

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

Efeitos da temperatura de armazenamento de grãos de milho (*Zea mays* L.) nos parâmetros de qualidade tecnológica, metabólitos e propriedades do amido

Ricardo Tadeu Paraginski

Pelotas, 2013

Ricardo Tadeu Paraginski

Efeitos da temperatura de armazenamento de grãos de milho (*Zea mays* L.) nos parâmetros de qualidade tecnológica, metabólitos e propriedades do amido

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

Co-Orientador: Prof. Dr. Maurício de Oliveira

Pelotas, 2013

Dados de catalogação na fonte

XXXXXXXXX Paraginski, Ricardo Tadeu

Efeitos da temperatura de armazenamento de grãos de milho (*Zea mays* L.) nos parâmetros de qualidade tecnológica, metabólitos e propriedades do amido / Ricardo Tadeu Paraginski; orientador Moacir Cardoso Elias - Pelotas, 2013. - 111f. : il.. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

1.Milho 2.Armazenamento 3.Temperatura 4.Qualidade tecnológica
5.Propriedades do amido I. Elias, Moacir Cardoso Elias (orientador)
II Título

Banca examinadora:

Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias (UFPEL - FAEM)

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias (UFPEL - FAEM)

Prof. Dr. Marcelo Zaffalon Peter (IFSUL - CAVG)

Aos meus pais, Jorge e Cleusa, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e proteger durante toda minha vida e pelas oportunidades colocadas em meu caminho ao longo desse período.

A meus pais Jorge e Cleusa, pessoas admiráveis, pais amorosos, carinhosos e dedicados, por todo o amor, carinho e apoio que me deram ao longo de todos esses anos longe de casa, e apesar das situações vivenciadas, sempre continuam me dando força para continuar estudando.

Ao professor e orientador Dr. Moacir Cardoso Elias, pelo apoio e oportunidades de crescimento pessoal e profissional ao longo desses anos no Laboratório de Grãos, serei eternamente grato pelos ensinamentos pessoais e profissionais proporcionados.

Ao co-orientador e amigo Professor Dr. Maurício de Oliveira, pelos ensinamentos proporcionados ao longo desses anos de trabalho junto, um exemplo de dedicação e comprometimento, e acima de tudo pela amizade construída nesse período.

Ao colega de pós-graduação e amigo, doutorando Eng. Agrônomo Nathan Levien Vanier, pela oportunidade de trabalhar junto, pelos ensinamentos proporcionados ao longo desses anos, e pelo incentivo nos momentos de dificuldades encontradas.

A colega de mestrado, Engenheira de Alimentos Rosana Colussi, pela amizade e pelo apoio na realização das análises. Obrigado por tudo.

Aos professores do DCTA, Alvaro Renato Guerra Dias, Cesar Valmor Rombaldi, Elessandra da Rosa Zavareze, Fábio Clasen Chaves, Leonardo Nora e Manoel Artigas Schirmer pelas contribuições ao longo de período de mestrado no programa.

Aos colegas do Laboratório de Grãos, em especial aos colegas de mestrado e doutorado Bruna Klein, Bruna Arns, Cristiano Dietrich Ferreira, Daniel Rutz, David Bandeira da Cruz, Diego Batista Zeni, Félix Hasing, Flávia Fernandes Paiva, Jardel Casaril, Jarine Amaral do Evangelho, Joana Maria Leite de Souza, Josiane Bartz, Nelisa Lamas, Rafael de Almeida Schiavon, Shanise Lisie Mello El Halal, Valmor Ziegler, Vânia Zanella Pinto, Wagner Schellin Vieira da Silva, Wilner Peres, muito obrigado pelo apoio e a amizade.

Aos estagiários do Laboratório pela amizade e auxílio nas análises, em especial aos bolsistas de iniciação científica André Talhamento, Ismael Aldrighi Bertinetti, Jorge Tiago Schwanz Göebel, Vinicius Peroba Rosinha, Franciene Almeida Villanova, Karina Medeiros Madruga e Bruna Böhmer.

Aos colegas do DCTA, Aline Tiecher, André Martins, Fábio José Mattei, Gustavo Zimmer, Juliele Dambros, Isadora Rubin, Maurício Seifert, Michele Crizel, Josiane Rutz, Roseane D’Avila, Tanize dos Santos Acunha, pelo apoio e pela amizade.

Aos colegas da ATA 2011/1 que apesar da distância, a amizade continua acima de tudo, em especial aos colegas Alexandre da Silva, Cristiano Portz, Márcio Renato Nunes, Marcos Ernani Prezotto, Pablo Rostirolla, Renato Lopes Crizel, Vinicius Guilherme Kiesow Macedo e Wildon Panziera.

Aos moradores da República Belarmino, Pablo Ricardo Belarmino Cadore, Michele Moura e Candida Belarmino Busatto, pelo convívio e pela amizade.

À Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Polo de Inovação Tecnológica em Alimentos da Região Sul, muito obrigado.

RESUMO

PARAGINSKI, Ricardo Tadeu. **Efeitos da temperatura de armazenamento de grãos de milho (*Zea mays* L.) nos parâmetros de qualidade tecnológica, metabólitos e propriedades do amido.** 2013, 111f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, cujos grãos apresentam elevado valor comercial, seja para alimentação animal, consumo humano ou uso industrial, com destaque na utilização dos grãos para extração de amido, fonte responsável por 80% do total consumido no mundo. A qualidade final do produto após o armazenamento está relacionada com a qualidade inicial dos grãos, porém durante este período essa qualidade é influenciada por fatores como temperatura, umidade dos grãos, umidade relativa do ar, atmosfera de armazenamento, teor de grãos quebrados, teor de impurezas, presença de micro-organismos, insetos e ácaros e tempo de armazenamento, sendo a temperatura um dos principais. Objetivando-se avaliar efeitos da temperatura sobre parâmetros de qualidade tecnológica, metabólitos e propriedades do amido de grãos de milho, produzidos em Santo Augusto, no Rio Grande do Sul colhidos mecanicamente com umidade próxima a 18%, secados em secador estacionário até a respectiva umidade de armazenamento. Foram armazenados por 12 meses em sistema semi-hermético com 12% de umidade e 25°C (tratamento controle no Estudo 1), e com 14% de umidade nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C. Conclui-se que: (1) os armazenamentos a 25 e 35°C provocaram maiores reduções nos parâmetros de avaliação biológica, germinação e vigor; nos de avaliação tecnológica, peso de mil grãos, tipificação do produto, tocoferóis, carotenóides, atividade antioxidante, acidez da farinha obtida dos grãos, perfil colorimétrico, viscosidade de quebra nos parâmetros viscoamilográficos, solubilidade de proteínas, e aumentos na condutividade elétrica, na incidência de grãos mofados, na acidez dos lipídios e na retrogradação nos parâmetros viscoamilográficos. (2) O aumento da temperatura de armazenamento altera as propriedades do amido isolado, reduzindo rendimento de extração, brilho, viscosidade máxima, viscosidade de quebra e cristalinidade dos grânulos, com aumentos na coloração amarela, no teor residual e na solubilidade das proteínas.

Palavras-chave: milho, armazenamento, temperatura, qualidade tecnológica, propriedades do amido.

ABSTRACT

PARAGINSKI, Ricardo Tadeu. **Effects of storage temperature of corn (*Zea mays* L.) and its effect on technological quality and properties of starch.** 2013. 111f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

Brazil is the third largest producer of corn, the grains have a high commercial value, either for animal feed, human consumption or industrial use, with emphasis on the use of grain for starch extraction, source responsible for 80% of total consumption in the world. The final product quality after storage is related to the initial quality of the grain, but during this period that quality is influenced by factors such as temperature, grain moisture, relative humidity, storage atmosphere, broken grain content, content impurities, presence of micro-organisms, insects and mites and storage time, and temperature is one of the main. Aiming to evaluate the effects of temperature on parameters of technological quality, metabolites and properties of starch from corn grain produced in Santo Augusto, in Rio Grande do Sul mechanically harvested with moisture content around 18%, dried in a stationary dryer until its moisture storage. Were stored for 12 months in a semi-hermetic compressor with 12% humidity and 25°C (control treatment in Study 1), and 14% humidity at temperatures of 5, 15, 25 and 35°C. We conclude that: (1) the stored at 25 and 35°C caused greater reductions in the biological assessment, germination and vigor; in technology assessment, thousand grain weight, classification of the product, tocopherols, carotenoids, antioxidant activity, acidity flour obtained from grain, colorimetric profile, breakdown in viscosity parameters, protein solubility, and the electrical conductivity increases in the incidence of moldy grain, the acidity of lipids and retrogradation parameters viscoamilográficos. (2) Increasing the storage temperature changes the properties of isolated starch, reducing extraction yield, brightness, peak viscosity, breakdown viscosity and crystallinity of the granules, with increases in the color yellow, the residual and solubility of proteins.

Keywords: maize, storage, temperature, technological quality, properties of starch.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Evolução da produção de milho e da área cultivada no Brasil de 1989 a 2011. Dados: Adaptado de dados da Conab, 2012	21
Figura 2	Anatomia da estrutura dos grãos de milho	23
Figura 3	Estrutura dos grânulos de amido extraídos do endosperma vítreo (A) e endosperma farináceo (B) de grãos de milho	24
Figura 4	Estrutura do β -caroteno, carotenóide com maior atividade pró-vitâmica	25
Figura 5	A) Estrutura da amilose [polímero linear composto por unidade de D-glicose unidas em ligações α -(1-4)]. B) Estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por unidades de D-glicose unidas em ligações α -(1-4) e α -(1-6)]	35
Figura 6	A) Classificação das cadeias da amilopectina em cadeias tipos A, B e C; B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido; C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilum	37
Figura 7	Difratogramas de raio -X de diferentes amidos. (A) refere-se ao padrão tipo A de amidos de cereais, (B) tipo B de amidos de tubérculos, (C) tipo C de amidos de leguminosas, e (V) tipo V de amilose complexada	38
Figura 8	Esquema de uma curva típica de comportamento de pasta obtido de um <i>Rapid Visco Analyzer</i> (RVA)	43
Figura 9	Secador estacionário protótipo do Laboratório de Grãos	44
Figura 10	Grãos de milho armazenados durante o experimento. Figura A: sacos de polietileno com as amostras; Figura B: amostras armazenadas com controle de temperatura	45
Figura 11	Fluxograma da metodologia utilizada para extração de amido de milho.....	55
Figura 12	Efeitos do tempo de armazenamento no teor de água (%) dos grãos de milho armazenado durante doze meses em sistema semi-hermético	59
Figura 13	Efeitos do tempo de armazenamento na germinação (%) dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético	61
Figura 14	Efeitos do tempo de armazenamento no vigor dos grãos (%) de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	63
Figura 15	Efeitos do tempo de armazenamento na condutividade elétrica ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	64
Figura 16	Efeitos do tempo de armazenamento no peso de mil grãos (gramas) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	66
Figura 17	Efeitos do tempo de armazenamento no peso volumétrico ($\text{Kg}.\text{m}^{-3}$) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	67

Figura 18 Efeitos do tempo de armazenamento na incidência de grãos mofados (%) de grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	69
Figura 19 pH da farinha dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	77
Figura 20 Acidez de lipídios (mg de NaOH.100gramas de lipídios ⁻¹) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	77
Figura 21 Perfil colorimétrico dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	79
Figura 22 Valor b* do perfil colorimétrico dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	80
Figura 23 Parâmetros viscoamilográficos das farinhas obtidas de grãos de milho no início do armazenamento (inicial) e ao seis meses e doze meses de armazenamento nas temperaturas de 5° (1), 15°C (2), 25°C (3) e 35°C (4) ...	81
Figura 24 Teor de proteína solúvel (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	84
Figura 25 Capacidade de hidratação dos grãos (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	85
Figura 26 Poder de inchamento (g.g ⁻¹) e solubilidade (%) nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90°C do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	88
Figura 27 Parâmetros viscoamilográficos do amido isolado dos grãos de milho armazenados durante doze meses: inicial, 5°C (1), 15°C (2), 25°C (3) e 35°C (4)	90
Figura 28 Propriedades térmicas do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	93
Figura 29 Cristalinidade do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	95
Figura 30 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores percentuais máximos de tolerância (%) para classificação de grãos de milho pela atual legislação	22
Tabela 2	Limites máximos de tolerância (%) para classificação de grãos de milho pela legislação que entrará em vigor a partir de setembro de 2013	22
Tabela 3	Composição química das diferentes frações do grão de milho	23
Tabela 4	Delineamento experimental para avaliar as alterações nos parâmetros qualitativos e quantitativos tecnológicos de grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético (Estudo 1)	46
Tabela 5	Delineamento experimental para avaliar as alterações nas propriedades físico-químicas e nutricionais de grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C (Estudo 2)	46
Tabela 6	Delineamento experimental para avaliar as alterações nas propriedades de pasta, térmicas e morfológicas de amido isolado de grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C (Estudo 3)	47
Tabela 7	Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas ...	53
Tabela 8	Efeitos da temperatura de armazenamento no teor de água (%) dos grãos de milho armazenado durante doze meses em sistema semi-hermético	60
Tabela 9	Efeitos da temperatura de armazenamento na germinação (%) dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético	61
Tabela 10	Efeitos da temperatura de armazenamento no vigor (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	63
Tabela 11	Efeitos da temperatura de armazenamento na condutividade elétrica ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	65
Tabela 12	Efeitos da temperatura de armazenamento no peso de mil grãos (gramas) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	66
Tabela 13	Efeitos da temperatura de armazenamento no peso volumétrico ($\text{Kg} \cdot \text{m}^{-3}$) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	67
Tabela 14	Classificação dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético, de acordo com o regulamento técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA	68

Tabela 15 Efeitos da temperatura de armazenamento no teor de grãos mofados (%) dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético	70
Tabela 16 Teor de Aflatoxina B ₁ (μg.kg ⁻¹) dos grãos de milho durante doze meses de armazenamento em sistema semi-hermético	71
Tabela 17 Teor de Aflatoxina B ₂ (μg.kg ⁻¹) dos grãos de milho durante doze meses de armazenamento em sistema semi-hermético	71
Tabela 18 Teores de Aflatoxina G ₁ , Aflatoxina G ₂ e Zearalenona (μg.kg ⁻¹) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético	72
Tabela 19 Teor de proteína bruta (%), fibra bruta (%), minerais (%), lipídios (%) e carboidratos (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	73
Tabela 20 Teor de tocoferóis individuais e totais do óleo de milho ao final de 12 meses de armazenamento nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	74
Tabela 21 Teor de carotenóides totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (radicais ABTS e DPPH) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	75
Tabela 22 Correlação de Pearson entre carotenóides totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (radicais ABTS e DPPH) e temperatura dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	76
Tabela 23 Parâmetros viscoamilográficos de grãos de milho armazenados nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C durante doze meses	80
Tabela 24 Rendimento de extração (%), valor b*, valor L* e teor residual de proteína (%) e lipídios (%) do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	86
Tabela 25 Parâmetros viscoamilográficos do amido isolado dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	90
Tabela 26 Propriedades térmicas do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	93
Tabela 27 Cristalinidade do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C	94

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	12
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1. O milho	20
2.2. Estrutura e composição do grão de milho	22
2.3. Utilização dos grãos de milho	26
2.4. Secagem e armazenamento	27
2.5. Amido	32
2.5.1. Usos do amido de milho	32
2.5.2. Estrutura do amido	33
2.5.2.1. Amilose	36
2.5.2.2. Amilopectina	36
2.5.3. Propriedades do amido	38
2.5.3.1. Cristalinidade	38
2.5.3.2. Poder de inchamento e solubilidade	40
2.5.3.3. Gelatinização e retrogradação	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1. Material	44
3.2. Desenho experimental	45
3.3. Avaliações	46
3.3.1. Estudo 1. Alterações nas propriedades tecnológicas de grãos de milho armazenados em sistema semi-hermético durante 12 meses em diferentes temperaturas	47
3.3.1.1. Umidade	47
3.3.1.2. Germinação.....	47
3.3.1.3. Vigor.....	47
3.3.1.4. Condutividade elétrica	48

3.3.1.5. Peso de mil grãos	48
3.3.1.6. Peso volumétrico	48
3.3.1.7. Classificação e incidência de defeitos metabólicos	48
3.3.1.8. Teor de grãos mofados	48
3.3.1.9. Micotoxinas	49
3.3.2. Estudo 2. Alterações nas propriedades nutricionais e físico-químicas de grãos de milho armazenados durante 12 meses em diferentes temperaturas	49
3.3.2.1. Composição química	49
3.3.2.2. Compostos bioativos	49
3.3.2.3. pH dos grãos	52
3.3.2.4. Índice de acidez dos lipídios	52
3.3.2.5. Cor	52
3.3.2.6. Parâmetros viscoamilográficos	52
3.3.2.7. Solubilidade proteica	53
3.3.2.8. Capacidade de hidratação	54
3.3.3. Estudo 3. Alterações nas propriedades de pasta, térmicas e morfológicas de amido isolado de grãos de milho armazenados durante 12 meses em diferentes temperaturas	54
3.3.3.1. Extração do amido	54
3.3.3.2. Rendimento de extração	56
3.3.3.3. Cor do amido	56
3.3.3.4. Grau de pureza	56
3.3.3.5. Poder de inchamento e solubilidade	56
3.3.3.6. Propriedades de pasta	57
3.3.3.7. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	57
3.3.3.8. Índice de Cristalinidade Relativa (Raio-X)	57
3.3.3.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	57
3.3.4. Análise estatística	58
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1. Resultados Estudo 1	59
4.2. Resultados Estudo 2	73

4.3. Resultados Estudo 3	73
5. CONCLUSÕES	98
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

1. INTRODUÇÃO

Os grãos de milho apresentam elevado valor comercial, são utilizados na alimentação animal para fabricação de rações e na alimentação humana, consumidos na forma “*in natura*”, ou a partir da elaboração de derivados, onde óleo, farinha e amido são os principais, por isso é necessário que os grãos permaneçam armazenados por longos períodos para atender a demanda das indústrias alimentícias durante o período de entressafra. A produção de milho ocorre em diferentes regiões e sistemas de produção, seja em grandes ou pequenas propriedades, entretanto, os processos fisiológicos de maturação dos grãos são iguais, necessitando os grãos permanecerem no campo após atingirem o ponto de maturação fisiológica para atingir os níveis de umidade que permitam a colheita mecânica, aproximadamente 25%. A colheita com umidade superior à recomendada para armazenamento exige secagem dos grãos para redução até níveis inferiores a 13%, que possibilitem a manutenção das características dos grãos após a colheita, como propriedades nutritivas, qualidade de moagem e sanidade biológica, garantindo a qualidade e segurança do produto que chega à mesa do consumidor.

O armazenamento dos grãos após a colheita e secagem pode ser realizado em sistemas convencional, hermético, emergencial ou semi-hermético, onde aproximadamente 70% são armazenados em sistema semi-hermético (CONAB, 2011), caracterizados pelos silos metálicos verticais, porém poucos estudos foram realizados até o momento sobre o comportamento dos grãos durante o armazenamento neste sistema. O sistema-hermético possibilita trocas frequentes de ar no interior da massa de grãos, realizada com o auxílio de ventiladores que insuflam ar, permitindo uma aeração no interior da massa evitando a anaerobiose e a formação de correntes convectivas ascendentes e descendentes de ar, devido a diferenças de temperatura, que podem provocar o aquecimento do ar e da massa de grãos e a condensação na parte superior ou inferior do silo.

A qualidade de armazenamento está relacionada com a qualidade inicial dos grãos, porém durante o período de armazenamento os grãos são influenciados por fatores como temperatura, umidade dos grãos, umidade relativa do ar, atmosfera de armazenamento, teor de grãos quebrados, teor de impurezas, presença de micro-organismos, insetos, ácaros e tempo de armazenamento. Dentre estes, a temperatura é um dos principais fatores que interferem na qualidade dos grãos durante o armazenamento, acelerando as reações bioquímicas e metabólicas dos grãos, pelas quais reservas armazenadas no tecido de sustentação são desdobradas, transportadas e ressintetizadas no eixo embrionário (AGUIAR et al., 2012; PEREZ-GARCIA; GONZALEZ-BENITO, 2006; SANTOS et al., 2004). Dentre os problemas durante o armazenamento, a contaminação por micotoxinas é um dos principais problemas dos grãos de milho, tornando os grãos inseguros para alimentação humana e animal, afetando negativamente a segurança alimentar, devido ao consumo de altas doses de aflatoxinas levar a aflatoxicose que resulta em doenças agudas e até mesmo morte (ZAIN, 2011).

A maioria dos estudos realizados até o momento avaliou o efeito da temperatura de armazenamento nas propriedades tecnológicas durante 180 dias, porém os grãos podem permanecer nas unidades armazenadoras por períodos superiores há 12 meses, devido a condições de mercado que favorecem ou não a comercialização. O armazenamento de grãos em sistema refrigerado é uma alternativa para a manutenção da qualidade do produto, pois diminui a atividade da água, reduz a taxa respiratória dos grãos, e também retarda o desenvolvimento dos insetos-praga e da microflora presente, independentemente das condições climáticas da região, permitindo o armazenamento por maiores períodos de tempo. Porém ainda faltam estudos para a determinação das temperaturas seguras de armazenamento para os diferentes níveis de umidade dos grãos que garantam a qualidade final do produto.

A qualidade de armazenamento está diretamente relacionada com a manutenção das características tecnológicas, nutricionais e fisiológicas dos grãos, porém poucos estudos foram realizados com o objetivo de avaliar as propriedades do amido isolado do grãos de milho, pois estes precisam ser armazenados para atender a demanda das indústrias no período de entressafra, longos períodos, para permitir o funcionamento das indústrias durante o período de entressafra, apenas foram realizados para avaliar a interferência das condições de secagem na qualidade final do produto.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Avaliar efeitos da temperatura e da umidade nos parâmetros qualitativos e quantitativos tecnológicos dos grãos de milho durante doze meses de armazenamento.

1.1.2. Avaliar efeitos da temperatura nas propriedades físico-químicas e nutricionais de grãos de milho armazenados durante doze meses.

1.1.3. Avaliar efeitos da temperatura nas propriedades de pasta, térmicas e morfológicas de amido isolado dos grãos de milho armazenados durante doze meses.

1.2. HIPÓTESES

1.2.1. O armazenamento em temperaturas menores que 25°C aumenta a preservação de parâmetros qualitativos e quantitativos de avaliação dos grãos armazenados, mesmo com umidade superior à recomendada para armazenamento clássico (13%).

1.2.2. Reduções na temperatura de armazenamento preservam as propriedades físico-químicas e nutricionais de grãos de milho armazenados durante doze meses.

1.2.3. Reduções na temperatura de armazenamento preservam as propriedades de pasta, térmicas e morfológicas do amido de milho isolado dos grãos de milho, quando comparado à temperatura tradicional de armazenamento (25°C), entretanto, temperaturas superiores a essa podem interferir na qualidade do amido.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O milho

A espiga de milho mais antiga que se tem conhecimento foi descoberta em 6000ac. no vale do Tehuacán no México, entretanto, a origem do milho é até hoje muito discutida, devido a duas hipóteses para a possível origem do milho. Para alguns o milho originou da seleção realizada pelo homem a partir do melhoramento de teosinto, uma planta da família poaceae, com ciclo anual, originária do México e da Guatemala. Um segundo grupo, defende que o milho e o teosinto diferenciaram-se á mais tempo de um mesmo ancestral, originando as duas plantas com estrutura diferentes.

Apesar destas duas correntes sobre a origem do milho, há alguns milhares de anos o milho foi domesticado pelos indígenas americanos, em processos contínuos de melhoramento, onde as melhores plantas eram selecionadas, e os seus melhores grãos separados e semeados novamente. Durante esse processo, a planta que apresentava vários colmos e espiguetas pequenas com poucos grãos foi aos poucos evoluindo até transformar-se em uma planta ereta, com um único colmo, uma inflorescência masculina e outra feminina separada na mesma planta, com espigas maiores contendo maior quantidade e qualidade de grãos.

Atualmente são conhecidos cinco tipos de milho, sendo: pipoca, duro, dentado, farináceo e doce, que já existiam na América por ocasião do descobrimento. O milho é um dos cereais que possui maior capacidade produtiva, pois é uma planta C4, que é mais eficiente na produção de matéria seca por área e consequentemente na produção de grãos. Por essa característica tornou-se a mais importante cultura na alimentação animal e indispensável no processo de rotação de culturas no plantio direto, fornecendo uma maior quantidade de palha e matéria orgânica para o sistema.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, com uma produção anual superior a 56 milhões de toneladas (FAO, 2010), depois de Estados Unidos da América (EUA) e China. Os principais estados produtores do país são Paraná, Mato Grosso, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. A produção de grãos de milho vem aumentando nos últimos anos, principalmente devido a grande demanda dos grãos para utilização na alimentação animal, pois cada vez mais produtores deixam de produzir em sistemas

extensivos, passando a produzir em sistemas intensivos, como ocorreu em confinamentos de bovinos de corte e leite, além das atividades já tradicionais de suinocultura e avicultura, onde a necessidade dos grãos para a fabricação de rações também segue aumentando. Apesar da grande valorização do preço do milho nos últimos anos, principalmente na safra 2011/2012 com valores recordes atingidos pela saca do produto, a área cultivada continua praticamente constante, pois a área agrícola expandida na região centro-oeste do país foi utilizada para a produção de outras culturas, principalmente a soja, sendo o milho uma cultura opcional, geralmente utilizada na segunda safra, denomina “safrinha” nestas regiões.

O aumento da produção total de milho deve-se ao processo de melhoramento genético dos cultivares utilizados, além do manejo de cultivo da cultura, com técnicas de semeadura e adubação avançadas, que elevaram os níveis médios produtivos inferiores a 2000 Kg.ha⁻¹ na década de 90, para aproximadamente 4000 Kg.ha⁻¹ na safra 2011/2012 no território nacional (Fig. 1), porém, sabe-se que produtores que utilizam altos níveis tecnológicos de produção conseguem níveis de produtividades acima de 16000 Kg.ha⁻¹.

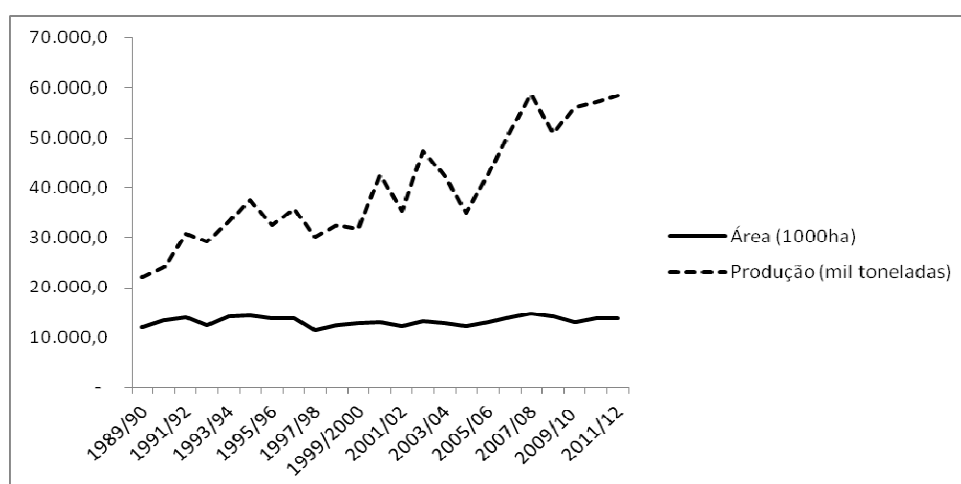


Figura 1 - Evolução da produção de milho e da área cultivada no Brasil de 1989 a 2011.
 FONTE: Adaptado de dados da CONAB (2012).

Atualmente os grãos de milho são comercializados no Brasil segundo Portaria do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) nº 845 de 08 de novembro de 1976, publicada no Diário Oficial da União de 19/11/1976 com alterações dadas pela Portaria MAPA nº 11, de 12 de abril de 1996, publicada no Diário Oficial da União

15/04/1996 que determinam as especificações para à Padronização, Classificação e Comercialização Interna do Milho (tab. 1).

Tabela 1 - Valores percentuais máximos de tolerância (%) para classificação de grãos de milho pela atual legislação.

Tipo	Umidade	Matérias estranhas, impurezas e fragmentos	Avariados	
			Máximo de mofados, brotados e ardidos	Total
1	14,5	1,5	3	11
2	14,5	2	6	18
3	14,5	3	10	27
AP(*)	>14,50	>3,00	>10,00	>27,00

* Abaixo do padrão.

As necessidades de alteração nos padrões de classificação dos produtos de origem vegetal devido a portarias antigas, que apresentavam problemas conceituais e equivocados, tornaram necessária a elaboração de uma nova portaria para a comercialização dos grãos de milho. Assim, a partir de 1º de setembro de 2013 passa a vigorar a Instrução Normativa nº 60, de 22 de dezembro de 2011, publicada no Diário Oficial da União de 23/12/2011, com alterações dadas pela Instrução Normativa MAPA nº 18, de 4 de julho de 2012, que estabelecem o Regulamento Técnico do Milho, ficando revogadas a Portaria MAPA nº845, de 8 de novembro de 1976, e a Portaria SARC nº11, de 12 de abril de 1996, determinando os novos padrões de qualidade para comercialização dos grãos de milho (tab. 2).

Tabela 2 - Limites máximos de tolerância (%) para classificação de grãos de milho pela legislação que entrará em vigor a partir de setembro de 2013.

Enquadramento	Grãos avariados		Grãos quebrados	Matérias Estranhas e Impurezas	Carunchados
	Ardidos	Total			
Tipo 1	1,00	6,00	3,00	1,00	2,00
Tipo 2	2,00	10,00	4,00	1,50	3,00
Tipo 3	3,00	15,00	5,00	2,00	4,00
Fora de Tipo	5,00	20,00	> 5,00	>2,00	8,00

2.2 Estrutura e composição do grão de milho

O grão de milho é composto por endosperma, gérmen, pericarpo e ponta, conforme apresentado na Fig. 2, entretanto em função da grande diversidade existente

entre as cultivares, pode apresentar variações nesta estrutura, apresentando diferentes composições de nutrientes e tamanhos nas estruturas, conforme apresentado na tab. 3.

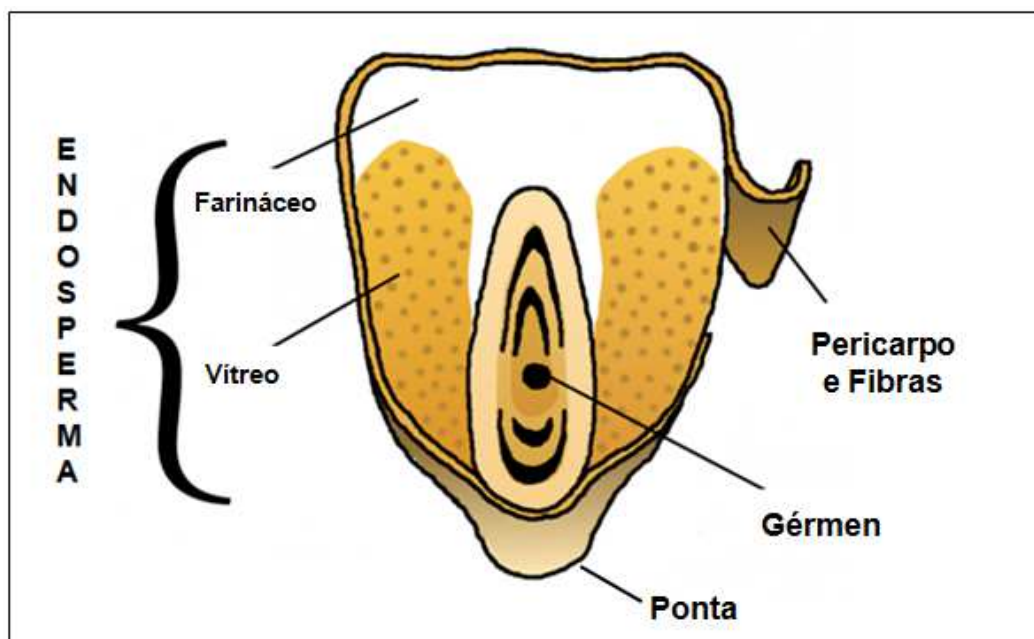


Figura 2 - Anatomia da estrutura dos grãos de milho. FONTE: Adaptado de: <http://cereal-sciencetech.blogspot.com.br/2013/04/the-structure-of-corn.html>

As principais causas de variação na composição química dos grãos de milho são relacionadas às características do material genético, solo, adubação, condições climáticas e estágio de maturação da planta (PATERNIANI; VIÉGAS, 1987; GOMES et al., 2004).

Tabela 3 - Composição química das diferentes frações do grão de milho.

Estrutura	% do grão	Amido	Lipídios	Proteínas	Minerais	Açúcares
		% da parte				
Endosperma	82,00	86,6	0,86	8,60	0,31	0,61
Gérmen	11,00	8,30	34,4	18,50	10,30	11,00
Pericarpo	5,00	7,30	0,98	3,50	0,67	0,34
Ponta	2,00	5,30	3,80	9,70	1,70	1,50

Fonte: Adaptado de Bemiller & Whistler, 2009.

O endosperma concentra aproximadamente 98% do total de amido, formado por grânulos com diâmetro médio de 20µm e forma variando desde poliédrica até esférica. Com base na distribuição dos grânulos de amido e da matriz proteica, o endosperma é

classificado segundo Delcour e Hosney (2010) em dois tipos: farináceo e vítreo. No primeiro, os grânulos de amido são arredondados e estão dispersos, não havendo matriz proteica circundando essas estruturas, o que resulta em espaços vagos durante o processo de secagem do grão, a partir dos espaços onde antes era ocupado pela água, durante o desenvolvimento do grão. Por outro lado, no endosperma vítreo, a matriz proteica é densa, com corpos protéicos estruturados, que circundam os grânulos de amido de formato poligonal, não permitindo espaços entre estas estruturas. A diferença da estrutura dos grânulos pode ser observada na Fig. 3.

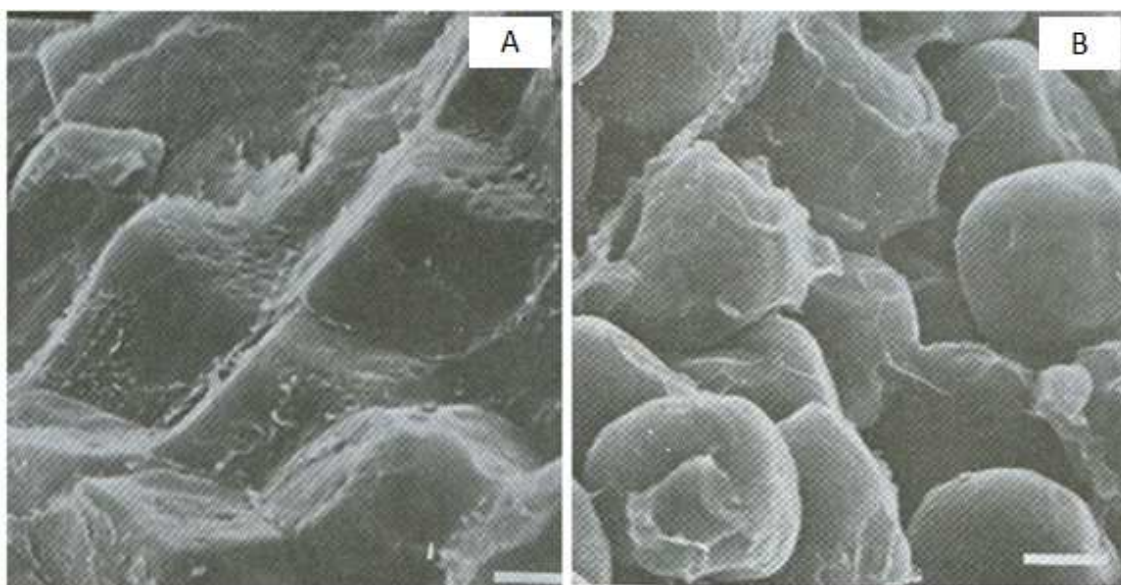


Figura 3 - Estrutura dos grânulos de amido extraídos do endosperma vítreo (A) e endosperma farináceo (B) de grãos de milho. FONTE: Delcour & Hosney (2010).

As proteínas de reserva possuem quantidades elevadas dos aminoácidos glutamina, leucina, alanina e prolina, que conferem alta hidrofobicidade ao resíduo proteico extraído do endosperma no processo de produção do amido de milho (Shotwel e Larkins, 1989), mas são pobres em lisina e triptofano, essenciais à nutrição humana e de alguns monogástricos, sendo considerada assim proteína de baixa qualidade, pois correspondente a 65% da constituição presente no leite, considerada padrão para a nutrição humana.

Esse produto é considerado, nos países desenvolvidos, como de grande importância industrial, sendo utilizado como matéria-prima para a fabricação de filmes comestíveis destinados ao revestimento de frutas, verduras e grãos, com o objetivo de estender a vida de prateleira desses produtos. Além desse uso, as zeínas são utilizadas

na fabricação de fibras para várias aplicações, como no encapsulamento de sementes e na fabricação de embalagens biodegradáveis (LAWTON, 2004).

As proteínas do endosperma do milho, que caracterizam a matriz proteica, podem ser classificadas de acordo com a solubilidade em quatro frações: albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas, que constituem respectivamente 3%, 3%, 60% e 34% do total de proteínas do endosperma (PATERNIANI; VIÉGAS, 1987). Estudos têm demonstrado que o conteúdo de proteína, em especial de zeínas, está associado com diferenças na dureza dos grãos de cereais (PRATT et al., 1995; CHANDRASHEKAR; MAZHAR, 1999).

No endosperma, especificamente, na camada de aleurona e no endosperma vítreo, estão também presentes os compostos fenólicos e carotenóides, substâncias lipídicas que conferem a cor aos grãos de milho, sendo zeaxantina, luteína, betacriptoxantina, alfa e beta carotenos, os principais carotenóides nos grãos de milho. O β -caroteno (Fig. 4) é o carotenóide que apresenta maior atividade pró-vitâmica, além de α -caroteno, betacriptoxantina e zeinoxantina também possuem atividade pró-vitâmica (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001), sendo que o β -caroteno apresenta duas vezes a atividade do α -caroteno e β -criptoxantina por apresentar dois anéis β não substituíveis.

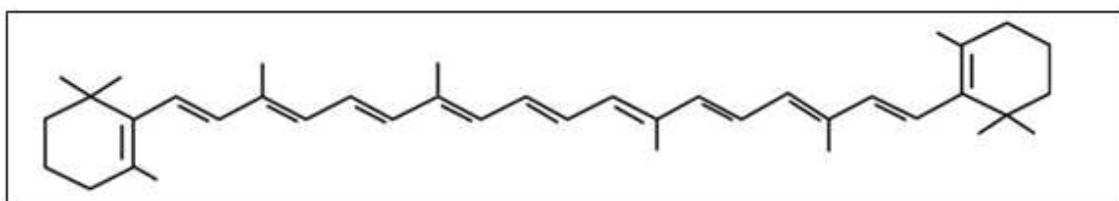


Figura 4 - Estrutura do β -caroteno, carotenóide com maior atividade pró-vitâmica.

O grão de milho, apesar de possuir baixa concentração de β -caroteno, motivo alvo de processos de melhoramento, apresenta altas concentrações de luteína e zeaxantina, sendo considerada uma espécie carotenogênica, ou seja, fonte de carotenóides. Nos grãos de milho, os carotenóides, estão uniformemente distribuídos, com quantidades significativas na camada de aleurona e no endosperma (KONOPKA et al., 2004).

O gérmen representa 11% do grão de milho, concentrando aproximadamente 83% de lipídeos (óleo e vitamina E), 78% de minerais, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%). No gérmen estão presentes as

proteínas do tipo albuminas, globulinas e glutelinas, que diferem significativamente, em composição e organização molecular, daquelas encontradas no endosperma e, conseqüentemente, diferindo das primeiras em qualidade nutricional e propriedades tecnológicas.

A composição do óleo presente no gérmen do milho é distinta dos outros óleos vegetais quanto aos percentuais de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, sendo aproximadamente 58% de poliinsaturados, 29% de monoinsaturados e 13% de saturados. Entretanto, o óleo de milho possui composição de ácidos graxos poliinsaturados semelhante aos óleos de soja e girassol. Nesses óleos vegetais, o principal componente é o ácido graxo linoleico (ômega 6), contendo um pequeno percentual do ácido graxo linolênico (ômega 6), que são considerados essenciais à nutrição humana e de alguns animais, dada a incapacidade de síntese dos mesmos pelo organismo.

O pericarpo, que representa em média 5% do grão, é a estrutura que protege as outras estruturas do grão da elevada umidade do ambiente, insetos e microrganismos. As camadas de células que compõem essa fração são constituídas de polissacarídeos do tipo hemicelulose (67%) e celulose (23%), embora também contenha lignina (0,1%).

A ponta é a menor estrutura do grão (2%), sendo responsável pela conexão do grão ao sabugo na espiga, única área do grão não coberta pelo pericarpo, e que possui sua composição essencialmente de material lignocelulósico.

2.3. Utilização dos grãos de milho

A importância econômica do milho é caracterizada pelas diversas formas de utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, sendo que a alimentação animal representa a maior parte deste consumo, aproximadamente 70%. Portanto os grãos produzidos precisam ser armazenados para posterior consumo nas próprias propriedades agrícolas, ou mesmo para comercialização, sendo que processos adequados de pós-colheita devem ser empregados para manutenção das características qualitativas e quantitativas dos grãos.

Para alimentação humana, apenas 15% do total da produção é utilizado, e isso se deve a falta de informação sobre suas formas de utilização e de qualidade nutricional, entretanto, no mercado de amido o milho apresenta uma grande importância, pois do

total de amido produzido, aproximadamente 80% é obtido de grãos de milho (ECKHOFF, 2004).

Na alimentação animal, a qualidade do milho é importante, uma vez que pode afetar o custo da produção, o desempenho zootécnico e a qualidade de carnes, ovos e leite produzidos, devendo-se ter um grande controle na comercialização do milho para evitar problemas mais sérios ao final do processo produtivo, no momento do consumo de alimentos. Para não comprometer o desenvolvimento de cadeias produtivas de animais, principalmente suínos e aves, as indústrias produtoras de rações exigem análises de micotoxinas para comercialização do milho, sendo que a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) determina os limites máximos para comercialização, onde para Aflatoxinas B1, B2, G1, G2 no milho em grão (inteiro, partido, amassado e moído), farinhas ou sêmolas de milho o limite máximo de tolerância é de 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Nos grãos de milho armazenados, o desenvolvimento de micotoxinas ocorre por fungos principalmente do gênero *Aspergillus*, que necessitam de temperatura, umidade relativa do ar e substrato adequados para o desenvolvimento. Umidade relativa de 80 a 85%, umidade dos grãos de 17% e temperatura de 24 a 35°C são condições ótimas para produção de aflatoxinas em grãos de milho (DILKIN et al., 2000), porém sabe-se que com umidade de 12%, temperaturas elevadas, aliado a presença de oxigênio e um longo período de armazenamento, condições facilmente encontradas nos silos de armazenamento, pode haver a produção de micotoxinas.

O crescimento fúngico afeta a quantidade de nutrientes presentes nos grãos, como carboidratos, certas vitaminas, lipídios e proteínas, resultando em um menor rendimento nas indústrias produtoras de rações, além da produção de micotoxinas, que podem causar problemas na saúde e no desempenho de animais, podendo reduzir o ganho de peso e a qualidade final dos lotes.

2.4. Secagem e armazenamento

Os grãos de milho geralmente são colhidos com umidade elevada, entre 25 e 30%, necessitando de secagem para redução até níveis desejados para o armazenamento seguro. Porém, nem sempre é possível a realização de secagem correta em função do grande fluxo de grãos que chegam as unidades armazenadoras, assim, os teores são reduzidos a níveis superiores a 13%, permanecendo em silos durante vários meses até a utilização.

Durante a secagem, a utilização de temperaturas elevadas, pode comprometer a qualidade final do produto. A utilização de temperaturas de massa superiores de 60°C durante a secagem produz amido de baixa viscosidade e rendimento no processo de extração por moagem úmida, e milhos secos a partir de umidades elevadas (28-30%) em temperaturas acima de 82°C também apresentam baixo rendimento de óleo e reduzido teor de proteínas (BEMILLER; WHISTLER, 2009). Segundo Queiroz e Pereira (2001), a secagem em baixas temperaturas é um processo lento e pode demorar uma semana e, em determinados casos, devido às condições psicrométricas do ar, até um mês, comprometendo todo o restante da produção.

A adequação das condições de secagem é de fundamental importância para a qualidade do processo, pois a utilização de temperaturas elevadas pode afetar as propriedades térmicas (Altay e Gunasekaran, 2006; Haros et al., 2003), reológicas (Hardacre e Clark, 2006) e estruturais, reduzindo o poder de inchamento do amido. Em trabalho desenvolvido por Malumba et al. (2009), a alta temperatura de secagem parece conferir aos grânulos de amido uma rigidez que diminui o poder de inchamento e os índices de solubilidade de água durante o processo de gelatinização, sendo que estas mudanças estruturais nos grânulos de amido afetam as características de comportamento de pasta, reduzindo o pico máximo de viscosidade e a quebra (breakdown) durante o período de aquecimento da amostra, entretanto aumenta a temperatura inicial de gelatinização, além de afetar os parâmetros de textura de gel.

A umidade elevada dos grãos, aliada a temperaturas altas, acelera o processo metabólico dos grãos, iniciando focos de aquecimento no interior da massa de grãos, acarretando em perdas elevadas, se medidas adequadas não forem realizadas. A qualidade de armazenamento está relacionada com a qualidade inicial dos grãos, porém durante o período de armazenamento os grãos são influenciados por fatores como temperatura, umidade dos grãos, umidade relativa do ar, atmosfera de armazenamento, teor de grãos quebrados, teor de impurezas, presença de micro-organismos, insetos, ácaros e tempo de armazenamento.

Faroni et al. (2005), ao estudar temperaturas de armazenamento entre 20°C e 40°C, verificou reduções de até 20% na massa específica aparente dos grãos de milho armazenados durante 180 dias, e atribuiu esta redução ao ataque de insetos, e a redução da condutividade elétrica dos grãos à deterioração da membrana celular desses grãos, devido à maior lixiviação de eletrólitos do interior celular. Estudo desenvolvido por

Costa et al. (2010), avaliou o armazenamento de milho em silos hermeticamente fechados, e concluiu que os grãos podem ser armazenados sem alterações na classificação de tipo nas temperatura de até 35°C com 14% de umidade durante 180 dias, porém ocorreram alterações nos teores de germinação, condutividade elétrica e massa específica dos grãos armazenados ao final do período.

Segundo Rehman et al. (2002), reduções na qualidade nutricional ocorrem durante o armazenamento de grãos de milho na temperatura de 25°C, mas em menor extensões que na temperatura de 45°C, no entanto, nenhuma alteração significativa em qualquer nutriente foi observado no armazenamento de grãos de milho a 10°C. Embora a amplitude das temperaturas do trabalho foram elevadas, novos estudos devem ser feitos com menores faixas de variação, pois reduções nos conteúdos de lipídios, carboidratos, proteínas e vitaminas durante o período de armazenamento resultam em perdas de material orgânico, do peso volumétrico, da matéria seca, bem como do valor comercial e nutricional do milho (FLEURAT-LESSARD, 2002).

O armazenamento de grãos em condições inadequadas resulta em aumentos na oxidação lipídica e do conteúdo de ácidos graxos livres (Galliard, 1986), formando um complexo com a amilose helicoidal ou reduzindo o comprimento das cadeias longas de amilopectina, alterando as propriedades físicas e nutricionais do grão e dos seus produtos finais (HAYFA; COPELAND, 2007; HASJIM et al., 2010).

Aguiar et al. (2012) observou que na temperatura de armazenamento de 25°C houve uma menor porcentagem de sementes infectadas com colônias dos fungos quando comparado a temperaturas superiores, porém em estudos desenvolvidos por Alborch et al. (2011) foi possível observar em grãos de milho, que para os fungos de pós-colheita *Aspergillus niger* e *Aspergillus carbonarius* a temperatura de desenvolvimento foi na faixa de 15 a 35°C, assim estudos mais detalhados e em diferentes condições são necessários para confirmação e comparação dos resultados, pois o desenvolvimento de fungos possibilita a maior formação de micotoxinas, que estão relacionadas com a segurança alimentar do consumo do produto. Contaminações por micotoxinas tornam os grãos inseguros para alimentação humana e animal, afetando negativamente a segurança alimentar, devido ao consumo de altas doses de aflatoxina levar a aflatoxicose que pode resultar em doenças agudas e até mesmo morte (ZAIN, 2011).

O armazenamento grãos em sistema refrigerado é uma alternativa para a manutenção da qualidade do produto, pois diminui a atividade da água, reduz a taxa

respiratória dos grãos, e também retarda o desenvolvimento dos insetos-praga e da microflora presente, independentemente das condições climáticas da região (Rigueira et al., 2009; Reed et al., 2007; Rehman et al., 2002), permitindo o armazenamento por maiores períodos de tempo. Porém ainda faltam estudos para a determinação das temperaturas seguras de armazenamento para os diferentes níveis de umidade dos grãos que garantam a qualidade tecnológica final do produto.

O emprego de silos herméticos para armazenamento foi relatado na literatura por Puzzi (2000), como silos com baixos custos e com vantagens para o armazenamento, pois reduzem a proliferação de micro-organismos, a atividade metabólica dos grãos, interessantes para o seu emprego nas propriedades. Ressalta-se que uma atmosfera rica em CO₂ e pobre em O₂ pode suprimir a capacidade de reprodução e/ou desenvolvimento dos insetos e fungos, como também a própria atividade metabólica dos grãos, favorecendo a sua conservação (MORENO et al., 2006), além de reduzir a taxa de oxidação do produto armazenado (VILLERS et al., 2006).

Segundo Elias et al. (2009), o armazenamento hermético é baseado na redução do oxigênio disponível no ecossistema de armazenamento a níveis letais ou limitantes para os organismos vivos associados, podendo essa redução ser obtida espontaneamente através do processo respiratório dos grãos e organismos existentes, ou de forma artificial, entretanto nos silos verticais tradicionalmente utilizadas no país esta condição não é totalmente encontrada, caracterizando sistemas semi-herméticos. Em grãos úmidos, armazenados hermeticamente, apresentando graus de umidade elevados (acima de 14%), o consumo de oxigênio do ar intragranular pode evitar o desenvolvimento de fungos, pois a maioria dos fungos são aeróbios, não se desenvolvendo em ambiente onde a taxa de oxigênio é baixa (PUZZI, 2000).

Fungos de armazenamento estão sempre presentes em alto número em todo o tipo de material como ar, poeira, água, e são constituintes normais da película de grãos e sementes (LAZZARI, 1997). O armazenamento é fator determinante na formação de micotoxinas, onde produtos armazenados com baixa umidade, temperatura adequada e protegidos da ação de insetos e roedores têm menor possibilidade de contaminação por micotoxinas (NORDIN, 1995). Os principais fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos durante o armazenamento de sementes, grãos e rações são: umidade, temperatura, período de armazenamento, nível de contaminação, impurezas e matérias

estranhas, insetos, nível de oxigênio, condições físicas e sanitárias da semente ou grãos (LAZZARI, 1997).

O processo de resfriamento da massa de grãos, durante o período de armazenagem, é uma técnica eficaz e econômica para a manutenção da qualidade do produto, pois diminui a atividade da água e reduz a taxa respiratória dos grãos, e também retarda o desenvolvimento dos insetos-praga e da microflora presente, independentemente das condições climáticas da região (RIGUEIRA et al., 2009). Segundo Bemiller e Whistler (2009), a presença de umidade acima de 14,5% pode resultar no desenvolvimento de mofo se a temperatura de grãos ultrapassar a faixa entre 22-24°C durante um longo período de tempo. O atraso na colheita do milho tem sido considerado um dos fatores que mais faz aumentar as perdas por insetos no campo e durante o armazenamento (SANTOS et al., 1997), pois muitas vezes os grãos permanecem na lavoura devido aos sistemas de secagem não terem capacidade para atender a toda a demanda necessária, sendo um gargalo para o processo.

O armazenamento por longos períodos reduz o rendimento de extração do amido durante a moagem por via úmida devido à degradação do amido e as interações entre o amido e os outros componentes do grão (ABERA; SUDIP, 2003). O armazenamento dos grãos também provoca uma diminuição na solubilidade e digestibilidade da proteína nos grãos (CHRASTIL, 1990a). Em estudo desenvolvido por Chrastil et al. (1992), os autores relataram que o armazenamento aumentou o peso molecular da proteína nos grãos de arroz através da formação de ligações dissulfídicas, podendo alterar a atividade e as propriedades de enzimas endógenas presentes no grão, tais como amilases, proteases, fosfatases.

Em estudo realizado por Park *et al.* (2012) para avaliar o efeito da temperatura no armazenamento de arroz, os autores concluíram que este é um fator que afeta as propriedades físico-químicas dos grãos, aumentando a acidez dos lipídios, a cor e a dureza dos grãos, alterando as propriedades sensoriais e texturométricas após a cocção.

Segundo Patindol et al. (2005), o armazenamento de arroz em casca em temperaturas controladas de 38°C durante nove meses afetou as propriedades térmicas e de pasta do amido e reduziu a quantidade de cadeias ramificadas longas amilopectina. Em trabalho desenvolvido por Setiawan et al. (2010), ao avaliar o armazenamento de grãos de milho secos ao sol e em secador artificial, e armazenados na temperatura de 27°C e umidade relativa do ar de 85-90% durante 6 meses, encontraram alterações nas

estruturas e funções do amido, sendo que a taxa de hidrólise de amido, o pico máximo de viscosidade e a quantidade de cadeias longas de amilopectina reduziram com o armazenamento, porém a temperatura de gelatinização, temperatura de pasta e percentual de cristalinidade do amido isolado aumentou com o armazenamento, e a percentagem de longas cadeias de ramificação de amilopectina diminuiu com o armazenamento de milho, indicando que a hidrólise do amido foi realizada durante o armazenamento de milho.

Ao avaliar grãos de feijão armazenados em diferentes sistemas de armazenamento durante 12 meses, Rupollo et al. (2011) encontraram menor cristalinidade, poder de inchamento e energia necessária para a gelatinização do amido, entretanto não encontraram diferenças na solubilidade e propriedades de pasta do amido isolado. Yousif et al. (2003), ao estudarem os efeitos de três diferentes temperaturas (10, 20 e 30°C) e duas umidades relativas do ar (40 e 65%) no armazenamento de feijão adzuki (*Vigna angularis* L.) durante 6 meses, encontraram um aumento na temperatura de gelatinização do amido, correlacionando positivamente com o aumento da temperatura de armazenamento, entretanto novos estudos devem ser realizados em outras culturas para avaliação do comportamento do amido em diferentes temperaturas de armazenamento.

2.5. Amido

2.5.1. Usos do amido de milho

O amido é o principal constituinte responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados, uma vez que contribui para diversas propriedades de textura em alimentos, possuindo aplicações industriais como espessante, estabilizador de colóides, agente geleificante e de volume, na adesividade, na retenção de água, dentre outros (DENARDIN; SILVA, 2009).

O amido extraído de grãos de milho é responsável por mais de 80% do mercado mundial de amidos, e a maior produção se encontra nos Estados Unidos (JOBLING, 2004). No Brasil, as fontes de amido mais utilizadas industrialmente são milho e mandioca, sendo que do total produzido a partir de grãos de milho, aproximadamente 70% é convertido em xarope de milho, produto que possui alto teor de frutose e dextrose (BILIADERIS, 1991).

Segundo Singh et al., (1997) as transformações químicas, bioquímicas e operações mecânicas envolvidas no processo industrial de moagem úmida na obtenção do amido de milho, separam o grão de milho em frações relativamente puras de gérmen, fibra, amido e proteína. O procedimento pode ser dividido em seis etapas principais: maceração, primeira moagem, separação do germe, segunda moagem, separação das fibras e separação glúten-amido. A primeira etapa, denominada de maceração, é a mais importante, pois nela ocorrem os fenômenos químicos e bioquímicos que preparam os grãos para obtenção de maior eficiência no processo de moagem úmida (*wet-milling*). Os fenômenos mais importantes, nesta etapa são a hidratação dos grãos, a ativação de proteases e reações de quebra das redes de proteínas que envolvem os grânulos de amido dentro do endosperma. Para que isto aconteça é imprescindível que ocorra a difusão de três componentes para o interior do grão: água, dióxido de enxofre (SO₂) e ácido láctico (LOPES FILHO et al., 2006).

O amido de milho normal se caracteriza pela formação de um gel consistente, muito utilizado em sopas desidratadas e molhos que requerem viscosidade do produto à quente. Para produtos que necessitam de armazenamento refrigerado, o amido de milho não é indicado, devido à elevada sinérese (exsudação de água), consequência do fenômeno de retrogradação (WEBER et al., 2009). Nesses casos, é mais indicado o uso do amido de milho ceroso (*waxy*), que não possui amilose, apresentando maior estabilidade à baixas temperaturas, devido amilose possuir elevada retrogradação, assim formam géis fracos, altamente viscosos no cozimento, claros e coesivos. No mercado, podem ser encontrados amidos de milho com alto teor de amilose, acima de 50%, denominas *high-amilose*, que gelificam e formam filmes com maior facilidade devido ao alto conteúdo de amilose. (PARKER; RING, 2001).

2.5.2. Estrutura do amido

O amido encontra-se amplamente distribuído em diversas espécies vegetais como carboidrato de reserva, sendo segundo Freitas et al. (2003), as fontes potenciais mais importantes de amido são: grãos de cereais (40 a 90% do seu peso seco), legumes (30 a 70% do seu peso seco) e os tubérculos (65 a 85% do seu peso seco).

Segundo Denardin e Silva (2009), diversas pesquisas sobre a avaliação da relação existente entre a estrutura molecular do amido e seu comportamento em algumas propriedades físico-químicas sugerem que diversas características estruturais,

como teor de amilose, distribuição de comprimento das cadeias de amilopectina e grau de cristalinidade dos grânulos, podem estar intimamente relacionadas aos eventos associados com a gelatinização e a retrogradação, tais como inchamento dos grânulos, lixiviação de amilose e/ou amilopectina, perda da estrutura radial (birrefringência), supra-molecular (cristalinidade), molecular e de recristalização.

O amido, que se apresenta em forma de grânulos com tamanho variável, é um homopolissacarídeo composto pelas macromoléculas amilose e amilopectina (Fig. 5). As cadeias de amilose e amilopectina não existem livres na natureza, mas como agregados semi-cristalinos, organizados sob a forma de grânulos (DENARDIN; SILVA, 2009). O tamanho, a forma e a estrutura dos grânulos de amido de milho variam com as fontes botânicas, geralmente variam entre 1 a 100 μm de diâmetro, e os formatos podem ser regulares ou irregulares (SINGH et al., 2003; LIU, 2005).

A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em α -1,4 e α -1,6, constituindo uma estrutura ramificada. As proporções, em que essas estruturas aparecem, diferem em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e, em uma mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta (ELIASSON, 2004; TESTER et al., 2004).

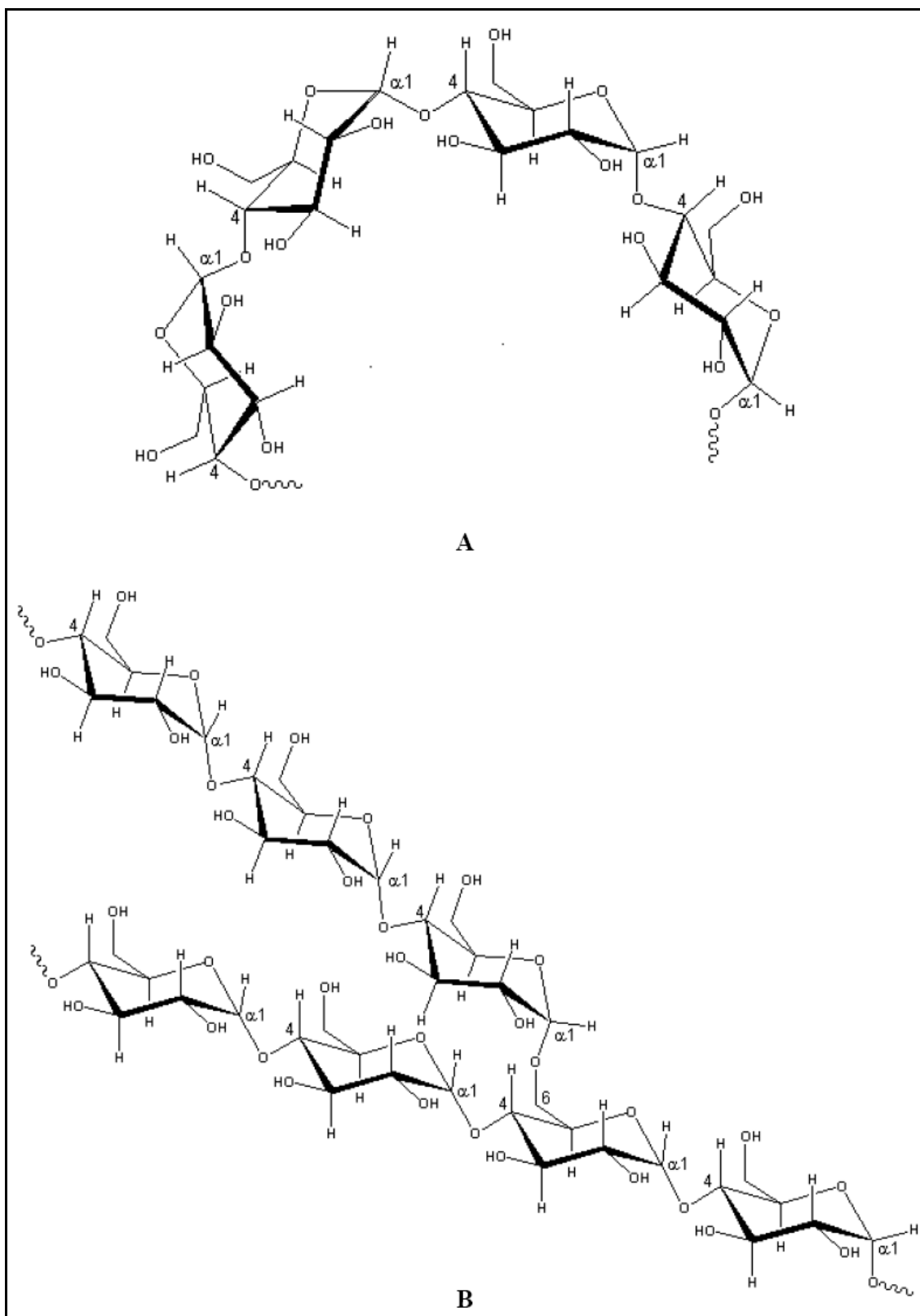


Figura 5 - A) Estrutura da amilose [polímero linear composto por unidade de D-glicose unidas em ligações $\alpha(1-4)$]. B) Estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por unidades de D-glicose unidas em ligações $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$].

FONTE: Adaptado de Lajolo e Menezes (2006).

2.5.2.1. Amilose

A amilose é um polímero essencialmente linear composto quase que completamente de ligações α -1,4 nas unidades de D-glicose, entretanto, algumas evidências sugerem a presença de algumas ramificações nesse polímero (LIU, 2005). Embora ilustrada tipicamente por uma estrutura linear de cadeia, a amilose é frequentemente helicoidal. O interior da hélice contém átomos de hidrogênio (característica de hidrofobicidade), permitindo que a amilose forme complexos com ácidos graxos livres com componentes glicerídeos dos ácidos graxos, com alguns alcoóis e com o iodo, formando com este, um complexo de coloração azul (THOMAS; ATWEL, 1999).

A massa molecular da amilose é dependente da fonte e das condições de processamento empregadas na extração do amido, mas geralmente varia de $1,5 \cdot 10^5$ - 10^6 , com tamanho médio de 10^3 unidades de glicose (FRANCO et al., 2001).

O amido de milho contém entre 25-28% de amilose, enquanto o de mandioca possui apenas 17%. A amilose possui habilidade em formar pasta depois da gelatinização do grânulo de amido, e este comportamento é evidente em certos amidos que contêm maiores teores de amilose. Amido de milho, trigo, arroz e particularmente amido de milho com alto teor de amilose são usualmente considerados amidos formadores de pasta. A formação da pasta decorre principalmente da reassociação (chamado de retrogradação) dos polímeros de amido solubilizados depois da gelatinização (THOMAS; ATWEL, 1999).

2.5.2.2. Amilopectina

A amilopectina é uma macromolécula altamente ramificada e consiste em cadeias lineares mais curtas de ligações α -1,4 contendo 10 a 60 unidades de glicose e cadeias laterais com 15 a 45 unidades de glicose com uma média de 5% de ligações α -1,6 nos pontos de ramificação (VAN DER MAAREL et al., 2002). O peso molecular da amilopectina é cerca de 1000 vezes o peso molecular da amilose e varia de 1×10^7 a 5×10^8 g.mol⁻¹ (YOU et al., 2002). Segundo Vandeputte e Delcour (2004), a amilopectina apresenta um grau de polimerização de 4700 a 12800 unidades de resíduos de glicose com comprimento médio de 17 a 24 e limite de β -amilose de 55 a 60%. As cadeias individuais podem variar entre 10 e 100 unidades de glicose (DENARDIN; SILVA, 2009).

As cadeias de amilopectina estão organizadas de maneiras diferentes, sugerindo uma classificação de cadeias A, B e C (Fig. 6). O tipo A é composto por uma cadeia não-redutora de glicoses unidas por ligações α -(1,4) sem ramificações, sendo unida a uma cadeia tipo B por meio de ligações α -(1,6), já as cadeias do tipo B são compostas por glicoses ligadas em α -(1,4) e α -(1,6), contendo uma ou várias cadeias tipo A e podem conter cadeias tipo B que são unidas por meio de um grupamento hidroxila primário, e a cadeia C é única em uma molécula de amilopectina, sendo composta por ligações α -(1,4) e α -(1,6), com grupamento terminal redutor (ELIASSON, 2004; VANDEPUTTE; DELCOUR, 2004; LAJOLO; MENEZES, 2006).

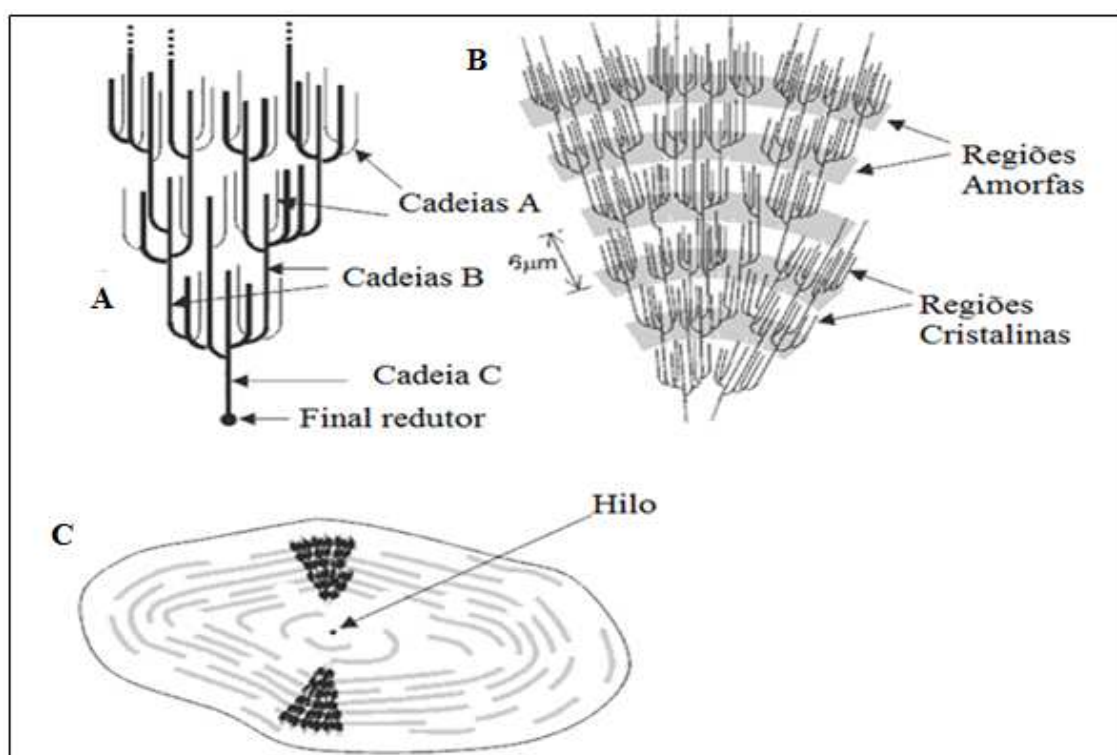


Figura 6 – A) Classificação das cadeias da amilopectina em cadeias tipos A, B e C; B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido; C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilum. FONTE: Adaptado de Parker e Ring (2001).

A amilopectina é estrutural e funcionalmente a mais importante das duas frações, pois sozinha é suficiente para formar o grânulo, como ocorre em mutantes que são desprovidos de amilose. Quanto à amilose, a sua localização exata dentro do grânulo ainda é uma tarefa difícil, acreditando-se que ela esteja localizada entre as cadeias da amilopectina e aleatoriamente entremeada entre as regiões amorfas e

cristalinas. As moléculas de amilose maiores estão concentradas no centro do grânulo e, provavelmente, participam das duplas hélices com a amilopectina, enquanto as moléculas menores, presentes na periferia, podem ser lixiviadas para fora do grânulo. Apesar de seu limitado papel na formação de cristais, a amilose pode influenciar a organização das duplas hélices, interferindo na densidade de empacotamento das cadeias de amilopectina (OATES, 1997; TESTER et al., 2004). Além disso, estudos de Kuakpetoon e Wang (2007) sugerem que parte da amilose pode cristalizar juntamente com a amilopectina, formando lamelas cristalinas, porém a organização exata desses componentes dentro do grânulo ainda não está totalmente esclarecida.

2.5.3. Propriedades do amido

2.5.3.1. Cristalinidade

Os grânulos de amido nativos contêm entre 15 e 45% de material cristalino com modelos de difração de raios-X, que correspondem a duas poliformas (A ou B) ou a uma forma intermediária (C), as quais têm a sua classificação baseada em variações no conteúdo de água e na configuração de empacotamento de duplas hélices (IMBERTY et al., 1991). Os padrões de cristalinidade (Fig. 7) são definidos com base nos espaços interplanares e intensidade relativa das linhas de difração de raio-X (CEREDA, 2001).

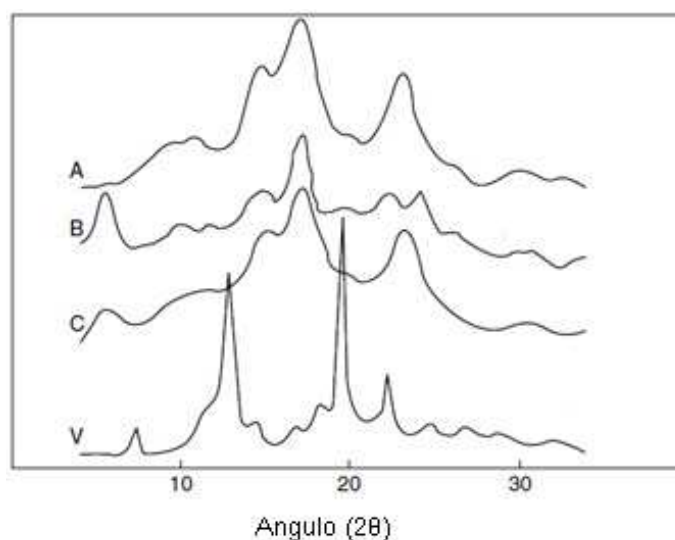


Figura 7 - Difratogramas de raio -X de diferentes amidos. (A) refere-se ao padrão tipo A de amidos de cereais, (B) tipo B de amidos de tubérculos, (C) tipo C de amidos de leguminosas, e (V) tipo V de amilose complexada.

FONTE: Liu (2005) adaptado de Zobel (1988).

Segundo Zobel (1988), o padrão de cristalinidade tipo A é aquele que apresenta picos fortes nos espaços interplanares de 5,8; 5,2 e 3,8 Å (angstroms), o tipo B apresenta um pico de intensidade forte a 5,2 Å e vários picos de intensidade média de 15,8; 6,2; 4,0 e 3,7 Å, e o tipo C apresenta semelhança com o padrão A, tendo um pico adicional a 15,4 Å de intensidade fraca. A amilose quando estiver complexada com compostos orgânicos, água ou iodo, pode aparecer no padrão tipo V. O padrão V apresenta picos em 12,0; 6,8 e 4,4 Å, sendo que o pico de 4,4 Å é normalmente usado como a primeira indicação de que o complexo V está sendo formado (ZOBEL, 1988; BILIADERIS, 1991).

A cristalinidade tipo A ocorre na maioria dos cereais (milho, arroz, trigo, aveia) e é descrita como uma unidade celular monocíclica altamente condensada e cristalina, em que 12 resíduos de glicose de duas cadeias no sentido anti-horário abrigam quatro moléculas de água entre as hélices. A estrutura de padrão tipo B (tubérculos, arroz com alto teor de amilose e amido retrogradado) é mais claramente definida, sendo composta por uma unidade básica de cadeias que são empacotadas em um arranjo hexagonal, onde a unidade celular tem duas duplas hélices no sentido anti-horário, alinhadas e arranjadas em paralelo. Essa estrutura contém 36 moléculas de água (27%) para cada 12 resíduos de glicose, sendo que a metade dessa água é fortemente ligada às duplas hélices, e a outra metade é concentrada em um eixo em parafuso (OATES, 1997; ELIASSON, 2004). Além de serem considerados mais ricos em amilose, esses tipos de amido apresentam formatos e tamanhos semelhantes sendo resistentes à hidrólise, tanto enzimática quanto ácida (LAJOLO & MENEZES, 1996). Certas raízes e sementes (ervilha lisa e fava) possuem uma estrutura intermediária entre os modelos A e B, a qual é denominada de padrão C e é subclassificada em Ca, Cb e Cc, de acordo com a semelhança com os padrões A e B ou entre os dois tipos, respectivamente (ELIASSON, 2004).

A maior suscetibilidade a hidrólise dos amidos com cristalinidade do tipo A ocorre devido à presença de poros superficiais que podem ser alargados pela ação das enzimas, facilitando a sua ação no interior do grânulo. Outra possível explicação para essa maior suscetibilidade a erosões químicas e enzimáticas nos grânulos do tipo A, quando comparados aos do tipo B, é a presença de cascas protetoras (chamados blocos cristalinos) incorporadas estruturalmente ao redor dos grânulos tipo B, que são menos fortemente empacotados (OATES, 1997).

A técnica de difração dos raios-X detecta as repetições ordenadas regulares das hélices, refletindo a ordem tridimensional dos cristais do amido. Através desta classificação pode-se agrupar a maioria dos amidos de acordo com as suas propriedades físicas (DONNALD et al., 2004). Esta técnica é o melhor método para estimar a cristalinidade, entretanto é um procedimento lento porque todas as amostras precisam conter a mesma quantidade de água para efeito de comparação. A hidratação interfere na análise uma vez que, aumenta a ordem estrutural e a resolução dos resultados (LELOUP et al., 1992).

2.5.3.2. Poder de inchamento e solubilidade

O amido puro tem coloração branca, é insípido, e se adicionado à água fria e mantido em agitação forma uma suspensão de aspecto leitoso separando-se após o repouso. Entretanto, uma pequena fração torna-se solúvel quando agitado em água, ocasionando um pequeno inchamento, sendo considerado como praticamente insolúvel.

A insolubilidade dos grânulos de amido é devida às fortes ligações de hidrogênio que mantêm as cadeias unidas (CEREDA, 2001). Porém, quando o amido é aquecido em excesso de água, acima da temperatura de empastamento, a estrutura cristalina é rompida pelo relaxamento das pontes de hidrogênio e as moléculas de água interagem com os grupos hidroxilas da amilose e da amilopectina. Isso causa um aumento do tamanho dos grânulos devido ao inchamento com parcial solubilização (HOOVER, 2001).

De maneira geral a solubilidade e o poder de inchamento apresentam-se correlacionados (LEACH et al., 1959). O amido de milho apresenta inchamento limitado que ocorre em dois estágios, sugerindo que dois tipos de forças envolvidas nas interações entre as cadeias poliméricas que relaxam a diferentes temperaturas (PERONI, 2003). Amidos ricos em amilose mostram inchamento e solubilidade restritos, mesmo após um período prolongado de aquecimento. As curvas de inchamento e solubilidade dos grânulos indicam um elevado grau de associação nesses amidos (CEREDA, 2001).

O poder de inchamento dos grânulos, que pode ser determinado pelo aquecimento da amostra de amido em excesso de água, é definido como o peso do sedimento inchado (gramas) por grama de amido. A solubilidade do amido também pode ser determinada na mesma suspensão; sendo expressa como a porcentagem (em peso) da amostra de amido que é dissolvida após aquecimento (LEACH et al., 1959).

2.5.3.3. Gelatinização e retrogradação

O aquecimento de suspensões de amido em excesso de água e acima de uma determinada temperatura causa uma transição irreversível denominada gelatinização. A gelatinização do amido é o colapso do arranjo molecular, em que o grânulo de amido sofre mudanças irreversíveis em suas propriedades, ocorre perda da cristalinidade, absorção de água, intumescimento do grânulo e lixiviamento de alguns componentes, principalmente amilose (ZHONG et al., 2009). A retrogradação é um processo que ocorre quando as moléculas de amido gelatinizado começam a se reassociar em uma estrutura ordenada. Fatores como temperatura, tamanho e concentração dos grânulos e a presença de lipídeos podem influenciar o comportamento geral do amido (JANE et al., 1999).

As propriedades de inchamento e gelatinização são controladas, em parte, pela estrutura molecular da amilopectina (comprimento de cadeia, extensão de ramificação, peso molecular), pela composição do amido (proporção amilose/amilopectina e teor de fósforo) e pela arquitetura granular (proporção entre regiões cristalinas e amorfas). Convencionalmente, altas temperaturas de transição têm sido associadas a altos graus de cristalinidade, os quais fornecem a estabilidade estrutural e tornam os grânulos mais resistentes à gelatinização (SINGH, 2003).

Quando é armazenado e resfriado, o amido gelatinizado pode sofrer um fenômeno denominado de retrogradação. Com o passar do tempo, as moléculas do amido vão perdendo energia e as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes, e assim as cadeias começam a reassociar-se num estado mais ordenado. Essa reassociação culmina com a formação de simples e duplas hélices, resultando no entrelaçamento ou na formação de zonas de junção entre as moléculas, formando áreas cristalinas. Como a área cristalizada altera o índice de refração, o gel vai se tornando mais opaco à medida que a retrogradação se processa (ELIASSON, 1996).

A amilose exsudada de grânulos inchados forma uma rede por meio da associação com cadeias que rodeiam os grânulos gelatinizados. Como consequência, a retrogradação aumenta (viscosidade de *setback*), convertendo-se num sistema viscoelástico turvo ou em concentrações de amido suficientemente altas (> 6 p/p) em um gel elástico opaco (LAJOLO e MENEZES, 2006), em que, às vezes, ocorre a precipitação de cristais insolúveis de amido, levando à separação de fases. A forte

interação das cadeias entre si promove a saída da água do sistema, sendo essa expulsão denominada sinérese.

Atualmente, várias técnicas têm sido empregadas para avaliar o comportamento dos grânulos frente à gelatinização, como difração de raios X, dispersão de nêutrons de pequeno ângulo, microscopia com luz polarizada e, principalmente, calorimetria diferencial de varredura (DSC – *Differential Scanning Calorimetry*). Além disso, alguns equipamentos também avaliam a viscosidade de pastas de amido, como o viscoamilógrafo Brabender, o visco-analisador rápido (RVA – *Rapid Visco-Analyser*) e os viscosímetros de rotação, os quais dão uma ideia do comportamento do amido na gelatinização (SINGH, 2003; ELIASSON, 2004).

A técnica de DSC quando aplicada ao amido, fornece medidas quantitativas do fluxo de calor associado à gelatinização, em que os picos endotérmicos são indicativos de fusão. Para detecção das fases de transição nos amidos, os métodos de DSC têm a vantagem de serem independentes da birrefringência dos grânulos. As mudanças de entalpia observadas em DSC geralmente são relacionadas à transição do tipo ordem e desordem dos cristais, presentes em extensos arranjos ordenados internos e em regiões de menor ordem cristalina do grânulo (YU; CHRISTIE, 2001; KARLSSON; ELIASSON, 2003).

A determinação do comportamento de pasta durante o aquecimento e resfriamento do amido é determinada no RVA, conforme Fig.8. Durante a fase inicial de aquecimento de uma suspensão aquosa de amido, é registrado um aumento na viscosidade quando os grânulos começam a inchar. Neste ponto, polímeros com baixo peso molecular, particularmente moléculas de amilose, começam a ser lixiviadas dos grânulos. Um pico de viscosidade é obtido durante o empastamento, quando existe a maioria dos grânulos totalmente inchados, grânulos intactos e o alinhamento molecular de qualquer polímero solubilizado ainda não ocorreu dentro do campo de atrito do instrumento (TSAI et al.,1997). Durante a fase de temperatura constante (95°C) os grânulos começam a se romper e a solubilização dos polímeros continua, ocorrendo neste ponto uma quebra na viscosidade (*breakdown*). Durante a fase de resfriamento, polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar, e outro aumento na viscosidade é registrado. Este segundo aumento da viscosidade é conhecido como tendência a retrogradação (*setback*).

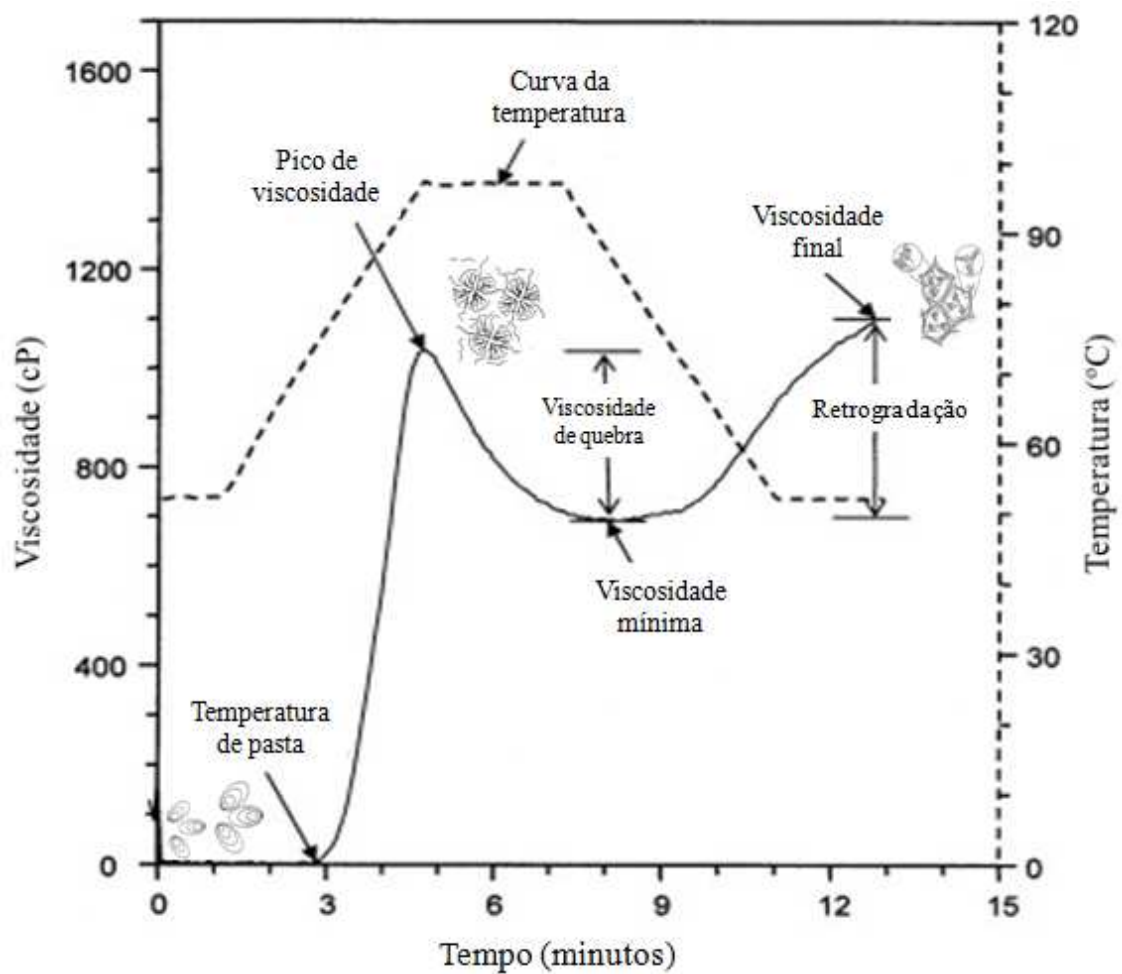


Figura 8 - Esquema de uma curva típica de comportamento de pasta obtido de um *Rapid Visco Analyzer* (RVA).

FONTE: adaptado de Kaur *et al.* (2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

Foram utilizados grãos de milho produzidos no município de Santo Augusto, região norte do Rio Grande do Sul, Brasil, latitude S 27°53'18", longitude W 53°47'20" e altitude de 489 metros, colhidos mecanicamente com umidade próxima a 18%, e transportados para o Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - DCTA, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel" - FAEM, Universidade Federal de Pelotas - UFPel, onde foi realizada e conduzida a parte de pós-colheita do experimento. Os grãos foram secados em secador estacionário protótipo do Laboratório de Grãos até as umidades de 12 e 14%, com ar de secagem a 35°C e fluxo de 9 m³ por tonelada por minuto (Fig. 9).



Figura 9 – Secador estacionário protótipo do Laboratório de Grãos.

Depois da secagem os grãos foram classificados com utilização de peneira circular de 5,0 e 7,0mm, sendo utilizados apenas os grãos retidos na peneira de 7,0mm, para uniformidade do diâmetro das amostras. Nas amostras foi realizado expurgo com fosfato de alumínio para evitar a interferência de insetos no experimento.

3.2. Desenho experimental

Amostras de 900 gramas foram armazenadas em sacos de polietileno de 0,2mm de espessura de filme plástico, dimensões de 30x30x30cm, vedados com máquina Webomatic® e ao abrigo da luz (Fig. 10). Para simulação do sistema semi-hermético, os grãos foram aerados a cada 45 dias, simulando uma aeração na massa de grãos como ocorre em escala industrial, como forma de inibição da anaerobiose e da formação de correntes convectivas de ar no interior da massa de grãos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.



Figura 10 - Grãos de milho armazenados em sacos de polietileno, com controle de temperatura.

Os grãos foram armazenados em sistema semi-hermético a temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C com umidade de 14%, e na temperatura de 25°C com umidade de 12%, como tratamento controle. As avaliações foram realizadas em triplicata no início do armazenamento (inicial), aos 3, 6, 9 e 12 meses para o Estudo 1 (tab. 4) e estudo 2 (tab. 5). Para o Estudo 3 foram realizadas avaliações inicial, 4, 8 e dias de armazenamento (tab. 6). Em cada tratamento foram coletadas 3 repetições em cada tempo de armazenamento. As amostras foram homogeneizadas e posteriormente analisadas em triplicata para cada uma das variáveis dependentes.

A pesquisa foi estruturada em três estudos, conforme descritos nas tab. 4, 5 e 6. No Estudo 1 foram avaliadas as alterações nas propriedades tecnológicas de grãos de milho armazenados em sistema semi-hermético durante 12 meses em diferentes temperaturas (tab. 4), e comparando com o tratamento controle, com umidade de 12% e temperatura de 25°C, condições tradicionalmente utilizadas durante o armazenamento. No Estudo 2

foram avaliadas alterações nas propriedades físico-químicas e nutricionais de grãos de milho armazenados em diferentes temperaturas durante 12 meses (tab. 5). No Estudo 3 foram avaliadas alterações nas propriedades de pasta, térmicas, de cristalinidade e morfológicas de amido isolado de grãos de milho armazenados em diferentes temperaturas ao final de 12 meses (tab. 6).

Tabela 4 - Delineamento experimental para avaliar as alterações nos parâmetros qualitativos e quantitativos tecnológicos de grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético (Estudo 1).

Variáveis independentes		Variáveis dependentes
Umidade (%)	Temperatura (°C)	
12	25	Umidade
		Germinação
		Vigor
		Condutividade elétrica
14	5	Peso de mil grãos
	15	Peso volumétrico
	25	Classificação dos grãos
		Grãos mofados
		Micotoxinas

Tabela 5 - Delineamento experimental para avaliar as alterações nas propriedades físico-químicas e nutricionais de grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C (Estudo 2).

Variáveis independentes		Variáveis dependentes
Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)	
5	0	Proteína bruta
		Minerais
		Lipídios
		Fibra bruta
15	3	Carboidratos
	6	Compostos bioativos
		pH da farinha
		Acidez dos lipídios
25	9	Cor
	12	Parâmetros viscoamilográficos
		Proteína solúvel
		Capacidade de hidratação
35		

Tabela 6 - Delineamento experimental para avaliar as alterações nas propriedades de pasta, térmicas e morfológicas de amido isolado de grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C (Estudo 3).

Condições de armazenamento	Variáveis dependentes
Inicial	Rendimento de extração Valor b*
5°C	Valor L*
15°C	Grau de pureza Poder de inchamento Solubilidade
25°C	Propriedades de pasta Propriedades térmicas - DSC
35°C	Cristalinidade - Raio-X Propriedades morfológicas -MEV

3.3. Avaliações

3.3.1. Estudo 1. Alterações nas propriedades tecnológicas de grãos de milho armazenados em sistema semi-hermético durante 12 meses em diferentes temperaturas

3.3.1.1. Umidade

A umidade foi determinada segundo normas da ASAE (2000), durante 24 horas a 105°C.

3.3.1.2. Germinação

O teor de germinação foi conduzido em quatro repetições de 50 sementes por lote, em rolo de papel toalha, em germinador regulado à 25°C, embebido em água na quantidade de 2,5 vezes o peso do substrato seco, visando adequado umedecimento, com as contagens feitas no 5º dia após a semeadura, seguindo as Regras para Análise de Sementes (2009). Os resultados foram expressos em percentagem pela média das repetições.

3.3.1.3. Vigor

O teor de vigor foi realizado com o teste de frio, conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote, em rolo de papel toalha, que foram colocadas durante cinco dias na temperatura de 10°C, e posteriormente foram levados para um germinador regulado à 25°C, e as contagens foram realizadas no 5º dia após a

semeadura, seguindo as Regras para Análise de Sementes (2009). Os resultados foram expressos em percentagem pela média das repetições.

3.3.1.4. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da água de hidratação foi determinada segundo metodologia do International Seed Testing Association - ISTA (2008). Foram contadas 4 repetições de 25 grãos, pesado e imersos em 75mL de água deionizada (em becker de 250mL), colocas em germinador regulado para a temperatura constante de 20°C, posteriormente, incubados durante 24 horas. As soluções foram agitadas suavemente e a condutividade elétrica foi determinada com condutivímetro sem filtragem da solução. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S.cm}^{-1}$.

3.3.1.5. Peso de mil grãos

O peso de 1000 grãos foi realizado segundo Regras para Análise de Sementes (2009), com contagem de três repetições de 1000 grãos cada e pesagem em balança de precisão. Os resultados foram expressos pela média das repetições.

3.3.1.6. Peso volumétrico

O peso volumétrico foi realizado segundo Regras para Análise de Sementes (2009) com oito repetições em balança *Dalle Molle*. Os resultados foram expressos pela média das repetições.

3.3.1.7. Classificação e incidência de defeitos metabólicos

Os defeitos metabólicos foram classificados de acordo com a Portaria Nº 845, de 08.11.1976, do Ministério da Agricultura, publicada no D.O.U. de 19.11.1976 (BRASIL, 1976), e a Portaria SARC nº 11, de 12 de abril de 1996, publicada no D.O.U. de 15/04/1996 (BRASIL, 1996). Foram classificados grãos brotados, ardidos, mofados, fermentados, chochos e carunchados, pesados e enquadrados quanto à tipificação.

3.3.1.8. Teor de grãos mofados

Foram considerados para quantificação do teor de mofados, grãos ou pedaços de grãos que apresentavam contaminações fúngicas (mofo ou bolor) visíveis a olho nu, independentemente do tamanho da área atingida, bem como os grãos ou pedaços de

grãos que apresentam coloração esverdeada ou azulada no germe, produzida pela presença de fungos. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

3.3.1.9. Micotoxinas

As amostras para determinação de micotoxinas foram enviadas para o LAMIC – Laboratório de Análises Micotoxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, sendo determinados os teores de Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 e Zearalenona de acordo com método de Rodriguez-Amaya e Valente Soares (1989) por Cromatografia Líquida em Camada Delgada.

3.3.2. Estudo 2. Alterações nas propriedades nutricionais e físico-químicas de grãos de milho armazenados durante 12 meses em diferentes temperaturas

3.3.2.1. Composição química

A umidade foi determinada segundo normas da ASAE (2000), durante 24 horas a 105°C. Os teores de proteína bruta, cinzas, extrato etéreo foram determinados de acordo com metodologia da Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2006). O teor de fibra bruta total foi realizado utilizando método químico, determinando o resíduo orgânico insolúvel da amostra, após digestão ácida e alcalina, sendo descontados destes os valores de cinzas (BRASIL, 1991).

3.3.2.2. Compostos bioativos

3.3.2.2.1. Teor de tocoferóis individuais e totais

A determinação dos teores de alfa (α), beta (γ) e delta (δ) tocoferóis foi realizada segundo metodologia adaptada de Chen e Bergman (2005) e Pestana et al. (2008). Foram pesadas 150mg de óleo a ser analisado em balão de 5mL e o volume foi completado para 5mL com isopropanol, e agitado levemente. O extrato obtido foi diluído em uma proporção (500 μ L de extrato + 500 μ L de isopropanol) e deste foi injetada uma alíquota de 10 μ L no cromatógrafo. A quantificação foi realizada em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-Shimadzu SLC-10Avp, Japão, com injetor automático, bomba quaternária e detector de fluorescência operando a 290nm de excitação e 330nm de emissão), provido de coluna de fase reversa ShimPack CLC-ODS (5 μ m, 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil,

temperatura de 25°C com fluxo de 1,0 mL.min⁻¹. A separação foi efetuada utilizando um sistema de eluição por gradiente, com fase móvel constituída de metanol, acetonitrila e isopropanol. A identificação dos compostos foi realizada através de padrões cromatográficos, comparando-se os tempos de retenção, enquanto que quantificação foi realizada por integração das áreas obtidas (software ClassVp) e interpolação com as respectivas curvas de calibração desenvolvidas para cada composto identificado individualmente (alfa, delta e gama). Os resultados foram expressos em mg de tocoferol em 100 gramas de amostra.

3.3.2.2. Teor de carotenóides totais

O teor de carotenóides totais foi determinado segundo método proposto por Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações. Foram pesadas 3 gramas de amostra moída em tubo de falcon (ao abrigo da luz), adicionados 20mL de água destilada e agitados em vortex durante 60 segundos. Os tubos foram colocados em banho à temperatura de 85°C durante 5 minutos, removidos, agitados novamente durante 60 segundos e colocados no banho por mais 5 minutos. Os tubos foram removidos e acrescentou-se 30 mL de acetona refrigerada com antioxidante (0,01%) (1 grama de antioxidante), e agitou-se durante 60 segundos. O material foi filtrado em papel para o interior de becker de 200 mL, sendo que o resíduo sólido foi novamente suspenso em 30 mL de acetona e agitado durante 60 segundos mais 2 vezes. O extrato obtido foi colocado em funis de separação, com 20 mL de éter de petróleo, separado durante 3 vezes, onde em cada uma delas procedeu-se a separação com 300 mL de água destilada, durante 15 minutos, descartando-se a parte inferior. Ao final do processo, quando todo o extrato foi adicionado, o conteúdo de carotenóides estava dissolvido em éter de petróleo, e este volume foi aferido em balões volumétricos de 25mL com 1 grama de sulfato de sódio anidro. Os balões foram agitados, e a leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 450nm. O cálculo do teor de carotenóides totais foi realizado conforme fórmula abaixo:

$$\text{Carotenóides totais } (\mu\text{g.g}^{-1}) = \frac{\text{ABS} \times \text{volume de extrato (mL)} \times 10^6}{2500 \times 100 \times \text{pesa da amostra}} \quad (1)$$

3.3.2.2. Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

3.3.2.2.1. Obtenção de extrato

A obtenção do extrato foi realizada segundo metodologia proposta por Shen et al. (2009) com adaptações. Foram pesadas 5 gramas de amostra em tubos de falcon e adicionado 20 mL de metanol contendo HCl 1%. A solução foi agitada a cada 2 horas durante 24 horas à 25°C (temperatura ambiente). Os extratos metanólicos foram centrifugado a 6000 rpm durante 20 minutos a temperatura de 25°C em centrífuga (*Eppendorf Centrifuge 5430R*) e o sobrenadante armazenado a 4°C para realização das análises de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelos radiais ABTS (2,2-azino-bis (3 etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) sal diamônio) conforme descrito por Re, et. al., (1999) e DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) conforme descrito por Brand-Willians et al. (1995).

3.3.2.2.2. Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme citado por Zielinski e Kozłowska (2000). Foi adicionado 20µL de extrato em tubo de falcon de 15 mL e completado o volume para 500µL com água destilada. Adicionou-se 250µL de reagente Folin-Ciocalteu 1N e aguardou-se 8 minutos para redução dos compostos fenólicos com o reagente Folin-Ciocalteu. Após foi adicionado 1,25mL da solução de carbonato de sódio (20%) ao tubo de falcon, foi agitado e colocado em ambiente ao abrigo da luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 725nm após 2 horas. O teor de compostos denólicos foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra.

3.3.2.2.3. Atividade antioxidante – radical DPPH*

A atividade antioxidante pelo método do radical DPPH foi determinada com 10µL de extrato e 90µL de metanol p.a., adicionando-se posteriormete 3,9 mL de solução de DPPH com absorbância entre 1,080 e 1,120nm. A mistura foi agitada em vortex e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515nm após 2 horas e 30 minutos, com aparelho zerado com metanol. O teor de atividade antioxidante foi expresso em µg de equivalente trolox.g de amostra⁻¹.

3.3.2.2.4. Atividade antioxidante – radical ABTS*

A atividade antioxidante pelo método do radical ABTS foi determinada com 0,1mL (100µL) do extrato em tubo de falcon de 15 mL e a este 3,9 mL (3900µL) da solução diluída de ABTS com absorbância 0,700±0,05nm. A mistura foi agitada em vortex, e após 6 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734nm, com aparelho zerado com álcool etílico. O teor de atividade antioxidante foi expresso em µg de equivalente trolox.g de amostra⁻¹.

3.3.2.3. pH dos grãos

O pH foi determinado segundo método proposto por Rehman et al.(2002). Um filtrado de 2 gramas de amostra moída (80 mesh tamanho) em 20 mL de água destilada, utilizando um eletrodo de vidro pH metro (Pye Unicam, Inglaterra).

3.3.2.4. Índice de acidez dos lipídios

O índice de acidez dos lipídios foi realizado segundo normas do Instituto Adolfo Lutz para análises de alimentos (2004). Os resultados foram expressos em mg NaOH por 100 gramas de amostra.

3.3.2.5. Cor

O perfil colorimétrico foi realizado em colorímetro Minolta modelo CR-300, com 10 determinações, o qual indica as cores em um sistema tridimensional conforme descrito por Good (2002), onde o parâmetro “L” é uma medida do brilho de preto (0) ao branco (100). Parâmetro “a” descreve cores de vermelho a verde, com valores positivos que indicam vermelhidão e valores negativos indicando verdura. Parâmetro “b” descreve as cores amarelo a azul, valores positivos indicam amarelo e valores negativos indicam cor azul. O (ΔE) foi calculada segundo (RHIM et al., 1989) a partir da escala de Hunter, L*, a* e b*, conforme equação 1.

$$\Delta E = \left[(L - L_o)^2 + (a - a_o)^2 + (b - b_o)^2 \right]^{0,5} \quad (2)$$

3.3.2.6. Parâmetros viscoamilográficos

As características viscoamilográficas dos amidos foram avaliadas com o analisador rápido de viscosidade (RVA- *Rapid Visco Analyser*), usando programa

Thermocline for Windows versão 1.10. O perfil utilizado foi o *Standard Analysis 1*, cujos parâmetros são apresentados na Tab. 7. A quantidade de amostra utilizada para os testes foi de 5 gramas corrigidas para 14% de umidade, conforme descrito por Singh et al. (2004).

Tabela 7 - Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas.

Tempo (hora:min:seg)	Tipo (temperatura/velocidade)	Valor (°C ou rpm)
00:00:00	Temperatura	50
00:00:00	Velocidade	960
00:00:10	Velocidade	160
00:01:00	Temperatura	50
00:04:42	Temperatura	95
00:07:12	Temperatura	95
00:11:00	Temperatura	50
Tempo final do teste: 00:13:00		

As características avaliadas foram:

- **Temperatura de pasta:** temperatura em °C, calculada com base no tempo de funcionamento do RVA ($6^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$); correspondente ao ponto onde se inicia a formação da curva;
- **Viscosidade máxima:** viscosidade máxima desenvolvida durante o período de aquecimento, expressa em RVU (Unidade de medida viscoamilográfica fornecida pelo Rapid Visco Analyser).
- **Viscosidade de quebra:** diferença de viscosidade entre o pico máximo e a viscosidade mínima a 95°C;
- **Retrogradação:** diferença de viscosidade mínima a 95°C e a viscosidade final, também chamado de *setback*.
- **Viscosidade final:** valor da viscosidade, obtido no ponto final do ciclo de resfriamento, à temperatura de 50°C expressa em RVU.

3.3.2.7. Solubilidade proteica

A solubilidade de proteínas em água foi determinada de acordo com o método descrito por Liu et al. (1992), com modificações. Um grama de amostra foi homogeneizado em 50 mL de água destilada por agitação constante durante 1 hora. O material foi centrifugado a 5300 x g, por 20 minutos e coletado 2 mL do sobrenadante. O teor de proteína foi determinado pelo método Kjeldahl e os resultados determinados

utilizando-se o fator de conversão 6,25. A solubilidade de proteínas foi calculada conforme a equação 2:

$$PS(\%) = \frac{Psob}{Pamostra} \times 100 \quad (3)$$

onde: *PS*(%) = Teor de proteína solúvel; *Psob* = Teor de proteína do sobrenadante; *Pamostra* = Teor de proteína bruta dos grãos.

3.3.2.8. Capacidade de hidratação

A capacidade de hidratação de solução na maceração foi determinada de acordo com método proposto por Nasar-abbas et al. (2008b) com modificações. Foram colocadas 50 gramas de amostra de grãos de milho imersos em 125mL de solução de bissulfito de sódio 0,1% (utilizada na maceração durante o processo de extração do amido), permanecendo à uma temperatura de 50°C durante 20 horas. Decorrido este tempo, a solução foi eliminada, e a água livre da superfície dos grãos removida, com o uso de papel absorvente. O ganho de peso foi considerado como a quantidade de água absorvida e foi calculado pela equação 3:

$$CHM(\%) = \frac{PU}{PS} \times 100 \quad (4)$$

onde: *CHM*: capacidade de hidratação; *PU*: peso dos grãos após a maceração; *PS*: peso dos grãos antes da maceração.

3.3.3. Estudo 3. Alterações nas propriedades de pasta, térmicas e morfológicas de amido isolado de grãos de milho armazenados durante 12 meses em diferentes temperaturas

3.3.3.1. Extração do amido

A extração foi realizada segundo metodologia adaptada de Shandu et al. (2005), com 200 gramas de grãos de milho, conforme Fig. 11.

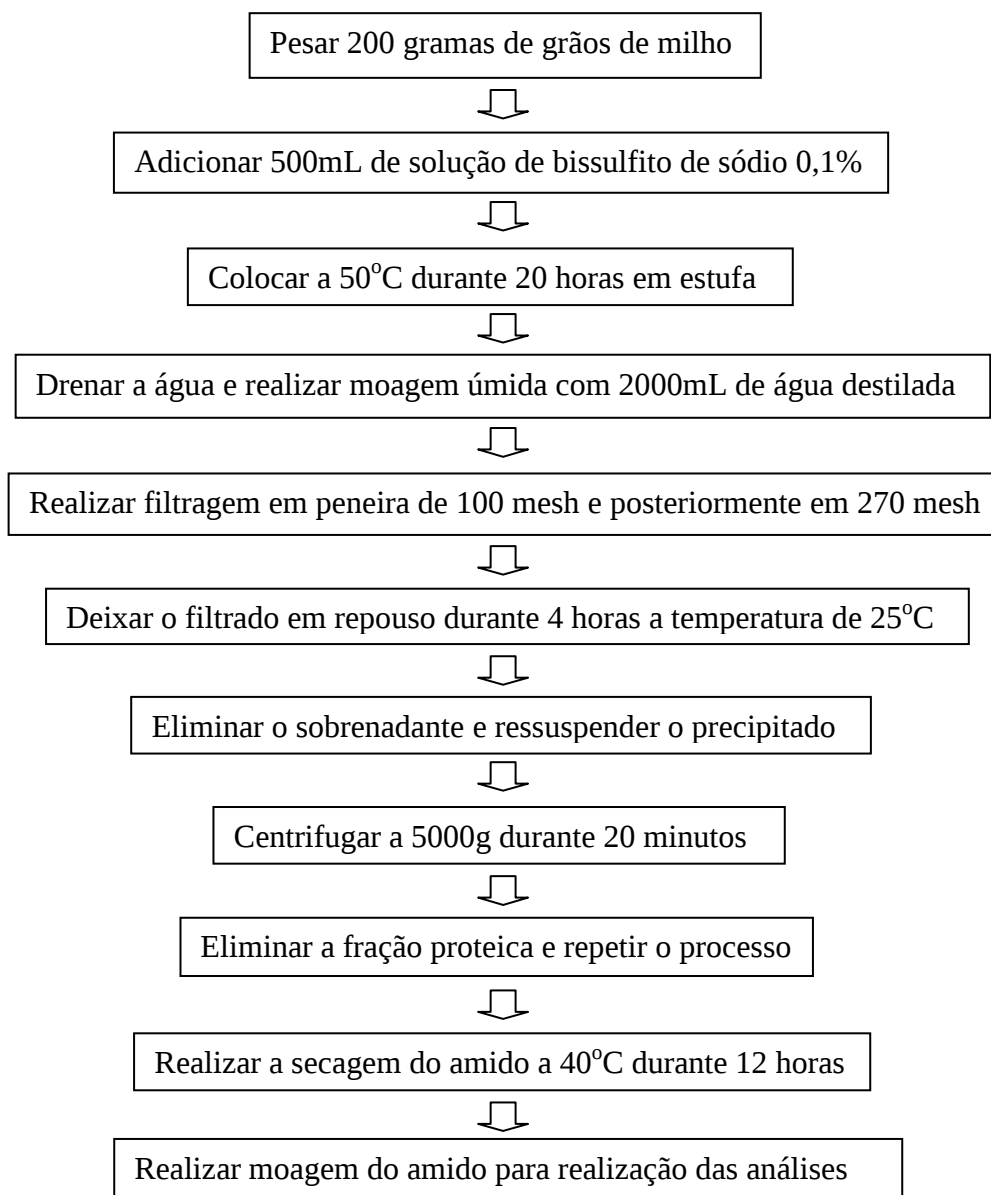


Figura 11 - Fluxograma da metodologia utilizada para extração de amido de milho.

Foram adicionados 500mL de água destilada com solução de bissulfito de sódio 0,1%, e mantidos na temperatura de 50°C durante 20 horas. A água foi drenada e os grãos serão triturados em moedor até a menor fração possível (moagem úmida). Foram acrescentados 2000mL de água destilada, totalizando 2500mL de água em todo o processo. A amostra foi agitada e posteriormente filtrada em peneira de 100mesh, o filtrado foi coletado e passado em peneira de 270mesh, coletando-se novamente o material filtrado. O filtrado amido-protéico foi deixado em repouso durante 4 horas. O sobrenadante foi removido e a camada de amido sedimentado com água destilada ressuspensa. O material foi centrifugado a 5000g por 20 minutos, removendo a camada

proteica, e suspenso novamente o amido com água centrifugando novamente e coletando no final apenas o amido precipitado da centrifugação. O amido foi seco em estufa a 40°C durante 12 horas com circulação de ar. Depois de seco, o amido foi moído em moinho Perten 3100 com peneira de 60mesh para uniformização da granulometria das amostras.

3.3.3.2. Rendimento de extração

O rendimento de extração foi determinado com a pesagem do amido obtido após a secagem, e os resultados expressos em percentagem, considerando 100 gramas de grãos utilizados para extração.

3.3.3.3. Cor do amido

A cor do amido foi realizada de acordo com a metodologia citada para avaliação da coloração dos grãos, conforme descrito no Estudo 2.

3.3.3.4. Grau de pureza

O teor de proteína e lipídios do amido foi determinado de acordo com metodologia da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2006).

3.3.3.5. Poder de inchamento e solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos de milho foram determinados de acordo com o método descrito por Leach et al. (1959). A determinação ocorreu mediante suspensão de 1 grama de amido (base úmida) em 50 mL de água destilada em tubos de centrífuga Falcon previamente tarados. A suspensão foi agitada e levada a banho-maria com agitação constante por 30 minutos nas temperaturas de 60°C, 70°C, 80°C e 90°C. Após os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e centrifugados a 1000 g por 20 min. O sobrenadante foi coletado e levado à estufa a 105°C até peso constante para a quantificação do amido solubilizado. O amido sedimentado no tubo de centrifuga foi pesado para determinação do poder de inchamento. Calculou-se a solubilidade através da relação entre a massa solúvel e a massa inicial de amido, expressa em porcentagem, sendo o poder de inchamento obtido pela relação entre a massa intumescida e a massa inicial de amido.

3.3.3.6. Propriedades de pasta

As propriedades de pasta foram determinadas com a mesma metodologia utilizada para avaliação da farinha dos grãos, sendo utilizada apenas a quantidade de 3 gramas de amostra para análise dos tratamentos no RVA.

3.3.3.7. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As propriedades térmicas das amostras foram estudadas utilizando um calorímetro diferencial de varredura (DSC, TA Instruments, modelo 2010, New Castle, USA). Foram pesados $\pm 2,5$ mg de amido em recipientes de alumínio e adicionado água destilada (1:3 p/p). As amostras foram aquecidas em atmosfera de nitrogênio de 20 a 100°C com uma rampa de aquecimento de 10°C por minuto. A entalpia de gelatinização (ΔH), temperatura inicial (T_o), pico de temperatura (T_p), temperatura final (T_c) de gelatinização foram computados automaticamente e foi calculada a diferença de temperaturas ($T_c - T_o$).

3.3.3.8. Índice de Cristalinidade Relativa (Raio-X)

Os padrões de difração de raio-X foram obtidos com um difractômetro de raios X (XRD-6000, Shimadzu, Brasil). A região de varredura da difração variou de 5 a 30°, com uma tensão de 30 Kv, uma corrente de 30 mA e uma velocidade de digitalização de 1° por minuto. O índice de cristalinidade relativa (IC) dos grânulos de amido foi quantitativamente estimado de acordo com método proposto por Rabek (1980). O IC é definido como a razão entre a área da região cristalina (A_c) e a área total coberta pela curva ($A_c + A_a$), composta pela área da região cristalina (A_c) e a área da região amorfa (A_a), a partir da equação 4.

$$IC (\%) = \frac{A_c \times 100}{A_c + A_a} \quad (5)$$

3.3.3.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos de amido foi examinada pela microscopia eletrônica de varredura (Shimadzu, SSX-550). As amostras de amido foram inicialmente suspensas em acetona para se obter uma suspensão 1% (w/v) e mantidas em banho ultrassônico durante 15 minutos. Uma pequena quantidade de cada amostra foi espalhada

diretamente sobre a superfície do topo e secou-se em estufa a 32°C durante uma hora. Subsequentemente, todas as amostras foram revestidas com ouro e examinadas em Microscopia Eletrônica de Varredura sob uma voltagem de aceleração de 15 kV e uma ampliação de 1500x e 3000x.

3.3.4. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA, e o efeito da temperatura e do tempo de armazenamento, respectivamente, foram avaliados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e por regressão com o programa SAS (SAS, INSTITUTE, 2002).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo 1 -

4.1. Alterações nas propriedades tecnológicas de grãos de milho armazenados em sistema semi-hermético durante 12 meses em diferentes temperaturas

Na Fig. 12 e na tab. 8 são apresentados os resultados do teor de água dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

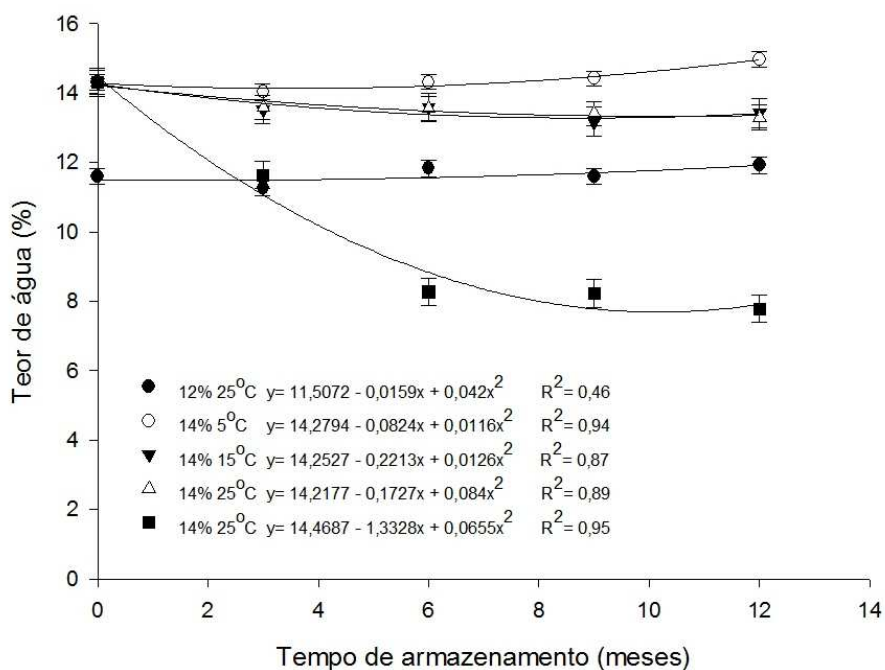


Figura 12 – Efeitos do tempo de armazenamento no teor de água (%) dos grãos de milho armazenado durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tabela 8 - Efeitos da temperatura de armazenamento no teor de água (%) dos grãos de milho armazenado durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	11,59±0,08 a	11,26±0,19 c	11,83±0,33 c	11,61±0,04 c	11,92±0,07 c
14% 5°C	14,31±0,04 a	14,04±0,16 a	14,32±0,26 a	14,42±0,17 a	14,97±0,12 a
14% 15°C	14,31±0,04 a	13,53±0,09 b	13,59±0,10 b	13,18±0,65 b	13,43±0,28 b
14% 25°C	14,31±0,04 a	13,58±0,20 b	13,57±0,27 b	13,42±0,47 ab	13,30±0,17 b
14% 35°C	14,31±0,04 a	11,64±0,01 c	8,27±0,15 d	8,24±0,59 d	7,79±0,30 d

Médias aritméticas simples, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados indicam que a umidade não apresentou variação significativa para o tratamento 12% 25°C e para os tratamentos 14% 15°C e 14% 25°C ao longo dos 12 meses de armazenamento, porém houve aumento para o tratamento 14% 5°C, a partir dos 6 meses de armazenamento, chegando aos 12 meses de armazenamento à umidade de aproximadamente 14,97%. Já o tratamento 14% 35°C reduziu de 14,31% no início do armazenamento para 7,79% ao final de 12 meses, estando de acordo com estudos realizados por Faroni et al. (2005), que encontrou decréscimo na umidade inicial dos grãos de 13,5%, para 12,5 e 10,5%, quando armazenados durante 6 meses nas temperaturas de 30°C e 40°C, respectivamente. A redução da umidade é resultado do equilíbrio higroscópico do grão com as condições do ambiente. Quando a pressão de vapor do grão é maior que a do ar circundante, ocorre o fenômeno de dessorção, havendo transferência de vapor de água para o ar, reduzindo desta forma a umidade do grão (SILVA et al., 1995). O equilíbrio higroscópico é influenciado pela composição química do grão, integridade física, estado sanitário, gradientes termo hídricos e as operações de póscolheita, dentre os quais a secagem e o armazenamento são as mais importantes (CARNEIRO et al., 2005).

Ao avaliar a composição nutricional de milho armazenado nas temperaturas de 10, 25 e 45°C, Rehman et al. (2002) encontrou redução da umidade inicial de 12,38%, para níveis de 12,00%, 9,32% e 7,70% para as respectivas temperaturas ao final de 6 meses de armazenamento. Antonello et al. (2009) avaliou sementes de milho armazenadas em embalagem plástica e de algodão com 13% de umidade, e não encontrou diferenças no teor de umidade durante 6 meses de armazenamento, não comprometendo assim a qualidade da semente. De acordo com Rios et al. (2003), o teor

de água superior ao recomendado para o armazenamento seguro é uma das principais causas da perda das características tecnológicas dos grãos durante o armazenamento.

Na Fig. 13 e na tab. 9 apresentam os resultados de germinação dos grãos armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

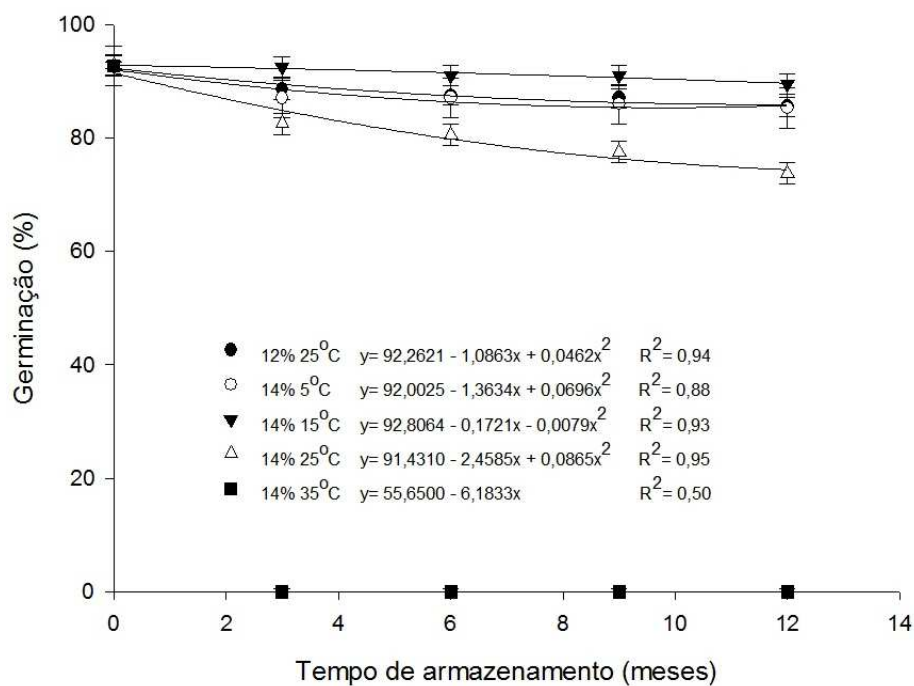


Figura 13 - Efeitos do tempo de armazenamento na germinação (%) dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético.

Tabela 9 - Efeitos da temperatura de armazenamento na germinação (%) dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	93,33±0,47 a	88,50±2,52 b	87,50±1,29 b	87,00±1,15 a	85,50±1,29 b
14% 5°C	92,75±1,26 a	87,00±1,83 b	87,00±1,41 b	86,00±6,73 a	85,25±1,26 b
14% 15°C	92,75±1,26 a	92,50±1,91 a	91,00±1,41 a	91,00±2,45 a	89,50±1,29 a
14% 25°C	92,75±1,26 a	82,50±1,00 a	80,50±1,29 c	77,50±2,89 b	73,75±1,71 c
14% 35°C	92,75±1,26 a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 c	0,00±0,00 d

Médias aritméticas simples, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados indicam que a germinação reduziu para todos os tratamentos, sendo as menores reduções verificadas no tratamento 14% 15°C. A germinação para os tratamentos controle (12% e 25°C) e 14% a 5°C não apresentaram diferenças entre si,

porém tiveram maiores reduções do que no tratamento 14% e 15°C e menores do que no tratamento 14% e 25°C, onde que os níveis atingiram 73,75%, uma redução de 13,24% ao final de 12 meses. Para o tratamento 14% 35°C, o teor de germinação chegou a zero aos 90 dias de armazenamento, resultados semelhantes foram verificados por de Costa et al. (2010), que também encontrou germinação igual a zero para grãos armazenados a 35°C com umidade de 14,5%, porém diferiu quanto ao tempo, onde encontrou esta redução após 135 dias de armazenamento. A equação de regressão para o tratamento 14% 35°C adequada foi do modelo linear, e expressa na Fig.13, entretanto a mesma não se adequou a escala da figura.

Em trabalhos realizados por Rodriguez et al. (2004), ao avaliar o efeito da armazenagem hermética no teor de germinação, os autores também verificaram nos grãos de milho com umidade de 14,8 e 19,5%, decréscimos na germinação após 153 dias de armazenamento para as duas umidades, entretanto a redução foi mais acentuada nos grãos com maior teor de umidade. A redução do teor de germinação dos grãos decorre das alterações que ocorrem na estrutura das membranas dos grãos, sendo que quando a temperatura e a umidade dos grãos são elevadas, as alterações são mais significativas, resultando em perda da qualidade final do produto em curtos períodos de tempo.

As sementes e/ou grãos quando armazenados, passam a germinar mais lentamente que as sementes novas, pois respiram mais lentamente e se tornam mais suscetíveis às doenças, acumulando anormalidades cromossômicas e produzindo incrementos na proporção de plântulas anormais (LIN, 1988). A elevação da temperatura promove aumento da taxa de respiração e reações metabólicas, onde as reservas armazenadas são desdobradas, transportadas e ressintetizadas no eixo embrionário (PEREZ-GARCIA, 2006; AGUIAR et al., 2012).

Na Fig. 14 e na tab. 10 é apresentado o comportamento do vigor dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

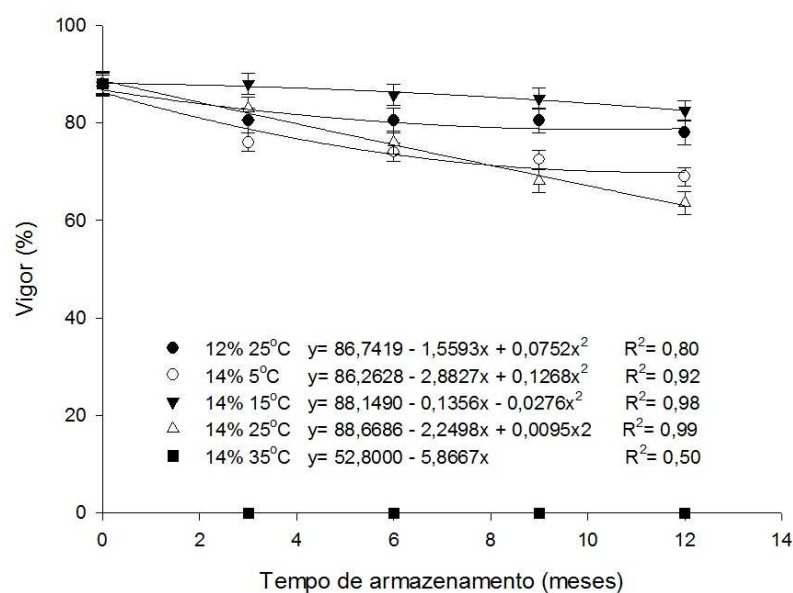


Figura 14 - Efeitos do tempo de armazenamento no vigor dos grãos (%) de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Os resultados indicam comportamento similar ao da germinação, entretanto ao contrário da germinação, os resultados de vigor para os tratamentos 12% 25°C e 14% 15°C não apresentaram diferença ao final de 12 meses de armazenamento, sendo o vigor na temperatura de 5 e 25°C na umidade de 14% menor ao final de 12 meses. Para o tratamento 14% 35°C os valores de vigor dos grãos chegaram à zero aos 3 meses, como ocorreu com o teor de germinação.

Tabela 10 - Efeitos da temperatura de armazenamento no vigor (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	88,00±0,82 a	80,50±3,79 bc	80,50±1,73 b	80,50±2,65 a	78,00±1,83 b
14% 5°C	88,00±0,82 a	76,00±1,41 c	74,00±1,83 c	72,50±2,52 b	69,00±1,83 c
14% 15°C	88,00±0,82 a	88,00±1,63 a	85,75±2,06 a	85,00±2,94 a	82,50±1,91 A
14% 25°C	88,00±0,82 a	83,00±2,58 b	76,00±2,58 c	68,00±1,41 b	63,50±2,89d
14% 35°C	88,00±0,82 a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 c	0,00±0,00e

Médias aritméticas simples, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

As reduções no teor de vigor foram maiores do que a germinação, indicando que as alterações identificadas no teste de vigor são mais seguras, pois informam como será o comportamento destes grãos em condições adversas, pois em muitos casos pode

ocorrer a germinação, mas a energia necessária para a formação e desenvolvimento de plântula não é suficiente, ocorrendo desenvolvimento incompleto e/ou indesejado.

Segundo Aguiar et al. (2012) o vigor é uma propriedade fisiológica determinada pelo genótipo e modificada pelo ambiente, que governa sua capacidade de dar rapidamente origem a uma plântula no solo, bem como melhorar sua capacidade de resistir a uma série de fatores ambientais, e a influência do vigor da semente pode persistir durante a vida da planta e pode ser afetada durante o período e condições subótimas de armazenamento das sementes.

A Fig. 15 e a tab. 11 apresentam os resultados de condutividade elétrica dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético. Os resultados indicam que a condutividade aumentou mais significativamente para o tratamento 14% 35°C nos primeiros 3 meses de armazenamento, entretanto após a variação foi menor, principalmente devido à redução da umidade, que inicialmente era de 14,31% e reduziu para 7,79%. A condutividade elétrica aumentou para o tratamento 14% 25°C e para o tratamento 12% 25°C, permanecendo constante para os tratamentos de 15 e 5°C na umidade de 14%, pois temperaturas baixas reduzem as alterações nos grãos, permitindo o armazenamento seguro por períodos mais longos.

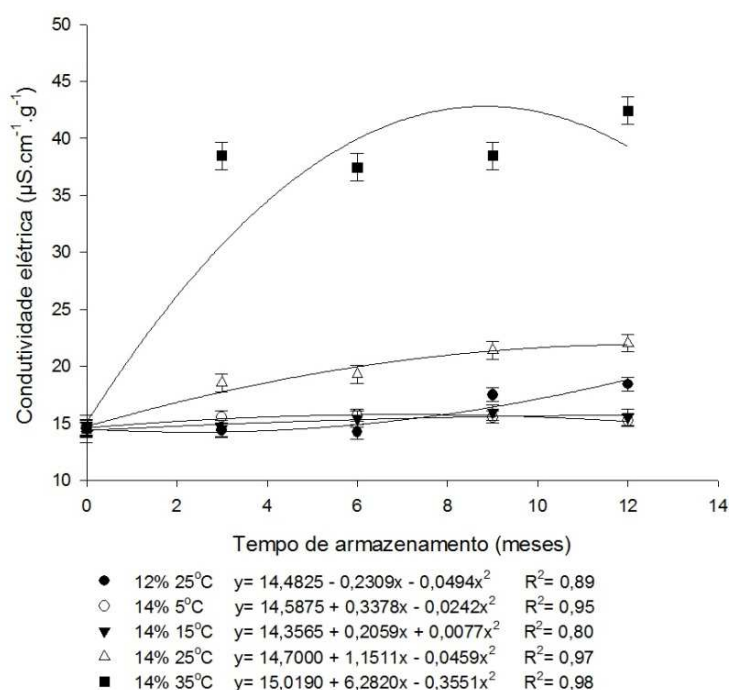


Figura 15 - Efeitos do tempo de armazenamento na condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tabela 11 - Efeitos da temperatura de armazenamento na condutividade elétrica ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	14,52±0,17 a	14,37±0,70 c	14,24±0,05 d	17,49±0,10 c	18,41±1,04c
14% 5°C	14,52±0,17 a	15,53±0,92 c	15,74±0,28 c	15,53±0,47 c	15,22±0,24d
14% 15°C	14,52±0,17 a	14,55±0,67 c	15,37±0,61 cd	15,93±0,45 c	15,54±1,07d
14% 25°C	14,52±0,17 a	18,51±0,94 b	19,30±0,68 b	21,38±0,81 b	22,02±0,83b
14% 35°C	14,52±0,17 a	30,52±0,97 a	37,46±0,73 a	38,46±1,93 a	42,43±1,14a

Médias aritméticas simples, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O aumento da condutividade elétrica indica que ocorreu um processo de deterioração da membrana e da parede celular mais acelerado quando os valores são mais elevados. De acordo com Rigueira et al. (2009), o processo de resfriamento da massa de grãos, com redução da temperatura durante o período de armazenagem, é uma técnica eficaz e econômica para a manutenção da qualidade do produto, pois diminui a atividade da água, reduz a taxa respiratória dos grãos, retarda o desenvolvimento dos insetos-praga e da microflora presente, independentemente das condições climáticas da região. Segundo Costa et al. (2010) e Faroni et al. (2005), a leitura da condutividade elétrica pode ser utilizada para avaliar o vigor, pois está relacionado com a quantidade de íons lixiviados na solução, a qual está diretamente associada à integridade das membranas celulares, sendo que as membranas quando desestruturadas e danificadas, resultado do incorreto armazenamento, elevam o valor de condutividade elétrica e reduzem o de vigor dos grãos e sementes.

Os resultados de peso de mil grãos dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético são apresentados na Fig. 16 e na tab. 12.

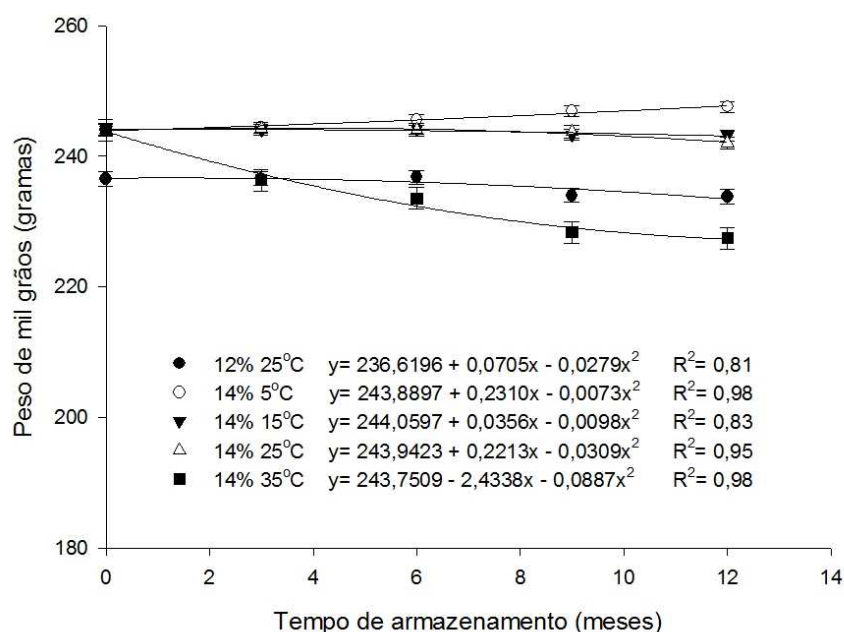


Figura 16 - Efeitos do tempo de armazenamento no peso de mil grãos (gramas) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tabela 12 - Efeitos da temperatura de armazenamento no peso de mil grãos (gramas) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	236,48±0,41b	236,60±0,95b	236,79±1,20b	233,99±1,46 c	233,82±0,70c
14% 5°C	244,04±0,74a	244,35±0,37a	245,56±0,82a	246,84±0,50 a	247,57±1,22a
14% 15°C	244,04±0,74a	244,05±0,70a	244,15±0,64a	243,31±0,61 b	243,18±1,14b
14% 25°C	244,04±0,74a	244,18±0,57a	244,03±0,69b	243,75±1,07 b	242,01±1,27b
14% 35°C	244,04±0,74a	236,29±2,16b	233,57±1,19c	228,36±1,64 d	227,46±1,63d

Médias aritméticas simples, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados apresentados indicam que para os tratamentos 12% 25°C, 14% 15°C e 14% 25°C não houve diferença para o peso de mil grãos ao longo do período de armazenamento, entretanto nos grãos armazenados com teor de água de 12% e temperatura de 25°C, o peso de mil grãos foi menor, estes resultados são atribuídos ao menor metabolismo dos grãos controlado pela menor disponibilidade de água nos grãos. Para o tratamento 14% 5°C, houve um aumento do peso dos grãos ao final dos 12 meses de armazenamento, sendo este aumento atribuído ao aumento da umidade dos grãos, que ao final deste período chegou a 14,97%, aumentando assim a massa dos grãos. Para os grãos armazenados com graus de umidade de 14% e temperatura de 35°C houve

redução do peso de mil grãos, e esta redução é resultado do menor teor de umidade dos grãos, e também a atividade respiratória dos grãos, que provocam o consumo das reservas energéticas dos grãos, reduzindo o peso final aos 12 meses de armazenamento.

Na Fig. 17 e na tab. 13 são apresentados os resultados do peso volumétrico dos grãos armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético.

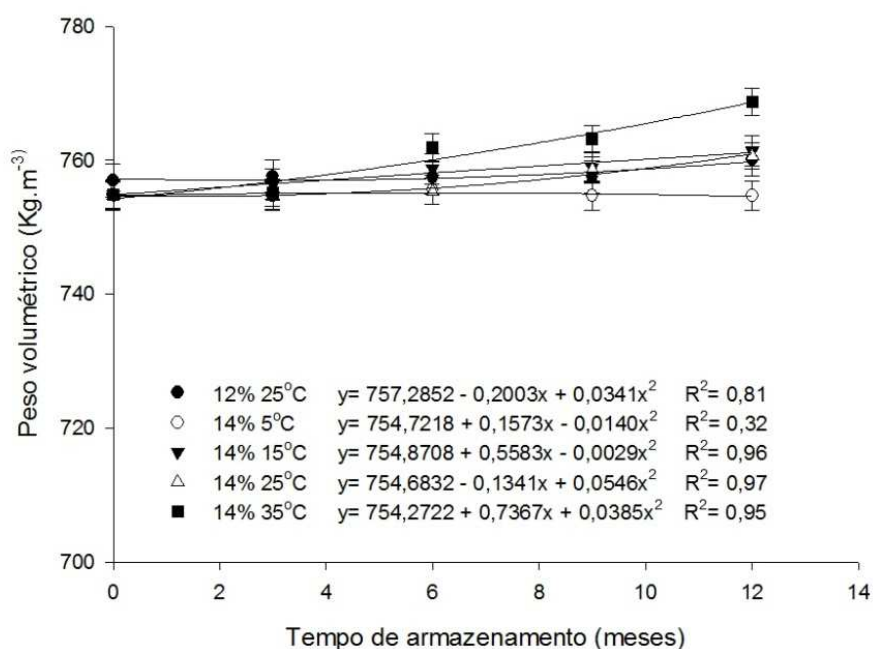


Figura 17 - Efeitos do tempo de armazenamento no peso volumétrico (Kg.m^{-3}) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tabela 13 - Efeitos da temperatura de armazenamento no peso volumétrico (Kg.m^{-3}) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	756,95±0,64a	757,64±3,73a	757,39±2,94b	757,50±4,26 b	760,16±4,11b
14% 5°C	754,82±2,61a	754,71±2,55a	755,67±3,54b	754,70±3,70 b	754,67±2,71c
14% 15°C	754,82±2,61a	756,42±2,79a	758,73±4,44ab	758,94±2,37 ab	761,41±2,88b
14% 25°C	754,82±2,61a	754,65±2,78a	755,40±1,41b	758,63±3,40 ab	760,65±3,06b
14% 35°C	754,82±2,61a	755,11±2,58a	761,99±1,87a	763,23±4,07 a	768,74±2,46a

Médias aritméticas simples, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados indicam que ocorreu um aumento de 1,86% no peso volumétrico dos grãos armazenados na temperatura de 35°C com 14% de umidade, podendo este aumento ser atribuído à redução do teor de umidade, que inicialmente era 14,31% e

reduziu para 7,79%, que provoca uma intensa redução nas atividades metabólicas dos grãos, reduzindo assim a perda de matéria seca. A redução da umidade diminui a área específica dos grãos, resultado da desidratação celular, provocando um aumento do peso volumétrico. Para os demais tratamentos, os valores não apresentaram diferenças, sendo o menor peso volumétrico final para os grãos armazenados na umidade de 14% e temperatura de 5°C, e está relacionada ao aumento da umidade dos grãos ao final do armazenamento, conforme descrito por Faroni et al. (2005), que atribuiu o aumento da massa específica, a redução do conteúdo de água dos grãos.

Os resultados diferem dos resultados encontrados por Costa et al. (2010), que não encontrou diferenças significativas ao armazenar grãos hermeticamente em silos bolsas nas temperaturas de 25, 30 e 35°C. Em estudo realizado por Rodríguez et al. (2004), acréscimos de 0,7% foram encontrados no peso volumétrico dos grãos de milho armazenados com 14,5% de umidade durante 153 dias.

Na tab. 14 é apresentado o resultado da classificação dos grãos de milho de acordo com as Portaria MAPA nº 845 de 1976 e a Portaria MAPA nº 11 de 1996.

Tabela 14 - Classificação dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético, de acordo com o regulamento técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1
14% 5°C	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 2
14% 15°C	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 3
14% 25°C	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 3	AP *
14% 35°C	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3

* AP – Abaixo do padrão de comercialização.

Os resultados indicam que até os 6 meses de armazenamento, os grãos foram classificados como Tipo 1 para todos os tratamentos, diferindo dos resultados encontrados por Costa et al. (2010), que classificou os grãos de milho armazenados em sistema hermético com 14,5% de umidade na temperatura de 35°C como Tipo 3 aos 6 meses. Esta diferença na classificação pode ser atribuída à redução da umidade dos grãos para 8,27%, o que reduziu a atividade de água e consequentemente as alterações enzimáticas, não enzimáticas e dos micro-organismos, mantendo a qualidade final do produto.

A classificação dos grãos aos 9 meses de armazenamento provocou alterações na tipificação, resultando em grãos Tipo 2 para os grãos armazenados na umidade de 14% nas temperaturas de 5 e 35°C, e Tipo 3 para os grãos armazenados na temperatura de 25°C. A classificação dos grãos como Tipo 2 para a umidade de 14% na temperatura de 5°C pode ser atribuída a elevada umidade relativa do ar no ambiente, pois foi realizado apenas controle de temperatura. A classificação aos 12 meses de armazenamento resultou em grãos abaixo do padrão de comercialização para o armazenamento na umidade de 14% na temperatura de 25°C, e quando comparado ao tratamento com umidade de 12% e 25°C, os grãos foram classificados como Tipo 1, indicando que para um armazenamento seguro, a redução da umidade para níveis inferiores a 13% é de fundamental importância para manutenção da qualidade do produto.

Na Fig. 17 e na tab. 15 são apresentados os resultados do teor de grãos mofados dos grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

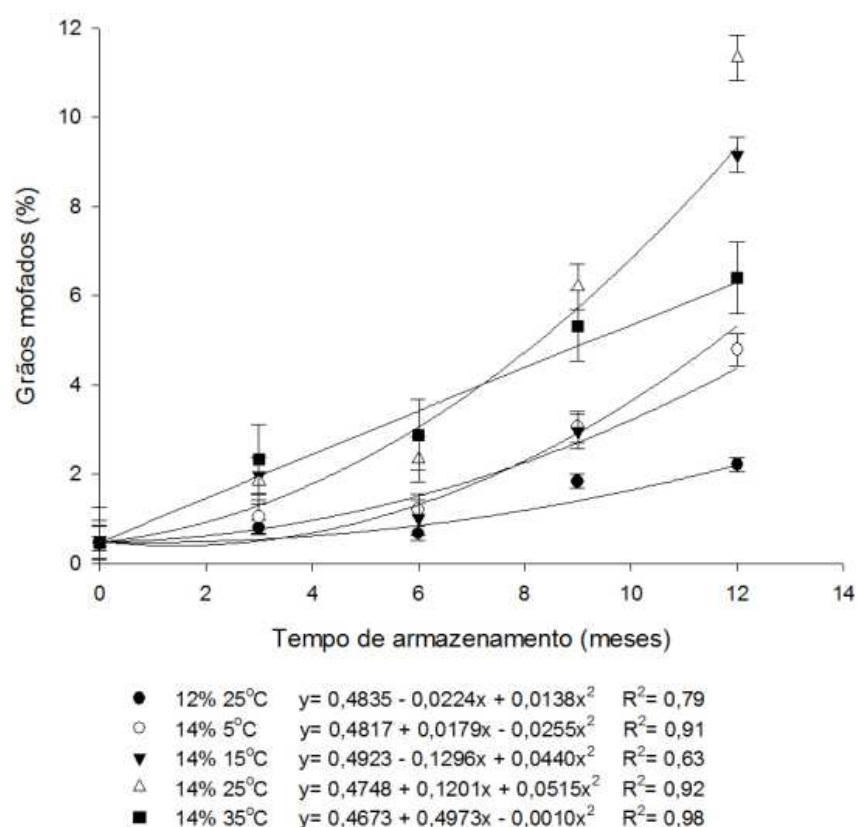


Figura 18 - Efeitos do tempo de armazenamento na incidência de grãos mofados (%) de grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Os resultados indicam que ocorreu um aumento na ocorrência de grãos mofados nas quatro condições de temperaturas de armazenamento estudadas, entretanto, os maiores valores foram observados no grãos armazenados a 25°C, reduzindo a qualidade final do produto e aumentando os riscos para os consumidores, pois o desenvolvimento fúngico, resultado de práticas inadequadas de armazenamento, principalmente temperatura e umidade inadequadas, podem levar ao desenvolvimento fúngico com a produção de micotoxinas que causam sérios riscos à saúde dos consumidores.

Tabela 15 - Efeitos da temperatura de armazenamento no teor de grãos mofados (%) dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	3	6	9	12
12% 25°C	0,46±0,01a	0,80±0,12c	0,67±0,08d	1,83±0,24 b	2,21±0,02e
14% 5°C	0,46±0,02a	1,04±0,02c	1,19±0,14c	3,05±0,58 b	4,79±0,21d
14% 15°C	0,46±0,02a	1,97±0,08ab	1,02±0,18cd	2,97±0,57 b	9,15±0,30b
14% 25°C	0,46±0,02a	1,85±0,32b	2,34±0,11b	6,19±0,77 a	11,32±0,26a
14% 35°C	0,46±0,02a	2,34±0,07a	2,88±0,24a	5,32±0,82 a	6,40±1,08c

Médias aritméticas simples, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os gêneros de fungos mais importante associados com milho são *Fusarium* e *Aspergillus* (MUKANGA et al., 2010), e as contaminação por micotoxinas no milho podem ocorrer em diferentes etapas de produção, incluindo no campo durante o cultivo, no processamento, armazenamento ou transporte (COULIBALY et al., 2008), sendo que condições de umidade e temperaturas elevadas, favorecem o desenvolvimento durante o armazenamento. A redução natural do valor nutricional dos grãos de milho, juntamente com a produção de micotoxinas, consequência do ataque de fungos (FRISVAD et al., 2006), podem causar riscos ao serem consumidos, pois existem suspeitas de associações epidemiológicos entre o câncer de esôfago em humanos e a presença destas toxinas em alimentos ingeridos (GARRIDO et al., 2012).

Nas tab. 16, 17 e 18 são apresentados os teores de micotoxinas dos grãos de milho armazenados durante 12 meses em sistema semi-hermético. Os resultados indicaram que no início do armazenamento os grãos apresentavam $1,6 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de aflatoxina B₁, resultado de contaminação proveniente do campo. O maior teor de micotoxinas foi identificado aos seis meses de armazenamento para o tratamento com umidade de 14% na temperatura de 5°C, entretanto, aos 12 meses ocorreu uma redução

dos valores. Os resultados de aflatoxina B₁, indicou a presença de micotoxinas aos 12 meses para os tratamentos 12% 25°C e 14% 5°C. Os resultados não foram lineares, apenas confirmando as afirmações de que as análises de micotoxinas são muito dependentes de amostragem, e a reprodutibilidade dos resultados é difícil (DILKIN et al., 2000). A presença de aflatoxina B₂ foi identificada nos grãos armazenados com umidade de 12% e temperatura de 25°C e para os grãos armazenados com umidade de 14% na temperatura de 5°C aos seis e doze meses de armazenamento. A presença de Aflatoxinas G₁, G₂ e zearalenona não foi identificada nas amostras ao longo do período de armazenamento.

Tabela 16 - Teor de Aflatoxina B₁ (µg.kg⁻¹) dos grãos de milho durante doze meses de armazenamento em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)		
	Inicial	6	12
12% 25°C	1,6	10	13,7
14% 5°C	1,6	35	9,3
14% 15°C	1,6	2,7	ND
14% 25°C	1,6	ND*	ND
14% 35°C	1,6	ND	ND

* ND - menor que o limite de quantificação.

Tabela 17 - Teor de Aflatoxina B₂ (µg.kg⁻¹) dos grãos de milho durante doze meses de armazenamento em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)		
	Inicial	6	12
12% 25°C	ND*	1	1
14% 5°C	ND	2	1
14% 15°C	ND	ND	ND
14% 25°C	ND	ND	ND
14% 35°C	ND	ND	ND

* ND - menor que o limite de quantificação.

Tabela 18 - Teores de Aflatoxina G₁, Aflatoxina G₂ e Zearalenona (µg.kg⁻¹) dos grãos de milho armazenados durante doze meses em sistema semi-hermético.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)		
	Inicial	6	12
12% 25°C	ND*	ND	ND
14% 5°C	ND	ND	ND
14% 15°C	ND	ND	ND
14% 25°C	ND	ND	ND
14% 35°C	ND	ND	ND

* ND – menor que o limite de quantificação.

As micotoxinas quando ingeridas por seres humanos ou animais, podem produzir diversos efeitos deletérios a saúde, sobretudo pelas suas propriedades carcinogênicas, teratogênicas, estrogênicas, anabolizantes, mutagênicas e hemorrágicas (KUMAR et al., 2008). Animais, principalmente frangos e suínos, ao consumirem rações elaboradas com milho contaminado com micotoxinas, diminuem seu rendimento de crescimento e seu desenvolvimento reprodutivo, comprometendo toda a qualidade do lote ao final do ciclo produtivo. Apesar das concentrações baixas encontradas nos tratamentos, teores acima de 20 µg.kg⁻¹, já impedem a comercialização do produto, entretanto, em trabalhos realizados por Dilkin e Mallmann (2007), concentrações de aflatoxinas (B₁+B₂+G₁+G₂) entre 10 e 100 µg.kg⁻¹ causam perdas de produtividade, sem sinais clínicos.

Estudo 2 -

4.2. Alterações nas propriedades nutricionais e físico-químicas de grãos de milho armazenados durante 12 meses em diferentes temperaturas

Os teores de proteína bruta, fibra bruta, minerais, lipídios e carboidratos apresentados na tab. 19, indicam que houve apenas aumento no teor de minerais aos 12 meses de armazenamento para os grãos armazenados na temperatura de 35°C.

Tabela 19 - Teor de proteína bruta (%), fibra bruta (%), minerais (%), lipídios (%) e carboidratos (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Temperatura (°C)	Armazenamento (meses)	Proteína bruta (b.u.)	Fibra bruta (b.u.)	Minerais (b.u.)	Lipídios (b.u.)	Carboidratos (b.u.)
5	0	8,04±0,35 a*	2,64±0,01 a	1,28±0,07 a	3,96±0,05 a	70,07±0,98 a
	12	8,61±0,07 a	2,65±0,01 a	1,30±0,08 a	4,12±0,02 a	69,21±0,12 a
15	0	8,04±0,35 a	2,64±0,01 a	1,28±0,07 a	3,96±0,05 a	70,07±0,98 a
	12	8,54±0,14 a	2,66±0,03 a	1,28±0,03 a	4,09±0,07 a	69,43±0,23 a
25	0	8,04±0,35 a	2,64±0,01 a	1,28±0,07 a	3,96±0,05 a	70,07±0,98 a
	12	8,64±0,11 a	2,65±0,01 a	1,28±0,07 a	4,19±0,17 a	69,24±0,09 a
35	0	8,04±0,35 a	2,64±0,01 a	1,28±0,07 b	3,96±0,05 a	70,07±0,98 a
	12	8,58±0,10 a	2,63±0,00 a	1,44±0,06 a	4,07±0,08 a	69,27±0,22 a

* Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna para cada temperatura de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O aumento do teor de minerais durante o armazenamento implica em degradação da fração orgânica, pois a atividade metabólica dos grãos e dos microrganismos associados consome materiais orgânicos, produzindo gás carbônico, água, calor e outros

produtos, podendo alterar a quantidade de minerais presentes nos grãos, assumindo valores proporcionalmente maiores, pois segundo Bhattacharya e Raha (2002) e Fleurat-Lessard (2002) a matéria orgânica é consumido durante o armazenamento. Os resultados estão de acordo com Deliberali et al. (2010), que encontrou aumento do teor de minerais durante o armazenamento de trigo, e atribuiu à degradação da fração orgânica.

Na tab. 20 são apresentados os resultados de tocoferóis individuais e totais do óleo dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Tabela 20 - Teor de tocoferóis individuais e totais do óleo de milho ao final de 12 meses de armazenamento nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Tratamentos	Tocoferóis individuais (mg.100g ⁻¹)			Totais (mg.100g ⁻¹)
	gama	alfa	delta	
Inicial	13,147	11,461	0,373	24,982
5°C	13,390	12,030	0,302	25,722
15°C	12,738	11,352	0,374	24,464
25°C	12,641	10,955	0,352	23,948
35°C	8,009	4,313	0,400	12,722

Os resultados indicam uma redução no teor total para os grãos armazenados na temperatura de 35°C, e as maiores reduções foram observadas nos teores de gama e alfa tocoferóis. Os resultados estão de acordo com Kim (2007) e Cert et al. (2000) que afirmam que os tocoferóis são degradados pelas reações de oxidação e são rapidamente destruídos quando submetidos a condições de aquecimento. Os tocoferóis são uns dos melhores antioxidantes naturais, e amplamente aplicado para inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados. Segundo Player (2006) e Kim (2007) os antioxidantes possuem a capacidade de doar seu hidrogênio fenólico ao radical livre, e o alfa-tocoferol por possuir alta atividade antioxidante em óleos vegetais, possui uma baixa estabilidade durante o armazenamento. De acordo com Player (2006) a diminuição do alfa-tocoferol pode ser devido à capacidade de doação do hidrogênio ao radical peroxil.

Os teores de carotenóides totais, compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos dos radicais ABTS e DPPH são apresentados na tab. 21, com a correlação entre estes e a temperatura de armazenamento na tab. 22.

Tabela 21 - Teor de carotenóides totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (radicais ABTS e DPPH) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Tratamentos	Carotenóides totais ^{1/}	Compostos fenólicos ^{2/}	Atividade antioxidante	
			ABTS ^{3/}	DPPH ^{3/}
Inicial	42,65 a*	1,77 a	695,02 a	1657,58 a
5	30,79 c	1,59 b	600,17 b	1619,19 a
15	39,22 b	1,53 b	508,99 c	1595,25 a
25	26,09 d	1,63 ab	502,39 c	1658,65 a
35	19,16 e	1,66 ab	504,41 c	1566,68 a

* Médias aritméticas simples de três repetições, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{1/} Resultados expressos em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de amostra; ^{2/} Resultados expressos em mg de ácido gálico.g de amostra⁻¹; ^{3/} Resultados expressos em μg de equivalente trolox.g de amostra⁻¹.

Os resultados de carotenóides totais indicam uma redução do teor de carotenóides totais ao final de 12 meses de armazenamento para todas as temperaturas de armazenamento, sendo que as maiores reduções foram observadas nas temperaturas mais elevadas. O teor de compostos fenólicos reduziu ao final dos doze meses de armazenamento, sendo que diferenças foram observadas apenas nas temperaturas de 5 e 15°C. A atividade antioxidante pelo método do ABTS reduziu com o armazenamento. As maiores reduções foram observadas com o aumento da temperatura. Os resultados de atividade antioxidante pelo método do radical DPPH não apresentaram diferença.

De acordo com Nonier et al. (2004), ao estudar efeito da temperatura e da luz na degradação de carotenóides, concluíram que em temperatura ambiente e na ausência da luz, a velocidade de degradação é lenta, porém à medida em que eleva-se a temperatura, ocorre um aumento da velocidade de degradação, reduzindo o teor total de carotenóides presente nos grãos. O grão de milho, apesar de possuir menor concentração de carotenoides quando comparado a outros alimentos, é considerado uma espécie carotenogênica, ou seja, fonte de carotenoides (Rodriguez-Amaya, 2001). A variabilidade para teor de carotenoides é observada em cultivares e linhagens de milho, o que indica a possibilidade de melhoramento para aumento do teor de carotenos (Janick-Buckner et al., 1999), entretanto, como os resultados indicaram, adequadas práticas de armazenamento devem ser utilizadas.

Os resultados do teor de compostos fenólicos estão de acordo com Zhou et al. (2004), que encontrou redução do teor de compostos fenólicos ao final do armazenamento de arroz na temperatura de 37°C, entretanto diferiram que Rios et al.

(2002), encontrou aumento dos valores ao final de seis meses de armazenamento de grãos de feijão. Ambos os autores correlacionaram a atividade antioxidante com a o teor de compostos fenólicos, entretanto, os dados de correlação obtidos neste trabalho não apresentaram correlação elevada. Os dados de ABTS* indicaram

Os resultados da tab. 22 indicam que nos níveis de correlação foram baixos, sendo que se observou correlação negativa com a temperatura, indicando que o aumento da temperatura reduz os teores de compostos fitoquímicos, principalmente carotenóides.

Tabela 22 - Correlação de Pearson entre carotenóides totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (radicais ABTS e DPPH) e temperatura dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

	Carotenóides totais	Compostos fenólicos	ABTS	DPPH	Temperatura
Carotenóides totais	1,00	0,13013 (0,8348)	0,64034 (0,2445)	0,44414 (0,4537)	- 0,84241 (0,0733)
Compostos fenólicos		1,00	0,68115 (0,2055)	0,43405 (0,4652)	- 0,22087 (0,7211)
ABTS			1,00	0,52039 (0,3687)	- 0,84855 (0,0691)
DPPH				1,00	- 0,53981 (0,3477)
Temperatura					1,00

* valores de *p*.

Os resultados da Fig. 19 apresentam os resultados de pH dos grãos e acidez dos lipídios dos grãos armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C. Os resultado indicaram que houve uma redução nos valores de pH da farinha dos grãos com o aumento do tempo de armazenamento, e os maiores aumentos foram encontrados com o aumento da temperatura de armazenamento.

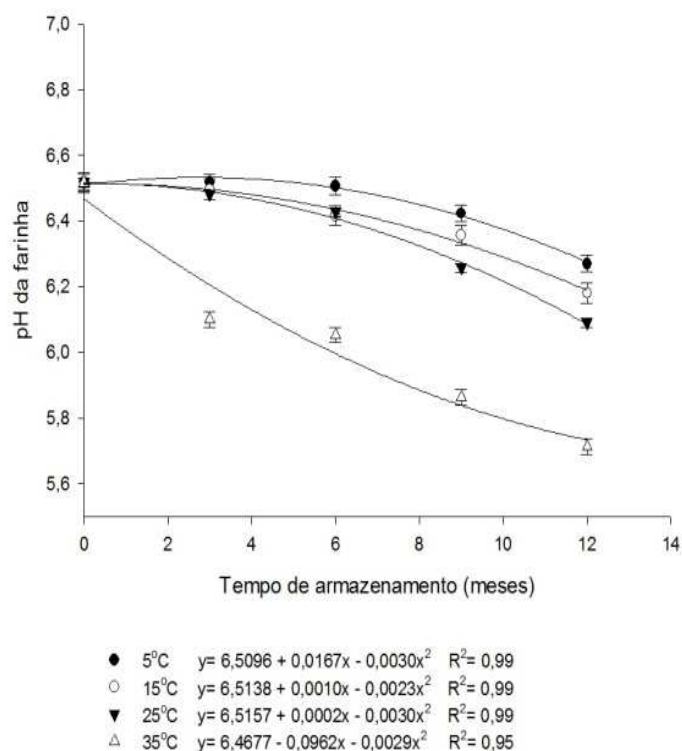


Figura 19 - pH da farinha dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Na Fig. 20 são apresentados os resultados de acidez de lipídios dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

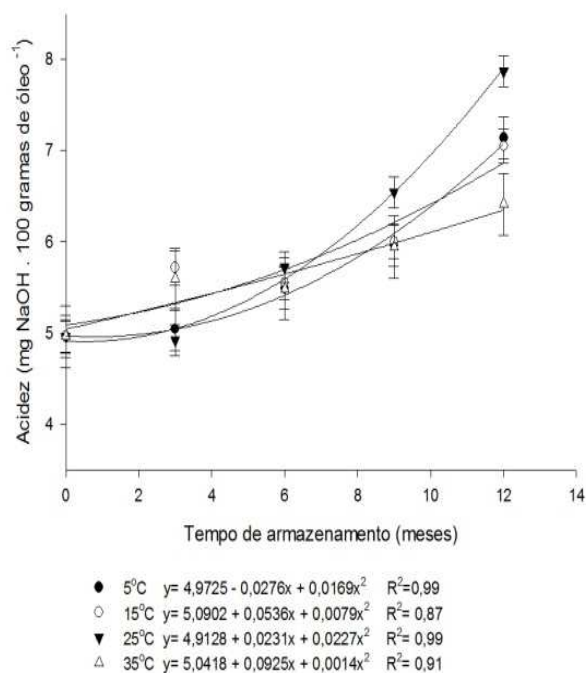


Figura 20 - Acidez de lipídios (mg de NaOH.100gramas de lipídios⁻¹) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Aumentos nos valores de acidez dos lipídios foram observados, sendo que os maiores incrementos ocorreram para a temperatura de 25°C, pois para os grãos armazenados na temperatura de 35°C ocorreu uma redução na umidade dos grãos, de 14,5% no início do armazenamento, para 7,79% ao final dos 12 meses, reduzindo a atividade de água e consequentemente as alterações de degradação dos lipídios, que de acordo com Gregory *et al.* (2008), ocorrem por hidrólise e oxidação, resultando em aumento do teor de ácidos graxos livres. Segundo Genkawa *et al.* (2008) o teor de acidez é uma variável analisada de grande importância, porque durante o armazenamento as alterações ocorrem mais rapidamente nos lipídios, quando comparados à amido e proteínas.

Os resultados estão de acordo com Rehman *et al.* (2002), que ao avaliar o armazenamento de grãos de milho durante 6 meses nas temperaturas de 10, 25 e 45°C, encontrou reduções nos valores de pH de 6,64 no início do armazenamento, para 6,55, 5,87 e 5,43, respectivamente para as temperaturas, e aumentos nos valores de acidez de 3,32 mg de NaOH.100g⁻¹ no início do armazenamento, para 3,24, 4,24 e 4,60 mg de NaOH⁻¹, ao final dos 6 meses de armazenamento, atribuindo estes aumentos ao incrementos das concentrações de ácidos graxos livres, íons fosfatos e hidrogênios, resultado da deterioração dos grãos.

Nos grãos armazenados a 35°C, os maiores aumentos observados no pH da farinha, não foram observados na acidez dos lipídios quando comparados aos grãos armazenados nas temperaturas de 5, 15 e 25°C, provavelmente devido a redução da umidade. Assim o aumento observado no pH pode ser atribuído as extremidades livres de aminoácidos, peptídeos e da presença de ácidos, que conforme Fargerson (1969) e Gardner (1979) podem ser resultado dos produtos da Reação de Maillard, devido à alta temperatura utilizada no armazenamento na presença de carboidratos e aminoácidos nos grãos.

Em geral, os grão de milho possuem entre 2 e 6% de óleo, onde cerca de 85% está associado principalmente ao escutelo do germe (Serna-Saldívar, 2010). De acordo com Piggott *et al.* (1991), durante o armazenamento, lipídios de superfície geralmente sofrem hidrólise para formar ácidos graxos livres. Os ácidos graxos predominantes no milho são os poliinsaturados, principalmente o ácido linoleico, que são suscetíveis a oxidação, formando peróxidos intermediários, que podem formar produtos secundários de oxidação, como radicais aldeídos, carbonilas, cetonas e ésteres, que devido aos

radicais ácidos, podem resultar no aumento do pH do grãos ao longo do armazenamento (Sirisoontarak e Noomhorm, 2007).

Na Fig. 21 é apresentado o perfil colorimétrico da farinha dos grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

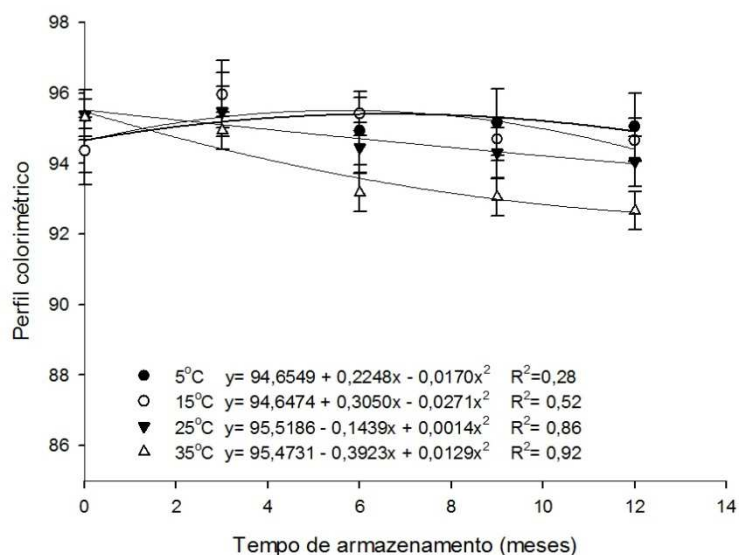


Figura 21 - Perfil colorimétrico dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Os resultados indicam que ocorreu uma redução da cor ao longo do período de armazenamento, sendo que as maiores alterações foram observadas para os grãos armazenados na temperatura de 35°C. Na temperatura de 25°C as alterações foram menos significativas que na temperatura de 35°C.

Na Fig. 22 é apresentado o valor b* do perfil colorimétrico da farinha dos grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C. Os resultados indicam uma redução da cor amarela em todas as temperaturas com o aumento do tempo de armazenamento, sendo as maiores alterações observadas nos grãos armazenados na temperatura de 35°C. As reduções podem ser resultado da oxidação dos carotenóides presentes nos grãos, que são degradados em temperaturas mais elevadas, implicando em menores valores de b* pois são os responsáveis pela coloração amarelada.

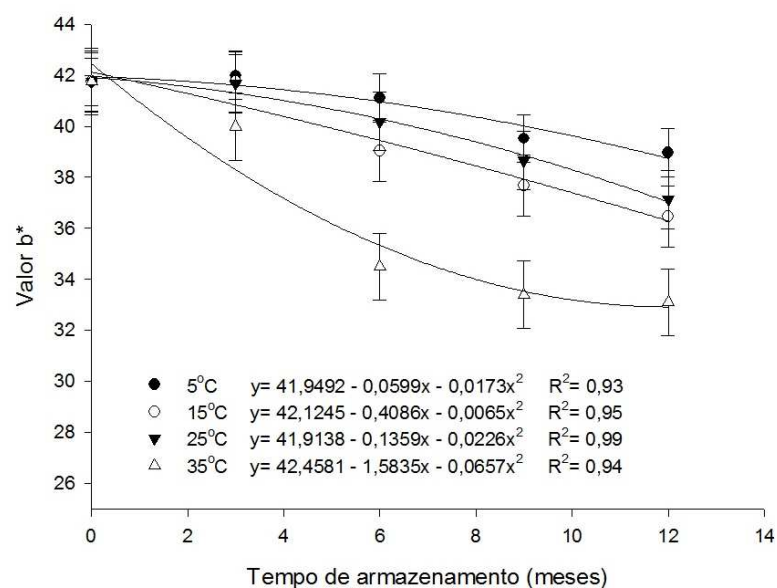


Figura 22 - Valor b* do perfil colorimétrico dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Na tab. 23 e Fig. 23 são apresentados as figuras e os gráficos, respectivamente dos parâmetros viscoamilográficos da análise do Analisador Rápido de Viscosidade das farinhas aos seis meses de armazenamento e aos doze meses de armazenamento.

Tabela 23 - Parâmetros viscoamilográficos de grãos de milho armazenados nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C durante doze meses.

Temperatura (°C)	Armazenamento (meses)	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade máxima (RVU)	Viscosidade de quebra (RVU)	Retrogradação (RVU)	Viscosidade final (RVU)
5	0	69,63±0,12 b*	258,40±1,17 a	34,55±0,94 a	366,52±1,13 b	591,60±0,50 b
	6	69,57±0,43 b	257,77±7,38 a	34,69±0,32 a	368,42±6,30 b	594,83±9,49 b
	12	77,03±0,48 a	241,25±2,75 b	34,12±0,38 a	409,71±1,29 a	616,84±1,08 a
15	0	69,63±0,12 b	258,40±1,17 b	34,55±0,94 a	366,52±1,13 b	591,60±0,50 b
	6	70,25±0,88 b	264,03±2,36 a	34,69±1,92 a	376,11±7,31 b	604,11±8,71 b
	12	77,42±0,08 a	252,11±0,38 c	15,80±0,68 b	436,58±4,90 a	670,89±7,67 a
25	0	69,63±0,12 c	258,40±1,17 a	34,55±0,94 a	366,52±1,13 b	591,60±0,50 b
	6	70,13±0,03 b	230,81±4,51 b	20,47±1,06 b	355,36±13,28 b	569,69±7,91 c
	12	76,55±0,00 a	252,17±1,25 a	9,62±0,20 c	414,08±6,91 a	656,62±5,45 a
35	0	69,63±0,12 c	258,40±1,17 a	34,55±0,94 a	366,52±1,13 b	591,60±0,50 b
	6	70,80±0,58 b	238,06±3,49 b	11,19±0,38 b	359,59±11,61 b	586,25±9,37 b
	12	78,48±0,53 a	255,64±1,73 a	5,31±0,71 c	405,92±2,46 a	653,75±2,17 a

* Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna para cada temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

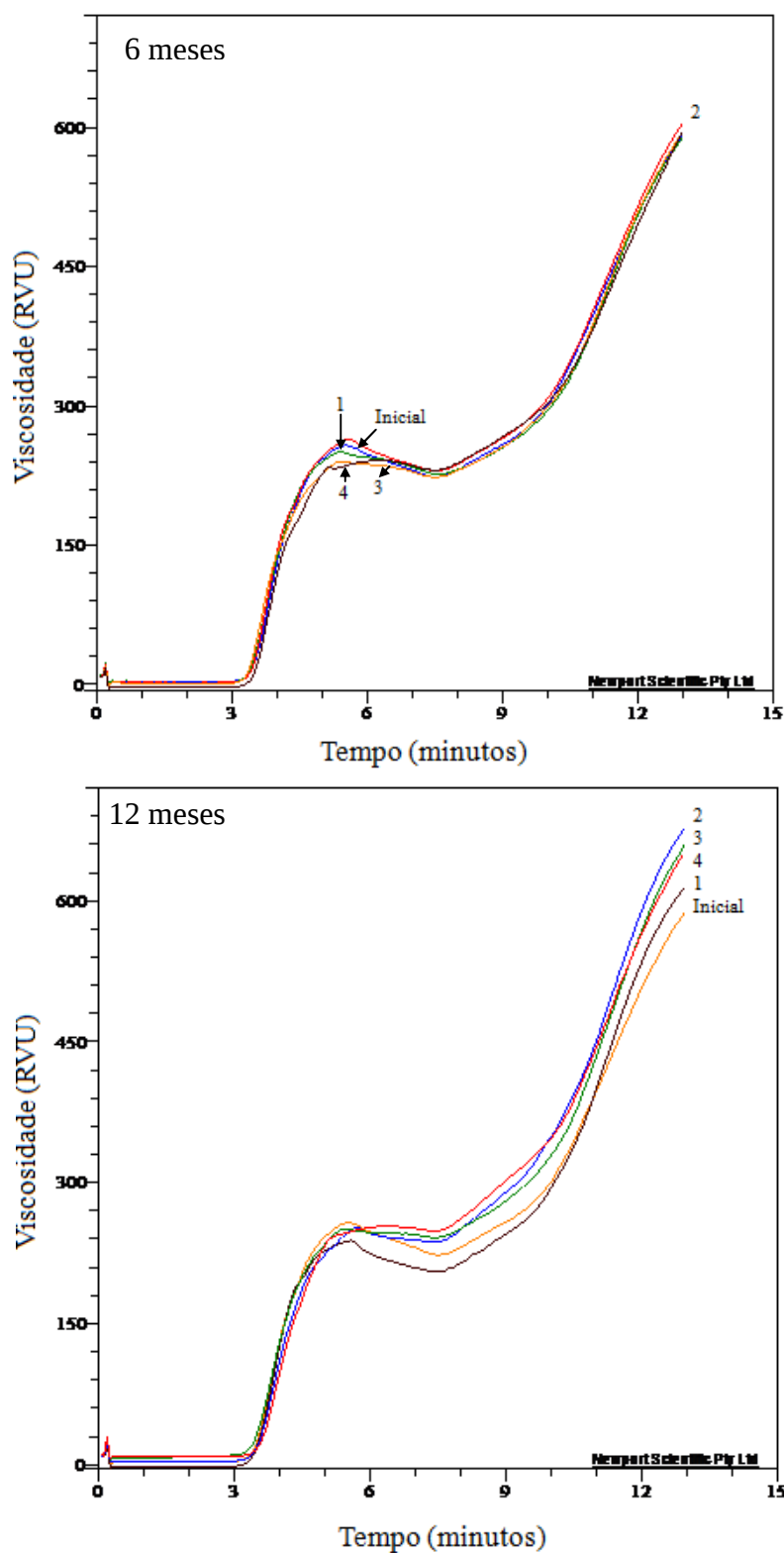


Figura 23 – Parâmetros viscoamilográficos das farinhas obtidas de grãos de milho no início do armazenamento (inicial), seis meses e doze meses de armazenamento nas temperaturas de 5° (1), 15°C (2), 25°C (3) e 35°C (4).

De acordo com Perdon et al., (1997) os parâmetros viscoamilográficos da farinha indicam o comportamento dos grãos durante o processamento. Os resultados indicam que ocorreu um aumento na temperatura de pasta aos seis meses de armazenamento para os grãos armazenados nas temperaturas de 25 e 35°C, e aos 12 meses nas temperaturas de 5 e 15°C. Foi observada uma redução da viscosidade de quebra aos seis meses de armazenamento nas temperaturas de 25 e 35°C, e aos doze meses para os grãos armazenados à 15°C, sendo que para os grãos armazenados a 5°C, não ocorreram alterações. Ocorreu aumento no valor de retrogradação e viscosidade final aos 12 meses de armazenamento para todos os tratamentos.

Estudos realizados com armazenamento de arroz polido encontraram redução dos valores de viscosidade de quebra (Sowbhagya e Bhattacharya, 2001; Zhou et al., 2003) e elevação dos valores de retrogradação (Sowbhagya e Bhattacharya, 2001; Tananuwong e Malila, 2011) com o aumento do tempo de armazenamento. De acordo com Zhou et al. (2003), a redução no valor de viscosidade de quebra é o índice que melhor explica as alterações durante o armazenamento dos grãos, valores que segundo Noomhorm et al. (1997), indicam uma menor capacidade de rompimentos dos grânulos de amido após o armazenamento, resultado da complexação da amilose, estrutura linear da molécula do amido, com outros constituintes dos grãos, principalmente com proteínas, fortalecendo essas interações, e conseqüentemente, aumentando a estabilidade dos grânulos durante o aquecimento.

Os parâmetros viscoamilográficos ligados a gelatinização são influenciados pela presença, orientação e natureza da superfície das interações do amido com lípidios e proteínas, que são ricos em aminoácidos básicos, que possuem propriedades hidrofílicas, formando ligações glicosídicas e peptídicas (Zhou et al., 2003; Sirisoontaralak e Noomhorm, 2007). Esse aumento de compostos com menor capacidade de hidratação, que resulta em absorção de água mais lenta, pode ter resultado no aumento da temperatura de pasta ao 12 meses de armazenamento para todos os tratamentos.

Além disso, um pequeno aumento na estrutura das proteínas pode reduzir a fragilidade dos grânulos de amido intumescidos, ficando os grânulos inchados menos suscetíveis à desagregação (Hamaker e Griffin, 1993), resultando em maior valor de retrogradação. De acordo com Tananuwong e Malila (2011) grânulos mais inchados são menos resistentes à força de cisalhamento, aumentando a decomposição, sendo que com

aumento do tempo de armazenamento, com maior grau de formação de ligação dissulfídicas, formam uma rede de proteínas grande e forte, retardando a absorção de água, e afetando os picos de viscosidade, pois a amilose e amilopectina podem se reassociar e formar uma estrutura altamente ordenada mediante refrigeração, estando de acordo com os resultados obtidos, que indicam o fortalecimento das interações entre amido e proteínas, resultando em aumento da viscosidade final aos 12 meses de armazenamento.

Estudos realizados por Yamada et al. (1998) encontraram que os ácidos graxos saturados são complexados na estrutura dupla hélice da amilose, sendo que os insaturados devido a presença da dupla ligação tem a complexação dificultada, porém, com a degradação durante o armazenamento, e a formação de ácidos graxos livres, estes tornam-se mais facilmente complexados. Segundo Chrastil e Zarins (1992), ao avaliarem armazenamento de arroz, mudanças nas propriedades e interações das proteínas contribuem para alterações nas propriedades de pasta, principalmente na viscosidade de quebra, pois o número de ligações dissulfídicas aumenta com o armazenamento, sendo estas menos sensíveis a degradação. Martin e Fitzgerald (2002) afirmam que proteínas podem influenciar os parâmetros determinados em RVA, através de ligação com água, que aumenta a concentração da dispersão antes gelatinização do amido, principalmente pela rede formada pelas pontes de dissulfetos.

Na Fig. 24 são apresentados os resultados de proteína solúvel dos grãos armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C. Os resultados indicam que houve uma redução na solubilidade proteica para os grãos armazenados nas temperaturas de 5, 25 e 35°C, sendo as maiores alterações na temperatura de 35°C. A redução da solubilidade proteica é confirmada pelas alterações nos valores de viscosidade de quebra, que indicam um fortalecimento das interações das proteínas, afetando o processamento dos grãos.

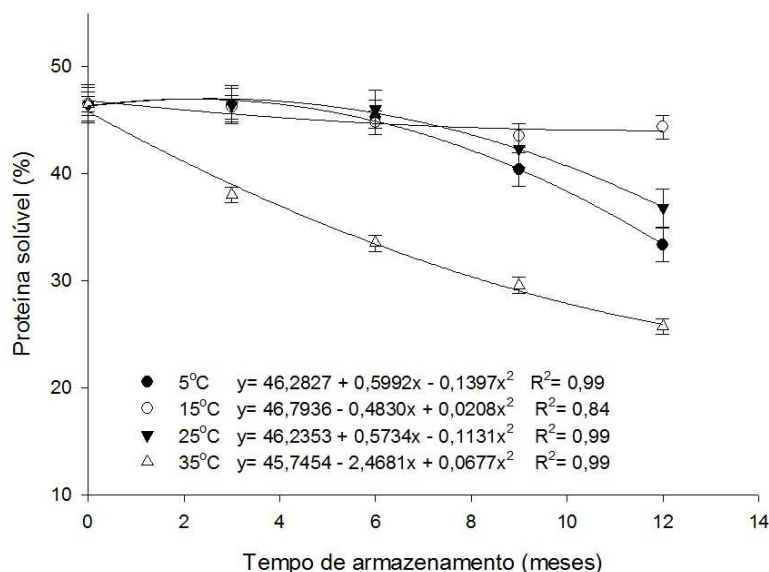


Figura 24 - Teor de proteína solúvel (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

De acordo com Sirisoontaralak e Noomhorm (2007), interações coloidais entre amido e proteína formam uma estrutura física mais estável, insolúvel em água durante o armazenamento, resultando na redução da solubilidade. Teo et al. (2000), em estudo realizado com farinha de arroz, encontrou resultados que afirmam que um pequeno aumento em ligações dissulfídicas com as proteínas, pode reduzir a solubilidade e afetar o processo de gelatinização da farinha. O processo de extração de amido pelo processo de moagem úmida (*wet-milling*) é fortemente influenciado pelo aumento das interações entre amido e proteína, reduzindo os rendimentos de extração, sendo necessários utilização de níveis mais elevados de dióxido de enxofre (SO₂) ou maior tempo durante o processo de hidratação dos grãos, fatores estes que podem alterar as propriedades do amido.

Na Fig. 25 são apresentados os resultados da capacidade de absorção de solução de bissulfito de sódio 0,1% utilizado para extração do amido, dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

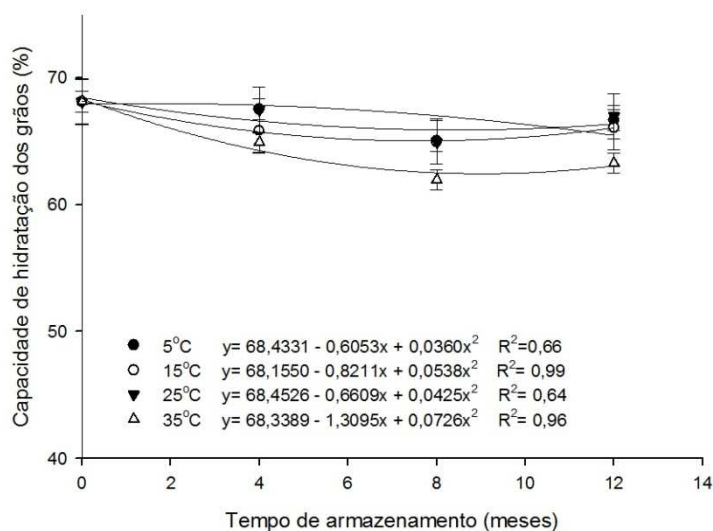


Figura 25 - Capacidade de hidratação dos grãos (%) dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Os resultados indicam que a capacidade absorção reduziu de 68,12% para 64,87% aos 4 meses para os grãos armazenados na temperatura de 35°C, e ao final dos 12 meses de armazenamento para 63,27%, entretanto a quantidade de solução absorvida é suficiente segundo Bemiller e Whistler (2009) para permitir uma adequada solubilização das proteínas durante o processo de moagem úmida para extração de amido, que indicam níveis superiores a 45% como suficientes para promover uma desestruturação das ligações dissulfídicas das proteínas, permitindo a lixiviação do amido durante o processo de moagem úmida.

A redução na capacidade de absorção pode ser provocada por uma redução do espaço intercelular devido á temperatura elevada de armazenamento, sendo que Berrios et al. (1998), afirma que grãos de feijão com defeito HTC (*Hard to cook*) sofrem uma impermeabilização do tegumento e uma redução do espaço intercelular, dificultando a capacidade de absorção de água para cocção, o que pode ocorrer nos grãos de milho, devido à reorganização celular, principalmente fortalecendo as ligações entre amido e proteína, com redução da solubilidade proteica, conforme apresentado na Fig. 24.

Estudo 3 -

4.3. Alterações nas propriedades de pasta, térmicas e morfológicas de amido isolado de grãos de milho armazenados durante 12 meses em diferentes temperaturas

Na tab. 24 são apresentados os resultados de rendimento de extração de amido, cor (valor b* e valor L*) e teor residual de proteína e lipídios do amido isolado dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Tabela 24 - Rendimento de extração (%), valor b*, valor L* e teor residual de proteína (%) e lipídios (%) do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Condições de armazenamento	Rendimento extração (%)	Valor b*	Valor L*	Proteínas (%)	Lipídios (%)
Inicial	59,07±0,31 ^a	6,27±1,46 ^b	96,26±0,49 ^b	0,23±0,03 ^b	0,61±0,08 ^a
5°C	62,88±1,25 ^a	6,55±0,40 ^b	97,47±0,52 ^a	0,27±0,08 ^b	0,63±0,03 ^a
15°C	66,94±0,71 ^a	5,98±0,69 ^b	97,34±0,90 ^a	0,32±0,00 ^b	0,62±0,04 ^a
25°C	63,36±2,32 ^a	6,00±0,44 ^b	96,82±0,25 ^{ab}	0,29±0,06 ^b	0,60±0,04 ^a
35°C	45,99±6,58 ^b	10,67±0,87 ^a	92,44±0,27 ^c	0,74±0,01 ^a	0,40±0,04 ^b

Médias aritméticas simples ± desvio padrão, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (p≤0,05).

O rendimento de extração foi menor apenas para os grãos armazenados na temperatura de 35°C. Para as demais temperaturas não houve diferença estatística. Os

resultados de rendimento de extração do amido estão de acordo com os encontrados por Malumba et al. (2009), que encontrou rendimentos de extração entre 64,40% e 43,30% ao avaliar grãos de milho secos com temperaturas de ar entre 80 e 130°C. Haros e Suarez (1997) encontraram rendimento de extração superiores, porém, provavelmente devido a uma quantidade importante de proteína residual no amido isolado por moagem úmida (0,9-5,72 g.100g⁻¹). Segundo Sodhi et al., (2003), durante o armazenamento podem ocorrer interações entre proteínas, lipídios oxidados, amido, e conforme descrito por Hayfa et al. (2007), as cadeias de amilose podem formar complexos helicoidais, alterando as propriedades do amido, interferindo no rendimento de extração.

Os resultados do valor L e valor b* (tab. 24) do perfil colorimétrico indicam que as maiores alterações ocorreram nos grãos armazenados na temperatura de 35°C, sendo que o amido no início do armazenamento apresentava valor b* (de azul a amarelo) de 6,27, chegando a valores de 10,67 ao final de 12 meses de armazenamento, resultando em um amido com coloração mais amarelada. As mesmas alterações foram encontradas para o valor L*, entretanto estes valores reduziram na temperatura de 35°C, e para os demais as diferenças foram pequenas, reduzindo o brilho do amido. O aumento do valor b*, e redução no valor L* podem ser atribuídos às interações do amido com proteína, aumentando o teor residual de proteína no amido extraído, que no início do armazenamento era 0,23% e chegou a 0,74% ao final de 12 meses de armazenamento. O teor residual de lipídios no amido reduziu ao final de 12 meses nos grãos armazenados na temperatura de 35°C.

O teor residual de proteína está de acordo com Malumba et al. (2009) que encontrou valores inferiores a 1,5% ao avaliar temperaturas de secagem entre 80 e 120°C em grãos de milho nas propriedades do amido isolado. Segundo Debet e Gidley (2006), o teor residual de proteína e a presença de lipídios nos grânulo de amido, podem provocar restrição do poder de inchamento durante a gelatinização do amido. Haros et al. (2003) e Altay e Gunasekaran (2006) afirmam que as proteínas que permanecem no amido de milho, podem possivelmente reduzir a entrada de água para dentro dos grânulos durante a gelatinização, o que limita interações entre a água e os componentes de amido e aumento temperaturas de gelatinização.

As alterações de cor observadas são resultado da dificuldade de separação das proteínas durante o processo de hidratação, devido ao fortalecimento das interações das ligações dissulfídicas, sendo necessários processos de clarificação para o amido

extraído, para obtenção de aspecto visual similar aos demais, alteração essa que pode ser obtida com aplicação de hipoclorito de sódio em baixas concentrações.

Na Fig. 26 são apresentados os resultados de poder de inchamento (g.g^{-1}) e solubilidade (%) nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90°C do amido extraído de grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

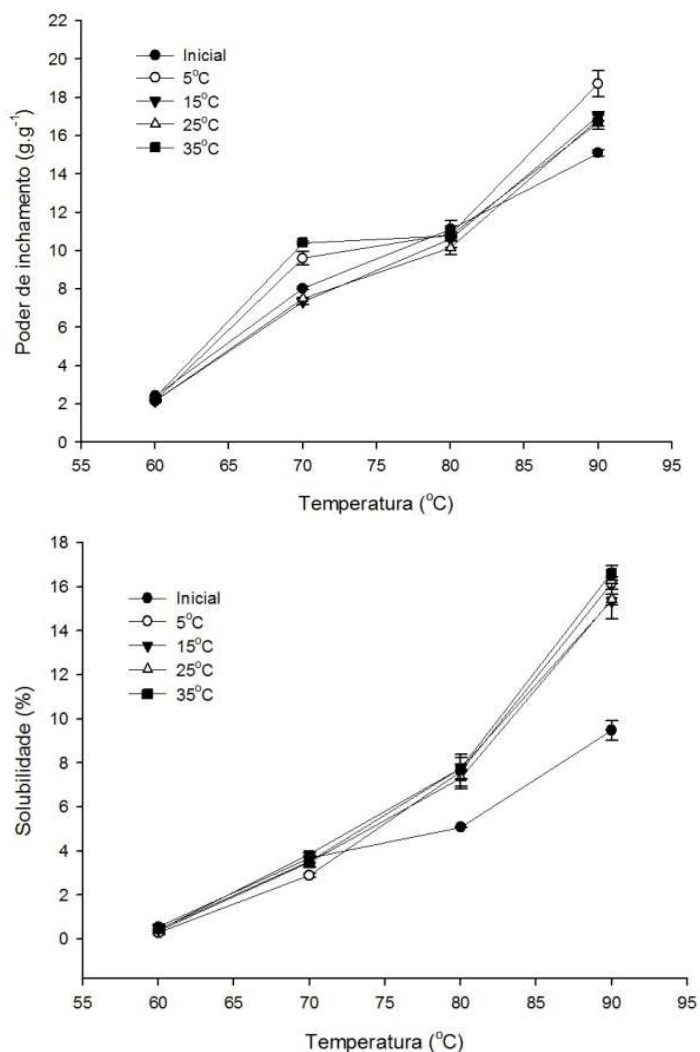


Figura 26 - Poder de inchamento (g.g^{-1}) e solubilidade (%) nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90°C do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Os resultados indicam que houve aumento do poder de inchamento e da solubilidade com o aumento da temperatura na análise. O amido extraído dos grãos armazenados na temperatura de 5°C apresentou um aumento no poder de inchamento, quando comparado ao amido isolado do início do armazenamento, que apresentou o menor poder de inchamento. A solubilidade aumentou para os amidos extraídos dos

grãos nas quatro temperaturas ao final de 12 meses de armazenamento, e maiores alterações foram observadas nas temperaturas de 80 e 90°C.

Os resultados estão de acordo com Sandhu e Singh (2007) que relataram valores de poder de inchamento entre 13 e 20,7 gramas de água por grama de amido seco em nove variedades de milho no estado de Iowa (EUA), entretanto são diferentes dos resultados de Debet e Gidley (2006) que associam um aumento do residual de proteínas e o lípidios no grânulo de amido para a restrição da sua capacidade de inchaço durante a gelatinização, entretanto na temperatura de 35°C houve aumento do teor residual de proteínas, e não foram observadas diferenças no poder de inchamento.

Os resultados de solubilidade do amido na temperatura de 90°C são resultantes da lixiviação de amilose do interior do grânulo e da difusão para fora durante o intumescimento, passando de uma fase organizada para desorganizada. O maior valor de solubilidade pode ser atribuído a uma estrutura menos rígida dos grânulos de amido, permitindo a lixiviação de compostos durante o aquecimento. Segundo Leach et al. (1959) a força de ligação dentro dos grânulos de amido influenciam o poder de inchamento, sendo que um amido altamente associado deve ser relativamente resistente ao aumento de volume, conseqüentemente, deve apresentar menor poder de inchamento. Segundo Nayouf et al. (2003) a solubilidade é resultado de grânulos inchados sem água intersticial entre as partículas, obtidos após o arrefecimento e centrifugação.

De acordo com Malumba et al. (2010), pré tratamentos de alta temperatura aplicada para amido pode afetar eventualmente a região amorfa de grânulos, induzindo provavelmente transições vítreas, que podem modificar a capacidade de ligação à água e, subseqüentemente, o comportamento de inchamento de grânulos em excesso de água.

Na tab. 25 e Fig. 27 são apresentados os resultados dos parâmetros viscoamilográficos do amido extraído de grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C. Os resultados dos parâmetros viscoamilográficos do amido indicam um aumento da temperatura de pasta para os grãos armazenados na temperatura de 35°C. As maiores alterações de viscosidade máxima e viscosidade final foram observadas nos grãos armazenados na temperatura de 35°C. O valor de retrogradação aumentou para os grãos armazenados na temperatura de 5°C, e não apresentou diferença para as demais temperaturas. A viscosidade de quebra aumentou para o amido isolado dos grãos armazenados na temperatura de 5°C, e reduziu para os

grãos armazenados nas temperaturas de 15, 25 e 35°C, quando comparado ao amido isolado dos grãos no início do armazenamento.

Tabela 25 - Parâmetros viscoamilográficos do amido isolado dos grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Condições de armazenamento	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade máxima (RVU)	Viscosidade de quebra (RVU)	Retrogradação (RVU)	Viscosidade final (RVU)
Inicial	70,50±0,52 ^b	312,00±5,75 ^c	115,6±6,07 ^b	114,74±4,84 ^b	311,06±3,66 ^c
5°C	70,60±0,40 ^b	352,33±2,00 ^a	143,8±3,25 ^a	134,63±0,70 ^a	343,21±0,54 ^a
15°C	71,40±0,35 ^b	317,79±2,79 ^b	102,7±0,96 ^c	119,00±0,58 ^b	334,08±1,25 ^b
25°C	71,00±0,45 ^b	318,84±0,41 ^b	107,5±0,46 ^c	119,80±3,63 ^b	331,08±2,75 ^b
35°C	76,30±0,40 ^a	284,12±0,20 ^d	105,3±0,42 ^c	115,04±0,29 ^b	293,92±0,34 ^d

Médias aritméticas simples ± desvio padrão, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

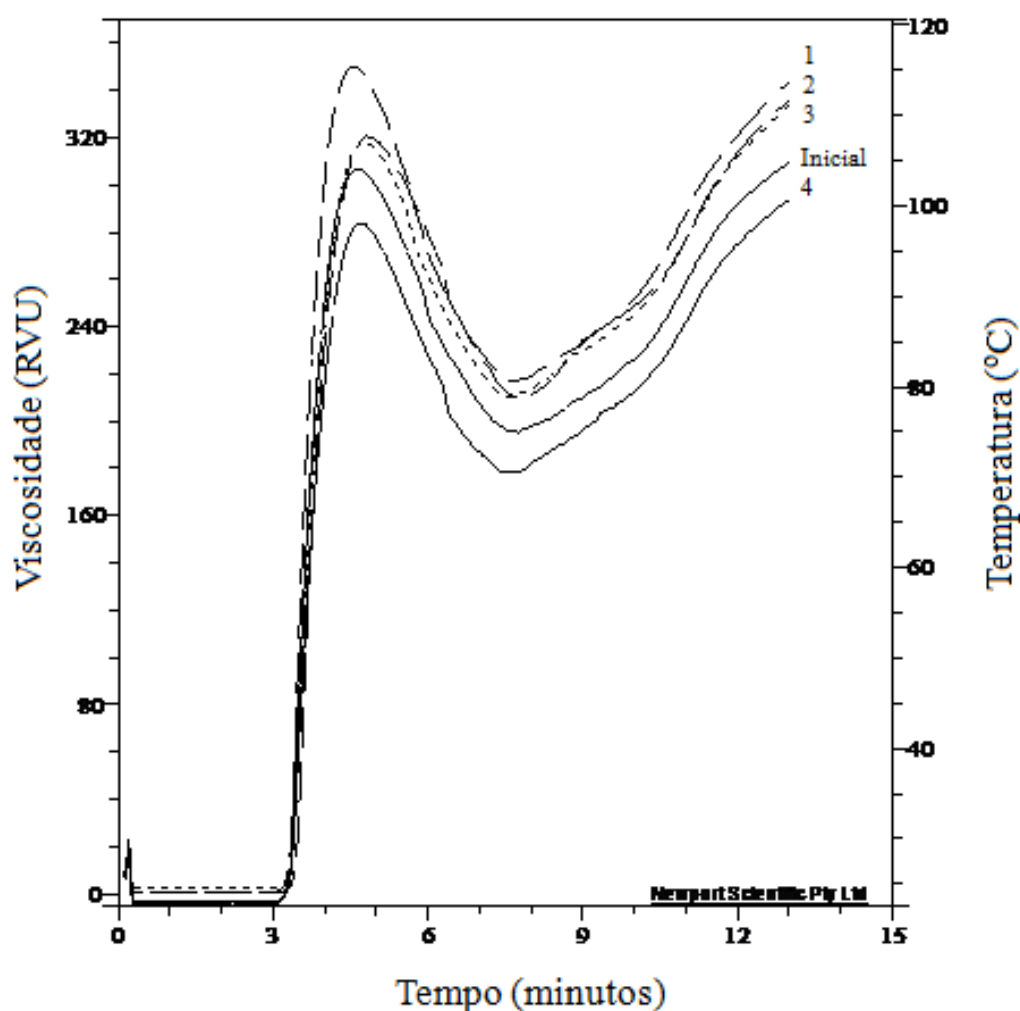


Figura 27 - Parâmetros viscoamilográficos do amido isolado dos grãos de milho armazenados durante doze meses: inicial, 5°C (1), 15°C (2), 25°C (3) e 35°C (4).

De acordo com Sandhu e Singh (2007) a temperatura de pasta é aquela em que inicia o aumento da viscosidade do amido. Os resultados indicam que houve um aumento ao final de 12 meses de armazenamento para a temperatura de pasta dos grãos armazenados na temperatura de 35°C. O aumento de 70,50°C para 76,30°C pode ser atribuído a maior presença de proteína residual no amido, o que aumenta a capacidade de absorção de água, e a energia necessária para o intumescimento dos grânulos de amido, necessários para o aumento da viscosidade. Os resultados estão de acordo com Setiawan *et al.* (2010), que encontrou aumento de 72,5 para 75,6°C na temperatura de pasta de amido isolado de grãos de milho armazenados durante 6 meses em temperatura de 27°C e umidade relativa do ar de 85-90%.

De acordo com Barichelo *et al.* (1990), altas temperaturas de transição de gelatinização são indicativos de um elevado grau de cristalinidade, o que proporciona estabilidade estrutural e torna a gelatinização do amido difícil. Tester e Morrison (1990) afirmam que os complexos de inclusão formados naturalmente entre os lípidos e o amido, principalmente com a amilose, interferem nas propriedades do amido durante o aquecimento, impedindo a lixiviação de amilose a partir de grânulos, retardando a gelatinização.

Os resultados de viscosidade máxima indicam que a viscosidade reduziu para o amido isolado dos grãos armazenados na temperatura de 35°C, e não apresentou diferenças para os demais tratamentos quando comparado com o início do armazenamento. De acordo com Singh *et al.* (2003) a viscosidade máxima reflete a habilidade dos grânulos para inchar livremente antes de seu esgotamento físico, sendo que amidos, que são capazes de inchamento de um grau elevado também são menos resistentes à diminuição da viscosidade quando utilizados na culinária. De acordo com Jane *et al.* (1999) o teor de amilose e o comprimento e a distribuição das cadeias de amilopectina afetam predominantemente as propriedades de pasta de amido, principalmente a viscosidade máxima, pois Bohnassey e Breene (1994) avaliaram as propriedades de pasta dos amidos de milho normal e ceroso no RVA e concluíram que o amido de milho ceroso possui uma viscosidade máxima superior, provavelmente devido à ausência da molécula de amilose, assim, a redução da temperatura de pasta, pode ser relacionada com a degradação das cadeias de amilopectinas pelas enzimas endógenas, reduzindo os valores, entretanto, para os tratamentos com temperatura mais baixa, a atividade enzimática é menor, interferindo menos nas propriedades dos grânulos.

Os resultados de viscosidade de quebra indicam que houve uma redução dos valores para o amido isolado dos grãos armazenados nas temperaturas de 15, 25 e 35°C, e um aumento na temperatura de 5°C. O decréscimo no valor de viscosidade de quebra indica uma maior rigidez dos grânulos de amido ao final dos 12 meses de armazenamento, estando de acordo com Setiawan et al. (2010) que encontrou reduções no valor ao longo do armazenamento de grãos de milho, entretanto obteve maiores reduções, pois as condições do ambiente, como umidade e temperatura elevada propiciavam condições para maiores alterações nas propriedades do amido. Singh et al. (2003) postulou que as diferenças nos valores de degradação de amidos podem ser atribuídas a rigidez, o conteúdo lipídico e do grânulo piro no módulo dinâmico de viscosidade.

Os resultados de retrogradação indicam que houve um aumento para o amido isolado dos grãos armazenados na temperatura de 5°C, não apresentando diferença nas demais temperaturas. De acordo com Hughes et al. (2009), maiores valores de retrogradação e viscosidade de quebra refletem o maior poder de inchamento dos grânulos de amido e a rápida agregação das cadeias de amilose lixiviadas, respectivamente, estando de acordo com os resultados de poder de inchamento, onde os maiores valores foram observados nas temperaturas de 5°C.

Os resultados de viscosidade final indicam que houve aumento da viscosidade final para o amido dos grãos armazenados nas temperaturas de 5, 15 e 25°C, e para a temperatura de 35°C ocorreu uma redução dos valores. Setiawan et al. (2010) também encontrou redução da viscosidade final do amido isolado de grãos de milho armazenados durante 6 meses.

Em trabalhos realizados com arroz, os autores Dhaliwal et al. (1991) e Awazuhara et al. (2000), atribuíram mudanças no comprimento da cadeia ramificada de amilopectina do amido à hidrólise enzimática, onde a alfa-amilase ataca a região amorfa de amilopectina, que consistia de cadeia longas, hidrolisando essas em cadeias intermediárias, reduzindo o peso molecular da amilopectina. Segundo Hasjim e Jane (2009) a redução no peso molecular do amido pode acelerar a cristalização do amido e aumentar o teor de amido resistente, além disso, Sirisoontarala e Noomhorm (2006), em estudo realizado com arroz irradiado, afirmam que a redução da viscosidade máxima é resultado da desestruturação da amilose e da amilopectina dos grânulos de amido.

Na Fig. 28 e na tab. 26 são apresentadas as propriedades térmicas do amido isolado de grãos de milho armazenados durante 12 meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

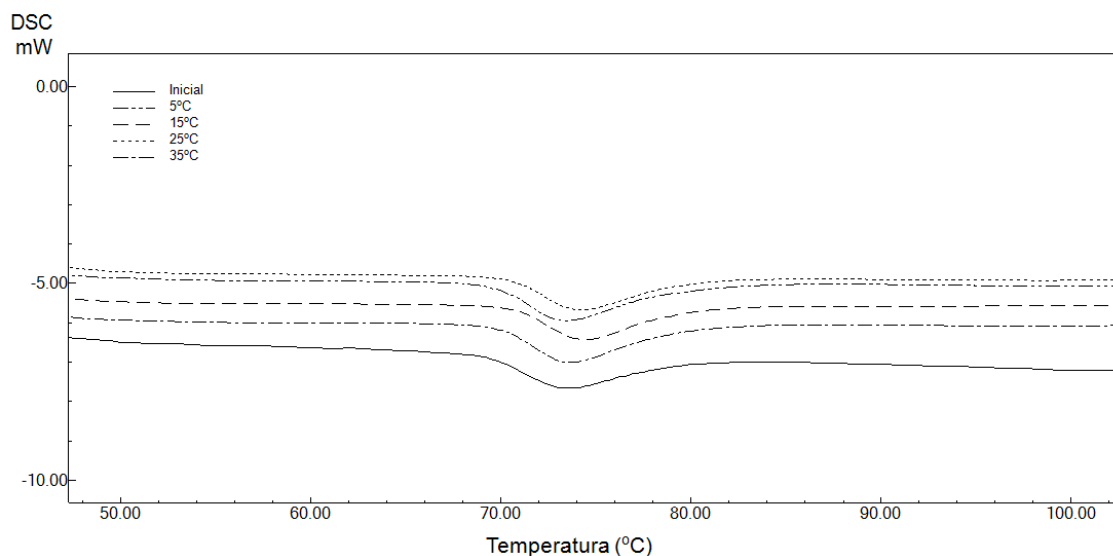


Figura 28 - Propriedades térmicas do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Tabela 26 - Propriedades térmicas do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Condições de armazenamento	To (°C)*	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔT (Tc - To)	ΔH (J/g)
Inicial	69,16	73,25	76,98	7,82	22,41
5°C	69,94	73,43	79,05	9,11	37,81
15°C	71,01	74,45	78,91	7,90	25,54
25°C	70,76	74,29	79,16	8,40	28,87
35°C	70,04	73,70	78,42	8,38	31,67

* To= temperatura inicial de pico, Tp=temperatura de pico máximo, Tc= temperatura de conclusão do pico, ΔT = diferença entre temperatura inicial e temperatura de conclusão, ΔH = entalpia de gelatinização.

Os resultados indicam que a temperatura inicial de pico, temperatura de pico máxima e temperatura de conclusão do pico aumentaram ao final dos 12 meses de armazenamento para todas as temperaturas de armazenamento. Para ocorrer o processo de gelatinização do amido são necessários à presença de amido, água e calor, entretanto, durante o armazenamento dos grãos no experimento as temperaturas utilizadas foram baixas, e como as amostras apresentavam teor de umidade baixa, poucas alterações foram encontradas para os tratamentos utilizados. O aumento da temperatura inicial do

pico, pode ser comparado com o aumento da temperatura de pasta onservada na temperatura de pasta (RVA), pois de acordo com Malumba et al., (2010), estes valores estão correlacionados.

O armazenamento resultou em um pequeno aumento na entalpia necessária para gelatinização do amido com o aumento do tempo de armazenamento. Esse aumento pode ser atribuído a maior rigidez dos grânulos ao final do armazenamento, o que aumenta a energia necessária para o rompimento da estrutura dos grânulos de amido, devido a fenômenos de complexação que podem ocorrer com os constituintes dos grãos.

Estudos realizados com arroz polido armazenado por períodos superiores a 6 meses em temperatura ambiente, utilizando análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC), encontraram aumento das temperaturas de gelatinização (Sowbhagya e Bhattacharya, 2001; Tulyathan e Leeharatanaluk, 2007; Zhou et al., 2003). A entalpia e as temperaturas de gelatinização segundo Zhou et al. (2010) ao avaliar as propriedades térmicas de arroz armazenado em diferentes condições são afetadas pela temperatura e tempo de armazenamento. Ji et al., (2004) postularam a hipótese de que o início temperatura de gelatinização seria uma medida da perfeição de cristais de amido, sendo que cristais menos perfeitos mostram baixas temperaturas de início de gelatinização, entretanto no trabalho não foram encontrados variações grandes, o que indica que não ocorrem grandes alterações na estrutura dos grânulos.

Na tab. 27 e Fig. 29 são apresentados os resultados de cristalinidade do amido isolado de grãos de milho armazenados durante 12 meses na temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Tabela 27 - Cristalinidade do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Condições de armazenamento	Intensidade (CPS*)					Cristalinidade relativa (%)
	15	17	18	20	23	
Inicial	3216	3529	3499	2299	2934	30,54
5°C	3228	3494	3622	2401	2928	28,96
15°C	3291	3616	3576	2470	2940	28,34
25°C	3446	3700	3742	2477	2993	27,08
35°C	3337	3721	3670	2506	2904	26,26

* CPS - counts por segundo

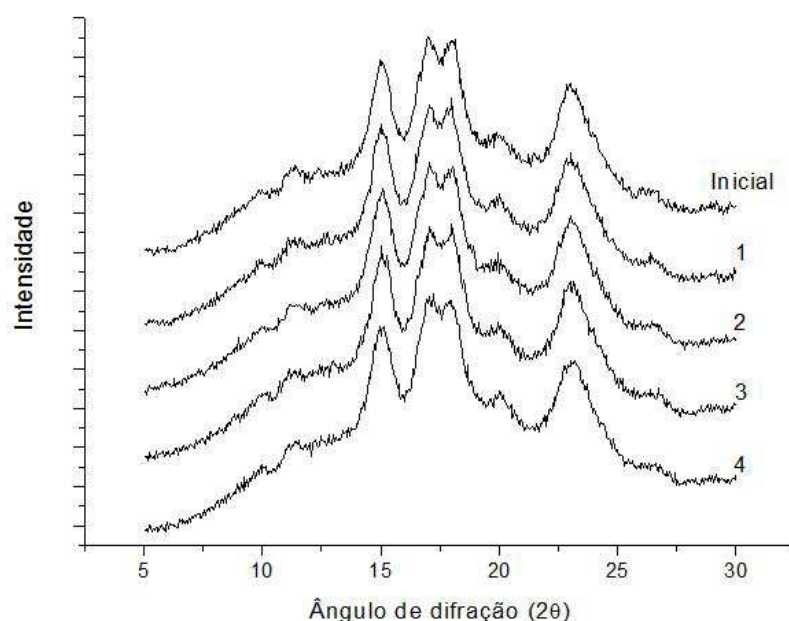


Figura 29 - Cristalinidade do amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Os resultados indicam que a cristalinidade reduziu ao final de 12 meses de armazenamento em todas as temperaturas. As maiores alterações foram observadas com o aumento da temperatura. Os resultados diferem de Setiawan et al. (2010), que encontrou aumento da cristalinidade relativa ao final de seis meses de armazenamento. A redução da cristalinidade pode ser atribuída à uma redução das cadeias de amilopectina, resultado de degradação enzimática.

Na Fig. 30 são apresentadas as características morfológicas determinadas com microscopia eletrônica de varredura (1500x e 3000x) dos grânulos de amido isolados de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

Os resultados indicam que ocorrem alterações na morfologia dos grânulos ao final de 12 meses de armazenamento. No amido extraído dos grãos armazenados nas temperaturas de 5°C (Fig. 30B) se observa perfurações nos grânulos, resultada da atividade enzimática, pois com temperatura baixa as enzimas são mantidas inativadas durante o armazenamento, e ativadas no processo de extração, devido a temperatura elevada (50°C), assim, provocam as alterações na estrutura. Foram observadas com aumento da temperatura de 15 para 25 e 35°C, comparando com o amido inicial, uma maior quantidade de grânulos menores, que poder ser resultado de no processo de extração devido a maior interação entre proteína e amido, resultar no rompimento destes

durante o processo. O amido isolado dos grãos armazenados na temperatura de 35°C provocou um maior aumento do teor residual de proteínas, o que pode ser observado na Fig. 30E, onde a superfície dos grânulos é recoberta por corpos proteicos.

Em estudo realizado por Setiawan et al., (2010), para avaliar o armazenamento de amido extraído de grãos de milho secos ao sol e em secador, o autor encontrou aumento do número de grânulos de amido danificados (grânulos quebrados e detritos), além de observar grânulos danificados, resultados da atividade enzimática, como observado na Figura B, entretanto, esta atividade enzimática não resultou em declínio dos picos de viscosidade, como descrito pelo autor.

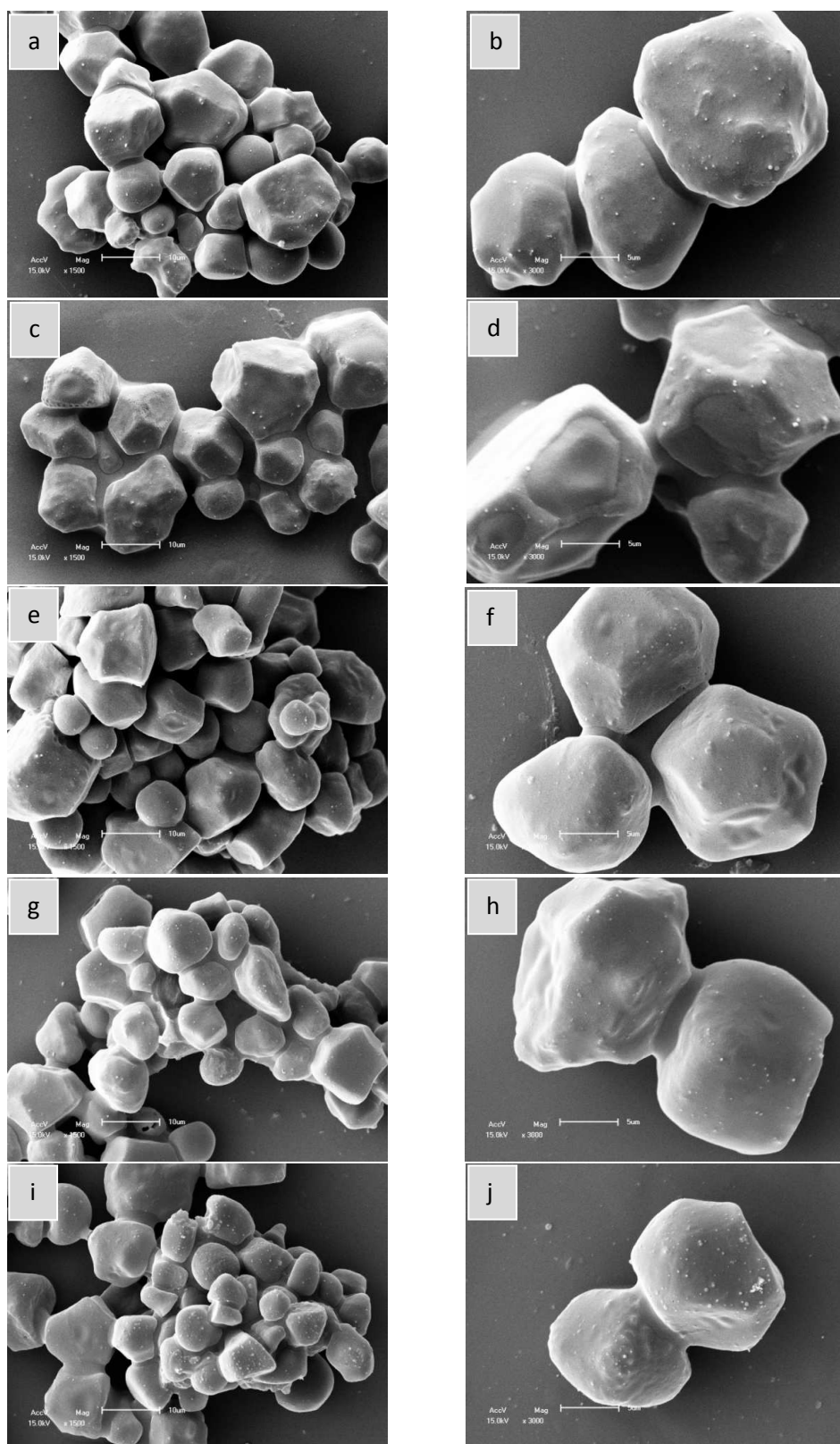


Figura 30 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho armazenados durante doze meses nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C.

5. CONCLUSÕES

5.1. As temperaturas de armazenamento de 25 e 35°C provocaram maiores reduções nos parâmetros germinação, vigor, peso de mil grãos, tipificação do produto, umidade dos grãos, e aumentos na condutividade elétrica, na incidência de grãos mofados, quando comparados ao tratamento controle utilizado, com umidade de 12% e temperatura de 25°C.

5.2. As temperaturas mais elevadas de armazenamento provocaram reduções nos teores de tocoferóis, carotenóides, atividade antioxidante, dos grãos, perfil colorimétrico, solubilidade de proteínas, capacidade de absorção de água, e na viscosidade de quebra dos parâmetros viscoamilográficos, com aumentos na acidez dos lipídios e na retrogradação nos parâmetros viscoamilográficos.

5.3. O aumento da temperatura de armazenamento altera as propriedades do amido isolado, reduzindo o rendimento de extração, o brilho, a viscosidade máxima, a viscosidade de quebra e a cristalinidade dos grânulos, com aumentos da coloração amarela, da solubilidade e do teor residual de proteínas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABERA, S.; SUDIP, K.R.; Effect of dry cassava chip storage on yield and functional properties of extracted starch. **Starch/Starke**, v.56, p. 232-240, 2004.
- AGUIAR, R.W.S.; BRITO, D.R.; OOTANI, M. A.; , FIDELIS, R. R.; PELUZIO, J.N.; Efeito do dióxido do carbono, temperatura e armazenamento sobre sementes de soja e micoflora associada. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.3, p.554-560, jul-set, 2012.
- ALBORCH, L.; BRAGULAT, M.R.; ABARCA, M.L.; CABAÑES, F.J.; Effect of water activity, temperature and incubation time on growth and ochratoxin a production by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* on maize kernels. **International Journal of Food Microbiology**; v.147, n.01, p.53-57, 2011.
- ALTAY, F.; GUNASEKARAN, S.; Influence of drying temperature, water content, and heating rate on gelatinization of corn starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.4235–4245, 2006.
- ANTONELLO, L.M.; MUNIZ, M.B.; BRAND, S.C.; VIDAL, M.D.; GARCIA, D.; RIBEIRO, L.; SANTOS, V.; Qualidade de sementes de milho armazenadas em diferentes embalagens. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p.2191-2194, 2009.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis**. 18 ed. Washington DC US, 2006.
- ASAE – American Society of Agricultural Engineers. Moisture measurement-unground grain and seeds. In: Standards, 2000.St. **Joseph: ASAE**, p. 563, 2000.
- AWAZUHARA, M.; NAKAGAWA, A.; YAMAGUCHI, J.; FUJIWARA., T.; Distribution and characterization of enzymes causing starch degradation in rice (*Orzya satia* cv. Koshihikari). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.48, p.245-252, 2000.
- BAHNASSEY, Y.A.; BREENE W.M.; Rapid Visco-Analyzer (RVA) Pasting profiles of wheat, corn, waxy corn, tapioca and amaranth starches in the presence of konjac flour, gellan, guar, xanthan and locust bean gums. **Starch/Starke**, v.4, p.134-141, 1994.
- BARICHELO, V., YADA, R.Y., COFFIN, R.H., STANLEY, D.W.; Low temperature sweetening in susceptible and resistant potatoes: Starch structure and composition. **Journal of Food Science**, v.55, n.4, p.1054–1059, 1990.
- BEMILLER & WHISTLER; **Starch: Chemistry and technology**. Third edition. Food Science and Technology, International series. ISBN: 978-0-12-746275-2, Elsevier, 2009.
- BERRIOS, J.J.; SWANSON, B.G.; CHEONG, W.A.; Structural characteristics of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Scanning Microscopies**, v.20, p.410-417, 1998.
- BHATTACHARYA, K.; RAHA, S. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. **Mycopathologia**, Dordrecht, v.155, n.3, p.135-141, 2002.
- BILLIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents, **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, n.1, p. 60-78, 1991.

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 845 de 08.11.1976**. Especificações para padronização, classificação e comercialização interna do milho. Diário Oficial, Brasília, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, Mapa / ACS, 399p., 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Fundação de Ciência e Tecnologia – CIENTEC. Métodos Analíticos para controle de alimentos para uso animal. INTERLAB VI. **Portaria 108, de 4 de setembro de 1991**. Diário Oficial da União, seção I, p.19813, 1991.
- CAIRNS-FULLER, V.; ALDRED, D.; MAGAN, N.; Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain. **Journal of Applied Microbiology**, v.99, n.05, p.1215-1221, 2005.
- CARNEIRO, L.M.T.A.; BIAGI, J.D.; FREITAS, J.G.; CARNEIRO, M.C.; FELÍCIO, J.C.; Diferentes épocas de colheita, secagem e armazenamento na qualidade de grãos de trigo comum e duro. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.1, p.127-137, 2005.
- CEREDA, M. P. (org.). **Propriedades gerais de amido**. (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, v. 1), São Paulo, Fundação Cargill, v.1. cap.8. 221p., 2001.
- CERT, A.; MOREDA W.; PÉREZ-CAMINO, M.C. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils, **Journal of Chromatography A**, v.881, p.131-148, 2000.
- CHANDRASHEKAR, A.; MAZHAR, H; The biochemical basis and implications of grain strength in sorghum and maize. **Journal of Cereal Science**. v.30, p.193-207, 1999.
- CHEN, M. H., BERGMAN, C.J.; A rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -orizanol contents. **Journa. Food Analazy** 18:139–151, 2005.
- CHRASTIL, J.; Influence of storage on enzyme in rice grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, p.1198-202, 1990a.
- CHRASTIL, J.; ZARINS, Z. M.; Influence of storage on peptide subunit composition of rice oryzenin. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.40, p.927-930, 1992.
- COULIBALY, O.; KERSTIN, H.; BANDYOPADHYAY, R.; HOUNKPONOU, S.; LESLIE, J.F.; Economic impact of aflatoxin contamination in sub-Saharan Africa. In: Leslie, J.F., Bandyopadyay, R., Visconti, A. (Eds.), *Mycotoxins: Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*. CAB International, p.67-76, 2008.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. 2011. <http://www.conab.gov.br/detalhe.php?a=1077&t=2>

- COSTA, A.R.; FARONI, L.R.D.; ALENCAR, E.R.; CARVALHO, M.C.S.; FERREIRA, L.G.; Qualidade de grãos de milho armazenados em silos bolsa. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.2, p.200-207, 2010.
- CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N.; Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v.26, p.1001-1043, 2009.
- DEBET, M.R.; GIDLEY, M.J.; Three classes of starch granule swelling: Influence of surface proteins and lipids. **Carbohydrate Polymers**, v.64, p.452-465, 2006.
- DELCOUR, J.A.; HOSENEY, R.C.; **Principles of Cereal Science and Technology**. Editora AACC International, 270p., 2010.
- DELIBERALI, J.; OLIVEIRA, M.; DURIGON, A.; DIAS, A.R.G.; GUTKOSKI, L.C.; ELIAS, M.C.; Efeitos de processo de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de trigo. **Ciência Agrotécnica**, v.34, n.5, p.1285-1292, 2010.
- DENARDIN, C.C.; SILVA, L.P.; Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v.39, n.3, p.945-954, 2009.
- DHALIWAL, Y.S.; SEKHON, K.S.; NAGI, H.P.S.; Enzymatic activities and rheological properties of stored rice. **Cereal Chemistry**, v.68, p.18-21, 1991.
- DILKIN, P. MALLMANN, C.A.; **Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos**, Santa Maria, Ed. do Autor, 240p., 2007.
- DILKIN, P.; MALLMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; HICKMANN, J. L. Classificação macroscópica, identificação da microbiota fúngica e produção de alfa toxinas em híbridos de milho. **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.137-141, 2000.
- DONNALD, A. M.; Understanding starch structure and functionality In: ELIASSON, A. C. **Starch in food: structure function and applications**. Boca Raton: CRC Press, cap.5, p.156-184, 2004.
- ECKHOFF, S.R.; Wet milling, In: Wrigley, C.; Corke, H.; Walker, C. (Eds.), **Encyclopedia of grain science 2** (p.30-46). Oxford, UK: Elsevier Ltd., 2004.
- ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; ELIAS, S. A. A.; DIAS, A. R. G.; ANTUNES, P. L.; VAN DER LAAN, L. F. **Pós-colheita de arroz: secagem, armazenamento e qualidade**. 1. ed. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária da UFPel, v.1, 424p., 2009.
- ELIASSON, A.C.; **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 605p, 2004.
- ELIASSON, A.C.; **Carbohydrates in Food**, New York: Marcel Dekker, 664p, 1996.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010.
- FARGERSON, S.I., Thermal degradation of carbohydrate: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.17, p.747-750, 1969.
- FARONI, L.R.A.; BARBOSA, G.N.O.; SARTORI, M.A.; CARDOSO, F.S.; ALENCAR, E.R.; Avaliação qualitativa e quantitativa do milho em diferentes condições de armazenamento. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, v.13, n.3, 193-201, 2005.

- FLEURAT-LESSARD, F. Qualitative reasoning and integrated management of the quality of stored grain: a promising new approach. **Journal of Stored Products Research**, v.38, n.2, p.191-218, 2002.
- FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S.; **Propriedades gerais do amido**, São Paulo: fundação Cargil, 221p., 2001.
- FREITAS R.A.; PAULA, R.C.; FEITOSA, J.P.A.; ROCHA, S.; SIERAKOWSKI M.R. A rheological description of mixtures of a galactoxiloglucan with high amylose and waxy corn starches. **Carbohydrate polymers**, v.51, p.25-32, 2003.
- FRISVAD, J.C., THRANE, U., SAMSON, R.A., E PITT, J.I.; Important mycotoxins and the fungi which produce them. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.571, p.3-31, 2006.
- GALLIARD, T.; Hydrolytic and oxidative degradation of lipids during storage of whole meal flour: Effects of bran and germ components. **Journal Cereal Science**, v.4, p.179-192, 1986.
- GARDNER, H.W.; Lipid hydroperoxide reactivity with protein and amino acids: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.27, p.220-228, 1979.
- GARRIDO, C.E.; HERNÁNDEZ, C.P.; PACIN, A.; Mycotoxins occurrence in Argentina's maize (*Zea mays* L.), from 1999 to 2010. **Food Control**, v.25, p.660-665, 2012.
- GENKAWA, T.; UCHINO, T.; INOUE, A.; TANAKA, F.; HAMANAKA, D.; Development of a low-moisture content storage system for brown rice: storability at decreased moisture contents. **Biosystems Engineering**, v.99, p.515-522, 2008.
- GOMES, M.S.; PINHO, R.G.V.; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.V.; BRITO, A.H.; Variabilidade genética em linhagens de milho nas características relacionadas com a produtividade de silagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.9, p.879-885, 2004.
- GOOD, H. Measurement of color in cereal products. **Cereal Foods World**, v.4, p.5-6, 2002.
- GREGORY, A.G.; TOSHITAKA, U.; FUMIHIKO, T.; DAISUKE, H.; Effect of vapors from fractionated samples of propolis on microbial and oxidation damage of rice during storage. **Journal of Food Engineering**, v.88, p.341-352, 2008.
- HAYFA, S.; COPELAND, L.; Effect of storage on fat acidity and pasting characteristics of wheat flour. **Cereal Chemistry**, v.84, p.600-606, 2007.
- HAMAKER, B.R.; GRIFFIN, V. K.; Effect of disulfide bond-containing protein on rice starch gelatinization and pasting. **Cereal Chemistry**, v.70, p.377-380, 1993.
- HARDACRE, A.K.; CLARK, S.M.; The effect of hybrid and growing environment on the rheological properties of starch and flour from maize (*Zea mays* L.) grain dried at four temperatures. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, p.144-150, 2006.
- HAROS, M., SUAREZ, C.; Effect of drying, initial moisture and variety in corn wet-milling. **Journal of Food Engineering**, v.34, p.473-481, 1997.

- HAROS, M.; TOLABA, M-P.; SUAREZ, C.; Influence of corn drying on its quality for the wet-milling process. **Journal of Food Engineering**, v.60, p.177-184, 2003.
- HASJIM, J.; JANE, J.; Production of resistant starch by extrusion cooking of acid modified normal-maize starch. **Journal of Food Science**, v.74, p.C556-C562, 2009.
- HASJIM, J.; LEE, S.; HENDRICH, S.; SETIAWAN, S.; AI, Y.; JANE, J. Effects of a novel resistant-starch on postprandial plasma-glucose and insulin responses. **Cereal Chemistry**, v.87, p.257-262, 2010.
- HOOVER, R.; Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v.45, n.3, p.253-267, 2001.
- HUGHES, T.; HOOVER, R.; LIU, Q.; DONNER, E.; CHIBBAR, R.; JAISWAL, S.; Composition, morphology, molecular structure, and physicochemical properties of starches from newly released chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Canada. **Food Research International**, v.42, n.5-6, p.627-635, 2009.
- IMBERTY, A.; BULEON, A.; TRAN, V.; PERES, S.; Recent advances in knowledge of starch structure. **Starch/Stärke**, v.43, n.10, p.375-384, 1991.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**, 4ª Edição, São Paulo, 2004.
- ISTA. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION.; Determination of other seeds by number. **In: International rules for seed testing**. ed. 2008. Bassersdorf, c.4, p.4.1-4.3, 2008.
- JANE, J.; CHEN, Y.Y.; LEE, L.F.; MCPHERSON, A.E.; WONG, K.S.; RADOSAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T.; Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.76, n.5, p.629-637, 1999.
- JANICK-BUCKNER, D.; HAMMOCK, D.J.; JOHNSON, J.M.; OSBORN, J.M.; BUCKNER, B. Biochemical and ultrastructural analysis of the y10 mutant of maize. **Journal of Heredity**, v.90, p.507-513, 1999.
- JL, Y., AO, Z., HAN, J.-A., JANE, J.-L., & BEMILLER, J. N.; Waxy maize starch subpopulations with different gelatinization temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v.57, p.177-190, 2004.
- JOBLING, S.; Improving starch for food and industrial applications. **Plant Biotechnology**, v.7, p.210-218, 2004.
- KARLSSON, M.E.; ELIASSON, A.C.; Gelatinization and retrogradation of potato (*Solanum tuberosum*) starch in situ as assessed by differential scanning calorimetry (DSC).; **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.36, n.8, p.735-741, 2003.
- KAUR, S.; SINGH, N.; SODHI, N. S.; RANA, J. C.; Diversity in properties of seed and flour of kidney bean germplasm; **Food Chemistry**, v.117, p.282-289, 2009.
- KIM, H.J. LEE, O .H. M, D. B. Effects and prooxidant mechanisms of oxidized α -tocopherol on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Science**, v.72, n.4, 2007.

KONOPKA, I.; KOZIROK, W.; ROTKIEWICZ, D. Lipids and carotenoids of wheat grain and flour and attempt of correlating them with digital image analysis of kernel surface and cross-sections. **Food Research International**, v.37, p.429-438, 2004.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y.; Internal structure and physicochemical properties of corn starches as revealed by chemical surface gelatinization. **Carbohydrate Research**, v.342, p.2253-2263, 2007.

KUMAR, V.; BASU, M.S.; RAJENDRAN, T.P.; Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. **Crop Protection**, v.27, n.6, p.891-905, 2008.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W.; **Carboidratos en alimentos regionales Iberoamericanos**. São Paulo, Universidade de São Paulo, 648p., 2006.

LAZZARI, F.A.; **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2ª ed. Curitiba: Ed. Do Autor, 148p., 1997.

LAWTON, J.W.; Zein: A History of Processing and Use. **Cereal Chemistry**. v.79, p.1, 2002.

LEACH, H.W.; McCOWEN, L.D.; SCHOCH, T.J.; Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v.36, n.6, p. 534-544, 1959.

LELOUP, V.M.; COLONNA, P.; RING, S.G., ROBERTS, K.; WELLS, B.; Microstructure of amylose gels. **Carbohydrate Polymers**, v.18, p.189-196, 1992.

LIU, Q.; Starch Modifications and Applications. In: CUI, S. W (Ed.). **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**, CRC Press, cap.8, p.357-406, 2005.

LIN, S.S.; Efeito do período de armazenamento na lixiviação eletrolítica dos solutos celulares e qualidade fisiológica da semente de milho (*Zea mays* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.10, n.3, p.59-67, 1988.

LIU, K.; MCWATTERS, K.H.; PHILLIPS, R.D.; Protein insolubilization and thermal destabilization during storage as related to hard-to-cook defect in cowpeas. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.40, p.2483-2487, 1992.

LOPES FILHO, J. F.; RAMOS, A. P.; ROMERO, J.T.; Difusividades da água, dióxido de enxofre e ácido láctico em grãos de milho durante a maceração para o processo de moagem úmida. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.4, p.257-263, 2006.

MALUMBA, P.; MASSAUX, C.; DEROANNE, C.; MASIMANGO, T.; BÉRA, F.; Influence of drying temperature on functional properties of wet-milled starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v.75, p.299-306, 2009.

MALUMBA, P., JANAS, S., ROISEUX, O., SINNAEVE, G., MASIMANGO, T., SINDIC, M., DEROANNE, C., BÉRA, F.; Comparative study of the effect of drying temperatures and heat-moisture treatment on the physicochemical and functional properties of corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p.633-641, 2010.

MARTIN, M.; FITZGERALD, M.A.; Proteins in rice grains influence cooking properties. **Journal of Cereal Science**, v.36, p.285-294, 2002.

MORENO, M.E.; JIMENEZ, A.S.; VAZQUEZ, M.E. Hermetic storage system preventing the proliferation of *Prostephanus truncatus* Horn and storage fungi in maize

with different moisture contents. **Postharvest Biology and Technology**, Pullman, v.39, p.321-326, 2006.

MUKANGA, M.; DERERA, J.; TONGOONA, P.; LAING, M.D.; A survey of pre-harvest ear rot diseases of maize and associated mycotoxins in south and central Zambia. **Journal Food Microbiology**, v.141, p.213-221, 2010.

NASAR-ABBAS, S.M.; PLUMMER, J.A.; SIDDIQUE, K.H.M.; WHITE, P.; HARRIS, D.; DODS, K. Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. **LWT- Food Science and Technology**, v.41, p.1260-1267, 2008b.

NAYOUF, M., LOISEL, C., DOUBLIER, J.L.; Effect of thermomechanical treatment on the rheological properties of crosslinked waxy corn starch. **Journal of Food Engineering**, v.59, p.209–219, 2003.

NONIER, M.; GAULEJAC, N.V.; VIVAS, N.; VITRY, C.; **Comptes Rendus Chimie**, v.7, p.697, 2004.

NOOMHORM, A.; KONGSEREE, N.; PINTANAPONG, N.; Effect of aging on the quality of glutinous rice crackers.; **Cereal Chemistry**, v.74, p.12-15, 1997.

NORDIN, N.S.D.; **Detecção de aflatoxinas e zearalenona em milho destinado à alimentação animal**, Dissertação (Mestrado), Porto Alegre, UFRGS, 82p., PMAA, 1995.

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

PARK, C-E.; KIM, Y-S.; PARK, K-J.; KIM, B-K.; Changes in physicochemical characteristics of rice during storage at different temperatures. **Journal of Stored Products Research**, v.48, p.25-29, 2012.

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

PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G. P. Milhos especiais e seu valor nutritivo. In: TOSELLO, G.A. **Melhoramento e produção de milho**. 2ed., v.1, Campinas: Fundação Cargil, 338p., 1987.

PATINDOL, J.; WANG, Y.-W.; JANE., J.; Structure-functionality changes in starch following rough rice storage. **Starch/Starke**, v.57, p.197-207, 2005.

PLAYER, M. E.; KIM, H. J.; LEE, H.O. MIN, D. B. Stability of α -, γ - or δ - tocopherol during soybean oil oxidation. **Journal of food science**, vol. 71, n.8, 2006.

PEREZ-GARCIA, F.; GONZALEZ-BENITO M. E.; Seed germination of five *Helianthemum* species: Effect of temperature and presowing treatments, **Journal of Arid Environments**, v.65, n.01, p.688-693, 2006.

PERONI, F.H.G.; **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. 2003., 118p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, SP, 2003.

PESTANA, V.R.; ZAMBLAZI, R.C.; MENDONÇA, C.R.; BRUSCATTO, M.H.; LERMA-GARCIA, M.J.; RAMIS-RAMOS, G. Quality Changes and Tocopherols and

γ -Orizanol Concentrations in Rice Bran Oil During the Refining Process. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.85, p.1013–1019, 2008.

PIGGOTT, J.R.; MORRISON, W.R.; CLYNE, J.; Changes in lipids and in sensory attributes on storage of rice milled to different degrees. **International Journal of Food Science and Technology**, v.26, p.615–628, 1991.

PRATT, R.C.; PAULIS, J.W.; MILLER, K.; NELSEN, T.; BIET, J.A.; Association of zein classes with maize kernel hardness. **Cereal Chemistry**, v.72, n.2, p.162-167, 1995.

PUZZI, D.; **Armazenamento e Abastecimento de Grãos**. Campinas, Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 603p., 2000.

QUEIROZ, D.M.; PEREIRA, J.A.M. **Secagem de grãos em baixas temperaturas**. In: Curso de Secagem e Aeração. Porto Alegre, Pólo de Tecnologia de Pós-Colheita do Rio Grande do Sul. Editora da UFV, 53p., 2001.

RABEK, J.F.; Applications of wide-angle X-ray diffraction (WAXD) to the study of the structure of polymers. **Experimental methods in polymer chemistry**, 1 ed., p. 505-508, Chichester: Wiley-Interscience, 1980.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C.; Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, Vol. 26, Nos. 9/10, pp. 1231–1237, 1999.

REED, C.; DOYUNGAN, S.; IOERGER, B.; GETCHELL, A.; Response of storage molds to different initial moisture contents of maize (corn) stored at 25oC, and effect on respiration rate and nutrient composition. **Journal of Stored Products Research**, v.43, p.443–458, 2007.

REHMAN, Z-U.; HABIB, F.; ZAFAR, S.I.; Nutritional changes in maize (*Zea mays*) during storage at three temperatures. **Food Chemistry**, v.77, p.197–201, 2002.

RHIM, J.W.; NUNES, R.V.; JONES, V.A.; SWARTZEL, K.R.; Kinetics of color change of grape juice generated using linearly increasing temperature. **Journal of Food Science**, v.54, p.776–777, 1989.

RIGUEIRA, R.J.A.; LACERDA FILHO, A.F.; VOLK, M.B.S.; Avaliação da qualidade do feijão armazenado em ambiente refrigerado; **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.20, n.4, p.649-655, out./dez. 2009.

RIOS, A. O.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A.D.; Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p.39-45, 2003.

RODRIGUEZ J. C. *et al.* IP short term storage of Argentine cereals in silobags to prevent spoilage and insects. In: INTERNATIONAL QUALITY GRAINS CONFERENCE, 2004, Indianapolis, **Proceedings...** Indianapolis: US Quality Grains Research Consortium, p.1-15, 2004.

RODRIGUEZ AMAYA, D.B.; VALENTE SOARES, L.M. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, Zearalenone and sterigmatocystin some Brazilian foods, utilizing a mult toxin thin layer chromatographic method. **Journal Association of Anal Chemistry**, v.72, n.1, p.22-26, 1989.

- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 64p. 2001.
- RUPOLLO, G.; VANIER, N.L.; ZAVAREZE, E.R.; OLIVEIRA, M.; PEREIRA, J.M.; PARAGINSKI, R.T.; DIAS, A.R.G.; ELIAS, M.C.; Pasting, morphological, thermal and crystallinity properties of starch isolated from beans stored under different atmospheric conditions. **Carbohydrate Polymers**, v.86, p.1403–1409, 2011.
- SANTOS, J.P.; MANTOVANI, E.C.; **Perdas de grãos na cultura do milho; pré-colheita, colheita, transporte e armazenamento**. Sete Lagoas, MG: EMBRAPA – CNPMS. Circular Técnica Nº 24. 40p. 1997.
- SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A.; Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.110-119, 2004.
- SANDHU, KAWALJIT SINGH; SINGH, NARPINDER; MALHI, NACHHATTAR SINGH; Physicochemical and thermal properties of starches separated from corn produced from crosses of two germ pools; **Food Chemistry**, v.89, p. 541–548. 2005.
- SANDHU, K.S.; SINGH, N.; Some properties of corn starches II: physicochemical, gelatinization, pasting and gel textural properties. **Food Chemistry**, v.101, p.1499-1507, 2007.
- SERNA-SALDÍVAR, S.O., Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes. **CRC Press**, Boca Raton, FL, USA, 2010.
- SETIAWAN, S.; WIDJAJA, H.; RAKPHONGPHAIRAJ, V.; JANE, J-L.; Effects of Drying Conditions of Corn Kernels and Storage at an Elevated Humidity on Starch Structures and Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.12260-12267, 2010.
- SHOTWELL, M.A.Y.; LARKINS, B.A.; The Biochemistry and Molecular Biology of Seed Storage Protein. In: The Biochemistry of Plants, Marcus, A. (Ed.). v.15. **Academic Press**, San Diego, California, pp: 297-345, 1989.
- SHEN, Y.; JIN, L.; XIAO, P.; LU, Y.; BAO, J.; Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science** 49:106–111, 2009.
- SILVA, J.S.; AFONSO, A.D.L.; LACERDA FILHO, A.F.; Secagem e armazenagem de produtos agrícolas. In: SILVA, J. de S. (Ed.). **Pré-processamento de produtos agrícolas**. Juiz de Fora: Instituto Maria, p.395-462, 1995.
- SINGH, V.; KAUR, L.; MCCARTHY, O.J.; Hybrid dependent effect of lactic acid on corn starch yields. **Cereal Chemistry**, v.74, n.3, p.249-253, 1997.
- 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, n.2, p.219-231, 2003.
- SINGH, N.; SANDHU, K. S.; KAUR, M. Characterization of starches separated from Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars **Journal of Food Engineering**, v.63, n.4, p.441-449, 2004.

- SIRISOONTARALAK, P.; NOOMHORM, A.; Changes to physicochemical properties and aroma of irradiated rice. **Journal of Stored Products Research**, v.42, p.264–276, 2006.
- SODHI, N.S.; SINGH, N.; ARORA, M.; SING, J.; Changes in physicochemical, thermal, cooking and textural properties of rice during aging. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.27, p.387-400, 2003.
- SOWBHAGYA, C.M.; BHATTACHARYA, K.R.; Changes in pasting behaviour of rice during ageing. **Journal of Cereal Science**, v.34, p.115–124, 2001.
- TANANUWONG, K., MALILA, Y., Changes in physicochemical properties of organic hulled rice during storage under different conditions. **Food Chemistry**, v.125, p.179-185, 2011.
- TEO, C.H.; KARIM, A.A.; CHEAH, P.B; NORZIAH, M.H.; SEOW, C.C.; On the roles of protein and starch in the aging of non-waxy rice four. **Food Chemistry**, v.69, p.229-236, 2000.
- TESTER, R.; MORRISON, W.R.; Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. **Cereal Chemistry**, v.67, n.6, p.551-557, 1990.
- TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X.; Starch – composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, n.1, p.151-165, 2004.
- THOMAS, D.J.; ATWELL, W.A.; **Starches: practical guides for the food industry**. Minnesota: Eagan Press Handbook Series, 94p., 1999.
- TSAI, M.L.; LI, C.F.; LII, C.Y.; Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. **Cereal Chemistry**, v.74, n.6, p.750-757, 1997.
- TULYATHAN, V.; LEEHARATANALUK, B.; Changes in quality of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Khao Dawk MaLi 105 during storage. **Journal of Food Biochemistry**, v.31, p.415-425, 2007.
- VANDEPUTTE, G.E.; DELCOUR, J.A.; From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.58, p.245-266, 2004.
- VAN DER MAAREL, M.J.E.C.; VAN DER VEEN, B.; UITDEHAAG, J.C.M.; LEEMHUIS, H.; DIJKHUIZEN, L.; Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. **Journal of Biotechnology**, v.94, n.2, p.137-155, 2002.
- VILLERS, P.; BRUIN, T.; NAVARRO, S. Safe storage of grain in the tropics: A comparison of hermetic storage in flexible silos versus rigid metal or concrete silos. In: WEST, A.; BROWN, J. (Eds.) **Feed technology update**. Honolulu: Linx Publishing, p.17-22, 2006.
- WEBER, F.H.; COLLARES-QUEIROZ F.P.; CHANG, Y.K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p.748-753, 2009.

- YAMADA, T.; KATO, T.; TAMAKI, S.; TERANISHI, K.; HISAMATSU, M.; Introduction of fatty acids to starch granules by ultra-highpressure treatment. **Starch/Starke**, v.11-12, p.484–486, 1998.
- YOU, S.; STEVENSON, S. G.; IZYDORCZYK, M. S.; PRESTON, K. R. Separation and characterization of barley starch polymers by a flow field-flow fractionation technique in combination with multiangle light scattering and differential refractive index detection. **Cereal Chemistry**, v.79, n.5, p. 624-630, 2002.
- YOUSIF, A. M., BATEY, I. L., LARROQUE, O. R., CURTIN, B., BEKES, F., & DEETH, H. C.; Effect of storage of adzuki bean (*Vigna angularis*) on starch and protein properties. **LWT – Food Science and Technology**, v.36, n.6, p.601–607, 2003.
- YU, L.; CHRISTIE, G. Measurement of thermal transitions using differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v.46, p.179-184, 2001.
- ZAIN, M.E.; Impact of mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical**, v.15, p.129-144, 2011.
- ZHONG, F.; LI, Y.; IBANZ, A.M.; OH, M.H.; MCKENZIE, K.S.; SHOEMAKER, C. The effect of rice variety and starch isolation method on the pasting and rheological properties of rice starch pastes. **Food Hydrocolloids**, v.23, n.2, p.406-414, 2009.
- ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C.; Effect of rice storage on pasting properties of rice flour. **Food Research International**, v.36, p.625-634, 2003.
- ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C.; Effect of storage temperature on rice thermal properties. **Food Research International**, v.43, p.709-715, 2010.
- ZIELINSKI, H.; KOZLOWSKA, H.; Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.6, p. 2008-2016, 2000.
- ZOBEL, H.F.; Starch crystal transformations and their industrial importance, **Starch/Stärke**, v.40, n.1, p.1-7, 1988.