Aglomeração de amido de milho com alginato de sódio por “high shear” e secagem em leito fluidizado	75
4.5.1	Estudo I: Etapa de Secagem em leito fluidizado	78
4.6	Estudo II: Aglomeração de amido de milho com alginato de cálcio por “dripping”	79
4.7	Aglomeração de amido de milho com quitosana por “dripping”	81
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
5.1	Determinação do Potencial Zeta das partículas de amido de milho e alginato de sódio	84
5.2	Planejamento Experimental: Seleção de variáveis operacionais do processo “high shear”	85
5.3	Estudo I: Aglomeração de amido de milho com alginato de sódio por “high shear” e secagem em leito fluidizado	88
5.3.1	Estudo I: Produção das partículas	88
5.3.2	Estudo I: Etapa de Secagem em leito fluidizado	88
5.3.3	Estudo I: Diâmetro médio e Distribuição de tamanho de partículas	90
5.3.3	Estudo I: Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	91
5.3.4	Estudo I: Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	93
5.3.5	Estudo I: Difração de Raio-X (DRX)	95
5.3.6	Estudo I: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	97
5.4	Estudo II: Aglomeração de amido de milho com alginato de cálcio por “dripping”	98
5.4.1	Estudo II: Produção das partículas	98
5.4.2	Estudo II: Microscopia das partículas	100
5.4.3	Estudo II: Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	101
5.4.4	Estudo II: Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	104
5.4.5	Estudo II: Difração de Raio X (DRX)	106
5.4.6	Estudo II: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	107
5.5	Estudo III: Aglomeração de amido de milho com quitosana por “dripping”	111
5.5.1	Estudo III: Produção das partículas	111
5.5.2	Estudo III: Microscopia das partículas	115
5.5.3	Estudo III: Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	117
5.5.4	Estudo III: Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	120
5.5.5	Estudo III: Difração de Raio-X (DRX)	122
5.5.6	Estudo III: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	123

6	CONCLUSÕES.....	126
7	SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	127
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
	ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO

O uso de amido ao redor do mundo é muito grande, já que é uma das maiores fontes de energias para alimentação humana e animal (SINGH et al., 2010). Em 2008, a utilização de produtos amiláceos superou os 66 milhões de toneladas, estimando-se que até 2015, esse número passe para 80 milhões de toneladas (GIANNINI, 2011). Aproximadamente 54% do amido mundial destinam-se ao uso alimentício, sendo que parte importante dos outros 46% destinam-se à produção de combustíveis renováveis, fato que vem aumentando ainda mais a demanda mundial por amidos, como afirma Giannini (2011).

O amido de milho corresponde a cerca de 70% da fonte total de amido no mundo (GIANNINI, 2011). É um produto muito utilizado em preparo de refeições, tanto doces quanto salgadas e por possuir um alto teor calórico, torna-se uma importante fonte de energia na alimentação das pessoas, principalmente de crianças (SINGH et al., 2010).

Logo após ser ingerido, os grânulos de amido de milho se transformam em glicose e geram um pico glicêmico no organismo humano, o que impossibilita seu consumo normal por pessoas diabéticas.

Diferentemente dos grânulos de amido comuns, que são rapidamente digeridos, o amido resistente é todo grânulo de amido que não pode ser absorvido no intestino delgado (EERLINGEN; DELCOUR, 1995) e torna-se disponível para as bactérias anaeróbicas do cólon (JENKINS; DONALD, 1998). Existem 4 tipos de amidos resistentes, cada um com suas características específicas (SAJILATA et al., 2006). Os grânulos de amido resistente são, geralmente, mais resistentes às enzimas da digestão do que os grânulos normais, o que pode possibilitar um pico glicêmico menor ao ser consumido do que os amidos comuns.

O processo de aglomeração de partículas é muito utilizado em alimentos particulados para alteração de suas propriedades, como fluidez e solubilidade (TURCHIULI et al., 2005). Diversos são os métodos utilizados para a aglomeração de partículas; entre eles, o método “high shear” que permite a produção em grandes quantidades e o “dripping”, que trata-se da formação e geleificação de gotas de uma certa solução.

Para a realização da granulação das partículas, são utilizados alguns agentes ligantes. O alginato de cálcio vem sendo amplamente estudado para recobrimento de

partículas, tanto na área alimentícia quanto na farmacêutica. A ligação de alginato de sódio com cloreto de cálcio gera um gel rígido de alginato de cálcio, que não apresenta toxicidade (TOMIDA et al., 1993). A quitosana também vem se apresentado como um bom agente de recobrimento de partículas.

Com o objetivo de gerar uma barreira física em aglomerados de grânulos de amido de milho, para que se possivelmente se tornassem mais resistentes à digestão que grânulos de amido comuns, foram realizados três diferentes processos de aglomeração utilizando soluções ligantes de alginato de sódio e quitosana.

Para análise das modificações interparticulares ocorridas nos grânulos de amido de milho, foram realizadas análises para verificação do aumento da temperatura de gelatinização e modificações nas ligações e estruturas cristalinas presentes nos grânulos.

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi realizar a produção de partículas de amido resistentes à degradação térmica, utilizando-se os processos de granulação por “high shear” e “dripping”, com soluções ligantes de alginato de sódio e quitosana. As partículas obtidas por estes processos foram analisadas quanto à temperatura de gelatinização, ligações intermoleculares e cristalinidade, a fim de avaliar as possíveis alterações em sua microestrutura e atribuições de barreiras físicas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica aborda as características dos grânulos de amido de diversas espécies botânicas, suas conformações, estruturas e cristalinidades, além de classificá-los a partir de vários aspectos. Os processos de aglomeração e secagem e os ligantes utilizados neste trabalho também são relatados.

3.1 Amido

O amido é a principal fonte de energia dos seres humanos e possuem grânulos de natureza semicristalina. Os grânulos de amido nativo são composto basicamente por amilose e amilopectina, que determinam sua cristalinidade. Suas propriedades funcionais são diversas; entre elas, a formação de géis. O amido pode ser classificado quanto à sua digestibilidade. Existem grânulos de amido chamados resistentes que possuem uma barreira contra as enzimas digestivas e consequentemente, contra o pico glicêmico.

3.1.1 Amido nativo

O amido é o carboidrato mais comum produzido pelas plantas, está em forma de grânulos que existem naturalmente dentro das células e é a maior fonte de carboidratos na alimentação humana (SINGH et al., 2010; SINGH et al., 2003). Ele é o carboidrato de reserva de muitas plantas e é depositado como grânulo insolúvel e semicristalino em tecidos de reserva como grãos, tubérculos e raízes e seu tamanho e forma dependem da espécie e da maturidade da planta (MANNERS, 1988; COPELAND et al., 2009). O teor de umidade do grânulo de amido nativo está em torno de 10%. A amilose e a amilopectina correspondem a 98%-99% da massa em base seca dos grânulos nativos; o restante são pequenas quantidades de lipídios, minerais e fósforo na forma de fosfatos esterificados para hidrólise de glicose (COPELAND et al., 2009). Os grânulos de amido têm em média de 1 a 100 μm de diâmetro (HARALAMPU, 2000; COPELAND et al., 2009). Os grânulos podem ocorrer individualmente ou como componente de um grânulo maior. No trigo, centeio e cevada, os grânulos possuem distribuição de tamanho de partículas bimodal. A diversidade na forma dos grânulos de amido e a constituição de suas moléculas influenciam em sua funcionalidade (COPELAND et al., 2009), como por exemplo, sua utilização em processos alimentícios como estabilizante, geleificante, encapsulante e para melhoramento da textura dos alimentos (SINGH et al., 2007; AYUCITRA, 2012).

Micrografias de grânulos de amido de arroz, trigo, batata e milho são apresentadas na Figura 1 (SINGH et al., 2003).

Figura 1 - Microscopia Eletrônica de Varredura de amidos separados de diferentes espécies: (a) arroz, (b) trigo, (c) batata, (d) milho (SINGH et al., 2003).

3.1.2 Composição do amido e estrutura dos componentes

O grânulo de amido é semicristalino, com variações nos níveis de cristalinidade (SINGH et al., 2003), por possuir uma região amorfa e uma cristalina (WAIGH et al., 1997). A cristalinidade é associada com o componente amilopectina, enquanto a região amorfa representa principalmente a amilose (ZOBEL, 1988, *apud* SINGH et al., 2003). A região cristalina é composta por polímeros de amilopectina que se ligam para formar cristais durante a gelatinização (TESTER et al., 2004); já a região amorfa é composta por pontos de ramificação de amilose e amilopectina (DONALD, 2001). A maior porção presente no grânulo de amido é de amilopectina, que corresponde a cerca de 70% a 80% do grânulo (MANNERS, 1988).

A amilose apresenta cadeia linear longa, com unidades de D-glicose e em torno de 99% das ligações do tipo α -(1 $\rightarrow$ 4) (SINGH et al., 2010; TESTER et al., 2004; SINGH et al., 2003). A amilose tem um peso molecular entre 10^5 Da e 10^6 Da, correspondendo ao grau de polimerização (DP) de 1000 a 10000 unidades de glicose. Menos que 0,5% da glicose na amilose são de ligações α -(1 $\rightarrow$ 6), resultando no baixo

grau de ramificação, e a estrutura possui de 3 a 11 cadeias e aproximadamente 200-700 resíduos de glicose por molécula. Devido ao baixo grau de ramificação, a amilose dissolvida tem tendência a formar agregados insolúveis semicristalinos, dependendo da localização da ramificação na estrutura (COPELAND et al., 2009).

A amilopectina é um polímero maior que a amilose, com peso molecular aproximado de 10^7 Da a 10^9 Da (MUA; JACKSON, 1997) e grau de polimerização (DP) na faixa de 9600 e 15900 (TAKEDA et al., 2003). A amilopectina possui um dos maiores pesos moleculares conhecidos entre os polímeros naturais (KARIM et al., 2000). Muitos grânulos de amido possuem de 60% a 90% de amilopectina; embora existam amidos cerosos, que contém 100% de amilopectina. A amilopectina tem aproximadamente 5% de sua glicose em ligações α -(1 $\rightarrow$ 6), e em torno de 95% de ligações α -(1 $\rightarrow$ 4) (TESTER et al., 2004; BULÉON et al., 1998), dando-lhe alto nível de ramificação, e arranjo molecular complexo que pode variar dependendo da localização e do comprimento das ramificações. Os ramos de amilopectina são classificados de acordo com o padrão de substituição: cadeias A são definidas como insubstituíveis, cadeias B são substituídas por outras cadeias e cadeias C carregam a glicose resultante (COPELAND et al., 2009). As estruturas da amilopectina e da amilose são apresentadas na Figura 2 (TESTER e KARKALAS, 2002, adaptada por TESTER et al., 2004).

Figura 2 - Estrutura da amilose e da amilopectina. Adaptado de TESTER e KARKALAS (2002) (TESTER et al., 2004).

Alguns fatores afetam a quantidade de amilose presente nos grânulos de amido, como as condições climáticas e o tipo de solo (MORRISON; AZUDIN, 1987). Essa quantidade varia de acordo com o tipo botânico do amido, como mostrado na Tabela 1, proposta por Singh *et al.* (2003).

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas de amidos de diferentes espécies botânicas (SINGH *et al.*, 2003).

Tipo de amido	Conteúdo de amilose (%)	Poder de inchaço (g/g); (°C)	Solubilidade (%); (°C)	Transmitância da luz (% a 650 nm)
Batata normal	20,1-31,0	1159; (95)	82; (95)	96
Milho normal	22,4-32,5	22; (95)	22; (95)	31
Milho híbrido	1,4-2,7	-	-	46
Milho rico em amilose	42,6-67,8	6,3; (95)	12,4; (95)	-
Arroz normal	5-28,4	23-30; (95)	11-18; (95)	24
Arroz híbrido	0-2,0	45-50; (95)	2,3-3,2; (95)	-
Arroz rico em amilose	25-33	-	-	-
Trigo normal	18-30	18,3-26,6; (100)	1,55; (95)	28
Grânulos de trigo A	28,4-27,8	-	-	-
Grânulos de trigo B	27,5-24,5	-	-	-
Trigo híbrido	29,10,8-0,9	-	-	-

3.1.3 Estrutura interna dos grânulos de amido

Segundo Tester *et al.* (2004), tanto as cadeias de amilose quanto as cadeias exteriores de amilopectina podem formar duplas hélices que se associam para formar domínios cristalinos.

O mínimo comprimento de cadeia (CL – “chain length”, em inglês) necessário para formas duplas hélices para malto-oligossacarídeos puros é 10. Porém, na presença de cadeias longas, com mais de 10 unidades de glicose, as cadeias curtas podem formar estruturas de hélices (GIDLEY e BULPIN, 1987). As proporções de duplas hélices dentro dos grânulos de amido nativo foram estudadas por vários autores que são apresentados na Tabela 2 (TESTER *et al.*, 2004). Há grande variabilidade do conteúdo de duplas hélices entre grânulos de amidos de diferentes origens botânicas e até mesmo dentro da mesma espécie. Nem todas as frações de amilopectina nos grânulos de amidos formam duplas hélices, como pode ser visto na Tabela 2. Sendo assim, o número de duplas hélices é menor que fração de amilopectina presente, pois há regiões que não formam duplas hélices (TESTER *et al.* 2004).

Tabela 2 - Proporção de duplas hélices em amidos de diferentes origens botânicas (TESTER et al., 2004).

Amido Nativo	Quantidade de duplas hélices de amilopectina(%)	Autores
Milho, amilo	38	Gidley e Bociek, 1985*
Milho, amilo	38(possivelmente com algum teor de amilose e amilopectina em amilose hélices duplas)	Tester et al., 2000*
Milho, normal	43	Cooke e Gidley, 1992*
Milho, normal	42	Gidley e Bociek, 1985*
Milho, normal	38	Bogacheva et al., 2001*
Milho, híbrido	48	Cooke e Gidley, 1992*
Milho, híbrido	53	Gidley e Bociek, 1985*
Milho, híbrido	36-50(dependendo do condicionamento)	Paris et al., 1999*
Milho, híbrido	48	Bogacheva et al., 2001*
Ervilha	41-48(incluído mutações)	Bogacheva et al., 2001*
Batata	40	Cooke e Gidley, 1992*
Batata	50	Gidley and Bociek, 1985*
Batata	64	Yusuph et al., 2003*
Batata	29-38(dependendo do condicionamento)	Paris et al., 1999*
Batata	48-55	Tester et al., 1999*
Batata	48	Bogacheva et al., 2001*
Batata, híbrida	52	Bogacheva et al., 2001*
Arroz	49	Gidley e Bociek, 1985*
Arroz	63	Qi et al., 2003*
Tapioca	44	Cooke e Gidley, 1992*
Trigo	39	Cooke e Gidley, 1992*
Trigo	46	Morrison et al., 1994*
Trigo	32	Bogacheva et al., 2001*

*Referência citada por Tester et al. (2004).

A amilose faz parte da maioria dos grânulos amidos, até mesmo dos cerosos, que apresentam um alto teor de amilopectina. Embora a amilopectina seja o componente predominantemente cristalino no amido (VEREGIN et al., 1986), a amilose é considerada um diluente da amilopectina (TESTER e MORRISON, 1990). Segundo Shi et al. (1998), em grânulos de amido com alto teor de amilose, a amilose forma duplas hélices, potencializando os arranjos cristalinos. Pfanemuller et al. (1971) *apud* Tester et al. (2004) explicou que a tendência das moléculas de amilose se agregar é limitada pela presença de amilopectina. Contrariando essas teorias, Cheetham e Tao (1998) propuseram que a amilose rompe a formação cristalina da amilopectina.

3.1.4 Empacotamento da amilopectina

O empacotamento da amilose e amilopectina dentro do grânulo de amido nativo depende de cada espécie (TESTER et al., 2004). Segundo Hoover (2001), o difratômetro de Raio X é usado para revelar a presença e características da estrutura cristalina dos grânulos de amido.

As ramificações da molécula de amilopectina formam duplas hélices que se arranjam em domínios cristalinos (SARKO; WU, 1978, *apud* SINGH et al., 2003). As duplas hélices da amilopectina apresentam empacotamento de três diferentes modos, formando os padrões tipo A, B e C, que são diferentes formas poliméricas do grânulo de amido (SINGH et al., 2003). Os grânulos de amido de cereais apresentam os padrões típicos de Raio X tipo A, enquanto grânulos de tubérculos e ricos em amilose apresentam o tipo B. Em grânulos de amido de leguminosas, raízes e algumas frutas, o padrão de estado é o misto C (SINGH et al., 2003; TESTER et al., 2004). Wu e Sarko (1978) acreditam que o amido tipo C seja uma combinação das polimorfos tipo A e B. As estruturas polimórficas dos tipos A e B são representadas sistematicamente na Figura 3 (WU; SARKO, 1978, adaptada por TESTER et al., 2004).

Figura 3 - Polimorfos tipo A e B da amilose. Adaptado de Wu e Sarko (1978) (TESTER et al., 2004).

As estruturas das hélices presentes nas duplas hélices dentro das duas formas polimórficas são essencialmente idênticas (GIDLEY, 1987). Entretanto, empacotamento das duplas hélices dentro da estrutura se diferenciam. Dentro da estrutura polimórfica tipo A (cristalino), o empacotamento das duplas hélices é relativamente compacto com menor conteúdo de água, enquanto o tipo polimórfico B tem uma estrutura mais aberta contendo um núcleo helicoidal hidratado (Figura 3). A estrutura polimórfica tipo B possui empacotamento hexagonal, formando a célula unitária do tipo monoclinica, sendo assim, mais denso que o tipo A. A Figura 4

apresenta o empacotamento das formas polimórficas A e B (PARKER; RING, 2001). A ordenação dos grânulos de amido acontecem do centro para a periferia (SEVENOU et al., 2002).

Figura 4 - Empacotamento das polimorfos dos tipos A e B (PARKER; RING, 2001).

3.1.5 Cristalinidade do amido

Segundo Copeland et al. (2009), os grânulos de amido possuem uma estrutura hierárquica que pode ser observada pelas microscopias ótica e eletrônica. As múltiplas camadas concêntricas dos anéis de crescimento de diâmetro crescente estendem-se a partir do hilo (o centro de crescimento) para a superfície dos grânulos. Os anéis de crescimento têm, em média, de 120 a 400 nm de espessura e representam flutuações na deposição do amido em tecidos de reserva (YAMAGUCHI et al., 1979, *apud* SEVENOU et al., 2002). Os anéis concêntricos de crescimento contêm regiões cristalinas e amorfas intercaladas, com densidades mais alta e mais baixa, respectivamente. As regiões de densidade mais alta tem uma estrutura lamelar de camadas cristalinas e amorfas intercaladas com distâncias repetidas de 9 a 11 nm (DONALD et al., 2001). Dentro dessas lamelas, as camadas cristalinas são formadas principalmente pelas cadeias de amilopectina empacotadas dentro de uma gelosia cristalina, enquanto camadas amorfas contêm pontos de ramificações de amilopectina e moléculas de amilose e amilopectina em conformação desordenada. Cadeias longas de amilopectina passam da região cristalina para região amorfa da lamela (JANE, 2007). Moléculas de amilopectina perto da interface dos grânulos devem ter uma estrutura diferente daquelas fechadas do centro da molécula. A relação das cadeias ramificadas longas para as curtas afetam a forma da amilopectina, que influencia seu empacotamento dentro dos grânulos (JANE, 2007). Nesse caso, fatores genéticos e ambientais que afetam a biossíntese da amilopectina podem influenciar seu arranjo molecular e nesse caso, a morfologia do grânulo (COPELAND et al., 2009).

Quando visto sob o microscópio polarizado, grânulos de amido nativos

apresentam uma cruz biorrefringente escura, que é característica de substâncias cristalinas, cujo índice de refração varia dependendo da direção que o raio de luz atravessa através da substância (TESTER et al., 2004).

Segundo Tester et al. (2004), as primeiras tentativas para relacionar a cristalinidade da composição molecular do grânulo de amido concentraram-se na disposição de moléculas de amilopectina, cujos ramos estão previstos como irradiando do hilo (o centro de crescimento) para a periferia dos grânulos. A amilose não aparenta ter algum efeito significativo para a cristalinidade em amidos normais e híbridos (que podem ser livres de amilose), que exigem forte birrefringência (HOOVER, 2001). Em amidos com alto teor de amilose, a amilose pode contribuir significativamente com a cristalinidade (TESTER et al., 2000).

Segundo Tester et al. (2004), em amidos ricos em amilopectina, a origem da cristalinidade é devido ao entrelaçamento das cadeias externas de amilopectina na forma de duplas hélices. Elas se associam entre si para formar regiões ordenadas ou lamelas cristalinas, como pode ser visto na Figura 5 (TESTER et al., 2004, adaptada de DONALD, 1997).

Figura 5 - Diagrama representando a estrutura lamelar do grânulo de amido de acordo com Donald et al. (1997). (A) Porções de lamelas microcristalinas separadas pelos anéis de crescimento amorfos. (B) Vista ampliada das regiões amorfas e cristalinas. (C) Estruturas de duplas hélices formadas pelas cadeias adjacentes de amilopectina aumentam a lamela cristalina. Pontos de ramificação constituem as regiões amorfas. (TESTER et al., 2004).

Duplas hélices adjacentes dão origem a formas geométricas tridimensionais regulares. De acordo com as regras da cristalografia, as moléculas irão interagir com ondas eletromagnéticas de curtos comprimentos de ondas de raio X para dar a característica padrão da difração. Esse entrelaçamento dos ramos adjacentes de amilopectina e a formação de estruturas de hélices foram originalmente propostos por French (1972) que também propôs a hipótese da estrutura da amilopectina ser em

forma de cacho (TESTER et al., 2004).

Análises de raio X de grânulos de amidos são complementadas por microscopia eletrônica de varredura e pela microscopia eletrônica de transmissão. A microscopia de força atômica se tornou um importante instrumento para estudos de estruturas. Entretanto, a informação mais utilizada sobre o arranjo da ordem de moléculas α -glicanos é proveniente da difração de raio-X e técnicas relacionadas. Essas técnicas alcançaram um alto nível de sofisticação e instrumentos modernos que podem sondar profundamente o interior do grânulo de amido e fornecer informações detalhadas. O ângulo grande de espalhamento de raio X e o pequeno ângulo de espalhamento de raio X são usados em paralelo para revelar a ultraestrutura complexa do grânulo e a quantificação da cristalinidade e formas polimórficas ou lamelas cristalinas, respectivamente. Ângulos pequenos de espalhamento neutro são também utilizados para o entendimento do aspecto de arranjos dos grânulos de amido e complementa as técnicas de raio-X. O uso dessas técnicas para supor e relacionar mais amplamente o entendimento da cristalinidade do amido vem sendo discutida extensivamente, como mostrado na Tabela 3, proposta por Tester et al. (2004).

Tabela 3 - Proporção de material cristalino em amidos de diferentes origens botânicas (TESTER et al., 2004).

Amido nativo	Técnica	Quantidade de amilopectina cristalina (%)	Referências
Milho	Difração de Raio-X		Cheertham e Tao, 1998 ^{a*}
0% Amilose		42	
28% Amilose		30	
40% Amilose		22	
56% Amilose		20	
65% Amilose		18	
84% Amilose		17	
Milho	Difração de Raio-X	43	Cooke e Godley, 1992 [*]
Milho, híbrido		48	
Batata		40	
Tapioca		44	
Trigo		39	
Batata	Difração de Raio-X	26	Yusuph et al., 2003 [*]
Milho, híbrido	Difração de Raio-X	37-43	Paris et al., 1999 [*]
Batata		23-53	
Trigo	Difração de Raio-X	36	Morrison et al., 1994 [*]
Arroz	Difração de Raio-X	47-51	Qi et al., 2003 [*]
Aveia	Difração de Raio-X	28-37	Hoover et al., 2003 [*]
Lentilha	Difração de Raio-X		Hoover e Ratnayke, 2002 [*]
Feijão Preto		17-22	
Grão de bico		18	
Lentilha		19	
Feijão Branco		20-21	
Ervilha Lisa		20	
Feijão Carioca		25-26	
Ervilha	Difração de Raio-X		Bogracheva et al., 1999 [*]
Cevada (por fração)	Difração de Raio-X	22-27	Hedley et al., 2002 [*]
Cevada	Difração de Raio-X	20-24	Tang et al., 2001 [*]
Cevada, híbrida		33-37	Tang et al., 2001 [*]
Milho	Umidade recuperada	45	Nara, 1978 [*]
Batata		32	
Batata doce		42	
Milho	Difração de Raio-X	39	Nara et al., 1978 [*]
Batata		25	
Tapioca		38	
Batata doce		37	
Arroz		38	
Trigo		36	
Milho, amilo	Deutério ex	25	Morsi e Sterling., 1966 [*]
Milho, amilo	Difração de Raio-X	24	
Batata	Deutério ex	24	
Batata	Difração de Raio-X	28	

*Referência citada por Tester et al. (2004).

Como uma explicação mais detalhada da estrutura da amilopectina, a Figura 6 apresenta os vários níveis existentes. Em A, é mostrado o arranjo entre as cadeias de duplas hélices de amilopectina. Em B, apresenta-se a organização dos domínios amorfos e cristalinos gerando camadas concêntricas que contribuem para a formação dos anéis de crescimento. Em C, mostra a orientação das moléculas de amilopectina

em uma seção de um grânulo completo e em D é mostrado como a estrutura de duplas hélices interagem com as cadeias vizinhas, aumentando o grau de cristalinidade do grânulo (BERTOFT, 2004).

Figura 6 - Apresentação dos vários níveis da estrutura da amilopectina (BERTOFT, 2004).

3.1.6 Propriedades funcionais do amido

A maioria dos amidos consumidos na alimentação humana sofre alguma forma de processamento, normalmente envolvendo aquecimento e, depois, o resfriamento. Durante o tratamento, os grânulos de amido são gelatinizados, perdendo sua cristalinidade e organização estrutural. No resfriamento, as moléculas desagregadas de amido formam um gel e retrogradam dentro do agregado semicristalino dos amidos nativos (COPELAND et al., 2009).

Segundo Copeland et al. (2009), a gelatinização ocorre quando o amido é aquecido na presença suficiente de umidade. Os grânulos absorvem água e incham, rompendo a organização cristalina irreversivelmente. Segundo Jenkins e Donald (1998), a água primeiramente entra nos anéis de crescimento amorfo e em certo grau de inchaço, o rompimento é transmitido através das moléculas conectadas da região

amorfa para a região cristalina. As moléculas de amilose começam a escoar pelo grânulo de amido que é rompido sob cisalhamento e a viscosidade da pasta resultante aumenta ao máximo, mas os grânulos de amido ainda estão intactos. Então, ocorre um decréscimo na viscosidade da pasta, quando os grânulos rompem e as moléculas do amido são dispersas na fase aquosa (COPELAND et al., 2009). A taxa e extensão do inchaço e quebra são dependentes do tipo e da quantidade de amido, do gradiente de temperatura, da força de cisalhamento e da composição da mistura, como por exemplo, a presença de lipídios e proteínas (DEBET; GIDLEY, 2007). A temperatura de gelatinização de muitos amidos está entre 60 °C e 80 °C. Em geral, há uma relação negativa entre o conteúdo de amilose do amido e a temperatura de gelatinização e o pico de viscosidade (COPELAND et al., 2009).

Quando a pasta de amido resfria, a viscosidade diminui devido à formação de um gel mantido pelas interações intermoleculares envolvendo moléculas de amilose e de amilopectina. Em géis que contêm aproximadamente 25% de amilose, as moléculas de amido formam uma rede resultando num gel firme. Os géis de amidos híbridos não formam uma rede, apenas um agregado (TANG; COPELAND, 2007). Os géis de amido retrogradam e formam cristálitos tipo B insolúveis devido à associação de regiões lineares de ligações de unidades de glicose α -[1-4] nos polímeros (GIDLEY, 1989). A retrogradação é um processo contínuo que ocorre ao longo de um período. A retrogradação da amilose se dá de alguns minutos a horas e da amilopectina de horas a dias, dependendo da habilidade das cadeias ramificadas em formar associações. A retrogradação da amilose no processamento de alimentos é considerada importante pelas propriedades relacionadas a viscosidade, habilidade de absorção de água e digestibilidade, enquanto a retrogradação da amilopectina é provavelmente o determinante mais importante no envelhecimento de pães e bolos (COPELAND et al., 2009).

3.1.7 Gelatinização do amido

A gelatinização do amido é causada pela ruptura da estrutura granular, gerando moléculas que se dissolvem em água (ZOBEL, 1988, *apud* SINGH et al., 2003).

A gelatinização acontece na presença de água e altas temperaturas, normalmente entre (60 e 80) °C. Ao entrar em contato com esses fatores, como acontecem no caso de preparo de diversos alimentos, os grânulos de amido absorvem água e a estrutura cristalina é desestabilizada, perdendo sua birrefringência

(THEVELEIN, 1980).

Amido de diferentes espécies botânicas apresentam diferentes temperaturas de transição vítrea e entalpias de gelatinização, por apresentarem composições diferentes (SINGH et al, 2003).

A temperatura de transição vítrea é definida como a passagem do estado vítreo para o estado borrachoso (MANO; MENDES, 1999). Nessa transição, o polímero passa de um estado desordenado rígido (vítreo) para um estado desordenado no qual as cadeias poliméricas possuem uma mobilidade maior. Essa mobilidade no caso de algumas classes de polímeros dá origem ao comportamento de elasticidade de borracha.

As forças intermoleculares ou interatômicas mantêm as moléculas ou átomos unidos. É necessária uma quantidade de energia para retirar as partículas do arranjo cristalino ordenado para o arranjo desordenado no estado líquido, que possui distâncias de separação ligeiramente maiores (ATKINS, 1999). Essa energia é o calor de fusão.

Enquanto a fusão é uma transição na qual a fase cristalina perde sua estrutura repetitiva, a transição vítrea (T_g) pode ser entendida como um ganho de mobilidade da fase desordenada. Na transição da fase sólida cristalina para líquido, o modelo de esferas rígidas é muito útil para a representação da mudança estrutural ocorrida. O estado líquido é representado com esferas aleatoriamente distribuídas apresentando, inclusive, movimento translacional (SOUZA et al., 2004).

Para identificar as temperaturas de transição vítrea do amido, utiliza-se a calorimetria diferencial de varredura (DSC), que mede o fluxo de calor em função da variação de temperatura do material a ser analisado. Han e BeMiller (2007) apresentaram uma curva de DSC, mostrada na Figura 7, em que se determina a temperatura de transição vítrea do amido normal e de dois diferentes amidos modificados.

Figura 7 - Curva de DSC do amido nativo e de dois amidos modificados (HAN e BEMILLER, 2007).

A gelatinização começa no hilo do grânulo e dilata-se rapidamente para a periferia. Ela ocorre inicialmente na região amorfa, porque nessas áreas as ligações de hidrogênio estão enfraquecidas, diferentemente das regiões cristalinas. As temperaturas de gelatinização e entalpias associadas com a gelatinização endotérmica variam entre os amidos de diferentes espécies, como mostrado na Tabela 4, devido à diferença no grau de cristalinidade entre eles (SINGH et al., 2003).

Tabela 4 - Parâmetros de gelatinização de amidos de diferentes tipos botânicos (SINGH et al., 2003).

Fonte	Metodologia	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH _{gel} (J/g)
Batata ^a	DSC:S:W 1:2:3	59,72-66,2	62,9-69,6	67,28-75,4	12,55-17,9
Batata ^b	DSC:S:W 1:3:3	57,0-68,3	60,6-72,4	66,5-78,0	13,0-15,8
Batata ^c	DSC:S:W 1:1,5	57,2	61,4	80,3	17,4
Milho normal ^c	DSC:S:W 1:1,5	62,3	67,7	84,3	14,0
Milho normal ^d	DSC:S:W 1:3	64,1	69,4	74,9	12,3
Milho normal ^e	DSC:S:W 1:9	65,7	71,0	-	12,0
Milho híbrido ^e	DSC:S:W1:9	66,6	73,6	-	14,2
Milho híbrido ^d	DSC:S:W 1:3	64,2	69,2	74,6	15,4
Milho rico em amilose ^e	DSC:S:W 1:9	66,8	73,7	-	13,7
Arroz ^c	DSC:S:W 1:1,5	62,0	67,4	97,5	11,0
Arroz ^e	DSC:S:W 1:9	57,7	65,1	-	11,5
Arroz ^f	DSC:S:W 1:2:3	66,0-67,26	69,74-71,94	74,08-78,04	8,16-10,88
Arroz ^d	DSC:S:W 1:3	70,3	76,2	80,2	13,2
Arroz híbrido ^g	DSC	66,1-74,9	70,4-78,8	-	7,7-12,1
Trigo ^c	DSC:S:W 1:1,5	51,2	56,0	76,0	9,0
Trigo ^h	DSC:S:W 1:2:3	46,0-52,4	52,2-57,6	57,8-66,1	14,8-17,9
Trigo ^d	DSC:S:W 1:3	57,1	61,6	66,2	10,7

To = temperatura inicial; Tp = temperatura do pico; Tc = temperatura final; ΔH_{gel} = entalpia de gelatinização (baseado em amido seco) (J/s); S = amido; W = água.

Referências citadas por Singh et al. (2003):

a Kim et al., 1995 and Singh and Singh, 2001.

b Cottrell, Duffins, Paterson, and George, 1995 and Jane et al., 1999.

c Jenkins and Donald, 1998.

d Jane et al., 1999.

e Li and Yeh, 2001.

f Sodhi and Singh, 2002.

g Jane et al., 1996.

h Sasaki et al., 2000.

Segundo Tester (1997 *apud* SINGH et al., 2003), a temperatura de gelatinização está relacionada ao grau de perfeição cristalina. A estrutura molecular da amilopectina e a razão entre material cristalino e amorfo controlam a gelatinização e as propriedades de inchaço. T_p indica a medida da qualidade cristalina (comprimento de dupla hélice). A entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}) é indicador da perda da ordem molecular dentro do grânulo (TESTER e MORRISON, 1990).

Como já visto, as moléculas ramificadas de amilopectina formam duplas hélices que se agrupam em domínios cristalinos. Assim, quanto maior o teor de amilopectina no grânulo, maior sua cristalinidade. A partir disso, Singh et al. (2003) sugere que os valores de ΔH_{gel} devem ser calculados em base de amilopectina. Entretanto, os valores de ΔH_{gel} mostrados na Tabela 4 apresentada por Singh et al. (2003), não foram calculados dessa maneira.

Yamin et al. (1999), *apud* Singh et al. (2003), relataram que um amido com baixa temperatura inicial (T_0) e amplo alcance de gelatinização (R) provavelmente têm seus grânulos com formas irregulares. Singh e Singh (2001) relataram menor temperatura de transição e maior ΔH_{gel} para grânulos de amido grandes e irregulares. A diferença de T_0 , ΔH_{gel} e faixas de temperatura de gelatinização de amidos de diferentes espécies podem ser devido à diferença da quantidade de cadeias longas na amilopectina, que necessitam de temperaturas mais altas para se dissociarem que as duplas hélices curtas (YAMIN et al., 1999, *apud* SINGH et al., 2003). Como a amilopectina ocupa um papel prioritário na cristalinidade dos grânulos de amido, a presença de amilose diminui o ponto de fusão das regiões cristalinas e a energia para começar a gelatinização. Maior quantidade de energia é necessária para iniciar a fusão na ausência da região amorfa rica em amilose. Essa correlação indica que o amido com maior quantidade de amilose tem mais região amorfa e menos região cristalina, e, assim, menores são as temperaturas de gelatinização. (KREUGER et al., 1987, *apud* SINGH et al., 2003). O amido de batata rico em amilose apresenta tanto a temperatura endotérmica como a entalpia mais alta do que o amido de batata normal. A amilose amorfa no amido de batata normal diminui a quantidade relativa de material cristalino no grânulo (SVEGMARK et al., 2002). Foi observado por Jane et al. (1999), *apud* Singh et al. (2003), que amidos com alto teor de amilose com maior comprimento médio da cadeia possuem temperaturas de transição mais elevadas. A transição vítrea que precede a gelatinização pode ser afetada pela ausência/presença de

amilose nos grânulos de amido.

3.1.8 Retrogradação do amido

As interações moleculares (pontes de hidrogênio entre as cadeias do amido) depois do resfriamento do amido gelatinizado são chamadas de retrogradação (HOOVER, 2001). Durante a retrogradação, a amilose forma associações de duplas-hélices de 40 a 70 unidades de glicose (JANE; ROYT, 1984, *apud* SINGH et al., 2003) em que a cristalização da amilopectina ocorre pela associação dos ramos curtos periféricos (RING et al., 1987). No caso da retrogradação do amido, o valor da entalpia provém da medida da quantidade de transformação de energia que ocorre durante a fusão da amilopectina recristalinizada, assim como da medida precisa da temperatura de transição do evento endotérmico (KARIM et al., 2000). O pico endotérmico do amido após a gelatinização e estoque a 4 °C aparece a temperaturas de transição mais baixas. A temperatura de transição e a entalpia de retrogradação (ΔH_{ret}) no final do período de estocagem diminuiu significativamente, comparado às temperaturas de transição e a entalpia (ΔH_{gel}) durante a gelatinização (Tabela 5). Entalpias de retrogradação do amido são de 60% a 80 % menores do que as entalpias de gelatinização e as temperaturas de transição são de 10 °C a 26 °C mais baixas do que às de gelatinização dos grânulos de amido (BAKER; RAYAS-DUARTE, 1998, *apud* SINGH et al., 2003). As formas cristalinas são diferentes na natureza daquelas presentes nos grânulos de amido nativos (KARIM et al., 2000). Amidos retrogradados apresentaram gelatinização e entalpia menores que os amidos nativos porque eles tem cristalinidade do amido mais fraca (SASAKI et al., 2000, *apud* SINGH et al., 2003). O grau de diminuição das temperaturas de transição e entalpias é mais alta no gel de amido armazenado de batata do que nos géis de amido armazenados e milho, arroz e trigo. Isso pode ser atribuído à maior tendência do gel de amido de batata à retrogradação (SINGH et al, 2002). Os níveis mais baixos de retrogradação em amidos de milho, arroz e trigo podem ser responsáveis pela baixa diminuição das temperaturas de transição e da entalpia. A recristalização das cadeias ramificadas de amilopectina ocorre em uma forma menos ordenada em géis de amido armazenados, assim como está presente na sua forma nativa. Isso explica a observação de picos endotérmicos da retrogradação da amilopectina a uma temperatura mais baixa que a gelatinização (WARD et al., 1994). A variação das propriedades térmicas de amidos depois da gelatinização e durante o armazenamento pode ser atribuída à variação da

razão entre amilose e amilopectina, tamanho e forma dos grânulos e presença ou ausência de lipídios.

Pan e Jane (2000) relataram a presença de quantidades mais altas de amilose em grânulos de amido de milho de tamanhos maiores. Materiais intermediários com cadeias maiores que as da amilopectina também podem formar duplas hélices mais longas durante a reassociação sob condições refrigeradas de armazenamento. A retrogradação é acelerada pela amilopectina na presença de cadeias longas de amilose (KALICHEVSKY et al., 1990). Shi e Seib (1992) mostraram que a retrogradação de amidos híbridos era diretamente proporcional à fração molar de ramificações com grau de polimerização (DP) de 14 a 24, e inversamente proporcional à fração molar de ramificações com DP de 6 a 9.

Tabela 5 - Propriedades térmicas durante a retrogradação de amidos de diferentes tipos botânicos (SINGH et al., 2003).

Fonte	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH _{ret} (J/g)	R (%) ^h
Batata ^a	59,72-60,70	63,26	67,28-70,34	6,42-8,61	51,50-62,16
Batata ^b	42,5	55,7	66,9	7,5	43,4
Milho normal ^b	39,0	50,1	59,4	5,8	47,6
Milho híbrido ^b	40,2	51,3	60,2	7,3	47,0
Milho rico em amilose ^b	44,1	n.d. ⁱ	115,4	9,9	61,0
Arroz normal ^b	40,3	51,0	60,4	5,3	40,5
Arroz normal ^c	37,05-38,43	49,8-52,59	62,42-65,92	-	-
Arroz híbrido ^c	36,72-37,25	50,65-51,26	62,56-62,93	-	-
Arroz híbrido ^b	43,2	50,6	55,2	0,8	5,0
Trigo normal ^b	38,6	47,6	55,7	3,6	33,7
Trigo normal ^{d,e}	29,8-31,7	41,8-42,7	-	7,0-8,5	-
Trigo normal ^{d,f}	30,9-32,6	41,2-42,6	-	8,1-9,7	-
Trigo normal ^g	20,4-20,6	33,2-33,7	50,0	10,1-10,6	-
Trigo híbrido ^g	19,9-20,5	33,1-33,8	50,4-51,8	11,4-12,6	-

To = temperatura inicial; Tp = temperatura do pico; Tc = temperatura final; ΔH_{ret} = entalpia de retrogradação (baseado em amido seco) (J/g); R = Nível de retrogradação.

Referências citadas por Singh et al. (2003):

^a Singh e Singh, 2001, depois do armazenamento das amostras a 4 °C por duas semanas.

^b Jane et al., 1999, armazenamento a 4 °C por 7 dias.

^c Lin e Lii, 2001, armazenamento a 4 °C por 4 semanas.

^d Sasaki e Matsuki, 1998.

^e Armazenamento a 5 °C por 2 semanas.

^f Armazenamento a 5 °C por 4 semanas.

^g Sasaki et al., 2000, armazenamento a 5 °C por 4 semanas.

^h Retrogradação (%) = H_{gel}/H_{ret}.

ⁱ Não detectável.

3.2 Classificação do amido quanto à digestibilidade

Os grânulos de amido, no organismo humano, são digeridos em vários estágios. Na boca, em contato com a α -amilase da saliva, as cadeias poliméricas do grânulo de amido são quebradas em oligossacarídeos mais curtos. Ao entrarem no intestino, o material parcialmente digerido é hidrolisado por α -amilase pancreática. A velocidade de reação inicial desta hidrólise diminui com o aumento do grau de ramificação do polissacarídeo (PARK e ROLINGS, 1994, *apud* LEHMANN e ROBIN, 2007). Os principais produtos resultantes, maltose e dextrinas ramificadas, são convertidos em glicose pelas enzimas e entram na corrente sanguínea (LEHMANN e ROBIN, 2007).

Ensaio para determinação da resposta glicêmica causada pela digestibilidade *in vitro* são de grande interesse, já que as análises *in vivo* são consideradas invasivas, caras e mais difíceis para realizar. Segundo Lehmann e Robin (2007), Schweizer et al. (1988) publicaram um método enzimático para medir as taxas de digestão dos alimentos amiláceos *in vitro*, que trata-se de um novo modo de calcular os índices de digestão (DI) e relacioná-lo com a resposta *in vivo*. Ainda de acordo com Lehmann e Robin (2007), um dos métodos para a análise da cinética da digestão mais utilizados trata-se de uma simulação da digestão enzimática dos grânulos de amido *in vivo* no estômago e intestino, em que a vida da glicose é mensurada. Esse método foi publicado por Englyst et al. (1992).

Os grânulos de amido podem ser digeridos mais ou menos lentamente, de acordo com sua classificação. Existem os grânulos de amido de rápida digestão (RDS), em que a quantidade de glicose é biodisponibilizada após 20 minutos da ingestão, os grânulos de digestão devagar (SDS), cuja glicose hidrolisada é biodisponibilizada entre 20 e 120 minutos após a ingestão, e o amido resistente (RS), que é definido como o total de grânulos de amido menos a soma dos grânulos RDS e SDS.

Lehmann e Robin (2007) propuseram a Tabela 6 adaptada de Englyst et al. (1992).

Tabela 6 - Classificação do amido (adaptado de Englyst et al., 1992) (LEHMANN e ROBIN, 2007).

Fração de amido	Amido de rápida digestão (RDS)	Amido de digestão devagar (SDS)	Amido Resistente (RS) Tipos 1-4
Tempo de Digestão (<i>in vitro</i>)/local em que ocorre	Menor que 20 min; boca e intestino delgado	20- 120 min; intestino delgado	Maior que 120 min; Não no intestino delgado, ação maior no cólon
Exemplos	Alimentos cozidos na hora	Amido de milho híbrido nativo, legumes, painço	batata crua, pão seco
Quantidade (g/100g de matéria seca)	Batata quente cozida: 65	Painço cozido: 28	Amido de batata crua: 75
Principais Propriedades fisiológicas	Rápido fornecimento de energia	Fornecimento de energia lento e manutenção da glicose no sangue	Efeitos na saúde: prebiótico, fermentação do butirato com hipóteses de efeitos anti-cancerígenos
Estrutura	Principalmente amorfa	Amofa/Cristalina	Depende do tipo, mas principalmente cristalina

3.3 Microestrutura e digestibilidade do amido

Em geral, o amido é consumido depois de processado. O excesso de água e a alta temperatura durante o processo resultam em amido gelatinizado e destrói sua estrutura granular. Entretanto, em produtos com baixo teor de umidade, como biscoitos, a estrutura granular do amido pode ser preservada (ENGLYST et al., 2003).

Os grânulos de amido possuem uma estrutura complexa e com alta ordem de semicristalinidade e sua hidrólise depende de uma série de fatores. O fator mais comum responsável por influenciar a hidrólise do grânulo é a origem botânica, que determina a morfologia e a organização cristalina (TESTER et al., 2004).

A digestão dos grânulos de amido é um processo complexo, que inclui diferentes fases: a difusão da enzima pelo substrato com o impacto da porosidade do substrato; a adsorção da enzima pelo material amiláceo, e o evento hidrolítico (COLONNA et al., 1992 *apud* LEHMANN e ROBIN, 2007).

A difusão da α -amilase dentro do substrato é considerada como o passo mais importante da hidrólise. Interações do grânulo de amido com fibras, proteínas e outros componentes alimentícios podem prever efetiva difusão e adsorção da enzima (COLONNA et al., 1992 *apud* LEHMANN e ROBIN, 2007). Foi considerado que a hidrólise dos grânulos de amido começam na superfície do grânulo. Entretanto,

amidos de cereais nativos, como o milho e o sorgo contêm poros periféricos e canais, que permitem a α -amilase de penetração, o que resulta num mecanismo de hidrólise de dentro para fora. Isso pode explicar a alta digestibilidade de amidos de cereais comparados com amidos de tubérculos, como a batata (BENMOUSSA et al., 2006). O tamanho da partícula do amido e a área de superfície do raio do amido tem um papel importante para a hidrólise (COLONNA et al, 1992 *apud* LEHMANN e ROBIN, 2007). Um grânulo de tamanho menor apresenta alta suscetibilidade enzimática independentemente da sua origem botânica (FRANCO et al., 1992 *apud* LEHMANN e ROBIN, 2007). Uma superfície maior, junto com propriedades moleculares específicas, explicam a resistência de grânulos de batata contra a digestão enzimática (OATES, 1997).

A nível molecular, a estrutura cristalina e o empacotamento da fase amorfa influenciam a suscetibilidade enzimática (COLONNA et al, 1992, *apud* LEHMANN; ROBIN, 2007). A razão da amilose e amilopectina é outro fator influente na digestibilidade desde que a presença de ligações de α -1,6 dificulte a α -amilase (PARK; ROLLINGS, 1994, *apud* LEHMANN; ROBIN, 2007).

O arranjo dos cristalitos nos tipo A ou B influenciam significativamente a digestibilidade. Geralmente, há maior suscetibilidade dos cristais do tipo A à hidrólise quando comparados com os cristais do tipo B e isso foi relatado por vários autores, como Jane et al, 1997. Os cristais do tipo A e do tipo B diferem no empacotamento das duplas hélices e na quantidade de água (WU; SARKO, 1978). Duplas hélices curtas e cristalitos interiores nos amidos do tipo A são mais prontamente digestíveis e exibem uma maior quantidade de RDS e SDS comparado com o amido do tipo B, que contêm uma alta quantidade de RS (JANE et al., 1997). O comprimento da cadeia unitária da amilopectina foi correlacionado com a digestibilidade; a proporção do comprimento da cadeia unitária da amilopectina com grau de polimerização (DP) 8-12 e DP 16-26 foi correlacionada positivamente e negativamente com a hidrólise, respectivamente (SRICHUWONG et al., 2005). Cadeias mais longas formam hélices mais longas e mais estáveis, que são estabilizadas por ligações de hidrogênio distribuídas por toda a região cristalina, causando a diminuição da digestibilidade (LEHMANN; ROBIN, 2007).

3.4 Amido Resistente (RS)

Segundo Eerlingen e Delcour (1995), amido resistente é definido como todo grânulo de amido e produtos de sua hidrólise que não são absorvidos no intestino delgado. Sajilata et al. (2006) afirma que o amido resistente é indigerível pelas enzimas do corpo humano. O amido resistente não é digerido no organismo humano como o amido normal, tendo comportamento semelhante de uma fibra solúvel (HARALAMPU, 2000). Como não é digerido no intestino delgado, ele se torna disponível para as bactérias anaeróbicas do cólon (JENKINS et al., 1988), onde são fermentados, produzindo ácidos graxos de cadeia curta benéficos ao intestino humano. O amido resistente é subclassificado em 4 tipos: RS1, RS2, RS3 e RS4, que também podem ser chamados de tipos I, II, III e IV (SAJILATA et al., 2006).

3.4.1 Amido tipo RS1

O amido tipo RS1 representa o grânulo de amido que é resistente porque está em uma forma fisicamente inacessível, como em grãos moídos e sementes, e está também presente em vários tipos de alimentos amiláceos processados. É quantificado quimicamente como a diferença entre a glicose biodisponibilizada pela enzima da digestão de uma amostra de alimento homogeneizado e aquela biodisponibilizada por uma amostra não homogênea. RS1 é estável termicamente em muitas operações de cozimento normais e pode ser usado em uma vasta variedade de alimentos. A Figura 8 mostra a visão microscópica do RS1 fisicamente inacessível na estrutura da célula ou tecido de partes de grãos moídos, sementes e vegetais (SAJILATA et al., 2006).

Figura 8 - Estrutura do amido resistente tipo I (RS 1) (SAJILATA et al., 2006).

3.4.2 Amido tipo RS2

O amido tipo RS2 é aquele cujo grânulo possui forma granular e é resistente à enzima da digestão. É mensurado quimicamente como a diferença entre a glicose liberada pela enzima da digestão de uma amostra de alimento fervido homogeneizado e daquela não fervida e não homogeneizada. Em grânulos de amido cru, o amido é fortemente empacotado em um padrão radial e é relativamente desidratado. A estrutura compactada limita a acessibilidade das enzimas digestivas e permite a resistência natural do RS2, como o amido que não gelatiniza. Na dieta, o amido cru é consumido em alimentos como a banana. RS1 e RS2 representam resíduos de formas de amido, que são digeridos muito vagarosamente e incompletas no intestino delgado. A Figura 9 apresenta o grânulo de RS2. (SAJILATA et al., 2006).

Figura 9 - Estrutura do amido resistente tipo II (RS 2) (SAJILATA et al., 2006).

3.4.3 Amido tipo RS3

O amido tipo RS3 é a fração de grânulos de amido mais resistentes e é principalmente devido à retrogradação da amilose formada durante o resfriamento do amido gelatinizado. Muitos alimentos que passam por aquecimento, com certo grau de umidade contem pelos menos um pouco de RS3. É mensurado quimicamente como a fração que resiste tanto a dispersão pelo aquecimento quanto pela digestão enzimática. Ele só pode ser disperso com hidróxido de potássio ou dimetil sulfóxido (ASP; BJORCK 1992, *apud* SAJILATA et al., 2006). RS3 é inteiramente resistente à digestão pelas amilases pancreáticas (SAJILATA et al., 2006).

Então, as frações de RS1, RS2 e RS3 são calculadas a partir das Equações 1, 2 e 3, em que o amido total presente no alimento (TS) pode ser subdividido de acordo com as frações de amido classificadas conforme a digestibilidade, sendo: RDS a fração em que a glicose é biodisponibilizada após 20 min da ingestão; SDS a fração de amido em que a glicose é biodisponibilizada de 20 a 120 min após a ingestão; e

RS1, RS2 e RS3 as frações de amido resistente tipo 1, tipo 2 e tipo 3, respectivamente.

$$RS1 = TS - (RDS + SDS) - RS2 - RS3 \quad (1)$$

$$RS2 = TS - (RDS + SDS) - RS1 - RS3 \quad (2)$$

$$RS3 = TS - (RDS + SDS) - RS2 - RS1 \quad (3)$$

Para a formação do RS3, o grânulo de amido é completamente hidratado e a amilose se lixivia para a solução aquosa. Após o resfriamento, as cadeias do polímero começam a reassociar em duplas hélices, estabilizadas por ligações de hidrogênio (WU e SARKO, 1978). Os fios individuais nas hélices contêm 6 unidades de glicose por turno em 20,8 Å. Os modelos para duplas hélices são hélices de fios paralelos e a esquerda. A estrutura cristalina tipo A pode ser obtida se o RS é formado na gelatinização do amido estocado sob altas temperatura (100 °C) por diversas horas (EERLIGEN et al., 1993). Neste caso, o amido apresenta estrutura densa e somente algumas moléculas de água na célula unitária monoclinica. Após nova retrogradação, as duplas hélices empacotam em uma célula unitária hexagonal. A forma B com simetria hexagonal é mais aberta. As moléculas de água (de 36 a 42 moléculas por unidade celular) numa estrutura B são localizadas em posições fixas com um canal central formado por 6 duplas hélices. O grau de polimerização (DP) da amilose também afeta o rendimento do RS3; uma vez que o rendimento aumenta com DP maior que 100, mas permanece constante para DP superiores (EERLINGEN et al., 1993). O mínimo de DP de 10 e máximo de 100 parece ser necessário para formar dupla hélice (GIDLEY et al. 1995). A apresentação sistemática da formação do RS3 em solução aquosa de amilose retratado como modelo de micela e lamela é mostrado nas figuras 10 e 11 (SAJILATA et al., 2006).

Figura 10 - Apresentação esquemática do amido resistente a enzimas tipo III (RS 3) formado em solução aquosa de amilose. Modelo de micelas. Duplas hélices são ordenadas em uma estrutura cristalina. (C) região particular da cadeia, intercaladas com regiões amorfas degradadas por enzimas (SAJILATA et al., 2006).

Figura 11 - Apresentação esquemática do amido resistente a enzima tipo III formada em solução aquosa de amilose. Modelo lamelar. Estruturas lamelares são formadas por dobramentos das cadeias do polímero. As zonas de dobramentos são amorfas (A), enquanto do centro da lamela é cristalino (C). (SAJILATA et al., 2006).

A Tabela 7 apresenta as diferentes classificações do amido resistente (NUGENT, 2005, adaptada por SHARMA et al., 2008).

Tabela 7 - Classificação dos tipos de amido resistente, tipos de alimentos, e fatores que afetam sua resistência à digestão no cólon. Adaptado de Nugent (2005) (SHARMA et al., 2008).

Tipo de RS	Descrição	Tipos de alimentos	Resistência reduzida por
RS1	Fisicamente protegido	Grãos e sementes inteiros ou em pedaços de painço, legumes, massa	Moagem, Mastigação
RS2	Grânulos resistentes não gelatinizados com cristalinidade tipo B e são hidrolizados lentamente pelas alfa amilases	Batatas cruas, bananas verdes, alguns legumes, amidos ricos em amilose	Alimentos processados e cozidos
RS3	Amido retrogradado	Batatas cozidas e resfriadas, pães, sucrilhos, alimentos com tratamento térmico com umidade prolongado ou repetitivo	Condições de Processamento
RS4	Amidos quimicamente modificados devido a ligações cruzadas com reagentes químicos, éteres, ésteres, etc.	Algumas fibras - bebidas, alimentos em que os amidos modificados são usados, como pães e bolos	Menor suscetibilidade à digestão <i>in vitro</i>

Aspectos estruturais do RS *in vivo* (ingestão de amido de milho com alto teor de amilose retrogradado, complexo de amido de milho rico em amilose, flocos de ervilhas, ou flocos de batata) foram avaliados usando conteúdos de 4 humanos (FAISANT et al., 1993 *apud* SAJILATA et al., 2006). Para todas as amostras, frações de amido que escapam da digestão no intestino delgado, eram compostos por 3 populações de alfa glicanos com proporções diferindo de acordo com o substrato. Pequenas quantidades de oligossacarídeos compuseram a primeira população, ilustrando a limitação da absorção no intestino delgado. A segunda população, o principal RS, constituído de amilose retrogradada de grau de polimerização (DP) de aproximadamente 35 unidades de glicose com a temperatura de fusão de 150 °C e exibindo um padrão do tipo B. Finalmente, α -glicanos de alto peso molecular semicristalino puderam ser atribuídos a fragmentos do amido. Esse estudo mostrou que amido potencialmente digestível pode alcançar o cólon e que frações cristalinas constituem apenas parte do amido que escapa da digestão no intestino delgado de humanos (SAJILATA et al., 2006).

3.4.4 Amido tipo RS4

O amido tipo RS4 é o amido resistente onde existem novas ligações químicas diferentes da α -(1 $\rightarrow$ 4) ou da α -(1 $\rightarrow$ 6). Amidos modificados obtidos por vários tipos de tratamentos químicos são incluídos nessa categoria. A estrutura modificada do amido obtido por tratamento químico com éster fosfato está apresentado na Figura 12 (SAJILATA et al., 2006).

Figura 12 - Preparação do amido ligado em cruz (SAJILATA et al., 2006).

O amido resistente tem um pequeno tamanho de partícula, aparência branca e sabor suave. RS também apresenta baixa capacidade de aprisionamento da água. Tem também propriedades físico-químicas desejáveis (FAUSTO et al., 1997 *apud* SAJILATA et al., 2006) como inchamento, crescimento da viscosidade, formação de gel, e capacidade de ligação a água, tornando-o útil numa grande variedade de alimentos. Essas propriedades tornam o amido resistente útil para substituição em farinhas sem afetar significativamente a consistência ou a reologia da massa produzida com o amido comum. O RS não só fortalece a fibra, mas também confere características especiais de outra forma não atingíveis em alimentos ricos em fibras (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003).

Vários benefícios para a saúde foram encontrados no amido resistente. Sharma et al. (2008) elaboraram a Tabela 8, adaptada de Brown (2004) e Champ (2004), que apresenta os diversos efeitos fisiológicos do amido resistente.

Tabela 8 - Efeitos fisiológicos do amido resistente. Adaptada de Brown (2004) e Champ (2004). (SHARMA et al., 2008).

Potencial efeito fisiológico	Condições que pode haver um efeito protetor
Potenciais efeitos fisiológicos.	Diabetes
Melhoria do perfil lipídico no sangue.	Doença cardiovascular, o metabolismo lipídico, a síndrome metabólica.
Melhoria da saúde intestinal.	O câncer colorretal, colite ulcerativa, doença inflamatória do intestino, diverticulite, constipação
Protagonistas prebióticos.	Saúde do cólon
O aumento da saciedade e reduzido ingestão de energia.	Obesidade
Aumento de micronutrientes absorção.	Absorção de minerais avançado, osteoporose
Adjunto para reidratação via oral.	O tratamento da cólera, diarreia crônica.
Interação sinérgica com outra componente alimentar, por exemplo, na dieta fibras, proteínas, lipídios.	Melhor controle metabólico e melhor saúde intestinal.
Termogênese.	A obesidade, diabetes.

A aplicação de amido resistente em alimentos é interessante porque além da fortificação da fibra e benefícios fisiológicos em potencial do RS, que podem se assemelhar a fibras, também possuem propriedades únicas, melhorando a qualidade dos produtos, muitas vezes o que não seria possível com as fibras insolúveis tradicionais (YUE; WARING, 1998 *apud* SHARMA et al., 2008). Levando em consideração as propriedades benéficas do amido resistente à saúde, Goni et al. (1996) classificou a quantidade de RS presente em diversos alimentos, apresentados na Tabela 9 (SHARMA et al., 2008).

Tabela 9 - Classificação de alimentos de acordo com a faixa de conteúdo de amido resistente (% em massa seca). Adaptada de Goni et al. (1996) (SHARMA et al., 2008).

Conteúdo de amido resistente	Exemplos de alimentos
Muito baixo (<1.0%)	Batata cozida (quente), arroz cozido (quente), macarrão, cereais contendo uma alta proporção de farelo de trigo, farinha de trigo.
Baixo (1,0-2,5%)	Cereais matinais, biscoitos, pães, massas, batata cozida (resfriado), arroz cozido (resfriado).
Médio (2,5-5,0%)	Cereais prontos (flocos de milho, arroz crispies), batatas fritas, legumes extrudados.
Alto(5,0-15,0%)	Legumes cozidos (lentilhas, grão de bico, feijão), ervilhas, arroz cru, amidos autoclavados e resfriado (trigo, batata, milho), e alimentos ricos em amido (resfriados e congelados).
Muito Alto(>15%)	Batatas cruas, legumes crus, milho, amilo banana verde, amilose retrograda.

3.5 Tipos de amidos modificados e técnicas de preparação

O amido nativo possui propriedades funcionais satisfatórias para os alimentos processados, mas possuem características que limitam sua utilização, como baixa resistência ao cisalhamento, baixa resistência térmica, decomposição térmica, alta tendência à retrogradação (SINGH et al., 2007), tendência ao rápido aumento da viscosidade, sob condições de gelatinização, gerando problemas em bombas e trocadores de calor na indústria (AYUCITRA, 2012). O amido modificado, envolvendo alterações das características físico-químicas indesejáveis do grânulo nativo pode ser utilizado para aplicação em alimentos específicos (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996). Segundo Ayucitra (2012), o amido modificado não tem sua aparência alterada, mas melhora as propriedades desejadas.

O amido modificado geralmente é proveniente de alterações físicas do amido, utilizando umidade ou altas temperaturas, por exemplo, da conversão (hidrólise ácida ou enzimática e oxidação do amido) e derivação, através de eterificação, esterificação, *cross-linking* e *grafting* do amido (SINGH et al., 2007).

3.5.1 Modificações físicas

“*Annealing*” (ANN) ou temperagem, e tratamento “*Heat-moisture treatment*” (HMT) são métodos hidrotérmicos utilizados para modificar o amido através de tratamentos utilizando-se umidade e altas temperaturas. Outra modificação física

existente é a pré-gelatinização, que trata-se de um processo em que o amido é gelatinizado e depois seco em secador de tambor ou *spray dryer* ou através da extrusão (SINGH et al., 2007). O amido pré-gelatinizado tem como propriedade principal a dispersão em água fria e é utilizado em alimentos instantâneos.

ANN do amido é um tratamento físico do grânulo de amido na presença de calor e água. Durante ANN, o amido é submetido à quantidade excessiva de água (maior que 60%) ou à quantidade intermediária (aproximadamente 40%) e à temperatura acima da temperatura de transição vítrea (T_g) mas abaixo da temperatura de gelatinização, por um certo período de tempo (TESTER et al., 2000). Algumas alterações podem ocorrer nos amidos que passaram pelo ANN, como por exemplo: (CHUNG et al., 2009):

- i) aumento na estabilidade do grânulo;
- ii) perfeita cristalinidade;
- iii) interações das cadeias do amido dentro dos domínios amorfos e cristalinos do grânulo;
- iv) formação de dupla hélice;
- v) aumento da temperatura de gelatinização;
- vi) estreitamento do intervalo de temperatura de gelatinização;
- vii) diminuição no inchaço granular;
- viii) decréscimo a lixiviação da amilose.

Dependendo do tipo de amido, da cristalinidade, interações entre amilose e lipídios e suscetibilidade a hidrólises ácidas e enzimáticas, as alterações ocorridas no ANN, podem aumentar, diminuir ou manter-se (TESTER et al., 2000).

HMT é uma técnica de modificação física que envolve o tratamento do amido a baixa umidade (menor que 35% w/w) por certo período de tempo, que pode ser de 15 minutos até 16 horas, e temperatura de 84 °C a 120 °C, ou seja, acima da temperatura de transição vítrea, mas abaixo da temperatura de gelatinização (CHUNG et al., 2009). Segundo Andrade et al. (2013), o HMT modifica as propriedades do amido sem destruir sua estrutura granular. Em amidos que passaram por esse tratamento, houve aumento a temperatura de gelatinização, alargamento da faixa da temperatura de gelatinização, diminuição do inchaço granular e da lixiviação da amilose e aumento na estabilidade térmica (CHUNG et al., 2009). Shin et al. (2005) mostraram que o

tratamento hidrotérmico (50% de umidade a 55 °C por 12 horas) de amido de batata doce elevou o nível de SDS de 15,6% para 31,0%.

3.5.2 Modificação por Conversão

A modificação do amido por conversão ocorre através de diversos tipos, como hidrólise ácida parcial, hidrólise enzimática parcial, tratamento alcalino e oxidação (SINGH et al., 2007).

A hidrólise ácida parcial trata-se de um tratamento do amido com ácido hidrocloreídrico ou ácido orto-fosfórico ou ácido sulfúrico. A hidrólise enzimática parcial é um tratamento em que o amido, em solução aquosa, passa à temperatura acima do ponto de gelatinização com um ou mais enzimas amilolíticas de grau alimentício. Ambos os tratamentos reduzem o peso molecular dos polímeros, reduzem a viscosidade e aumentam a retrogradação. Esses amidos são utilizados em produtos de confeitaria e alimentos com coberturas (SINGH et al., 2007).

A oxidação é um tratamento que utiliza ácido peracético e/ou peróxido de hidrogênio, ou hipoclorídrico de sódio ou cloreto de sódio, ou dióxido sulfúrico, ou permanganato de potássio ou persulfato de amônio. A oxidação gera amidos com baixa viscosidade, alta claridade e estabilidade a baixas temperaturas. É usado em coberturas de vários alimentos, em confeitarias para formar filmes e para dar textura em produtos lácteos (SINGH et al, 2007).

3.5.3 Modificação por Derivação

Segundo Singh et al. (2007), existem diversos tipos de modificações por derivação, entre eles: eterificação, esterificação, *cross-linking* e dupla modificação.

A esterificação do amido nativo utilizando-se anidrido acético na presença de catálise alcalina resulta em amidos acetilados. A acetilação é um método de modificação de amido usando a esterificação com anidrido acético. A acetilação substitui grupos hidróxilos no amido nativo com grupos acetil. De acordo com Rutenber e Solarek (1984) *apud* Singh et al. (2007), a introdução dos grupos acetil reduz a força das ligações entre moléculas de amido, alterando as propriedades. Esse processo resulta em amidos modificados com boa estabilidade a baixas temperaturas e mais resistência a retrogradação. Amidos modificados acetilados são usados em produtos secos, enlatados e congelados (AYUCITRA, 2012). O produto final desse processo é influenciado pela concentração do reagente, tempo de reação,

temperatura, pH e presença ou não de catalisadores (ANCONA et al., 1997, *apud* SINGH et al., 2007).

Amidos hidroxipropilados são preparados pela eterificação do amido nativo com propileno óxido na presença de catálise alcalina (SINGH et al., 2007). Os grupos hidroxipropílicos introduzidos nas cadeias do amido são capazes de romper ligações de hidrogênio inter e intra moleculares, enfraquecendo a estrutura do grânulo de amido e aumentando a mobilidade das cadeias nas regiões amorfas (SEOW e THEVAMALAR, 1993, *apud* SINGH et al., 2007).

O processo de *cross-linking* consiste em adicionar ligações inter e intra moleculares em localidades ao acaso no grânulo de amido. Essas ligações estabilizam e fortalecem o grânulo (ACQUARONE; RAO, 2003). O *cross-linking* minimiza a ruptura do grânulo, a perda da viscosidade e a formação de pasta pegajosa durante o cozimento (WOO; SEIB, 1997). Alguns autores, como Woo (1999), *apud* Singh et al. (2007), consideram o amido modificado por *cross-linking* como um novo tipo de fibra alimentar, apresentando um benefício nutricional. O *cross-linking* do amido normalmente é realizado pelo tratamento do grânulo do amido com reagentes multifuncionais capazes de formar ligações intermoleculares de éter ou éster entre grupos hidroxilos das moléculas de amido (WURZBURG, 1986). Amidos modificados por *cross-linking* apresentam estabilidade mais alta dos grânulos, em condições de altas temperaturas, alta agitação e em meios ácidos e são geralmente usados para aumentar a viscosidade e dar textura a sopas, molhos, produtos de padaria e produtos lácteos (SINGH et al., 2007).

Outra técnica existente para modificação do amido é a dupla modificação, que é uma combinação da substituição e do *cross-linking*. O amido produzido por esta técnica apresenta estabilidade contra degradação ácida, térmica e mecânica e retardamento na retrogradação durante o armazenamento (SINGH et al., 2007). Normalmente, amidos duplamente modificados são utilizados em molhos para saladas, alimentos enlatados, congelados e pudins (WURZBURG, 1986). O controle das condições da reação é muito importante durante o preparo dos amidos duplamente modificados (SINGH et al., 2007).

3.6 Aglomeração de partículas

A aglomeração de partículas, também conhecida como granulação ou desenho de partículas (IVESON et al., 2001), é um processo muito utilizado na indústria de alimentos, pois permite melhorar ou modificar as propriedades de sólidos particulados para seu manuseamento. Fluidez, resistência mecânica e capacidade de umedecimento são algumas das propriedades que se deseja modificar num produto submetido à aglomeração (TURCHIULI et al., 2005).

A aglomeração consiste na modificação de tamanho de partículas, decorrente da união das mesmas na presença de um líquido ligante geralmente atomizado em leitos fluidizados, de jorro, e tambores rotativos, cada um operando com diferentes parâmetros, para a formação de uma estrutura maior chamada de agregado poroso, que se trata de uma partícula maior (DACANAL; MENEGALLI, 2009).

Existem três passos para o crescimento progressivo dos grânulos finos. O primeiro deles é o umedecimento e nucleação, em que as partículas menores se unem; o segundo é a coalescência, em que os aglomerados maiores se combinam e o terceiro em que há desgaste e quebra, ou seja, os aglomerados maiores se quebram em decorrência do atrito gerado na agitação (IVESON et al., 2001). Essas etapas são apresentadas na Figura 13.

Figura 13 - Principais etapas da nucleação (IVESON et al., 2001).

Os mecanismos de adesão e coalescência entre partículas ocorrem devido a ação de forças de ligação por capilaridade e de Van der Waals, além de colisões entre as mesmas, que se encontram molhadas e em movimento contínuo dentro do leito. A

secagem posterior é realizada com velocidades de ar quente fluidizado e permite que novas estruturas aglomeradas porosas sejam formadas (IVESON et al., 2001; TARDOS et al., 1997).

A aglomeração das partículas se dá por meio de diferentes níveis de saturação de líquidos, que são mostrados na Figura 14.

Figura 14. Diferentes níveis de saturação das pontes líquidas (IVESON et al., 2001).

No estado pendular, as pontes líquidas se formam apenas nos pontos de contato entre as partículas. O estado capilar ocorre devido à completa saturação dos poros do grânulo, mas a superfície externa do grânulo não é recoberta com líquido. No estado funicular, os poros não estão completamente preenchidos com líquido. O estado encapsulado ocorre quando a superfície externa das partículas é completamente recoberta por uma camada de líquido. O estado pseudo-encapsulado acontece quando a partícula encapsulada apresenta poros que não foram preenchidos pelo líquido (DACANAL, 2009).

O mecanismo de aglomeração das partículas ocorre com a atomização de um líquido, que pode ser água ou uma solução ligante, dependendo da natureza do material a ser aglomerado, a uma pressão relativa.

De acordo com Palzer (2011), existem diversas formas de se realizar a aglomeração de sólidos particulados (Figura 15), e o nível de compactação e porosidade dos grânulos depende da energia impelida durante o processo, além das características físico-químicas destes materiais, tais como a solubilidade e a cristalinidade.

Figura 15 - Processos de aglomeração mais comuns encontrados nas indústrias de alimentos, farmacêutica e química: (a) Spray drying com recirculação de finos, (b) Integrated belt drying, (c) Aglomerador por jato de vapor, (d) Atomização em Leito fluidizado, (e) Misturadores, (f) Umedecimento em granulador vertical, (g) Aglomeração em disco, (h) Extrusão, (i) Compactação por rolos, (j) Tabletting (comprimidos) (PALZER, 2011).

Um dos métodos de aglomeração de partículas utilizados na indústria farmacêutica desde os anos 1970 é o método “high shear”. A técnica de “high shear” consiste em homogeneizar o produto sólido e o ligante em uma alta agitação mecânica, utilizando um impelidor, que exerce forças de cisalhamento e de compressão permitindo a densificação e aglomeração dos produtos (HOLM, 1997).

A Figura 15 (f) apresenta um equipamento de “high shear” vertical, cujo impelidor rotaciona verticalmente com a velocidade na ponta da lâmina de (5 a 15) m/s. O “chopper” possui a função de cortar em pedaços as partículas e homogeneizá-la com o líquido ligante, que é pulverizado nas partículas. A velocidade de rotação do “chopper” é semelhante à do impelidor (HOLM, 1997).

Segundo Holm (1997), o método de aglomeração por “high shear” apresenta diversas vantagens. Além do curto tempo de processo, há necessidade de menor quantidade de líquido ligante quando comparados aos processos realizadas em leitos fluidizados ou em “low shear”, em que a velocidade de homogeneização é baixa. Produtos coesivos que possuem dificuldade de serem fluidizados pelo leito, são aglomerados pelo processo “high shear”. Com este método, os materiais podem ser compactados e a porosidade das partículas pode ser influenciada pelo impacto com o agitador. O processo de aglomeração por “high shear” é realizado num sistema fechado, que pode, em alguns casos, incluir uma etapa de secagem por vácuo ou micro-ondas.

Algumas desvantagens também foram citadas para a aglomeração por “high shear”. Como o sistema adquire uma alta energia, causada pelos agitadores, podem ocorrer quebras mecânicas das partículas, além da degradação química de produtos sensíveis a altas temperaturas. É possível que haja um excesso de umidade nas partículas, devido a compactação, o que impede o controle do crescimento dos grãos. Além disso, para produtos como comprimidos, não é viável, já que produz partículas com baixa porosidade.

O tipo de produto, processo e as variáveis são fatores que influenciam a escolha do tipo de misturador “high shear” a ser usado, pois o design e especificações dos misturadores variam muito (HOLM, 1997).

Para a encapsulação de compostos ativos, como enzimas e drogas, dentro de uma matriz, um método muito utilizado é o “dripping”. Nessa técnica, uma solução é extrudada através de um capilar a uma vazão baixa e cai em outra solução por

gravidade. Assim, é possível recobrir uma partícula com alginato de cálcio, como estudou Chan et al. (2009).

A formação de gotas extremamente perfeitas é muito difícil, pois no método de “dripping”, uma série de fatores influenciam nas partículas finais, como viscosidade da solução, distância entre a formação da gota e o local de coleta e tensão superficial (CHAN et al., 2009).

O método “dripping” é um dos mais antigos e mais simples métodos para microencapsulação de compostos. Existem diversos tipos de “dripping”. Três deles são apresentados na Figura 16 (WHELEHAN; MARISON, 2011).

Figura 16 – Três diferentes métodos de “dripping”. (a) “dripping” simples; (b) “dripping” com extrusão eletrostática; (c) “dripping” com fluxo de ar coaxial (WHELEHAN; MARISON, 2011).

Um método de aglomeração bastante comum é em leito fluidizado, em que líquido é pulverizado em pequenas gotículas através de um bico aspersor (Figura 17) que entram em contato com a superfície das partículas finas que se encontram em fluxo dentro do leito, umedecendo-as e tornando-as mais pegajosas.

Figura 17 - Atomização do ligante (a) e Leito fluidizado pulsado (b) (DACANAL, 2009).

Dacanal (2009) concluiu, por meio dos ensaios fluidodinâmicos para polpa de acerola, proteína isolada de soja e maltodextrina em pó, que o uso de frequências de pulsação do ar em leito fluidizado contribui para a melhora da qualidade de fluidização. O autor afirma que pulsações do ar intermediárias, como 300 e 600 rpm permitem aglomerar sólidos particulados finos e coesivos, utilizando-se menores velocidades de fluidização e com um aumento da taxa de aglomeração.

Mendez (2013), em sua dissertação de mestrado, realizou a aglomeração de farinha de banana verde com alto teor de amido resistente em leito fluidizado pulsado presente na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP e proposto por Dacanal (2009).

Embora bastante utilizado para a realização de granulação de partículas, o leito fluidizado é amplamente utilizado para a secagem de produtos particulados.

3.7 Alginato

O alginato é um polímero extraído a partir de algas e utilizado como agente encapsulante, e apresenta-se na forma de uma solução viscosa quando solubilizado em água. (MANDAL; KUNDU, 2009).

Os alginatos vêm apresentando muitas aplicações comerciais desde 1980, devido às suas propriedades físicas e químicas (GOH et al., 2011), como retenção de água, estabilização e geleificação (MANDAL; KUNDU, 2009). Nas indústrias de alimentos e bebidas, é um dos produtos mais importantes, pois atua como estabilizante de diversos alimentos, como sucos e achocolatados prontos. Além disso,

é usado para encapsular leveduras para a produção de etanol (CHAPMAN e CHAPMAN, 1980).

Uma das principais propriedades de soluções de alginato é a de formação de géis na presença de cálcio ou de outro íon bivalente ou trivalente (HAUG e SMIDSRØD, 1965). Ao colocar-se em contato uma solução aquosa de alginato de sódio com solução de cloreto de cálcio, são formados géis esféricos rígidos de alginato de cálcio. Recentemente, o uso de géis de alginato de cálcio vem ocorrendo para remédios, por não apresentar toxicidade e pela facilidade de formação de pérolas de géis (TOMIDA et al., 1993).

3.8 Quitosana

A quitosana é um biopolímero obtido da desacetilação da quitina e encontra-se presente em grandes quantidades na natureza por constituir parte da composição do exoesqueleto de crustáceos de outros animais marinhos (SANTOS et al., 2003). No estado sólido, a quitosana é um polímero semicristalino (RINAUDO, 2006). A estrutura química da quitosana é apresentada na Figura 18.

Figura 18 - Estrutura química da quitosana (SANKALIA et al., 2007).

A quitosana é insolúvel em pHs neutro e alcalino, mas as moléculas se tornam solúveis em soluções ácidas, já que os grupos amino livres são protonados (HE et al., 2011). Na presença de soluções diluídas de ácidos, a quitosana comporta-se como um polieletrólito catiônico, constituído de um copolímero de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose e 2-acetamido-2-deoxiD-glicopirranose de composição variável em função do grau médio de acetilação, que representa a fração de unidades 2-acetamido-2-glicopirranose e 2-amino-2-deoxiD-glicopirranose e é um dos principais parâmetros para sua caracterização (SANTOS et al., 2003).

Com o uso de soluções ácidas para a solubilização da quitosana, é necessário neutralizar o policátion, e, para isso, são utilizadas soluções alcalinas (HE et al., 2011).

He et al. (2011) observou em seu trabalho que tratamentos de neutralização com diversas soluções alcalinas podem alterar as propriedades físico-químicas e a compatibilidade com células nos filmes de quitosana. Além das propriedades, a neutralização da quitosana com soluções de altos teores de hidroxila modifica também as características topográficas das moléculas, o que pode ser observado por microscopia de força atômica (NORIEGA; SUBRAMANIAN, 2011).

A quitosana é um polissacarídeo semicristalino com ligações de hidrogênio em sua matriz polimérica. Utilizando solução aquosa de hidróxido de sódio em sua neutralização, há incorporação de moléculas de água na rede cristalina, alterando o polimorfismo da quitosana e, conseqüentemente, suas propriedades mecânicas (HE et al., 2011).

He et al. (2011) trabalharam com neutralização da quitosana com soluções de NaOH e de NaOH adicionado de etanol, para a produção de filmes. Os autores observaram que houve alterações significativas nas propriedades físico-químicas dos filmes e também aumento da compatibilidade na imobilização de células endoteliais na superfície da membrana.

Segundo Rinaudo (2006), a quitosana é o único polímero pseudo-natural com carga catiônica, e, por isso, é utilizada em diversas aplicações. As principais aplicações da quitosana estão relacionadas às pesquisas nas áreas da medicina e da indústria. Dentro da área biomédica, as aplicações são na engenharia de tecidos, cicatrização de feridas, tratamento de queimaduras, oftalmologia e sistema de liberação de drogas. Já na área da indústria, a quitosana vem sendo aplicada na produção de cosméticos, tratamento de águas, indústria do papel, indústria de alimentos, agricultura, biotecnologia e nanotecnologia (LLANOS, 2014).

No sistema de liberação de drogas, a quitosana é muito utilizada devido a suas características de biodegradabilidade e não toxicidade. As propriedades físico-químicas e de permeabilidade da quitosana permitem veicular a droga até o local exato de liberação que se deseja, no organismo (GHAFARI et al., 2007).

A quitosana é muito aplicada na indústria de alimentos devido a biodegradabilidade, alta afinidade eletrostática, à ausência de toxicidade, entre outras propriedades. A capacidade de geleificar e sua propriedade emulsificante também são importantes características que permitem que a quitosana seja utilizada na indústria de alimentos (LLANOS, 2014).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais principais utilizados neste trabalho são amido de milho, alginato de sódio, alginato de cálcio e quitosana. Através do método “dripping”, foi possível aglomerar partículas de amido de milho com alginato de cálcio e com quitosana. As partículas de amido de milho também foram aglomeradas com alginato de sódio utilizando-se o método “high shear” com posterior secagem em leito fluidizado. As partículas produzidas foram submetidas a diversas análises com o objetivo de caracterizá-las.

4.1 Planejamento Experimental: Seleção de variáveis operacionais do processo “high shear”

Como testes preliminares, foram realizados dez experimentos de aglomeração do amido de milho. Os experimentos basearam-se em atomizar a solução de alginato de sódio sobre os grânulos de amido que permaneceram sob agitação em “high shear”. Os produtos foram secos em estufa convectiva a 65 °C por 24 horas.

Os ensaios foram analisados por Planejamento Experimental 2², em que foram variáveis a vazão da solução ligante (solução de alginato de sódio) e sua concentração. O planejamento foi realizado para determinação do experimento que obteve melhor distribuição de tamanho de partículas e aumento de tamanho das partículas, sem presença de torrões, o que indicaria excesso de ligante.

Para a produção da solução de alginato de sódio, foi utilizado 1 mL de álcool etílico para a dispersão do produto antes de ser homogeneizado em água destilada pelo agitador mecânico a 700 rpm. A solução de alginato de sódio foi mantida em agitação magnética enquanto foi gotejada nos grânulos do amido de milho, no “high shear”. Os dois produtos foram homogeneizados por 20 minutos; 10 minutos durante o gotejamento da solução e 10 minutos após cessado o gotejamento. As partículas produzidas foram secas em estufa convectiva a 65 °C.

A Figura 19 apresenta a estrutura montada para a realização desses experimentos.

Figura 19 - Processo de aglomeração em “high shear” utilizado neste trabalho (Estudo I).

A Tabela 10 apresenta as condições experimentais utilizadas no planejamento, estabelecendo-se os limites superior e inferior iguais a 0% e 4% para a concentração de alginato de sódio, e (1 e 5) mL/min para a vazão de ligante.

Tabela 10 – Planejamento experimental para o processo de atomização em “high shear” com as variáveis concentração de ligante e vazão de ligante (Estudo I).

Ensaio	Variável codificada		Variável real	
	X1	X2	Vazão (mL/min)	Concentração (%)
1	-1	-1	1,59	0,586
2	1	-1	4,41	0,586
3	-1	1	1,59	3,41
4	1	1	4,41	3,41
5	0	0	3	2
6	0	0	3	2
7	0	-1,414	3	0
8	0	1,414	3	4
9	-1,414	0	1	2
10	1,414	0	5	2

Com os resultados da distribuição de tamanho de partículas e da umidade dos produtos obtidos nos 10 experimentos, as variáveis ideais para o processo de aglomeração foram determinadas.

4.2 Materiais

No *Estudo I*, foram utilizados 300 gramas de amido de milho (Ingredion Brasil -

Ingredientes Industriais Ltda, Brasil) e alginato de sódio (Protanal VK14, FMC, Estados Unidos), para produção de solução a 3,5% (w/w). Para facilitar a dispersão do alginato de sódio em água destilada, foi utilizado 1 mL de álcool etílico (Dinâmica, mín. 99,5%, Brasil) como agente tensoativo. Posteriormente, a solução de alginato de sódio foi adicionada ao amido de milho no processo por “high shear”, utilizando-se um multiprocessador (modelo Philips Walita RI7625, Brasil).

Para o *Estudo II*, composto de 6 diferentes experimentos, foram utilizadas diferentes quantidades de amido de milho, dependendo da composição final da partícula seca. O alginato de sódio foi utilizado para a produção de solução a 3,5% (w/w) e o álcool etílico para sua dispersão. A solução de alginato de sódio foi adicionada ao amido de milho, obtendo-se uma suspensão, que foi gotejada por uma pipeta de Pasteur em solução de 1%(w/v) de cloreto de cálcio dihidratado P.A. (Sigma-Aldrich, EUA). O cloreto de cálcio apresenta o papel de agente consolidador na formação do alginato de cálcio, quando entra em contato com a solução de alginato de sódio.

O *Estudo III* foi composto de 7 experimentos. Além do amido de milho, foi utilizada quitosana de peso molecular médio (Sigma-Aldrich, EUA). Como a quitosana é solúvel apenas em meios ácidos, 1 grama dela foi colocada em 100 mL de solução de ácido acético a 1% (v/v), produzida com ácido acético glacial P.A. ACS (Ecibra, Brasil), e deixada em repouso a temperatura de 27 °C por 24 horas, para sua completa solubilização. Após o repouso, 10,32 g de amido de milho foram adicionadas à solução de quitosana. A suspensão foi então gotejada por uma pipeta de Pasteur em soluções de hidróxido de sódio de diferentes concentrações molares, que foram produzidas a partir de uma solução inicial de 1 M, feita com 40 gramas de hidróxido de sódio P.A. ACS (Dinâmica, mín. 97%, Brasil) e água destilada até completar o volume de 1000 mL.

4.3 Métodos

Os experimentos foram divididos em 3 estudos. No Estudo I, foi realizada a aglomeração dos grânulos de amido de milho com alginato de sódio pelo método “high shear”, com posterior secagem em leito fluidizado. No Estudo II, os grânulos de amido de milho foram aglomerados com alginato de cálcio, pelo método “dripping”. No Estudo III, uma solução de quitosana foi utilizada para a aglomeração dos grânulos

de amido de milho, pelo método “dripping”. As partículas produzidas foram caracterizadas através de diversas análises. A Figura 20 apresenta o diagrama de fluxos dos processos que foram utilizados em cada um dos estudos e as análises realizadas para a caracterização das partículas.

Figura 20 - Diagrama de fluxos dos experimentos e das análises que foram realizados neste trabalho.

4.4 Análises e Caracterização de partículas

As partículas produzidas pela aglomeração por “dripping” com alginato de cálcio e quitosana e por “high shear” com alginato de sódio passaram por análises para sua caracterização. As análises realizadas foram de diâmetro médio e distribuição de tamanho de partículas, morfologia das partículas, calorimetria diferencial de varredura (DSC), para estudo das temperaturas de gelatinização das partículas, espectroscopia

de infravermelho com transformada de fourier (FT-IR), para análise das ligações moleculares ocorridas, difração de raio X (DRX) para caracterizar a cristalinidade presente nas partículas e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para obtenção de imagens referentes às superfícies das partículas.

As matérias-primas amido de milho e alginato de sódio, além das análises realizadas também para as partículas produzidas passaram pela análise de Potencial Zeta, para observação de suas cargas.

4.4.1 Análise de Potencial Zeta

A análise do Potencial Zeta foi realizada por medidas de mobilidade eletroforética, utilizando-se o equipamento Zeta Plus (Brookhaven Instruments Company, Holtsville, NY, EUA). A condutividade foi ajustada para 50 mS/cm e a mobilidade calculada a partir da equação de Helmholtz-Smoluchowski. As análises de dados se deu através do software incluído no sistema, o ZetaPlus.

Para a realização das análises, a amostra foi diluída em soluções de cloreto de potássio, adicionado a solução de hidróxido de sódio em diferentes concentrações, para pHs, de 8 a 11, e adicionado a solução de ácido clorídrico para pHs de 3 a 6.

4.4.2 Diâmetro médio e distribuição de tamanho de partículas

Tanto as partículas produzidas por aglomeração em “high shear” e secas em estufa convectiva (Planejamento Experimental), quanto as partículas produzidas no Estudo I foram analisadas quanto ao diâmetro médio e a distribuição do tamanho de partículas.

O estudo de granulometria das partículas aglomeradas por “high shear” aconteceu através da peneiragem. As peneiras ASTM, TYLER (A Bronzinox, Brasil) utilizadas possuem diâmetros de (4750, 3350, 2360, 1700, 1180, 850, 600, 425, 300, 212, 150, 106, 75, 53, 38, 25, 20) μm . Cada peneira foi pesada em balança analítica e sua massa foi anotada. Depois, aproximadamente 50 gramas do produto foi colocado no conjunto de peneiras deixados sob agitação por 10 minutos, para separação das partículas de diversos tamanhos presentes no produto. Após a agitação, as peneiras, que apresentaram partículas do produto, foram novamente pesadas. A subtração da massa da peneira com produto e da massa da peneira vazia indicava a massa de produto presente em cada peneira, e então, a massa das partículas com os diferentes diâmetros médios.

O diâmetro médio de Brouckere ($D_{4.3}$) foi calculados baseando-se na fração numérica (f_i) do diâmetro de partícula (dp_{eqi}), como descritos pelas Equações 1 e 2, sendo A_{pi} a área 2D da partícula no intervalo de tamanho “ i ”.

$$dp_{eqi} = 2\sqrt{A_{pi} / \pi} \quad (1)$$

$$D_{4.3} = \frac{\sum f_i dp_{eqi}^4}{\sum f_i dp_{eqi}^3} \quad (2)$$

Além disso, foram determinadas a distribuição de tamanho de partículas e os tamanhos de partículas nos percentis 10%, 50% (mediana) e 90%, para cada uma das amostras e o span das partículas.

4.4.3 Microscopia das partículas

As partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio e quitosana por “dripping” foram analisadas por imagem de microscopia. As partículas foram distribuídas sobre uma lâmina de vidro e observadas em um estereomicroscópio Stereo Discovery V8 (Zeiss, Alemanha), que possui uma câmera digital acoplada (Axiocam ICc3, Zeiss, Alemanha), como mostrado na Figura 21.

Figura 21 - Estereomicroscópio Stereo Discovery V8 (Zeiss, Alemanha) utilizado para microscopia da partículas aglomeradas.

4.4.4 Calorimetria Diferencial de varredura (DSC)

Para a análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC), foi utilizado um equipamento de DSC TA 2010 controlado por módulo TA 4000 (TA Instruments, EUA) e com acessório para resfriamento (SOBRAL et al., 2001). O equipamento está localizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos, na FZEA/USP e é apresentado na Figura 22.

Figura 22 – Equipamento de DSC utilizado para obtenção dos termogramas.

As amostras foram preparadas com as partículas de amido de milho in natura e aglomerados com adição de água destilada. Uma pequena amostra, de aproximadamente 6 mg, de amido foi adicionada em uma cápsula e adicionou-se água destilada para se obter uma suspensão de aproximadamente 80% de água. O tempo de hidratação das amostras foi de 2 horas. As amostras foram aquecidas de 20 °C a 120 °C a uma taxa de 10 °C/min. Transições térmicas de gelatinização foram caracterizadas por T_o (temperatura inicial), T_p (temperatura de pico), T_c (temperatura de conclusão) e ΔH (entalpia de gelatinização) (HAN e BEMILLER, 2007; PEREIRA et al., 2010).

As análises foram realizadas em duplicata.

4.4.5 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Para a realização das análises de FT-IR, conforme Vicentini et al (2005), as amostras foram colocadas sobrepostas sob o sensor do espectrofotômetro Spectrum One (Perkin Elmer, Estados Unidos), localizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos, na FZEA/USP, que está apresentado na Figura 23. Foram realizadas 16 varreduras espectrais de 40 a 4.000 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} . Depois de coletados, os dados foram tratados com o software Spectrum One, (Spectrum One, versão 5.3).

Para a realização das análises de FT-IR, as amostras das partículas aglomeradas com quitosana passaram por um processo de preparação de amostra, em que foram trituradas em um almofariz, transformando-se em pós finos. A etapa da preparação da amostra foi necessária apenas para as amostras aglomeradas com quitosana, pois elas apresentavam tamanhos maiores aos ideais para a realização da análise.

Figura 23 - Espectrofotômetro Spectrum One (Perkin Elmer, USA), utilizado para análises de FT-IR.

4.4.6 Difração de Raio-X (DRX)

Para as análises de difração de Raio-X foi utilizado o equipamento MiniFlex 600 XRD (Rigaku, Japão), localizado no Laboratório de Materiais e Modelagem Dinâmica (MATMOD). A faixa de ângulo utilizado na análise variou entre 5° e 60° com velocidade de 15°/min. A Figura 24 apresenta o equipamento utilizado nas análises.

Figura 24 - Equipamento Rigaku MiniFlex 600 XRD, utilizado para análises de DRX.

Para que fosse possível a realização das análises de DRX, as amostras aglomeradas por “dripping” com alginato de cálcio e quitosana foram trituradas em almofariz, mostrado na Figura 25, transformando-se em pós finos. Sem essa etapa de preparação de amostras, seria impossível a realização das análises, já que a estrutura em que elas se encontravam era de esferas grandes.

Figura 25 - Almofariz utilizado para trituração de amostras.

4.4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os grânulos de amido *in natura* e aglomerados, ou recobertos, com alginato de cálcio, alginato de sódio e quitosana, pelos três diferentes métodos, foram submetidos a análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), a fim de avaliar possíveis transformações na superfície dos grânulos.

O equipamento utilizado foi o microscópio eletrônico Hitachi modelo TM3000

(Hitachi, Japão). A fonte de elétrons utilizada no MEV é filamento de tungstênio e a voltagem de 15 kV. O equipamento apresenta baixo vácuo e não possui captador de elétrons secundários. Seu aumento máximo é de 30 mil vezes; porém, para este trabalho foram utilizados aumentos de até 1,5 mil vezes. A Figura 26 apresenta o microscópio eletrônico de varredura utilizado para as micrografias das partículas.

Figura 26 – Microscópio eletrônico de varredura utilizado para as micrografias.

4.5 Estudo I: Aglomeração de amido de milho com alginato de sódio por “high shear” e secagem em leito fluidizado

Após o estudo das variáveis concentração e vazão da solução de alginato de sódio, foi possível a realização da aglomeração das partículas de amido de milho em “high shear” e a posterior secagem em leito fluidizado. O fluxograma do processo realizado para produção de partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado é mostrado na Figura 27.

Figura 27 - Fluxograma do processo de produção de partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado (Estudo I).

Para produção das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” e posterior secagem em leito fluidizado foram utilizados 300 g de amido de milho e solução de alginato de sódio 3,5% (w/w). Tais valores foram determinados estabelecendo-se que as partículas do produto final tivessem, em sua composição, 99,5% de amido e 0,5% de alginato de sódio.

As partículas foram aglomeradas em “high shear”, utilizando-se um multiprocessador (modelo Philips Walita RI7625, Brasil), como ilustrado na Figura 28. A solução de alginato de sódio a 3,5% foi bombeada até o multiprocessador com vazão de 3,5 mL/min durante 10 minutos, enquanto o equipamento manteve-se ligado, a fim de misturar e homogeneizar o ligante com o material particulado. Após esse determinado tempo, foi desligada a bomba peristáltica responsável pelo transporte do alginato de sódio e o multiprocessador continuou operando durante 10 minutos, com o objetivo de melhor homogeneização do produto. A mistura de amido de milho e solução de alginato de sódio teve como objetivo a aglomeração das partículas e formação de grânulos com maior tamanho.

Figura 28- Multiprocessador utilizado como misturador “high shear” (Estudo I).

Após passar pelo processo de aglomeração no “high shear”, o amido de milho foi seco em leito fluidizado a temperatura de 60 °C, com velocidade do ar de 0,35 m/s.

O material da câmara do leito é aço inoxidável 304. O leito possui conexões de entrada do ar com o ventilador, conexão de saída no topo para o ciclone, que também é de aço inoxidável e cuja função é recolher as partículas arrastadas, controlador de temperatura e a válvula de esfera que permite a frequência de pulsação do ar na fluidização. A alimentação da matéria prima é realizada no topo do leito fluidizado e a retirada do material aglomerado, na sua base. O equipamento de leito fluidizado utilizado na pesquisa é mostrado na Figura 29. O equipamento encontra-se no Laboratório de Operações Unitárias da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP.

Figura 29 - Leito fluidizado pulsado utilizado na secagem das partículas de amido de milho aglomeradas em “high shear” (Estudo I).

O experimento foi realizado em triplicata. As partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio por “high shear” e secas em leito fluidizado foram chamadas de SFB neste trabalho.

4.5.1 Estudo I: Etapa de Secagem em leito fluidizado

Durante a secagem no leito fluidizado, foram retiradas amostras do produto a cada 5 minutos, durante 100 minutos e medida sua umidade em uma balança de halogênio.

Como os dados obtidos na balança foram da umidade em base úmida, foram transformados em base seca para que pudessem ser utilizados numa curva de secagem. A equação utilizada para a conversão de base úmida em base seca é observada na Equação 3.

$$X_{bs} = \left(\frac{X_{bu}}{100 - X_{bu}} \right) * 100 \quad (3)$$

Em que:

X_{bs} = umidade em base seca;

X_{bu} = umidade em base úmida.

Com as médias de umidade em base seca dos três ensaios realizados, gráfico de secagem de umidade foi obtido e a partir dele, a umidade de equilíbrio. Os dados foram normalizados utilizando-se a umidade adimensional adquirida pela Equação 4.

$$W = \frac{X_{bs}^{(t)} - X_{equilíbrio}}{X_{inicial} - X_{equilíbrio}} \quad (4)$$

Em que:

W = umidade adimensional com variação de 0 a 1;

$X_{bs}^{(t)}$ = umidade em base seca da amostra em um instante t qualquer;

$X_{equilíbrio}$ = umidade de equilíbrio;

$X_{inicial}$ = umidade no tempo inicial ($t = 0$).

Para ajuste dos dados experimentais da secagem, foi utilizado o modelo exponencial de Page (PAGE, 1949), cuja equação pode ser observada na Equação 5. Os parâmetros k e n foram calculados com a ferramenta Solver do Microsoft Office Excel, obtendo-se os parâmetros de ajuste pela minimização da soma dos quadrados dos desvios ($Erro^2$), como descrito pela Equação 6. Após o ajuste do modelo aos dados experimentais da cinética de secagem, obteve-se o coeficiente de

determinação (R^2).

$$W_{PAGE} = e^{(-kt^n)} \quad (5)$$

$$Erro^2 = \sum (W - W_{PAGE})^2 \quad (6)$$

4.6 Estudo II: Aglomeração de amido de milho com alginato de cálcio por “dripping”

O fluxograma do processo realizado para produção de partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio pelo método “dripping” é mostrado na Figura 30.

Figura 30 - Fluxograma do processo de produção de partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” (Estudo II).

Para a produção das partículas aglomeradas com alginato de cálcio pelo método de “dripping”, foram realizados 6 experimentos, utilizando-se para cada um deles, quantidades variadas de amido de milho, de tal modo que a concentração final das partículas fosse de (0, 50, 60, 70, 80 e 90)% (w/w) de amido. Às quantidades de amido foi adicionado solução de alginato de sódio a 3,5% (w/w). Para a preparação da solução de alginato de sódio, foi necessário a utilização de 1 ml de álcool etílico para sua dispersão, e então, foi adicionada água destilada. A Tabela 11 apresenta a quantidade utilizada de cada componente para determinada composição das partículas.

Tabela 11 - Quantidade de cada componente para a produção das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” (Estudo II).

Amostra	Fração de Amido (%)	Amido (g)	Água (g)	Alginato (g)
SA00	0	0	160,83	5,83
SA50	50	6,69	160,83	5,83
SA60	60	10,03	160,83	5,83
SA70	70	15,6	160,83	5,83
SA80	80	26,76	160,83	5,83
SA90	90	60,21	160,83	5,83

Para cada formulação (Tabela 11) contendo suspensão aquosa de alginato de sódio e amido de milho, foram realizados os ensaios representados pelas Figuras 31 e 32. As suspensões foram mantidas sob agitação mecânica a 700 rpm, e bombeadas por um tubo de 6 mm até um bico gotejador, constituído de uma agulha para medicamentos (0,70 mm de diâmetro interno) e um tubo de silicone para a passagem de ar comprimido paralelamente ao sentido da formação das gotas. Desta forma, a agulha utilizada e o tubo de silicone foram acoplados, formando dois tubos concêntricos, onde no centro (agulha) ocorreu o escoamento da suspensão, e no ânulo ocorreu a passagem de ar comprimido. A vazão de solução ligante foi mantida em 0,5 mL/min, e a vazão de ar comprimido foi ajustada manualmente, mantendo-se a válvula reguladora de pressão em 1,5 bar. As gotículas produzidas pelo bico foram depositadas em solução aquosa de cloreto de cálcio a 1% (w/v), e sob agitação magnética. As condições operacionais resultaram em um sistema de gotejamento que produziu partículas individualmente.

Após o término do experimento, as partículas formadas foram retiradas da solução de cloreto de cálcio, colocadas em placas de Petri e secas em estufa convectiva a 65 °C por 24 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Figura 31 - Esquema utilizado para produção das partículas pelo método de “dripping” (Estudo II).

Figura 32 - Estrutura utilizada para produção das partículas pelo método de “dripping” (Estudo II).

4.7 Aglomeração de amido de milho com quitosana por “dripping”

O fluxograma do processo realizado para produção de partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana pelo método “dripping” é mostrado na Figura 33.

Figura 33 - Fluxograma do processo de produção de partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por "dripping" (Estudo III).

Para a produção das partículas aglomeradas com quitosana foram realizados 7 experimentos. Os experimentos se basearam em misturar o amido de milho a uma solução de quitosana e gotejar a suspensão formada em solução de hidróxido de sódio a diferentes concentrações molares, de 0,1 M; 0,12 M; 0,14 M; 0,16 M; 0,18 M; 0,20 M. A quitosana é solúvel apenas em meios ácidos e para a preparação da solução, foram utilizados 100 mL de solução de ácido acético a 1% (v/v) e 1 g de quitosana (PERDONES et al., 2014). A solução foi deixada em repouso por 24 horas, à temperatura de aproximadamente 27 °C, até a sua completa solubilização. Após o repouso, foram adicionadas à solução de quitosana 10,32 gramas de amido de milho e misturados com o auxílio de uma espátula. A suspensão formada foi gotejada em solução de NaOH a diferentes concentrações, para que a mistura de quitosana com amido, que era ácida, fosse precipitada em meio alcalino (CHEN et al., 2014). Na Figura 34, pode ser visto o esquema de gotejamento dos experimentos.

Figura 34- Esquema da produção das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana e precipitadas em soluções alcalinas de NaOH (Estudo III).

Após o contato das gotas da suspensão de quitosana e amido com a solução de hidróxido de sódio, esperou-se 10 minutos; as partículas formadas foram retiradas e lavadas com água destilada. As partículas foram colocadas em placas de Petri e secas em estufa convectiva a 65 °C por 24 horas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

As quantidades de amido, quitosana e água foram calculados estabelecendo que as partículas, depois de secas, tivessem em sua composição 90% de amido. As quantidades de cada componente para os experimentos podem ser observadas na Tabela 12.

As partículas denominadas SC000 foram produzidas da mesma maneira que as outras, porém sem a adição de amido. A solução de quitosana, após o repouso, foi gotejada diretamente na solução de NaOH a 0,12 M.

Tabela 12 - Quantidade de cada componente para a produção das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” (Estudo III).

Amostra	Molaridade NaOH	Amido (g)	Quitosana (g)	Ácido acético (mL)	Água (mL)
SC000	0,12	0	1	1	99
SC010	0,1	10,32	1	1	99
SC012	0,12	10,32	1	1	99
SC014	0,14	10,32	1	1	99
SC016	0,16	10,32	1	1	99
SC018	0,18	10,32	1	1	99
SC020	0,2	10,32	1	1	99

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para os três estudos realizados neste trabalho estão apresentados em tópicos distintos. Primeiramente, foram discutidos os resultados do Planejamento Experimental, em que obteve-se as condições operacionais mais adequadas para a aglomeração de amido de milho em misturador tipo “high shear”. No Estudo I, foi realizada a aglomeração do amido de milho com solução de alginato de sódio (3,5%), pelo método de “high shear” com posterior secagem em leito fluidizado.

No Estudo II, foi realizada a produção de partículas aglomeradas de amido de milho, pelo método “dripping”, utilizando-se solução de alginato de sódio (3,5%) e solução de cloreto de cálcio (1%).

No Estudo III, as partículas aglomeradas de amido de milho foram produzidas também pelo método “dripping”, utilizando-se solução aquosa de quitosana (1%) e hidróxido de sódio.

5.1 Determinação do Potencial Zeta das partículas de amido de milho e alginato de sódio

As partículas sólidas quando estão em contato com um líquido podem adquirir cargas em sua superfície. O potencial elétrico do plano de corte (superfície imaginária separando a camada de líquido da superfície sólida em movimento) é chamado potencial zeta. O potencial zeta é importante para entender processos de dispersão e agregação, já que é usado para indicar a carga da superfície, que controla a estabilidade de suspensões coloidais e emulsões.

A Figura 35 mostra o gráfico do potencial zeta do amido de milho e do alginato de sódio em função do pH e os valores do delta do potencial zeta.

Observou-se, a partir do gráfico, que as partículas de alginato de sódio e de amido de milho possuem cargas negativas. Por isso, as duas partículas não se atraem e não se complexam. Reação de complexação é o compartilhamento de um ou mais pares de elétrons de um ânion com um cátion, que tem deficiência de elétrons. As ligações responsáveis por esse compartilhamento de elétrons são ligações covalentes coordenadas (SKOOG et al., 2008).

Figura 35 - Gráfico do Potencial Zeta versus pH

5.2 Planejamento Experimental: Seleção de variáveis operacionais do processo “high shear”

Para a obtenção das variáveis operacionais, foi realizada a aglomeração do amido de milho com solução de alginato de sódio pelo método “high shear”, utilizando-se diferentes concentrações e vazões da solução ligante de alginato de sódio. As amostras obtidas foram secas em estufa convectiva e analisadas quanto ao seu diâmetro médio e distribuição de tamanho de partículas.

A distribuição do tamanho de partículas para as partículas obtidas nos ensaios realizados são apresentadas na Figura 36.

Figura 36 - Distribuição de tamanho de partículas para as partículas de amido de milho nativo e as partículas produzidas nos ensaios 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10.

A partir dos resultados dos tamanhos das partículas e da umidade dos produtos, realizou-se o Planejamento Experimental 2² para obtenção das melhores variáveis para utilização no processo de aglomeração. Os resultados das análises são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Planejamento experimental para o processo de atomização em “high shear” com as variáveis concentração de ligante e vazão de ligante.

Ensaio	Variável codificada		Resultados		
	X1 (vazão)	X2 (concentração)	Umidade b.u. (%)	D4.3 (μm)	Span (-)*
1	-1	-1	16,68	111,00	3,21
2	1	-1	21,94	247,30	15,14
3	-1	1	16,20	121,62	3,28
4	1	1	23,18	330,02	15,36
5	0	0	19,44	176,57	7,30
6	0	0	18,78	158,97	7,30
7	0	-1,414	19,94	140,65	4,95
8	0	1,414	22,78	224,69	7,18
9	-1,414	0	14,16	80,31	0,67
10	1,414	0	23,54	317,24	15,36

*Dispersão da distribuição de tamanho de partículas ($span = \frac{D_{90}-D_{10}}{D_{50}}$).

Observou-se que a umidade ideal para o produto seria de 20%, já que é a umidade que corresponde a um valor próximo à saturação do grânulo (IVESON et al., 2001). Dentro da faixa das partículas com aproximadamente 20%, maximizou-se o diâmetro médio de Brouckere, obtendo cerca de 250 μm . Para restringir ainda mais, diante dos ensaios que tiveram essas duas condições, considerou-se o menor índice “span”, ou seja, a menor amplitude de distribuição de tamanho de partículas.

Utilizando-se o software Mathematica v8.0 (Wolfram, EUA), obteve-se as condições operacionais otimizadas que satisfazem todas as restrições. Como resultado, obteve-se que a vazão de líquido ligante para o processo “high shear” foi igual a 3,5 ml/min, e a concentração da solução ligante (alginato de sódio) igual a 3,5%.

A Equação 10 representa o ajuste estatístico dos resultados experimentais para o diâmetro médio de Brouckere (D4.3), ao modelo polinomial obtido pelo planejamento experimental. O coeficiente de determinação (R^2) para a Equação 10 de 0,9489. Do mesmo modo, as Equações 11 e 12 representam os ajustes para os resultados de dispersão da distribuição de tamanho (*span*) e conteúdo de umidade em base úmida (*Xbu*). Os valores de R^2 para as equações 11 e 12 foram iguais a 0,9310 e 0,8616, respectivamente.

$$D4.3 = 190,8388 + 84,9696 * X1 + 26,5258 * X2 \quad (10)$$

$$span = 7,978516 + 5,592374 * X1 \quad (11)$$

$$Xbu = 19,6640 + 3,18817 * X1 \quad (12)$$

5.3 Estudo I: Aglomeração de amido de milho com alginato de sódio por “high shear” e secagem em leito fluidizado

5.3.1 Estudo I: Produção das partículas

As partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado são apresentadas na Figura 37.

Figura 37 - Partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado (Estudo I).

Observou-se que as partículas aglomeradas com alginato de sódio apresentaram as mesmas características visuais do amido de milho nativo.

5.3.2 Estudo I: Etapa de Secagem em leito fluidizado

Com os dados de umidade obtidos a cada 5 minutos do processo de secagem em leito fluidizado, foi plotada uma curva de secagem, apresentada na Figura 38.

Figura 38 - Gráfico da relação da umidade em base seca (Y) e o tempo (X).

Observou-se que o conteúdo de umidade em base seca decresce com o tempo de secagem até permanecer em um patamar contante, em que foi determinada a umidade de equilíbrio. Para as condições de secagem de 60 °C e 0,35 m/s, a umidade de equilíbrio foi obtida em 7,07% (X_{bs}).

Para melhor análise da curva, obteve-se os valores de umidade adimensional, em que os valores de umidade em base seca são representados em um intervalo entre 0 e 1. A partir desses valores, foi possível o ajuste dos dados experimentais ao Modelo de Page

A curva obtida com o adimensional de umidade e com o modelo está apresentada na Figura 39.

Figura 39 - Gráfico com a relação da umidade adimensional (X_{bs}) e o tempo; Curva ajustada com o modelo exponencial de PAGE.

Observou-se que, aproximadamente aos 80 minutos de secagem, a umidade passou a ser constante, atingindo sua umidade de equilíbrio ($X_{equilíbrio}$). Isso aconteceu porque a umidade das partículas e a umidade do ar dentro do leito fluidizado entraram em equilíbrio e a taxa de secagem passou a ser zero. A partir de então, não houve mais variação significativa na umidade das partículas. Existiram algumas oscilações na curva da umidade amostral que podem ser consideradas como erros. Com o passar do tempo da secagem, algumas partículas ficam aderidas à parede do leito fluidizado, o que pode causar a secagem incompleta do produto.

O ajuste do modelo foi realizado a partir da minimização da soma dos quadrados dos desvios, entre os valores experimentais e os preditos pelo modelo.

Os parâmetros k e n calculados com a ferramenta Solver podem ser observados na Tabela 14. O coeficiente de determinação (R^2) apresentado pelo modelo de Page tem o valor de 0,96, próximo de 1, o que indica que o modelo utilizado se ajustou bem aos dados experimentais.

Tabela 14 - Parâmetros e coeficiente de determinação obtidos do modelo de PAGE.

Parâmetros de ajuste	Valor
k	0,2986
n	0,5208
$X_{equilíbrio}$	7,07%
R^2	0,96

5.3.3 Estudo I: Diâmetro médio e Distribuição de tamanho de partículas

O diâmetro médio de Brouckere calculado para as partículas aglomeradas de amido de milho com alginato de sódio foi de 661,14 μm . Esse valor é maior que o diâmetro médio do amido nativo, que é de 50,83 μm , indicando que houve aumento no diâmetro médio com a aglomeração do amido de milho com alginato de sódio.

A distribuição do tamanho de partículas do amido de milho nativo e do amido de milho aglomerado com alginato de sódio são apresentadas nas Figuras 40 e 41, respectivamente.

Figura 40 - Distribuição de tamanho de partículas, obtida por peneiragem, para o amido de milho nativo

Figura 41 - Distribuição de tamanho de partículas, obtida por peneiragem, para o amido de milho aglomerado com alginato de sódio pelo método “dripping” e secagem em leito fluidizado (Estudo I).

Observou-se que a distribuição do tamanho de partículas do amido de milho nativo é unimodal, apresentando apenas um pico, em torno de 50 µm. A distribuição de partículas do amido de milho aglomerado com alginato de sódio é bimodal, apresentando dois picos. Um dos picos está em torno de 50 µm, sugerindo que a fração mássica de partículas que não sofreram alterações no tamanho foi de aproximadamente 20%. O outro pico está em 500 µm, indicando que quase 20% das partículas possuem tamanho em torno de 500 µm, tamanho maior que o amido de milho nativo.

5.3.3 Estudo I: Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A gelatinização do amido é a ruptura da ordem das moléculas no grânulo de amido e modifica diversas propriedades do amido (ATWELL et al., 1988, *apud* GUL et al., 2014). Ela ocorre na presença de água e a altas temperaturas, cerca de 70 °C para o amido de milho (THEVELEIN, 1980).

A análise de calorimetria diferencial de varredura gera termogramas que permitem a determinação das temperaturas de pico de gelatinização e as temperaturas em que a gelatinização começa e termina, além da sua entalpia. A análise de DSC é importante porque torna possível o conhecimento do perfil da gelatinização da amostra.

A Figura 42 apresenta os termogramas das amostras de amido de milho nativo,

amido de milho aglomerado com alginato de sódio e alginato de sódio puro (Estudo I). Os picos observados nas curvas correspondem a endotermas de gelatinização.

Figura 42 - Curvas de DSC das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado (Estudo I).

A partir dos termogramas foi possível determinar a T_o (temperatura de início de gelatinização), a T_m (temperatura de pico), a T_c (temperatura de final de gelatinização) e o ΔH_{gel} (entalpia de gelatinização). Esses valores são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Valores de T_o , T_m , T_c e ΔH das partículas aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado (Estudo I).

Amostra	Umidade (%)	T_o (°C)	T_m (°C)	T_c (°C)	ΔH_{gel} (J/g)
Amido de milho nativo	78,17	64,40	70,06	80,64	12,602*
SFB	77,72	65,77	71,35	83,86	12,899*
Alginato de sódio	78,29	-*	-*	-*	-*

*Valores não determinados pelo programa.

**Os valores foram calculados baseando-se na massa de amido desidratado.

O amido de milho nativo apresentou T_o de 64,40 °C, T_m de 70,06 °C, T_c de 80,64 °C e ΔH_{gel} de 12,602 J/g, valores próximos aos reportados por Singh et al. (2003). As temperaturas de início e pico de gelatinização da amostra de SFB tiveram

um aumento de aproximadamente 1,2 °C em relação ao amido de milho nativo. Já a temperatura de final de gelatinização apresentou aumento de 3 °C. A entalpia de gelatinização da amostra aglomerada com alginato de sódio permaneceu praticamente igual ao amido de milho nativo.

Observou-se que as temperaturas de gelatinização e a entalpia de gelatinização das partículas aglomeradas com alginato de sódio mantiveram-se praticamente iguais quando comparadas ao amido de milho nativo. Não houve modificações provavelmente porque a fração de alginato de sódio presente nas partículas foi de apenas 0,5%.

A média e o desvio padrão das temperaturas de pico de gelatinização das amostras são apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 – Temperaturas de pico de gelatinização das amostras de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio, após secagem em leito fluidizado (duplicatas).

Amostra	Tp 1 (°C)	Tp 2 (°C)	Média	Desvio Padrão
Amido nativo	70,06	70,43	70,245	0,261629509
SFB	71,35	70,85	71,1	0,353553391
Alginato de sódio	-	-	-	-

5.3.4 Estudo I: Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

A análise de FT-IR é importante para o estudo das interações ocorridas entre as moléculas do amido de milho e do alginato de sódio. A Figura 43 apresenta os espectros das partículas aglomeradas com alginato de sódio em “high shear” e secas em leito fluidizado.

Figura 43 - Espectro de FT-IR das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear”, com secagem em leito fluidizado (Estudo I).

Os espectros do amido de milho nativo e do aglomerado em “high shear” e seco em leito fluidizado (SFB) apresentaram um pico largo em torno de 3289 cm^{-1} . Essa região de base larga e pico arredondado é característica de estiramento dos grupos hidroxil (-OH), formadores de pontes de hidrogênio (TAPIA-BLÁCIDO, 2006). Segundo Banwell (1983), *apud* Dias (2008), o pico na região de comprimentos de ondas próximos a 3500 cm^{-1} indica a contribuição majoritária da molécula de água.

Foram observados também nos espectros do amido de milho e de SFB um pico em 2926 cm^{-1} , indicando alongamento das ligações CH (CH_2 assimétrico), já que são características de picos entre $(2921\text{ e }2932)\text{ cm}^{-1}$ (MAHECHA, 2009; TAPIA-BLÁCIDO, 2006).

Segundo Kizil et al. (2002), picos na região de comprimento de onda de 1642 cm^{-1} são característicos da água adsorvida em região amorfa e estão relacionados com a cristalinidade. Bandas mais nítidas nessa região indicam maior cristalinidade. Os autores determinaram que no espectro da batata, que possui amido com estrutura

cristalina polimorfa tipo B, o pico de 1640 cm^{-1} é mais nítido que nos espectros de outros amidos, que possuem polimorfa tipo A. Observou-se que a amostra de SFB do presente estudo apresentou pico em 1640 cm^{-1} mais nítido que no espectro do amido de milho nativo. Porém, apenas por essa observação não é possível sugerir que a partícula aglomerada em “high shear” apresenta estrutura mais cristalina que o grânulo de amido nativo.

Um pico em 1336 cm^{-1} foi observado nas amostras de amido de milho nativo e de SFB e indicam a deformação angular da ligação C-H. Esses espectros também apresentaram um pico em 1149 cm^{-1} , característico de alongamento de grupos C-C-O, C-C e O-C-O, comumente presentes em carboidratos, como afirmam Cremer e Kalentuç (2003).

O pico em 1076 presente nos espectros de amido de milho nativo e SFB é devido ao estiramento da ligação glicosídica C-O do C-O-H do amido e o pico na região de $(1029-1015)\text{ cm}^{-1}$ é característico do estiramento da ligação C-O do C-O-C do amido (TAPIA-BLÁCIDO, 2006).

Os picos nas regiões $(928, 861\text{ e }764)\text{ cm}^{-1}$ apresentados nos espectros de amido nativo e de SFB são provenientes do estiramento das ligações C-O, como afirma Tapia-Blácido (2006).

No espectro do alginato de sódio, a banda a 1608 cm^{-1} é atribuída à vibração de alongamento assimétrico do grupo -COO e a banda 1421 , à vibração de alongamento simétrico do mesmo grupo (HUANG et al., 1999).

Observou-se que houve manutenção do padrão característico do amido nativo nos espectros de SFB, o que pode indicar que houve preservação da estrutura dos grânulos de amido nas partículas aglomeradas com alginato de sódio

5.3.5 Estudo I: Difração de Raio-X (DRX)

A difração de Raio X é uma técnica muito utilizada para identificar, em materiais sólidos, fases cristalinas e propriedades estruturais. Uma importante característica é que é uma técnica não-destrutiva (AZHAR et al., 2014). A Figura 44 apresenta os espectros dos grânulos de amido de milho nativo e das partículas aglomeradas com alginato de sódio.

Figura 44 - Espectro de DRX das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear”, com secagem em leito fluidizado (Estudo I).

Os grânulos de amido de milho nativo apresentam perfil de difração de estrutura semicristalina (RATNAYAKE; JACKSON, 2007). Seu espectro de DRX apresentou picos em 15° e 23° e um pico duplo em 17° e 18°. Esses picos são característicos de domínio cristalino do tipo A, como afirma Pereira et al. (2010).

O espectro de DRX do alginato de sódio apresenta dois picos cristalinos, em torno de 13° e de 23° (YANG et al., 2000).

O amido de milho aglomerado com alginato de sódio (SFB) apresentou em seu espectro os mesmos picos característicos de estrutura polimorfa A que o amido de milho nativo, porém menos intensos. Esse resultado era previsto, já que a maior parte da composição das partículas de SFB é de grânulos de amido de milho.

Os picos relacionados à cristalinidade do alginato de sódio ($2\theta = 13^\circ$; $2\theta = 23^\circ$) não foram evidentes no espectro de SFB. Tal fato acontece porque o empacotamento fechado das moléculas de alginato de sódio foi quebrado pela interação entre amido e alginato para formação dos cristalitos. Wang et al. (2010) produziram fibras com amido de milho e alginato de sódio, cujos picos em 13° e 23° apresentaram-se cada

vez menos intensos com o aumento da quantidade de amido presente.

Como a quantidade de grânulos de amido de milho na amostra SFB foi de 99,5% para apenas 0,5% de alginato de sódio, os picos característicos do amido (15°, 17°, 18° e 23°) se sobressaíram em relação aos picos do alginato de sódio, preservando na amostra SFB o padrão de cristalinidade característico dos grânulos de amido de milho nativo.

5.3.6 Estudo I: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias realizadas pelo MEV para as partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio em “high shear” e secas em fluidizado podem ser observadas na Figura 45.

Figura 45 - Imagens obtidas por MEV das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio pelo método “high shear” com secagem em leito fluidizado. A) amido nativo-aumento de 500 vezes; B) amido aglomerado-aumento de 500 vezes; C) amido nativo-aumento de 1500 vezes; D) amido aglomerado-aumento de 1500 vezes (Estudo I).

As partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de sódio (SFB) apresentaram grânulos de amido bastante aglomerados, juntos uns aos outros, quando comparados ao amido de milho nativo (Figura 45A), como pode ser observado na Figura 45B.

A Figura 45D mostrou que as partículas formadas pela aglomeração dos grânulos de amido apresentou tamanho relativamente maior que as partículas de amido de milho nativo, apresentado na Figura 45C.

Mendez (2013) observou que o processo de aglomeração de farinha de banana verde realizado em leite fluidizado pulsado produziu partículas de tamanhos maiores que as originais.

5.4 Estudo II: Aglomeração de amido de milho com alginato de cálcio por “dripping”

No Estudo II, as partículas aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” foram analisadas quanto à sua aparência, temperatura de gelatinização, ligações moleculares e cristalinidade. As partículas diferenciaram-se do amido de milho nativo à medida em que a quantidade de alginato de cálcio aumentou.

5.4.1 Estudo II: Produção das partículas

As partículas aglomeradas com alginato de cálcio produzidas por “dripping” podem ser observadas na Figura 46.

Figura 46 - Partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” com diferentes concentrações de amido de milho (Estudo II).

Observou-se que quanto menor foi a quantidade de amido, mais circular apresentou-se a partícula. Observou-se que as partículas SA90 foram facilmente quebradas quando pressionadas, diferente das partículas SA50, SA60 e SA70.

As partículas, quando formadas pela agulha e em contato com a solução de cloreto de cálcio, apresentaram-se individualmente, uma a uma. Porém, durante a secagem convectiva, ocorreu a formação de agregados das partículas aglomeradas, decorrentes da formação de pontes sólidas.

Observou-se que os agregados formados durante a secagem diminuiu com o aumento da quantidade de grânulos de amido de milho presentes nas partículas. Isso acontece porque quanto maior a quantidade de alginato de sódio na preparação das partículas, maiores são as moléculas disponíveis para formar pontes sólidas com o cloreto de cálcio, formando o alginato de cálcio.

5.4.2 Estudo II: Microscopia das partículas

As micrografias das partículas aglomeradas com alginato de cálcio foram realizadas por um estereomicroscópio e são observadas na Figura 47. As imagens foram importantes para a observação do tamanho das partículas em relação com a quantidade de grânulos de amido nativo presentes e para a visualização das pontes sólidas formadas entre as partículas durante a secagem.

Figura 47 – Micrografias realizadas por estereomicroscópio das partículas aglomeradas com alginato de sódio por “dripping” (Estudo II).

As amostras SA50, SA60 e SA70 apresentaram partículas bastante pequenas, com menos de 1000 μm . Entre as amostras com 50% e 60% de amido, não se observou grande diferença em termos de tamanho, mas as partículas com 70% de amido (SA70) apresentou partículas maiores. Observou-se nas amostras SA50, SA60 e SA70 partículas aglomeradas umas às outras, referentes às pontes sólidas formadas durante a secagem em estufa convectiva. Essas partículas apresentaram-se, na maioria das vezes, perfeitamente redondas.

A amostra com 80% de grânulos de amido (SA80) apresentou tamanho de partículas de quase 1000 μm , visualmente maiores que as partículas de SA50, SA60 e SA70, e sem a presença de partículas aglomeradas, já que a quantidade de alginato de cálcio presente é muito menor que nas outras amostras, diminuindo a formação das pontes sólidas. Observou-se que as partículas SA80 não são perfeitamente redondas, provavelmente decorrente da alta viscosidade da mistura de alginato de sódio e amido de milho no momento da formação das gotas que originaram as partículas.

As partículas com 90% de grânulos de amido (SA90) possuem características visuais semelhantes com a SA80, já que não são perfeitamente redondas e também não possuem pontes sólidas. Porém, o tamanho das partículas SA90 são maiores, possuindo diâmetro maior que 1000 μm , como pode ser observado na Figura 47.

Observou-se que o tamanho das partículas aumenta e sua circularidade diminui conforme aumenta-se a quantidade de amido presente. As pontes sólidas formadas pela complexação do alginato de sódio com o cloreto de cálcio, que forma o alginato de cálcio, diminuiu conforme aumentou-se a fração de amido presente nas partículas.

5.4.3 Estudo II: Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A temperatura de gelatinização do amido é um importante parâmetro neste trabalho, já que através dele é possível analisar o quanto as modificações realizadas nas amostras de amido de milho foram satisfatórias em relação à sua degradação térmica. A Figura 48 apresenta os termogramas do amido de milho nativo e das partículas aglomeradas com alginato de cálcio pelo método “dripping”, com (0, 50, 60, 70, 80 e 90)% de fração de amido de milho.

Figura 48 - Curvas de DSC das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).

Tratando os dados dos termogramas pelo software Universal Analyser TA, determinou-se as temperaturas de início (T_o), de pico (T_m) e final (T_c) de gelatinização e a entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}) para cada uma das amostras produzidas e para os grânulos de amido de milho nativo. Tais parâmetros são observados na Tabela 17.

Tabela 17- Valores de T_o , T_m , T_c e ΔH das partículas aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).

Amostra	Umidade (%)	T_o (°C)	T_m (°C)	T_c (°C)	ΔH_{gel} (J/g)
Amido de milho nativo	78,17	64,4	70,06	80,64	12,602**
SA90	76,28	66,82	72,86	83,91	9,616**
SA80	81,66	65,966	72,79	83,63	9,711**
SA70	74,95	68,85	76,06	86,26	6,754**
SA60	80,98	67,95	75,91	88,03	7,040**
SA50	76,34	67,85	76,12	89,03	6,285**
SA00	70,36	-*	-*	-*	-*

*Valores não determinados pelo programa.

**Os valores foram calculados baseando-se na massa de amido desidratado.

Observou-se que o amido de milho de milho nativo apresentou temperaturas de início, pico e final de gelatinização semelhantes com as reportadas na literatura (SINGH et al., 2003). As partículas aglomeradas com alginato de cálcio SA90, SA80, SA70, SA60 e SA50 apresentaram diferenças em todos os parâmetros.

As partículas SA00 trataram-se de partículas aglomeradas sem a presença de grânulos de amido, contendo apenas o alginato de cálcio. Assim, não houve pico de gelatinização para essa amostra dentro da temperatura estipulada, de 20 °C a 100 °C.

Para as partículas aglomeradas com 90% de grânulos de amido em sua composição (SA90), os valores de T_o , T_m e T_c tiveram um aumento de 2 °C, em comparação com o amido de milho nativo. À medida em que a quantidade de grânulos de amido diminuiu nas amostras, ou seja, que a quantidade de alginato de cálcio aumentou, as temperaturas ficaram gradativamente maiores que as temperaturas do amido nativo.

A temperatura de início de gelatinização aumentou de 64,4 °C do amido de milho nativo para 67,85 °C das partículas aglomeradas com 50% de amido (SA50), um aumento de 3,45 °C.

A temperatura de pico de gelatinização aumentou gradativamente conforme diminuiu-se a fração de grânulos de amido presentes nas partículas. De 70,06 °C do amido de milho nativo, passou para 76,12 °C das partículas com 50% de amido (SA50). O mesmo fato foi observado para a temperatura final de gelatinização, que aumentou de 80,64 °C dos grânulos de amido de milho nativo para 89,03 °C das partículas SA50.

Mesmo para as partículas com maior quantidade de amido em sua composição, houve aumento nas T_o , T_m e T_c . No caso da amostra SA70, com 70% de amido, houve um aumento na temperatura de pico de 6,0 °C, passando de 70,06 °C do amido nativo para 76,06 °C para as partículas SA70.

Diante dos resultados obtidos, observou-se que a aglomeração dos grânulos de amido de milho com o alginato de cálcio pelo método “dripping” gerou partículas com uma estrutura mais resistente à gelatinização. Pode-se, assim, sugerir que a presença do alginato de cálcio nos grânulos de amido de milho criou uma barreira física que proporcionou resistência térmica às partículas aglomeradas.

A entalpia de gelatinização das partículas aglomeradas ficaram menores conforme diminuiu-se a quantidade de amido presente nas partículas. A entalpia das

partículas SA50 foi de 6,285 J/g, um pouco menos da metade da entalpia de gelatinização dos grânulos de amido de milho nativo, que foi de 12,602 J/g. Porém, se considerarmos a entalpia de gelatinização pela fração de grânulos de amido de milho presente nas partículas, não há diferença significativa entre os ΔH_{gel} do amido de milho nativo e das partículas SA50. Isso porque, se for considerado a entalpia de gelatinização por grama de amido, e não de matéria seca, o valor da entalpia de AS50 é de 12,570 Joules para cada grama de amido.

As temperaturas de pico de gelatinização das partículas aglomeradas com alginato de cálcio após a secagem e sua média e desvio padrão são apresentadas na Tabela 18.

Tabela 18– Temperaturas de pico de gelatinização das amostras de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, após a secagem (duplicatas).

Amostra	Tp 1 (°C)	Tp 2 (°C)	Média	Desvio Padrão
Amido nativo	70,06	70,43	70,25	0,26
SA90	72,86	73,4	73,13	0,38
SA80	72,79	73,22	73,01	0,30
SA70	76,06	77,03	76,55	0,69
SA60	75,91	76,59	76,25	0,48
SA50	76,12	78,89	77,51	1,96
SA00	-	-	-	-

5.4.4 Estudo II: Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de FT-IR das partículas aglomeradas com alginato de cálcio podem ser observados na Figura 49.

Figura 49 - Espectro de FT-IR das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).

Todos os espectros observados nessa análise apresentaram picos entre (3289 e 3316) cm^{-1} , referentes ao estiramento dos grupos hidroxil (-OH), formadores de pontes de hidrogênio (TAPIA-BLÁCIDO, 2006) e característicos da contribuição da molécula de água.

A respeito do pico 2926 cm^{-1} do amido de milho nativo, houve uma diferenciação nas amostras das partículas aglomeradas. Conforme diminuiu-se a quantidade de amido presente, o pico foi se tornando cada vez menos intenso. Esse pico é referente ao alongamento das ligações CH (CH_2 assimétrico) (MAHECHA, 2009; TAPIA-BLÁCIDO, 2006).

O pico na região de 1411 cm^{-1} presente no espectro do alginato de cálcio, referente à vibração de alongamento assimétrico do grupo $-\text{COO}$, diminuiu de intensidade gradativamente, à medida em que a quantidade de amido presente nas partículas aumentou. Já o pico de 1336 cm^{-1} observado no espectro de amido de milho nativo diminuiu de intensidade nos outros espectros, conforme diminuiu-se a

quantidade de amido presente.

Observou-se que os picos característicos do amido de milho nativo, como em 995 cm^{-1} mantiveram-se nos espectros das partículas aglomeradas, embora sua intensidade tenha diminuído com o aumento da fração de alginato de cálcio presente.

5.4.5 Estudo II: Difração de Raio X (DRX)

A difração de Raio X, responsável por caracterizar os produtos quanto à sua cristalinidade, é uma importantes análise. A Figura 50 apresenta o espectro das partículas aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”.

Figura 50 - Espectro de DRX das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).

O espectro de DRX de amido de milho nativo apresentou picos em 15° e 23° e um pico duplo em 17° e 18° , característico de domínio cristalino tipo A (PEREIRA et al., 2010). O alginato de cálcio (SA00) apresenta espectro com alguns picos amorfos (ZHAO et al., 2014).

Observou-se que nos espectros de SA80 e SA90, não houve grandes modificações nos picos, em comparação com o espectro de amido de milho nativo, embora os picos tenham aparecido em menores intensidades. Sugere-se que para essas partículas, houve manutenção do padrão de cristalinidade do amido nativo e que a estrutura foi preservada. As partículas com (80 e 90)% de amido apresentaram picos relacionados ao alginato de cálcio muito pequenos, como em 11°, 25° e 29°.

As partículas SA70, SA60 e SA50 apresentaram picos característicos do alginato de cálcio mais intensos e os picos característicos da cristalinidade do amido pouco intensos.

Os picos referentes à cristalinidade do amido (15°, 17°, 18° e 23°) diminuíram de intensidade conforme aumentou-se a quantidade de alginato de cálcio nas partículas. Houve, portanto, maior preservação da estrutura cristalina do grânulo de amido com o aumento da quantidade de grânulos de amido de milho presente.

5.4.6 Estudo II: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises em microscópio eletrônico de varredura (MEV) foram essenciais para a observação das modificações realizadas nas partículas aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”. As imagens obtidas no MEV com aumento de 100 vezes são mostradas na Figura 51 e a Figura 52 apresenta as imagens obtidas com aumento de 500 vezes.

Figura 51 - Imagens obtidas por MEV (aumento de 100 vezes) das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, seguido de secagem em leito fluidizado, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).

Figura 52 - Imagens obtidas por MEV (aumento de 500 vezes) das partículas de amido de milho aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping”, seguido de secagem em leito fluidizado, com diferentes concentrações de amido (Estudo II).

Observou-se que em relação aos grânulos de amido de milho nativo, as partículas SA90, SA80, SA70, SA60 e SA50 apresentaram-se unidas umas às outras, com a presença de pontes sólidas formadas pelo alginato de cálcio. Fica nítido nas imagens que conforme a quantidade de amido na partícula foi diminuída, os grânulos de amido encontraram-se mais aglomerados, e com maior número de pontes sólidas visíveis.

Nas partículas SA90, foi observado que os grânulos de amido presentes estão em grande número, já que compõem 90% delas. Os grânulos apresentam-se bastante aglomerados e há pontes sólidas formadas pelo alginato de cálcio. Porém, o número dessas pontes não é elevado, já que apenas 10% das partículas são formadas de alginato de cálcio.

As partículas SA80 apresentaram grânulos de amido ainda mais aglomerados que nas partículas SA90 e maior número de pontes sólidas visíveis. Aumentando-se a fração de alginato de cálcio presente, no caso das partículas SA70, observa-se um número maior de pontes sólidas e grande quantidade de grânulos de amido aglomerados.

Nas micrografias das partículas SA60, observou-se que o número de grânulos de amido diminuiu em relação às partículas SA70. Apesar de serem visível grânulos de amido nessas partículas, observa-se uma estrutura diferenciada, com grande parte da composição de uma massa densa, com pontes sólidas de alginato de cálcio.

As partículas SA50, com 50% de amido e 50% de alginato de cálcio apresentaram superfície com menor quantidade de grânulos de amido e maior quantidade de pontes sólidas. Os grânulos de amido presente e a massa de alginato de cálcio estão ainda mais aglomerados do que nas partículas SA60, se aproximando muito visualmente das partículas SA00, em que não há presença de grânulos de amido de milho. Nas partículas SA60, foi possível identificar uma grande parte de massa densa, supostamente referente ao alginato de cálcio.

Diante dos resultados obtidos pelas micrografias, ficou nítido que quanto maior a quantidade de alginato de cálcio presente na partícula, maior a aglomeração dos grânulos de amido e o número de pontes sólidas.

5.5 Estudo III: Aglomeração de amido de milho com quitosana por “dripping”

O Estudo III foi responsável por produzir partículas formadas de grânulos de amido de milho aglomerados com quitosana, precipitando-as em soluções alcalinas de NaOH a diferentes concentrações molares. As partículas depois de secas em estufa convectiva a 65 °C foram submetidas a diversas análises, para sua caracterização, como DSC, FT-IR, DRX e MEV.

5.5.1 Estudo III: Produção das partículas

As partículas aglomeradas com quitosana foram produzidas por “dripping” em solução de hidróxido de sódio. A Figura 53 apresenta as partículas de amido de milho com quitosana gotejadas nas soluções de NaOH, no momento em que foram produzidas.

Figura 53 - Formação das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).

Observou-se que as partículas aglomeradas sem o amido de milho (SC000) apresentaram-se transparentes quando entraram em contato com a solução de NaOH 0,12 M. devido à ausência do amido. As partículas precipitadas com soluções de NaOH de 0,10 M, 0,12 M e 0,14 M (SC010, SC012, SC014, respectivamente) não apresentaram transparência quando observadas visualmente. Elas permaneceram dessa forma até o final dos 10 minutos que ficaram de repouso até serem retiradas, lavadas e colocadas na estufa.

As partículas SC016, precipitadas em solução de NaOH de 0,16 M, não apresentaram-se transparentes assim que entraram em contato com a solução precipitante. Porém, após os 10 minutos que ficaram em repouso, a periferia de cada partícula tornou-se praticamente invisível, formando um tipo de anel em volta da massa branca que se encontrava no centro da partícula. Para as partículas SC018, a periferia ficou ainda mais transparente com o contato com a solução de 0,18 M. As partículas SC020 apresentaram a periferia bastante transparente logo que entraram em contato com a solução de NaOH e com o passar do tempo, tornaram-se transparentes por completo. É provável que as partículas SC016, SC018 e SC020 tenham ficado transparentes porque os grânulos de amido que estavam presente foram solubilizados pelo hidróxido de sódio. A solução de hidróxido de sódio atingiu as partículas de amido e quitosana da periferia para o centro.

Após os 10 minutos de repouso, as partículas foram retiradas da solução de NaOH, lavadas com água destilada e colocadas em placas de Petri. Foram secas em estufas convectivas a 65 °C por 24 horas. As partículas secas são apresentadas na Figura 54.

Figura 54 - Partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping”, depois de secas (Estudo III).

Para retirar as partículas SC000 da placa de Petri após a secagem, houve grande dificuldade, pois estavam aderidas a ela. Elas foram retiradas com uma espátula e algumas se quebraram. Essas partículas apresentaram espessura bastante fina, semelhante a uma película.

Observou-se que as partículas SC010 e SC012 apresentaram-se, depois da secagem, com coloração esbranquiçadas, porém não extremamente redondas e com tamanhos relativamente menores do que se encontravam antes da secagem.

Algumas das partículas da amostra SC014 apresentaram-se esbranquiçadas, como as partículas SC010 e SC012. Porém, a outra parte das partículas ficaram transparentes e amareladas. Provavelmente, isso aconteceu porque parte das partículas presentes no experimento SC014 foram gelatinizadas em solução alcalina de hidróxido de sódio e parte delas se mantiveram intactas.

As partículas SC016, SC018 e SC020 apresentaram-se bem finas, com aspecto transparente e amarelado. O hidróxido de sódio nas concentrações 0,16 M, 0,18 M e 0,20 M, ao entrar em contato com as partículas aglomeradas de amido e quitosana, solubilizaram os grânulos de amido, fazendo com que não existisse grânulo de amido intacto nessas partículas. É por esse motivo que as partículas não ficam com a cor original do amido, branca, e sim com aspecto transparente.

5.5.2 Estudo III: Microscopia das partículas

As partículas aglomeradas com amido de milho e quitosana passaram por análise de microscopia em um estereomicroscópio, para a observação de suas características estruturais. As imagens obtidas são apresentadas na Figura 55.

Figura 55 – Micrografias realizadas por estereomicroscópio das partículas aglomeradas com quitosana por “dripping” (Estudo III).

A partir das micrografias obtidas, observou-se que as partículas precipitadas em soluções de NaOH a 0,10 e 0,12 molar (SC010 e SC012) apresentaram-se escuras, indicando a presença de grânulos de amido de milho intactos nas partículas. As partículas SC014 apresentam estrutura fina, de cor amarelada e transparente, indicando que a maior parte do amido presente na solução de quitosana responsável pela formação da partícula foi gelatinizada pela solução de hidróxido de sódio.

Nas partículas SC016, SC018 e SC020, não há evidência de grânulos de amido intactos, já que a estrutura apresentada foi bastante diferente das partículas SC010 e SC012, em que há grânulos intactos. Observou-se que as partículas precipitadas em soluções de NaOH a (0,16, 0,18 e 0,20) molar apresentaram aspecto transparente, cor amarelada e espessura fina, com estrutura semelhante a uma película, assim como as partículas SC000, em que não houve adição de amido.

5.5.3 Estudo III: Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de DSC foram importantes para gerar termogramas das partículas aglomeradas com quitosana e precipitadas em solução alcalina de hidróxido de sódio a diferentes concentrações e do amido de milho nativo. Tais termogramas são observados na Figura 56.

Figura 56 - Curvas de DSC das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).

Utilizando o software Universal Analyser TA, foi possível tratar os dados dos termogramas e determinar T_o (Temperatura de início de gelatinização), T_m (temperatura de pico) e T_c (temperatura de final de gelatinização), além dos valores da entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}). Os valores determinados são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 - Valores de T_o , T_m , T_c e ΔH das partículas aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).

Amostra	Umidade (%)	T_o (°C)	T_m (°C)	T_c (°C)	ΔH_{gel} (J/g)
Amido de milho nativo	78,17	64,4	70,06	80,64	12,602**
SC010	68,12	71,17	76,30	88,04	7,108**
SC012	73,65	71,14	76,14	88,19	13,245**
SC014	76,78	-*	-*	-*	-*
SC016	75,49	-*	-*	-*	-*
SC018	70,23	-*	-*	-*	-*
SC020	76,06	-*	-*	-*	-*
SC000	72,01	-*	-*	-*	-*

*Valores não determinados pelo programa.

**Os valores foram calculados baseando-se na massa de amido desidratado.

O amido de milho apresentou temperaturas de início, pico e final de gelatinização semelhantes aos reportados na literatura por SINGH et al. (2003). Através dos termogramas e da Tabela 19, observou-se que a maior parte das partículas produzidas não apresentaram picos de gelatinização.

As partículas aglomeradas e precipitadas em solução alcalina de NaOH de (0,14, 0,16, 0,18 e 0,20) M não apresentaram picos de gelatinização no DSC. Provavelmente, este fato aconteceu porque ao entrar em contato com a solução de hidróxido de sódio, os grânulos de amido de milho presentes na partícula foram solubilizados, antes mesmo da secagem das partículas. Observou-se que quanto maior foi a concentração molar da solução de NaOH, menos detectável é o pico correspondente ao de gelatinização do amido, devido à sua gelatinização em solução alcalina.

A partícula SC000 não apresentou pico de gelatinização pois foi produzida sem a presença de grânulos de amido. A quitosana, sem o amido, foi gotejada na solução de hidróxido de sódio. Assim, o termograma dessa partícula foi importante como um controle, para observar que na temperatura estipulada, não houve pico de gelatinização.

As partículas que foram precipitadas em NaOH de 0,10 M (SC010) apresentaram temperatura inicial de 71,17 °C, maior que a temperatura inicial do amido de milho nativo (64,40 °C). Sua temperatura de pico foi de 76,30 °C, enquanto a do amido nativo foi de 70,06 °C e a temperatura final aumentou de 80,64 °C para 88,04 °C, um aumento de 7,4 °C.

As temperaturas referentes às partículas aglomeradas e precipitadas em solução de NaOH de 0,12 M (SC012), não foram muito diferentes das SC010, como é observado na Tabela 19, provavelmente porque a fração de amido presente nessas partículas foi a mesma.

Considerando que as temperaturas de gelatinização das partículas SC010 e SC012 aumentaram em relação ao amido de milho nativo, sugere-se que a aglomeração dos grânulos de amido de milho com quitosana criou uma barreira que tornou a estrutura interparticular mais resistente à degradação térmica que os grânulos de amido de milho nativo.

Em relação à entalpia de gelatinização, houve um pequeno aumento nas partículas SC012 comparando-a com a do amido de milho nativo. Porém, a ΔH_{gel} das

partículas SC010 apresentou uma grande queda em comparação à do amido nativo.

As temperaturas de pico de gelatinização das duplicatas realizadas para as partículas aglomeradas de amido de milho com quitosana por “dripping” são apresentadas na Tabela 20.

Tabela 20 – Temperaturas de pico de gelatinização das amostras de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping”, após a secagem (duplicatas).

Amostra	Tp 1 (°C)	Tp 2 (°C)	Média	Desvio Padrão
Amido nativo	70,06	70,43	70,245	0,261629509
SC010	76,3	76,82	76,56	0,367695526
SC012	76,14	76,26	76,2	0,084852814
SC014	-	-	-	-
SC016	-	-	-	-
SC018	-	-	-	-
SC020	-	-	-	-
SC000	-	-	-	-

5.5.4 Estudo III: Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de FT-IR para as partículas aglomeradas com quitosana e responsáveis pela análise das ligações moleculares, são apresentados na Figura 57.

Figura 57 - Espectro de FT-IR das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).

O espectro da quitosana apresenta uma banda característica a 3348 cm^{-1} que foi atribuída a alongamento vibracional de grupos $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$. O amido de milho também apresenta um pico largo em torno de 3289 cm^{-1} , relacionado aos grupos hidroxil ($-\text{OH}$) da água (TAPIA-BLÁCIDO, 2006). Assim sendo, todos os espectros das análises de amido aglomerado com quitosana apresentaram picos entre 3279 e 3372 , referentes à presença de água.

Foi observado no espectro de amido de milho nativo um pico em 2926 cm^{-1} , e um no espectro de quitosana; ambos indicando o alongamento das ligações CH_2 assimétricas. Todas as amostras apresentaram esses picos, porém nas partículas SC010 e SC012 eles foram mais intensos.

A banda em torno de 1654 cm^{-1} no espectro da quitosana foi referente à banda da amida e sua intensidade aumentou nas partículas SC010 e SC012. O pico de 1578 cm^{-1} , referente às ligações NH (amida II) da quitosana deslocou-se para 1584 cm^{-1} com a adição de amido de milho. Essa alteração sugere a presença de interações entre grupos aminos da quitosana e hidróxilos do amido (ABDOU et al., 2013).

Diante dos resultados observado, sugere-se que houve interação entre o amido de milho e a quitosana. Observou-se que o padrão do espectro do amido de milho manteve-se o mesmo nas partículas aglomeradas.

5.5.5 Estudo III: Difração de Raio-X (DRX)

Os espectros de DRX das partículas aglomeradas com grânulos de amido de milho e quitosana apresentam-se na Figura 58.

Figura 58 - Espectro de DRX das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por "dripping" em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).

O perfil de DRX de amido de milho apresenta picos em 15° , 23° e um pico duplo em 17° e 18° , característicos de domínio cristalino tipo A (PEREIRA et al., 2010).

O espectro da quitosana apresenta dois picos amplos; um deles em torno dos 10° e o outro em torno dos 20° , o que indica estrutura estável da α -quitina (WADA; SAITO, 2001).

Nos espectros das partículas aglomeradas com quitosana, observou-se que com o aumento da molaridade da solução de NaOH, os picos característicos do amido de milho nativo tornaram-se gradativamente menos intensos e o pico $2\theta = 20^\circ$ da quitosana tornou-se mais intenso. Esse resultado sugere que a quantidade de

grânulos de amido nativo presentes nas partículas diminuiu conforme aumentou-se a concentração molar da solução de NaOH, o que confirma a hipótese de que todos – ou praticamente todos – os grânulos de amido presente nessas partículas foram solubilizados pelo contato com a solução de hidróxido de sódio (0,16, 0,18 e 0,20) M.

No espectro das partículas SC014, apesar dos picos característicos do amido se encontrarem menos intensos, eles ainda podem ser observados, indicando que ainda há grânulos de amido de milho intactos nessas partículas.

Observou-se que o padrão de Raio X do amido de milho nativo foi mantido nas partículas SC010, SC012 e SC014, indicando que houve preservação da estrutura dos grânulos de amido nessas amostras.

5.5.6 Estudo III: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) das partículas aglomeradas de amido de milho com quitosana podem ser observadas na Figura 59.

Figura 59 - Imagens obtidas por MEV das partículas de amido de milho aglomeradas com quitosana por “dripping” em solução de NaOH a diferentes concentrações molares (Estudo III).

As partículas de amido recobertas com quitosana e precipitadas em solução alcalina de hidróxido de sódio a 0,10 M (SC010) apresentaram grânulos de amido de milho intactos e bastante aglomerados, quando comparados aos grânulos de amido de milho nativo. O mesmo aconteceu com as partículas SC012, que foram aglomeradas com quitosana e precipitadas em solução de NaOH a 0,12 M, não havendo, portanto, diferenças visuais nas superfícies das partículas SC010 e SC012.

Nas micrografias das partículas SC014, aglomeradas e precipitadas em solução alcalina de NaOH 0,14 M, foram observados grânulos de amido de milho. Porém, nem todos os grânulos apresentaram-se intactos; muitos deles apresentam características de que foram solubilizados.

Aumentando a concentração molar do hidróxido de sódio responsável por precipitar as partículas aglomeradas de amido com quitosana para 0,16 M, observou-se, através da micrografia, que elas apresentaram grânulos de amido, mas a maioria já tinha sido solubilizado quimicamente pela degradação das pontes sólidas.

As partículas S018 e S020 (precipitadas em solução alcalina de NaOH de 0,18 M e 0,20 M, respectivamente) não apresentaram em suas micrografias grânulos de amido intactos; todos eles foram solubilizados, formando uma superfície homogênea, em que não foi possível observar os grânulos de amido.

As partículas SC010 e SC012, em que os grânulos de amido não foram solubilizados pelo hidróxido de sódio, apresentaram aglomeração satisfatória, em comparação ao amido de milho nativo. Quanto às partículas SC014, SC016, SC018 e SC020, tiveram seus grânulos de amido solubilizados, o que faz com que se torne inviável para futuras aplicações.

6 CONCLUSÕES

O amido de milho aglomerado com alginato de sódio em “high shear” e seco em leite fluidizado (Estudo I) apresentou aumento discreto no tamanho das partículas, porém não apresentou diferença na temperatura de gelatinização quando comparado ao amido de milho nativo. Esse resultado é devido, provavelmente, ao baixo teor de alginato de sódio, 0,5%, presente nas partículas.

No Estudo II, as partículas aglomeradas com alginato de cálcio por “dripping” apresentaram diferenças na temperatura de gelatinização quando comparadas ao amido de milho nativo. As partículas com 70% de amido (SA70) apresentaram alta temperatura de pico de gelatinização, levando-se em conta a razão entre a fração de amido e a fração de alginato de cálcio. Embora sendo constituído de apenas 30% de alginato de cálcio, a amostra apresentou aumento na temperatura de gelatinização.

No Estudo III, as partículas aglomeradas com amido de milho e quitosana e neutralizadas em solução de NaOH 0,1 M e 0,12 apresentaram aumento na temperatura de gelatinização quando comparadas ao amido de milho nativo. As partículas neutralizadas em solução de hidróxido de sódio 0,10 Molar apresentaram-se as mais adequadas, já que tiveram sua temperatura de gelatinização aumentada e não houve evidência de gelatinização em meio alcalino devido a presença do hidróxido de sódio.

Pode-se concluir, diante os resultados obtidos, que a aglomeração dos grânulos de amido de milho com alginato de cálcio por “dripping” e com quitosana por “dripping” foram eficazes para a modificação da estrutura dos grânulos. O processo de aglomeração por “high shear” com secagem em leite não apresentou grandes modificações, por conter baixa fração do alginato de sódio.

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Como no presente trabalho foram observados resistência à temperaturas normais de gelatinização em algumas partículas aglomeradas com alginato de cálcio e quitosana, sugere-se que sejam estudados novos processos de produção dessas partículas, a fim de que se tornem viáveis quanto ao seu tamanho para uma possível aplicação. Uma possível forma de se estudar a produção de partículas com alginato de cálcio e quitosana seria com a aspersão do ligante e a secagem em leito fluidizado pulsado. Acredita-se que através desse processo, pode-se obter partículas aglomeradas com tamanhos menores aos obtidos por “dripping”.

Recomenda-se o estudo de digestibilidade das partículas produzidas nesse trabalho. Como algumas delas, dependendo das concentrações de amido, apresentaram-se resistentes à gelatinização, testes de digestibilidade in vitro poderiam indicar se essas partículas são também resistentes às enzimas digestivas, permitindo a produção de partículas de amido com taxas de digestibilidade controladas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, E. S.; EL-HENNAWI, H. M.; AHMED, K. A. Preparation of novel chitosan-starch blend as thickening agent and their application in textile printing. **Journal of Chemistry**, 2013.
- ACQUARONE, V. M.; RAO, M. A. Influence of sucrose on the rheology and granule size of cross-linked waxy maize starch dispersions heated at two temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 51, p. 451–458, 2003.
- ANDRADE, M. M. P.; OLIVEIRA, C. S.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER E.; COSTA F. J. O. G. Effects of heat-moisture treatment on organic cassava starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2013.
- ATKINS, P. W. **Físico-Química**. 6.ed. Tradução de H. Macedo. Rio de Janeiro: Livros Técnicos Científicos, 1999.
- AYUCITRA, A. Preparation and Characterisation of acetylated corn starches. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, v. 3, n. 3, p. 156-159, 2012.
- AZHAR, F. F.; OLAD, A.; MIRMOHSENI, A. Development of novel hybrid nanocomposites based on natural biodegradable polymer-montmorillonite/polyaniline: preparation and characterization. **Polym. Bull**, v. 71, p. 1591-1610, 2014.
- BENMOUSSA, M.; SUHENDRA, B.; ABOUBACAR, A.; HAMAKER, B. R. Distinctive sorghum starch granule morphologies appear to improve raw starch digestibility. **Starch/ Stärke**, v. 58, p. 92-99, 2006.
- BERTOFT, E. On the nature of categories of chains in amylopectin and thir connection to the super helix model. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p. 211-224, 2004.
- BULEON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85-112, 1998.
- CHAN, E.; LEE, B.; RAVINDRA, P.; PONCELET, D. Prediction models for shape and size of ca-alginate produced through extrusion-dripping method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 338, p. 63-73, 2009.
- CHAPMAN, V. J.; CHAPMAN, D. J. Algin and alginates. In: CHAPMAN, V. J.; CHAPMAN, D. J. **Seaweeds and their uses**, 1980, p. 194-225.
- 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, p. 277–284, 1998.
- CHEN, C.; LI, D.; YANO, H.; ABE, K. Dissolution and gelation of –chitin nanofibers using a simple NaOH treatment at low temperatures. **Cellulose**, v. 21, p. 3339-3346, 2014.

- CHUNG, H. J.; LIU, Q.; HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. **Carbohydrate Polymers** v. 75, p. 436-447, 2009.
- COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1527-1534, 2009.
- CREMER, D. R.; KALETUNÇ, G. Fourier transform infrared microspectroscopic study of the chemical microstructure of corn and oat flour-based extrudates. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, p. 53-65, 2003.
- DACANAL, G.C. **Aglomeração de polpa de acerola e proteína isolada de soja em pó em leite fluidizado cônico e pulsado**. Tese (Doutorado), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil, 2009.
- DACANAL, G. C.; MENEGALLI, F. C. Experimental study and optimization of the agglomeration of acerola powder in a conical fluid bed. **Powder Technology**, v. 188, p. 187-194, 2009.
- DEBET, M. R.; GIDLEY, M. J. Why do gelatinized starch granules not dissolve completely? Roles for amylose, protein, and lipid in granule “ghost” integrity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 4752–4760, 2007.
- DIAS, A. M. V. **Análise estrutural de farinhas e alguns dos seus componentes**. 2008. 148p. Dissertação (Mestrado em Química e Qualidade dos alimentos) – Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2008.
- DONALD, A. M. Plasticization and self-assembly in the starch granule. **Cereal Chemistry**, v. 78, p. 307-314, 2001.
- DONALD, A. M.; KATO, K. L.; PERRY, P. A.; WAIGH, T. A. Scattering studies of the internal structure of starch granules. **Starch/ Stärke**, v. 53, p. 504-512, 2001.
- EERLINGEN, R. C., CROMBEZ, M., DELCOUR, J. A. Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 3, p. 339-344, 1993.
- EERLINGEN, R. C.; DELCOUR. Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. **Journal of Cereal Science**, v. 22, p. 129-138, 1995.
- ENGLYST, K. N.; VINOY, S.; ENGLYST, H. N.; LANG, V. Glycaemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. **British Journal of Nutrition**, v. 89, p. 329-339, 2003.
- GHAFFARI, A.; NAVAEE, K.; OSKOUI, M.; BAYATI, K.; RAFIEE-TEHRANI, M. Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/Eudragit® RS intended for sigmoidal drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 175-186, 2007.

- GIANNINI, R. A. Breve panorama do Mercado de amidos. 2011. Disponível em: http://www.gtconsult.com.br/portugues/artigos/panorama_mercado_amido.pdf. Acesso em: 7 abr. 2013.
- GIDLEY, M. J. Molecular mechanisms underlying amylose aggregation and gelation. **Macromolecules**, v. 22, p. 351–358, 1989.
- GIDLEY, M.J. Factors affecting the crystalline type (A–C) of native starches and model compounds: a rationalisation of observed effects in terms of polymorphic structures. **Carbohydrate Research**, v. 161, p. 301–304, 1987.
- GIDLEY, M. J.; COOKE, D.; DARKE, A. H.; HOFFMAN, R. A.; RUSSELL, A. L.; GREWELL, P. Molecular order and enzyme-resistant retrograded starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 28, p. 23–31, 1995.
- GIDLEY, M. J.; BULPIN, P. V. Crystallisation of malto-oligosaccharides as models of the crystalline forms of starch: minimum chain-length requirement for the formation of double helices. **Carbohydrate Research**, v. 161, p. 291–300, 1987.
- GOH, C. H.; HENG, P. W. S.; CHAN, L. W. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 1-12, 2011.
- GONI, I.; GARCIA-DIZ, L.; MANAS, E.; SAURA-CALIXTO, F. Analysis of Resistant Starch: A Method for Foods and Food Products. **Food Chemistry**, v. 56, n. 4, p. 445–449, 1996.
- GUL, K.; RIAR, S. C.; BALA, A.; SIBIAN, M. S. Effect of ionic gums and dry heating on physicochemical, morphological, thermal and pasting properties of water chestnut. **Food Science and Technology**, v. 59, p. 348-355, 2014.
- HAM, J. A.; BEMILLER, J. N. Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 67, p. 366-374, 2007.
- HARALAMPU, S. G. Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 285-92, 2000.
- HAUG, A.; SMIDSRØD, O. The effect of divalent metals on the properties of alginate solutions. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 19, p. 341-351, 1965.
- HE, Q.; AO, Q.; GONG, Y. Preparation of chitosan films using diferente neutralizing solutions to improve endothelial cell compatibility. **Jornal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 22, p. 2791-2802, 2011.
- HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, p. 345-353, 1996.
- HOLM, P. High shear mixer granulators. In: PARIKH, D. M. **Handbook of pharmaceutical granulation technology**. New York: Library of Congress, 1997, p. 151-202.

- HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 253–267, 2001.
- HUANG, R. Y. M.; PAL, R.; MOON, G. Y. Characteristics of sodium alginate membranes for the pervaporation dehydration of ethanol-water and isopropanol-water mixtures. **Journal of Membrane Science**, v. 160, p. 101-113, 1999.
- IVESON, S. M.; LITSTER, J. D.; HAPGOOD, K.; ENNIS, B. J. Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation processes: A review. **Powder Technology**, v. 117, p. 3-39, 2001.
- IVESON, S. M.; WAUTERS, P. A. L.; FORREST, S.; LITSTER, J. MEESTERS, G. M. H.; SCARLETT, B. Growth regime map for liquid-bound granules: further development and experimental validation. **Powder Technology**, v. 117, p. 83-97, 2001.
- JANE, J. Structure of starch granules. **Journal of Applied Glycoscience**, v. 54, p. 31-36, 2007.
- JANE, J.; WONG, K.; MCPHERSON, A. E. Branch-structure difference in starches of A- and B-type X-ray patterns revealed by their Naegeli dextrans. **Carbohydrate Research**, v. 300, p. 219-227, 1997.
- JENKINS, D. J. A.; WOLEVER, T. M. S.; JENKINS, A. S. Starchy foods and glycemic index. **Diabetes Care**, v.11, n.2, p.149-159, 1988.
- JENKINS, P. J.; DONALD, A. M. Gelatinisation of starch – a combined WAXS/SAXS/DSC and SANS study. **Carbohydrate Research**, v. 308, p. 133–147, 1998.
- LLANOS, J. H. R. **Propriedades físicas de filmes de quitosana dopados como condutores iônicos**. 2014. 110 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2014.
- LEHMANN U.; ROBIN F. Slowly digestible starch-its structure and health implications: a review. **Food Science & Technology**, v. 18, p. 346-355, 2007.
- KALICHEVSKY, M. T.; OXFORD, P. D.; RING, S. G. The retrogradation and gelation of amylopectins from various botanical sources. **Carbohydrate Research**, v. 198, p. 49–55, 1990.
- KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, v. 71, p. 9–36, 2000.
- KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J.; SEETHARAMAN, K. Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3912-3918, 2002.
- KHONG, T. T.; AARSTAD, O. A.; SKJÅK-BRÆK, G.; DRAGET, K. I.; VÅRUM, K. M. Gelling Concept Combining Chitosan and Alginate, *Biomacromolecules*, v. 14, p. 2765–2771, 2013.

- MAHECHA M. M. A. **Elaboração e caracterização de biofilms de farinha de biri (Canna indica L.)**. 2009. 159p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- MANDAL, B. B.; KUNDU, S. C. Calcium alginate beads embedded in silk fibroin as 3D dual drug releasing scaffolds. **Biomaterials**, v. 30, p. 5170-5177, 2009.
- MANNERS, D. J. Recent development in our understanding of amylopectin structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 11, p. 87-112, 1988.
- MANO, E. B.; MENDES, L. C. **Introdução a polímeros**. 2. Ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.
- MENDEZ, L. M. R. **Processo de aglomeração de farinha de banana verde com alto conteúdo de amido resistente em leite fluidizado pulsado**. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2013.
- MORRISON, W. R.; AZUDIN, M. N. Variation in the amylose and lipid contents and some physical properties of rice starches. **Journal of Cereal Science**, v. 5, p. 35–37, 1987.
- MUA, J. P.; JACKSON, D. S. Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3840–3847, 1997.
- NORIEGA, S. E.; SUBRAMANIAN, A. Consequences of neutralization on the proliferation and cytoskeletal organization of chondrocytes on chitosan-based matrices. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 2011, p. 1-13, 2011.
- OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, p. 375-382, 1997.
- PAGE, C. Factors influencing the maximum rates of fair drying shelled corn in thin layer. MSc Thesis, Purdue University, USA, 1949.
- PALZER, S. Agglomeration of pharmaceutical, detergent, chemical and food powders- Similarities and differences of materials and process. **Powder Technology**, v. 206, p. 2-17, 2011.
- PAN, D. D.; JANE, J. L. Internal structure of normal maize starch granules revealed by chemical surface gelatinization. **Biomacromolecules**, v. 1, p. 126–132, 2000.
- PARKER, R.; RING S. G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, p. 1-17, 2001.
- PERDONES, A.; VARGAS, M.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan- cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 256-264, 2014.

- PEREIRA, N. R.; GODOI, F. C.; ROCHA, S. C. S. Drying of starch suspension in spouted bed with inert particles: physical and thermal analysis of product. **Drying Technology**, v. 28, p. 1288-1296, 2010.
- RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. A new insight into the gelatinization process of native starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 511-529, 2007.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 606-632, 2006.
- RING, S. G.; COLLONA, P.; PANSON, K. J.; KALICHEVERSKY, M. T.; MILES, M. J.; MORRIS, V. J.; OXFORD, P. D. The gelation and crystallization of amylopectin. **Carbohydrate Research**, v. 162, p. 277-293, 1987.
- SAJILATA, M. G.; KINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant starch-a review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 5, p.1-17, 2006.
- SANKALIA, M. G.; MASHRU, R. C.; SANKALIA, J. M.; SUTARIYA, V. B. Reversed chitosan-alginate polyelectrolyte complex for stability improvement of alpha-amylase: optimization and physicochemical characterization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, p. 215-232, 2007.
- SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.
- SEVENOU, O.; HILL, S. E.; FARHAT, I. A.; MITCHELL, J. R. Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, p. 79-85, 2002.
- SHARMA, A.; YADAV, B. S.; RITIKA, E. Resistant starch: Physiological roles and food applications. **Food Reviews International**, v. 24, p. 193-234, 2008.
- SHI, Y. C.; SEIB, P. H. The structure of four waxy starches related to gelatinization and retrogradation. **Carbohydrate Research**, v. 227, p. 131-145, 1992.
- SHI, Y. C.; CAPITANI, T.; TRZASKO, P.; JEFFCOAT, R. Molecular structure of a low amylopectin starch and other high amylose maize starches. **Journal of Cereal Science**, v. 27, p. 289-298, 1998.
- SHIN, S. I.; KIM, H. J.; HA, H. J.; LEE, S. H.; MOON, T. W. Effect of hydrothermal treatment on formation and structure characteristics of slowly digestible non-pasted granular sweet potato starch. **Starch/ Stärke**, v. 57, p. 421-430, 2005.
- SINGH, J.; SINGH, N. Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch separated from some Indian potato cultivars. **Food Chemistry**, v. 75, p. 67-77, 2001.
- SINGH, J.; SINGH, N.; SAXENA, S. K. Effect of fatty acids on the rheological properties of corn and potato starch. **Journal of Food Engineering**, v. 52, p. 9-16, 2002.

- SINGH, J.; DARTOIS, A.; KAUR, L. Starch digestibility in food matrix: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 168-180, 2010.
- SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-a review. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1-22, 2007.
- SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.
- SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, J. F.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução de Marco Tadeu Grassi. São Paulo: Cengage Learning, 2008.
- SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGER, M. D.; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 42-432, 2001.
- SOUZA, P. P.; SILVA, G. G.; AMARAL, L. O. F. O cotidiano é meio amorfo: Transição vítrea. **Química Nova na Escola**, v. 20, p. 21-25, 2004.
- SRICHUWONG, S.; SUNARTI, T. C.; MISHIMA, T.; ISONO, N.; HISAMATSU, M. Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 529-538, 2005.
- SVEGMARK, K.; HELMERSSON, K.; NILSSON, G.; NILSSON, P.-O.; ANDERSSON, R.; SVENSSON, E. Comparison of potato amylopectin starches and potato starches-influence of year and variety. **Carbohydrate Polymers**, v. 47, p. 331-340, 2002.
- TAKEDA, Y.; SHIBAHARA, S.; HANASHIRO, I. Examination of the structure of amylopectin molecules by fluorescent labelling. **Carbohydrate Research**, v. 338, p. 471-475, 2003.
- TANG, M. C.; COPELAND, L. Investigation of starch retrogradation using atomic force microscopy. **Carbohydrate Polymers**, v.70, p.1-7, 2007.
- TAPIA-BLÁCIDO, D. R. **Filmes a base de derivados do amaranto para uso em alimentos**. 2006. 351p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- TARDOS, G. I.; KHAN, M. I.; MORT, P. R. Critical parameters and limiting conditions in binder granulation of fine powders. **Powder Technology**, v. 94, p. 245-258, 1997.
- TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch - composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.

- TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinisation of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. **Cereal Chemistry**, v. 67, p. 551–557, 1990.
- TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J.; SOMMERVILLE, M. D. Annealing of maize starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 287–299, 2000.
- TEUNOU, E.; VASSEUR, J.; KRAWCZYK, M. Measurement and interpretation of bulk solids angle of repose for industrial process design. **Powder Handl. Process**, v. 7, n. 3, p. 203-227, 1995.
- THARANATHAN, R. N.; MAHADEVAMMA, S. Grain legumes-a boon to human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, p. 507–518, 2003.
- THEVELEIN, J. M. Gelatinisation temperature of starch, as influenced by high pressure. **Carbohydrate Research**, v. 93, p. 304-307, 1980.
- TOMIDA, H.; NAKAMURA, C.; YOSHITOMI, H.; KIRYU, S. Preparation of Theophylline – Loaded calcium alginate gel capsules and evaluation of their drug release characteristics. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 12, p. 2161-2165, 1993.
- TURCHIULI, C.; ELOUALIA, Z.; EL-MANSOURE, N.; DUMOULIN, E. Fluidised bed agglomeration: Agglomerates shape and end-use properties. **Powder Technology**, v. 157, p. 168-175, 2005.
- VEREGIN, R.P.; FYFE, C. A.; MARCHESSAULT, R. H.; TAYLOR, M. G. Characterisation of the crystalline A and B starch polymorphs and investigation of starch crystallisation by high-resolution ¹³C CP/MAS NMR. **Macromolecules**, v. 19, p. 1030–1034, 1986.
- VICENTINI, N. M.; DUPUY, N.; LEITZELMAN, M.; CEREDA, M. P.; SOBRAL, P. J. A. Prediction of cassava starch edible film properties by chemometric analysis of infrared spectra. **Spectroscopy Letters**, v.38, n. 6, p. 749-767, 2005.
- WADA, M.; SAITO, Y. Lateral thermal expansion of chitin crystals. **J Polym Sci Part B Polym Phys**, v. 39, p. 168-174, 2001.
- WAIGH, T. A. et al. Analysis of the native structure of starch granules with X-ray microfocus diffraction. **Macromolecules**, v. 30, p. 3813-3820, 1997.
- WANG, Q.; HU, X.; DU, Y.; KENNEDY, J. F. Alginate/blends fibers and their properties for drug controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 842-847, 2010.
- WARD, K. E. J.; HOSENEY, R. C.; SEIB, P. A. Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 150–155, 1994.
- WHELEHAN, M.; MARISON, I. W. Microencapsulation by dripping and jet break up. **Bioencapsulation Innovations**, p. 4-10, september, 2011.

- WOO, K. S.; SEIB, P. A. Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. **Carbohydrate Polymers**, v. 33, p. 263–271, 1997.
- WU, H. C. H.; SARKO, A. The double-helical molecular structure of crystalline A-amylose. **Carbohydrate Research**, v. 61, p. 27–40, 1978b.
- WURZBURG, O. B. Nutritional aspects and safety of modified food starches. **Nutrition Reviews**, v. 44, p. 74–79, 1986.
- YANG, G.; ZHANG, L.; PENG, T.; ZHONG, W. Effects of Ca^{2+} bridge cross-linking on structure and pervaporation of cellulose/alginate blend membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 175, p. 53–60, 2000.
- ZHAO, K.; FENG, L.; LI, Z.; FU, Y.; ZHANG, X.; WEI, J.; WEI, S. Preparation, characterization and photocatalytic degradation properties of a TiO_2 /calcium alginate composite film and the recovery of TiO_2 nanoparticles. **Royal Society of Chemistry**, v. 4, p. 51321–51329, 2014.

ANEXO A – Imagens das partículas produzidas por aglomeração em “high shear” no Estudo I, secas em estufa convectiva a 65 °C.

Figura A1 – Imagem das partículas produzidas por aglomeração em “high shear” e secas em estufa convectiva (Estudo I).

ANEXO B – Tabelas obtidas pelo Planejamento Experimental para determinação dos melhores parâmetros para o processo de “high shear”

Tabela B1 - Coeficientes de regressão para a variável diâmetro médio de Brouckere ($R^2=0,9489$)

	Coef. Regressão	Desvio padrão	t(7)	p	-95.%	+95.%
Média	190,8383	6,982961	27,32914	0,000000	174,3263	207,3504
(1)Vazao (L)	84,9696	7,807188	10,88350	0,000012	66,5085	103,4306
(2)Concentracao(L)	26,5238	7,807188	3,39736	0,011484	8,0628	44,9849

Tabela B2 - Coeficientes de regressão para a variável conteúdo de umidade (b.u) ($R^2=0,8616$)

	Coef. Regressão	Desvio padrão	t(8)	p	-95.%	+95.%
Média	19,66400	0,404126	48,65805	0,000000	18,73208	20,59592
(1)Vazao (L)	3,18817	0,451827	7,05616	0,000107	2,14625	4,23008

Tabela B3 - Coeficientes de regressão para a variável span ($R^2=0,9310$)

	Coef. Regressão	Desvio padrão	t(8)	p	-95.%	+95.%
Média	7,978516	0,481379	16,57431	0,000000	6,868455	9,088577
(1)Vazao (L)	5,592374	0,538198	10,39093	0,000006	4,351289	6,833460