

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



Dissertação

**ACETILAÇÃO EM AMIDO DE ARROZ COM DIFERENTES
TEORES DE AMIOLOSE E ELABORAÇÃO DE FILMES
BIODEGRADÁVEIS**

Rosana Colussi

Engenheira de Alimentos

Pelotas, 2014

Rosana Colussi

**ACETILAÇÃO EM AMIDO DE ARROZ COM DIFERENTES
TEORES DE AMIOLOSE E ELABORAÇÃO DE FILMES
BIODEGRADÁVEIS**

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. Alvaro Renato Guerra Dias

Co-orientadora: Prof. Dr^a. Elessandra da Rosa Zavareze

Pelotas, 2014

Banca examinadora:

Prof. Dr. Manoel Artigas Shirmer – FAEM/UFPeI

Prof^a. Dr. Daniela Bianchini – CCQFA/UFPeI

Prof. Dr. Maurício de Oliveira – FAEM/UFPeI

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias – FAEM/UFPeI

Agradecimentos

A Deus por me proteger e sempre ter me dado saúde para conseguir alcançar meus objetivos.

A meus pais Sérgio e Teresinha e ao meu irmão André família maravilhosa, carinhosa que sempre esteve ao meu lado me incentivando e dando força para continuar estudando.

Aos amigos, professores e comitê de orientação professor Dr. Álvaro Renato Guerra Dias e professora Dr^a. Elessandra da Rosa Zavareze, pela orientação, incentivo, apoio, confiança e amizade. Não tenho palavras para dizer o quanto foi bom conhecê-los, e o quanto vocês me ajudaram a crescer tanto pessoalmente quanto profissionalmente. Vocês são pessoas a qual sigo como exemplo, admiro muito a forma na qual vocês trabalham.

As minhas queridas amigas e colegas de laboratório Vania Zanela Pinto e Shanise Lisie Mello El Halal, muito obrigado pelo incentivo e apoio nas análises, é muito bom trabalhar com vocês.

Ao colega de pós-graduação Ricardo Paraginski pessoa admirável pelo empenho e dedicação em tudo que faz, obrigada pelo apoio e amizade.

Ao colega Nathan Vanier pela paciência, amizade, e por toda a ajuda oferecida no decorrer deste trabalho.

Ao professor Dr. Luiz Carlos Gutkoski pela oportunidade de ter me mostrado o mundo dos cereais e de ter me incentivado a continuar a conhecer este mundo maravilhoso.

Ao professor Danilo Dufech Castilhos pelos ensinamentos compartilhados e pelo apoio nas análises.

Aos professores do DCTA Moacir Cardoso Elias, Maurício de Oliveira, Manoel Artigas Schirmer, Cesar Valmor Rombaldi e Fabio Clasen Chaves pelas contribuições ao longo de período de mestrado.

As amigas irmãs de Pelotas Ana Claudia Langaro e Jessica Hoffmann por sempre estarem ao meu lado, pelas risadas, pelo ombro amigo e pelo enorme carinho.

Aos colegas de Pós graduação do Laboratório de Grãos muito obrigada pelo apoio e a amizade.

Aos estagiários dos Laboratórios de Grão e de Cereais pela amizade e auxílio nas análises, em especial aos bolsistas de iniciação científica André Talhamento, Franciene Almeida Villanova, Gabriela Soster Santeti, Karina Medeiros Madruga, Marjana Radunz e Renan Souza Silva.

Aos colegas do Laboratório de Cereais da Universidade de Passo Fundo, principalmente a Tânia Soster Santeti pelo apoio e incentivo desde a graduação.

A FAPERGS (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), SCT-RS (Secretaria da Ciência e Tecnologia do Estado do Rio Grande do Sul) e Pólo de Inovação Tecnológica em Alimentos da Região Sul.

Dedicatória

*Aos meus pais Sergio e Teresinha e
meu irmão André, que nunca mediram
esforços para que eu sempre
conseguisse alcançar meus objetivos.*

RESUMO

COLUSSI, Rosana. **Acetilação em amido de arroz com diferentes teores de amilose e elaboração de filmes biodegradáveis**. 2014. 85p. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Os amidos de arroz de alta, média e baixa amilose foram isolados pelo método alcalino e acetilados com anidrido acético com diferentes tempos de reação (10, 30 e 90 min). Os amidos nativos e acetilados foram caracterizados pelo grau de substituição, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X, propriedades térmicas, morfológicas, de pasta, poder de inchamento e solubilidade. Filmes biodegradáveis foram elaborados com amido nativo e acetilado e analisados quanto a avaliação subjetiva, umidade, espessura, cor e opacidade, propriedades mecânicas, solubilidade em água e em ácido, permeabilidade ao vapor de água, e termogravimetria e biodegradabilidade. O amido de baixa amilose apresenta menor rendimento de extração, maior teor de carboidratos de elevada massa molecular e é mais suscetível a acetilação do que os amidos de média e alta amilose. A acetilação reduz a cristalinidade, a viscosidade da pasta, poder de inchamento, solubilidade e valores de T_o , T_p , T_c e ΔH dos amidos de arroz, permitindo obter produtos sensíveis a altas temperaturas e mais estáveis ao cozimento. Os filmes elaborados com amido de arroz nativo de alta, média e baixa amilose não apresentam características adequadas para elaboração de filmes. A acetilação promove melhorias nas propriedades do amido de arroz de alta e média amilose para produzir filmes biodegradáveis, entretanto não é efetiva para o amido de baixa amilose. A acetilação propicia melhor continuidade, maior alongação, biodegradabilidade mais rápida e maior resistência a temperatura dos filmes elaborados com amido de arroz de alta e média amilose, entretanto, aumenta deficiência nas propriedades de solubilidade em água e em ácido e reduz resistência a tração.

Palavras chave: amido de arroz, teor de amilose, acetilação, filmes biodegradáveis.

Abstract

COLUSSI, Rosana. **Acetylation in rice starch with different contents amylose and preparation of biodegradable films**. 2014. 85p. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The rice starches of high-, medium- and low-amylose were isolated by the alkaline method and acetylated with acetic anhydride with different reaction times (10, 30 e 90 min). Native and acetylated starches were characterized by the degree of substitution, Infrared Fourier transform spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction, thermal properties, morphology, pasting properties, swelling power and solubility. Biodegradable films were prepared with native and acetylated starch and analyzed for subjective evaluation, moisture, thickness, color and opacity, mechanical properties, solubility in water and acid, water vapor permeability, and thermogravimetry and biodegradability. The low-amylose starch has lower extraction yield, higher carbohydrate content of high molecular weight and is more susceptible to acetylation than medium- and high-amylose starches. Acetylation reduces the crystallinity, the pasting viscosity, swelling power, solubility, and values of T_o , T_p , T_c and ΔH of rice starches, allowing to obtain products sensitive to high temperatures and more stable to cooking. The films prepared with native rice starch of high-, medium- and low-amylose do not have appropriate characteristics for the preparation of films. The acetylation promotes improvement in the properties of rice starch of medium- and high-amylose to produce biodegradable films, however it is not effective for the low-amylose starch. Acetylation provides a better continuity, higher elongation, fast biodegradability and greater temperature resistance of the films prepared with rice starch of high- and medium-amylose, however, the deficiency increases solubility properties in water and acidic and reduces tensile strength.

Keywords: rice starch, amylose content, acetylation, biodegradable films.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura da amilose	18
Figura 2. Estrutura química da amilopectina	19
Figura 3. Cadeia de amilopectina.....	19
Figura 4. Organização das regiões amorfas e cristalinas do amido	20
Figura 5. Possíveis locais para a substituição, carbonos 2, 3 e 6 na unidade de anidroglicose.	23
Figura 6. Fluxograma de extração de amido de arroz pelo método alcalino.	29
Figura 7. Rendimento de extração dos amidos de arroz com diferentes teores de amilose.	42
Figura 8. Cromatografia de exclusão de tamanho em gel Sepharose CL 2B (GPC) de amido de arroz de alta, média e baixa amilose.	44
Figura 9. Cromatografia de exclusão de tamanho em gel Sepharose CL 6B (GPC) de amido de arroz de alta, média e baixa amilose desramificados	46
Figura 10. Espectros FTIR de amidos de arroz de alta amilose (a), média amilose (b) e baixa amilose (c), nativos e acetilados.	49
Figura 11. Viscoamilografia de amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose nativos e acetilados.....	53
Figura 12. Curvas da análise termogravimétrica (TGA) de amidos de arroz com alto (a), médio (b) e baixo (c) teor de amilose, nativos e acetilados.....	58
Figura 13. Difrátogramas de raios X de amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose, nativos e acetilados.....	60
Figura 14. Micrografias obtida através de microscopia eletrônica de varredura dos amidos de arroz com diferentes teores de amilose nativos e acetilados....	63
Figura 15. Filmes de amido de arroz de alta amilose nativos e acetilados em diferentes tempos.	65
Figura 16. Filmes de amido de arroz de média amilose nativos e acetilados em diferentes tempos.	65
Figura 17. Curvas da análise termogravimétrica (TGA) dos filmes de amido de arroz de alta amilose nativos e acetilados	73
Figura 18. Curvas da análise termogravimétrica (TGA) dos filmes de amido de arroz de média amilose nativos e acetilados	74

Figura 19. Percentual degradação dos filmes de amido de arroz de alta amilose, nativo e acetilados, em diferentes tempos.....	75
Figura 20. Percentual de degradação dos filmes de amido de arroz de média amilose, nativo e acetilado em diferentes tempos.	76

Lista de Tabelas

Tabela 1. Teor de amilose e composição química dos amidos de arroz com diferentes conteúdos de amilose.	43
Tabela 2. Percentual de grupos acetil (Ac%) e grau de substituição (DS) de amido de arroz de alta, média e baixa amilose acetilados em diferentes tempos de reação.....	48
Tabela 3. Efeito do tempo de acetilação amido de arroz com baixo, médio e alto teor de amilose sobre o poder de inchamento e solubilidade.	51
Tabela 4. Propriedades de pasta de amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose nativos e acetilados.....	52
Tabela 5. Propriedades térmicas de amido de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose, nativos e acetilados.....	56
Tabela 6. Intensidade dos picos principais dos difratogramas de raio X e cristalinidade relativa dos amidos de arroz com diferentes teores de amilose e diferentes tempos de acetilação.....	59
Tabela 7. Espessura, umidade e propriedades de cor de filmes de amido de arroz com diferentes teores de amilose nativos e acetilados.....	66
Tabela 8. Solubilidade em água, solubilidade em ácido e permeabilidade ao vapor de água de filmes elaborados com amido de arroz nativos e acetilados.....	69
Tabela 9. Propriedades mecânicas dos filmes elaborados com amido de arroz com diferentes teores de amilose nativos e acetilados.	72

Sumário

1 INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 Arroz.....	17
3.2 Amido	18
3.2.1 Amido de Arroz.....	20
3.2.2 Amido Acetilado.....	22
3.3 Polímeros e filmes biodegradáveis.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Material.....	27
4.2 Métodos.....	27
4.2.1 Extração do amido de arroz	27
4.2.2 Rendimento de extração	29
4.2.3 Caracterização do amido nativo	30
4.2.3.1 Grau de pureza.....	30
4.2.3.2 Teor de amilose.....	30
4.2.4 Estrutura molecular	31
4.2.4.1 Cromatografia de permeação em gel em Sepharose CL-2B de amido inteiro	31
4.2.4.2 Análise da composição de amido desramificado.....	31
4.2.5 Modificação Química	31
4.2.6 Avaliação dos Amidos	32
4.2.6.1 Determinação do grau de substituição (GS) e percentual de grupos acetil (% Acetil)	32

4.2.6.2 Espectroscopia com transformada de Fourier(FTIR).....	33
4.2.6.3 Poder de Inchamento e Solubilidade.....	33
4.2.6.4 Propriedades de Pasta	34
4.2.6.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	34
4.2.6.6 Análise termogravimétrica (TGA)	34
4.2.6.7 Índice de Cristalinidade Relativa (Raio-X)	35
4.2.6.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	35
4.2.7 Elaboração dos filmes	35
4.2.7.1 Avaliação subjetiva.....	36
4.2.7.2 Umidade	36
4.2.7.3 Espessura	36
4.2.7.4 Determinação de cor e opacidade.....	36
4.2.7.5 Propriedades mecânicas	37
4.2.7.6 Solubilidade em água	38
4.2.7.7 Solubilidade em ácido	38
4.2.7.8 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	38
4.2.7.9 Análise termogravimétrica	39
4.2.7.10 Análise de biodegradabilidade.....	39
4.2.7.10.1 Quantificação do carbono dos filmes.....	39
4.2.7.10.2 Avaliação do percentual de degradação	40
4.2.8 Análise estatística.....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1 Rendimento de extração	42
5.2 Caracterização do amido nativo	43
5.3 Estrutura molecular do amido.....	43
5.4 Avaliação dos amidos modificados.....	47
5.4.1 Determinação do grau de substituição (GS) e percentual de grupos acetil (% Acetil)	47

5.4.2 Espectroscopia com transformada de Fourier(FTIR).....	48
5.4.3 Poder de inchamento e solubilidade.....	50
5.4.4 Propriedades de pasta	51
5.4.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	55
5.4.6 Análise termogravimétrica (TGA)	56
5.4.7 Índice de cristalinidade relativa (Raio-X)	59
5.4.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	61
5.5 Filmes de amido de arroz	64
5.5.1 Avaliação subjetiva.....	64
5.5.2 Determinação de espessura, umidade cor e opacidade.....	65
5.5.3 Solubilidade em água, solubilidade em ácido e permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	68
5.5.4 Propriedades mecânicas	71
5.5.5 Análise termogravimétrica	72
5.5.6 Análise de biodegradabilidade	74
6 CONCLUSÕES	77
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXO I.....	87

1 INTRODUÇÃO

O arroz é consumido principalmente na forma de grãos inteiros, descascados e polidos, ao contrário do que ocorre com o trigo e o milho que são transformados em outros produtos antes do consumo (CASTRO et al., 1999; ZHOU et al., 2002). O desenvolvimento de produtos mais sofisticados utilizando o arroz na forma de grão inteiro como matéria-prima seria incompatível com o poder de compra da maioria da população mundial, tradicionalmente, consumidora de arroz. Entretanto, o aproveitamento de seu subproduto torna-se viável, pois o beneficiamento do arroz resulta em aproximadamente 14% de grãos quebrados que apresentam menor valor comercial (CASTRO et al., 1999).

Os grãos quebrados de arroz apresentam baixo interesse industrial, uma alternativa para agregar valor aos grãos quebrados é a extração de amido, transformando este em um produto com maior interesse. Os diversos cultivares de arroz por apresentarem uma ampla faixa de conteúdo de amilose proporciona a obtenção de amido com diferentes características, o que possibilita uma variada aplicação (ZAVAREZE, 2009).

Uma das alternativas para agregar valor aos grãos quebrados é a extração de amido, transformando essa matéria-prima em um produto com maior interesse industrial. Os diversos cultivares de arroz proporcionam a obtenção de amido com diferentes características, possibilitando uma variada aplicação.

O aumento da utilização de embalagens e recipientes descartáveis não biodegradáveis vem resultando em problemas ambientais, causados pelo acúmulo desses materiais nos aterros sanitários (LEITE et al., 1999). Nos últimos anos, têm-se reconhecido a necessidade de reduzir a quantidade de materiais plásticos desperdiçados e descartados. Assim, muitas pesquisas vêm sendo realizadas na tentativa de substituir os polímeros sintéticos por materiais que possam ser degradados no meio ambiente. O amido puro ou misturado a outros compostos vem sendo utilizado como matéria-prima para a obtenção de filmes biodegradáveis, principalmente por ser um material de baixo custo, de grande disponibilidade e facilmente degradado no meio ambiente, já que uma vez descartado é metabolizado por organismos presentes no solo (ROSA et al., 2001).

Os filmes de amidos nativos apresentam propriedades inferiores aos plásticos convencionais, formando materiais quebradiços e higroscópicos (LAROTONDA, 2002). No entanto, amidos modificados têm sido estudados com objetivo de melhorar as propriedades mecânicas dos materiais preparados.

A acetilação do amido é uma modificação química na qual parte dos grupos hidroxila dos monômeros de glicose é convertida em grupos acetil ($\text{CH}_3\text{COO}-$), alterando a estrutura molecular do amido e permitindo a obtenção de um material termoplástico mais resistente à umidade e biodegradável (FRINGANT et al., 1996). Essa modificação pode também reduzir a tendência do amido em formar estruturas fortemente associadas por ligações de hidrogênio e aumentar a flexibilidade de filmes.

A aplicação do amido na confecção de biofilmes se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes. As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente, para que sejam formadas ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986).

Apesar de a literatura apresentar vários trabalhos sobre acetilação de amido de diversas fontes, nenhum estudo foi realizado visando avaliar o efeito da acetilação de amido de mesma fonte com diferentes teores de amilose e sua aplicação em filmes biodegradáveis. Neste trabalho estudou-se a acetilação do amido de arroz com três diferentes níveis de amilose e sua aplicação na elaboração de filmes biodegradáveis.

2. OBJETIVOS

Estudar o comportamento do amido de arroz com diferentes teores de amilose submetido à acetilação com anidrido acético e hidróxido de sódio como catalisador.

Elaborar filmes biodegradáveis de amido de arroz com diferentes teores de amilose, com amido nativo e com diferentes níveis de acetilação.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos principais alimentos produzidos em larga escala no mundo e a principal fonte de energia para a metade de sua população (BAO et al., 2004; ZHONG et al., 2006). É importante fonte de calorias na alimentação humana, além de contribuir significativamente no suprimento das necessidades de alguns minerais da dieta (WALTER et al., 2008).

Segundo dados do IBGE a produção média de arroz do Brasil, nas três últimas safras, situa-se em torno de onze a doze milhões de toneladas por safra, sendo o País um dos dez maiores produtores mundiais e o maior da América do Sul, e na região Sul concentra-se mais de 70% da produção nacional (IBGE, 2013).

Pequena parte da produção mundial de arroz é usada em produtos processados e como ração animal, mas a maior parte é consumida na forma de grãos inteiros, descascados e cozidos (ZHOU et al., 2002). Porém, parte significativamente crescente têm sido usado industrialmente na produção de farinha de arroz que é, posteriormente, utilizada como aditivo em géis, pudins, sorvetes e outros produtos similares devido às suas propriedades nutricionais, propriedades hipoalergênicas, por apresentar sabor agradável e não interferir na cor do produto final (SHIH e DAIGLE, 2000). Essas propriedades tecnológicas, sensoriais e nutricionais são de grande interesse na formulação de novos produtos com características especiais (NABESHIMA e EL-DASH, 2004; NAVES, 2007).

O grão de arroz é constituído de casca e cariopse (farelo, gérmen e endosperma). A casca consiste em 16% a 28% do peso seco do grão e a cariopse contém em torno de 9% de farelo, 2% de gérmen e 89% de endosperma (ZHOU et al., 2002; LUDWIG, 2004).

Os carboidratos são os principais constituintes do arroz e são representados basicamente pelo amido (VANDEPUTTE e DELCOUR, 2004), correspondendo a aproximadamente 90% da matéria seca do arroz polido, estando presente principalmente no endosperma (BAO et al., 2004). O amido de arroz contém dois tipos de macromoléculas, amilose e amilopectina. O teor de amilose constitui uma

variável de grande interesse no processamento e tecnologia do arroz, sendo o maior determinante da capacidade de aglutinação dos grãos cozidos (KENNEDY e BURLINGAME, 2003; NAVES, 2007).

Os conteúdos de lipídios e proteínas decrescem com o aumento do grau de polimento, pois esses constituintes estão concentrados em maior proporção nas camadas externas do grão de arroz. As proteínas do endosperma compreendem 7% a 18% de albuminas e globulinas, 5% a 12% de prolaminas e o restante são gluteninas (ZHOU et al., 2002; GOMES e MAGALHÃES, 2004). O arroz polido possui baixo conteúdo de lipídios (menos de 1%). No entanto, o grão integral pode conter até 3%, pois cerca de 80% dos lipídios do grão se encontram em suas camadas periféricas (ZHOU et al., 2002).

3.2 Amido

O amido é o produto final do processo fotossintético e reserva de carbono das plantas superiores. Caracteriza-se como um polímero com massa molecular elevada, formado de unidades de D-glucopirranose unidas por ligações glicosídicas.

O amido compreende duas frações de homopolímeros: amilose e amilopectina. A amilose (Figura 1) é composta de uma cadeia não ramificada, formada de unidades ligadas de α -D-glucopirranose por ligações glicosídicas α 1-4. Apresenta um tamanho médio da cadeia de aproximadamente 10^3 unidades de glicose e sua forma quase linear resulta na formação de hélices com interior hidrofóbico, podendo acomodar moléculas pequenas como ácidos graxos e iodo (BILIADERIS et al., 1991; BULÉON et al., 1998).

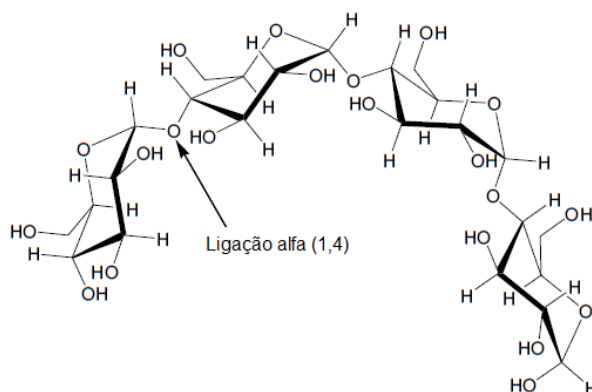


Figura 1. Estrutura da amilose (Fonte: Adaptado de WADUGE, 2002)

A amilopectina apresenta uma cadeia ramificada composta também de unidades de α -D-glucopiranosose unidas por ligações α -1,4, mas contendo 5 a 6% de ligações cruzadas α -1,6 entre um grupo hidroxila de uma cadeia de glicose e o carbono 6 da glicose de outra cadeia (Fig. 2). A amilopectina apresenta tamanho médio das ramificações de aproximadamente 20 ou 30 unidades de glicose, (BILIADERIS et al., 1991; BULÉON et al., 1998).

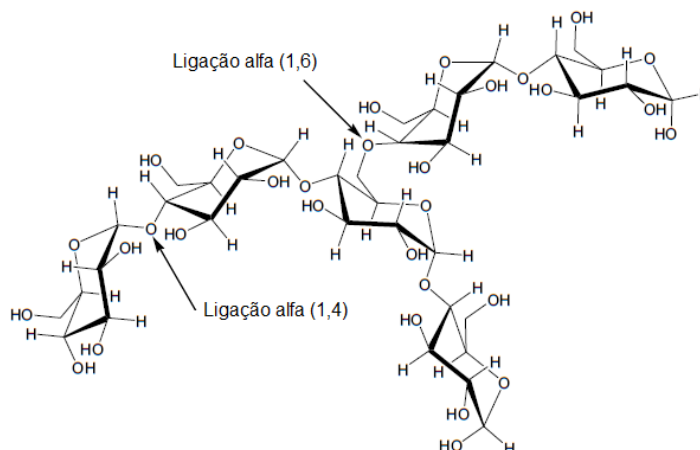


Figura 2. Estrutura química da amilopectina (Fonte: Adaptado de WADUGE, 2002)

Dentro dos grânulos, as cadeias de amilopectina estão radialmente arranjadas com seus grupos terminais não redutores em direção à superfície e estas são organizadas alternando áreas cristalinas e amorfas. A molécula de amilopectina consiste de uma cadeia principal, C, que carrega o grupo redutor e várias cadeias ramificadas, A e B, de acordo com a Figura 3. As cadeias de uma ou mais moléculas interligam-se, formando duplas hélices (CEREDA et al., 2002).

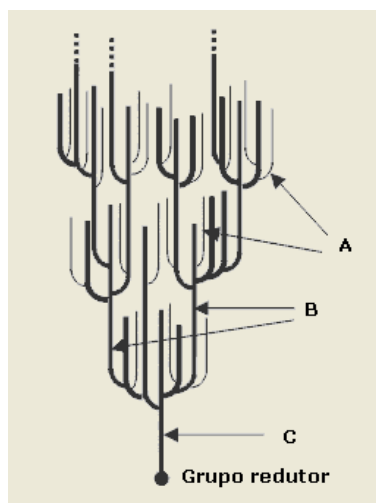


Figura 3. Cadeia de amilopectina (Fonte: LSBU, 2014)

A grande maioria dos amidos contém 20 a 30% de amilose e 70 a 80% de amilopectina, podendo variar a concentração conforme a fonte botânica, o que confere características específicas ao amido (CEREDA et al., 2002). O arranjo da amilose e da amilopectina nos grânulos leva à formação de zonas mais ou menos cristalinas. A região onde se concentra a amilopectina é mais cristalina, onde sua parte linear é responsável pela origem desta característica (Figura 4). As áreas amorfas são formadas pelas cadeias de amilose e ramificações da amilopectina. Grânulos de amido no estado nativo apresentam cristalinidade entre 15 e 45% (CEREDA et al., 2002; BRIASSOULIS, 2004).

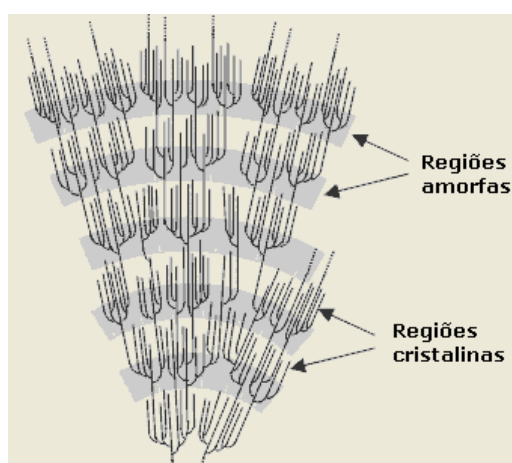


Figura 4. Organização das regiões amorfas e cristalinas do amido (LSBU, 2012).

O baixo custo, a alta disponibilidade e a biodegradabilidade do amido fazem com que este polímero seja bastante estudado tanto para alimentação quanto para a indústria papelreira e mais recentemente para a elaboração de filmes biodegradáveis (ROSA et al., 2001; PRADELLA, 2006). Entretanto, em sua forma nativa o amido nem sempre apresenta as características desejadas para determinada aplicação. Sendo assim, há uma série de modificações que podem ser feitas para mudar suas características. Estas modificações podem ser fisiológicas, enzimáticas, físicas e químicas.

3.2.1 Amido de Arroz

As fontes comerciais de amido mais importantes são os grãos de cereais e as tuberosas onde o amido representa de 40% a 90% do peso seco do grão, e nas tuberosas representam de 65% a 85% da matéria seca. As cinco principais fontes

comerciais mundiais de amido são milho, trigo, arroz, batata e mandioca. No grão de arroz, o amido chega a constituir 90% do peso seco (BAO et al., 2004).

O amido é um produto de grande potencial não só para a alimentação humana e animal, mas também para a indústria não alimentícia. A exploração deste potencial depende do conhecimento de algumas propriedades do amido como a estrutura, forma, absorção de água, solubilidade, inchamento e viscosidade (CEREDA et al., 2002).

O grânulo do amido de arroz é o menor quando comparado com os demais cereais. Em média, seu tamanho varia entre 2 μm a 10 μm e possui forma poligonal irregular (ZHOU et al., 2002). A presença de corpos proteicos dispersos na matriz amilácea dificulta o isolamento deste amido. Além disso, a separação dos pequenos grânulos de amido de arroz também é dificultada pela lenta sedimentação em água (LUMDUBWONG e SEIB, 2000; NABESHIMA e EL-DASH, 2004).

A funcionalidade do amido depende da proporção de amilose e amilopectina presente, assim como da organização física das mesmas dentro da estrutura granular (CEREDA, 2001). As propriedades do amido de diferentes fontes, ou de mesma fonte, porém de cultivares diferentes, tais como tamanho dos grânulos, viscosidade, grau de ramificação e propriedades de gelatinização, variam muito, o que pode afetar sua aplicação em alimentos processados, bem como sua digestibilidade. (ZAVAREZE & DIAS, 2012).

O amido de arroz pode servir como espessante, fornecer textura específica, fornecer sólidos em suspensão e servir como matéria prima para formação de filmes. Além disso é utilizado como ingrediente em vários alimentos e produtos industriais, tais como sobremesas e produtos de panificação (PUCHONGKAVARIN et al., 2005), pois o gel do amido de arroz proporciona uma percepção de textura semelhante a gordura, podendo assim ser utilizado como seu substituto.

O amido é usado em diversos setores da indústria, como alimentícia, cosmética, têxtil, plásticos, colas, adesivos, papel e produtos farmacêuticos. Entretanto, na sua forma nativa, nem sempre possui as propriedades físico químicas adequadas a determinados tipos de processamento, mas, quando modificado, aumenta seu espectro de utilização (ZAVAREZE & DIAS, 2012).

Várias modificações em amido de arroz têm sido feitas, como a modificação com tratamento alcali (CAI, et al., 2014), tratamento térmico de baixa umidade (ZAVAREZE, et al., 2010), tratamento ácido (LIM, et. al., 2012; MAN, et al., 2012;

CHANG, LIM e PAN, 2012), oxidação (EL-SHEIKH, RAMADAN e EL-SHAFIE, 2010; SHAARAWY, 2009), carboximetilação, (TATONGJAI e LUMDUBWONG, 2010), modificações combinadas (KLEIN, et al., 2013) e acetilação (SODHI e SINGH, 2005).

As modificações químicas de amidos são de grande importância em muitas aplicações industriais. Esse tipo de modificação é normalmente feito diretamente no grânulo de amido e a estrutura granular influencia fortemente a substituição padrão de componentes de amido (STEENEKEN e WOORTMAN, 1994). Os reagentes químicos penetram com diferente eficiência através da superfície ou de canais no interior dos grânulos. Geralmente, as partes amorfas dos grânulos são substituídas com maior facilidade do que as áreas cristalinas (BURGT, et. al., 1998), embora os grânulos de diferentes fontes podem ser afetados de diversas formas, dependendo de sua arquitetura, o tipo de cristalinidade, o teor de amilose, e a presença de componentes menores. A amilose tende a ser mais resistente à substituição que a amilopectina (BURGT, et. al, 1998), sendo que esta é preferencialmente substituída nas regiões ramificadas (BURGT, et. al, 1998, KAVITHA e BEMILLER, 1998).

Sodhi e Sinth, (2005) ao estudar as características de amido acetilado de diferentes cultivares de arroz, observaram que diferentes cultivares de arroz mostraram diferenças significativas nas propriedades físico-químicas. Os amidos de arroz apresentaram variações na introdução de grupos acetil durante acetilação em condições semelhantes. Os resultados revelaram que os amidos de arroz acetilados apresentaram temperaturas mais baixas de gelatinização, retrogradação, força de gel e maior poder de inchamento, solubilidade e pico de viscosidade do que seus respectivos nativos. Os autores reportaram que o teor de amilose e grau de substituição foram os principais fatores responsáveis pelas diferenças em várias propriedades em amidos acetilados.

3.2.2 Amido Acetilado

A natureza hidrofílica do amido é a principal limitação na elaboração de materiais baseados no amido. A acetilação tem sido estudada há vários anos como uma maneira de resolver este problema e produzir materiais com maior hidrofobicidade. Dependendo da natureza dos substituintes e do grau de substituição (GS), as propriedades do amido modificado podem variar de maneira

bem ampla (FRINGANT et al., 1998). A modificação química do amido por acetilação permite a preparação de um material termoplástico e hidrofóbico (FRINGANT et al., 1996).

No amido acetilado, parte dos grupos hidroxila dos monômeros de glicose é convertida em grupos CH_3COO^- (etanoato) (GRAAF et al., 1995), ou seja, a acetilação do amido é a esterificação dos grupos hidroxila da unidade de anidroglicose da molécula (TOMKA, 2000).

O grau de substituição (GS) indica o número médio de substituições por unidade de anidroglicose no amido. O maior GS possível é 3 porque existem três grupos hidroxila (OH) disponíveis por unidade de anidroglicose (MILADINOV e HANNA, 2001). Os três grupos livres de hidroxila do amido tem diferentes reatividades. O OH primário no C (6) é mais reativo e é acetilado mais rapidamente do que os OH secundários em C (2) e C (3), devido ao impedimento estérico e eletrônico (Fig. 5). Entre os dois grupos hidroxilas secundários, em C (2) a hidroxila é mais reativa do que o C (3), principalmente porque o C (2) é mais próximo ao hemiacetal (FEDOROVA & ROGOVIN, 1963). Os acetatos de amido, de acordo com o GS, são classificados como de baixo GS ($< 0,1$), médio GS ($0,1-1,0$) e de alto GS ($> 1,0$) (MARK e MELTRETTER, 1972).

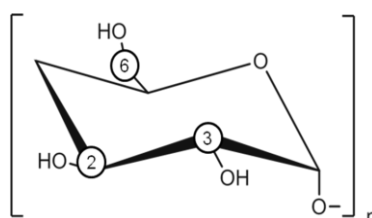


Figura 5. Possíveis locais para a substituição, carbonos 2, 3 e 6 na unidade de anidroglicose.

A acetilação é uma das modificações químicas que o amido pode sofrer para aumentar sua gama de aplicação pela indústria. Entretanto, o amido acetilado tem aplicações que são reguladas por suas características, tais como, o grau de acetilação e massa molecular, entre outras. Estas características determinam se o amido acetilado pode ser, por exemplo, usado em alimentos, aplicação na qual o FDA (Food and Drug Administration – USA) recomenda um grau de substituição abaixo de 2,5%.

Devido a acetilação proporcionar ao amido caráter hidrofóbico, mantendo a biodegradabilidade mesmo após a modificação, um uso bastante interessante deste amido modificado é a elaboração de filmes biodegradáveis (LAROTONDA, 2002).

3.3 Polímeros e filmes biodegradáveis

Os polímeros são macromoléculas caracterizadas por seu tamanho, estrutura química e interações intramoleculares e intermoleculares. Segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), os polímeros são definidos como “substância composta de moléculas caracterizadas por uma repetição múltipla de uma ou mais espécies de átomos ou grupos de átomos, ligadas umas nas outras em quantidades suficientes, fornecendo um conjunto de propriedades, que não variam com a adição ou remoção de uma ou algumas das unidades constitucionais”.

Alguns polímeros ocorrem normalmente na natureza e são chamados de naturais, outros podem ser obtidos por síntese a partir do petróleo e estes são chamados de polímeros sintéticos. Entretanto, aplica-se a ambos o mesmo princípio básico de tecnologia (SEBIO, 2003).

Os produtos elaborados a partir de polímeros sintéticos convencionais são considerados inertes ao ataque imediato de microrganismos. Essa propriedade faz com que esses materiais apresentem um longo tempo de vida fazendo com que ocorram vários problemas ambientais, visto que, após o descarte, demoram centenas de anos para se decomporem totalmente, aumentando assim a quantidade de lixo plástico descartado no ambiente (ROSA et al., 2001).

Uma solução paliativa usada nas últimas décadas tem sido a reciclagem de alguns materiais após a sua utilização, onde ocorre o reaproveitamento das embalagens já usadas e, estas depois de trituradas, são utilizadas como matérias primas para novos produtos. Entretanto o material reciclado é restrito a alguns segmentos como sacos para lixo, devido à qualidade inferior deste material.

O mercado de embalagens para alimentos é um grande consumidor destes polímeros sintéticos. Estes não podem ser reutilizados para os mesmos fins, pelas possibilidades de contaminação (LEITE et al., 1999). Como solução para estes problemas, surgem os polímeros biodegradáveis, os quais são materiais que se degradam completamente ao ataque dos microrganismos do meio ambiente.

Os polímeros biodegradáveis são definidos como aqueles que passam por uma quebra da cadeia polimérica por microrganismos, levando à mineralização (LAROTONDA, 2002).

O aumento da utilização de embalagens e recipientes descartáveis vem resultando em problemas ambientais, causados pelo acúmulo desses materiais não biodegradáveis nos aterros sanitários (LEITE et al., 1999). Nos últimos anos, têm-se reconhecido à necessidade de reduzir a quantidade de materiais plásticos desperdiçados e descartados. Assim, muitas pesquisas vêm sendo realizadas na tentativa de substituir os polímeros sintéticos por materiais que possam ser degradados pelo meio ambiente.

Os filmes biodegradáveis são materiais finos e flexíveis e geralmente são produzidos com materiais biológicos. Os componentes dos filmes estão divididos em três categorias: hidrocolóides, lípidos e compósitos. Os hidrocolóides incluem proteínas (da soja, do soro do leite, do milho, do amendoim, glúten do trigo e colágeno, entre outras) e polissacarídeos (amido, alginatos, celulose e derivados, quitosana e agar, entre outros). Os lípidos englobam ceras, acilgliceróis e ácidos graxos. Os compósitos contêm tanto hidrocolóides como lipídeos (CHA e CHINNAM, 2004).

A obtenção dos filmes está baseada na dispersão ou solubilização dos polímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) e acréscimo de aditivos (plastificantes ou agentes de liga), obtendo-se uma solução ou dispersão filmogênica. Após o preparo, estas coberturas devem passar por uma operação de secagem para a formação dos filmes ou coberturas tipo “casting” (PRADELLA, 2006).

A formação dos filmes ocorre na presença de macromoléculas, para formar uma rede polimérica, solvente e plastificante. A formação dos filmes geralmente envolve associações inter e intramoleculares ou ligações cruzadas de cadeias de polímeros formando uma rede tridimensional semi-rígida que retém o solvente (MEIRA, 2012).

A produção de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis de carboidratos é uma maneira de agregar valor às matérias-primas de baixo custo e podem desempenhar um papel importante na conservação de alimentos (AVÉROUS et al., 2004). O amido puro ou misturado a outros compostos vem sendo utilizado como matéria prima para a obtenção de filmes biodegradáveis, principalmente por ser um

material de baixo custo, de grande disponibilidade e inofensivo ao ambiente, já que uma vez descartado é rapidamente metabolizado por organismos presentes no solo (DIAS et al, 2011; ROSA et al., 2001).

A natureza hidrofílica do amido é a principal limitação ao desenvolvimento de materiais baseados no amido. Filmes de amido apresentam boa resistência mecânica, entretanto apresentam alta permeabilidade ao vapor d'água. Eles também são muito sensíveis às condições ambientais devido ao caráter higroscópico destes materiais (MALI et al., 2006).

Vários estudos estão sendo realizados com o objetivo de melhorar as características de filmes de amido. Zavareze et al., (2012) ao estudar o efeito do tratamento térmico de baixa umidade e a oxidação sobre as propriedades de amido de batata observaram que a oxidação melhorou as propriedades de resistência à tração, entretanto os filmes apresentaram menor alongamento na ruptura, menor solubilidade, e menor permeabilidade ao vapor de água. Já os filmes modificados com tratamento térmico de baixa umidade apresentaram melhorias na resistência à tração e permeabilidade ao vapor de água comparado ao amido nativo. Menzel et al., (2013) ao elaborar filmes com amido modificado por ligação cruzada relataram que os filmes apresentaram significativa melhoria das propriedades de barreira ao vapor de água.

Bourton e Chinnan, (2008) ao estudar a inserção de amido na elaboração de filmes de quitosana observaram que a inserção de amido na formulação diminuiu a cristalinidade e a permeabilidade ao vapor de água dos filmes, entretanto, não influenciou nas propriedades mecânicas.

Souza et al., (2012) ao elaborar filmes de amido de mandioca adicionados de nanopartículas de argilas consideraram a mistura como uma alternativa interessante para a elaboração de embalagens biodegradáveis. No entanto, os autores sugerem mais estudos para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira.

A adição de agentes plastificantes é essencial na elaboração dos filmes. Eles são pequenas moléculas de baixa volatilidade, que quando adicionados ao material polimérico, interagem com as cadeias de amido, aumentando a mobilidade molecular e, conseqüentemente, a flexibilidade dos filmes. Além disso, os plastificantes devem ser compatíveis, isto é, apresentarem o mesmo caráter

hidrofílico ou hidrofóbico do polímero. Os plastificantes largamente utilizados em filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol (MALI et al., 2006).

Os plastificantes reduzem a tensão de deformação, dureza e viscosidade, ao mesmo tempo que aumentam a flexibilidade da cadeia do polímero e aumenta sua resistência à fratura (VIEIRA et al., 2011). Quando adicionado à solução filmogênica modifica a organização molecular da rede amilácea aumentando o volume livre da molécula. A baixa massa molecular do plastificante permite que este ocupe os espaços intermoleculares das cadeias dos polímeros, reduzindo as forças secundárias entre eles (ABDORREZA, CHENG e KARIM, 2011). Como os plastificantes diminuem as forças intermoleculares, a rede torna-se menos densa, melhorando a flexibilidade, extensibilidade e densibilidade dos filmes (SOTHORNI e KROCHTA, 2000).

O uso de filmes é condicionado por características como custo, disponibilidade, atributos funcionais da macromolécula, propriedades de barreira, mecânicas e sensoriais dos filmes (BALDWIN e CARRIEDO, 1994). Apesar dos vários estudos com o objetivo de melhorar as características de filmes de amido, algumas propriedades dos filmes ainda são deficientes, como a permeabilidade ao vapor d'água e propriedades mecânicas. Com o objetivo de suprir esta necessidade este trabalho tem por objetivo estudar as características dos amidos acetilados de arroz e sua aplicação na elaboração de filmes biodegradáveis.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Foram utilizadas amostras de arroz já beneficiadas de cultivares de baixa (Motti), média (IRGA 406) e alta (IRGA 417) amilose. Todos os reagentes utilizados foram P. A.

4.2 Métodos

4.2.1 Extração do amido de arroz

Amostras de arroz livres de impurezas foram moídas em moinho Perten para a obtenção da farinha de arroz.

A extração de amido foi baseada no método descrito por Wang e Wang (2004), com algumas modificações (Figura 6). A farinha de arroz foi adicionada de solução de NaOH 0,18% na proporção de 1:2 (m/v) e deixada em repouso durante 18 horas na geladeira ($4^{\circ}\text{C} \pm 2$). Após a dispersão foi submetida a agitação em liquidificador durante dois minutos. O material resultante foi passado por peneira de $63\ \mu\text{m}$ e centrifugado a 1200 g durante cinco minutos à temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$). O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspenso em solução de NaOH 0,1%, sendo centrifugado novamente, em operação realizada duas vezes. O amido extraído foi disperso com água destilada e neutralizado com HCl $1\ \text{mol.L}^{-1}$ até pH 6,5 e centrifugado. O material sedimentado foi ressuspenso em água destilada e centrifugado, em operação repetida duas vezes. O amido resultante foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C até $10\% \pm 0,5$ de umidade. O rendimento de extração de amido foi calculado com base na quantidade inicial de amido presente na farinha de arroz e na quantidade total de farinha.

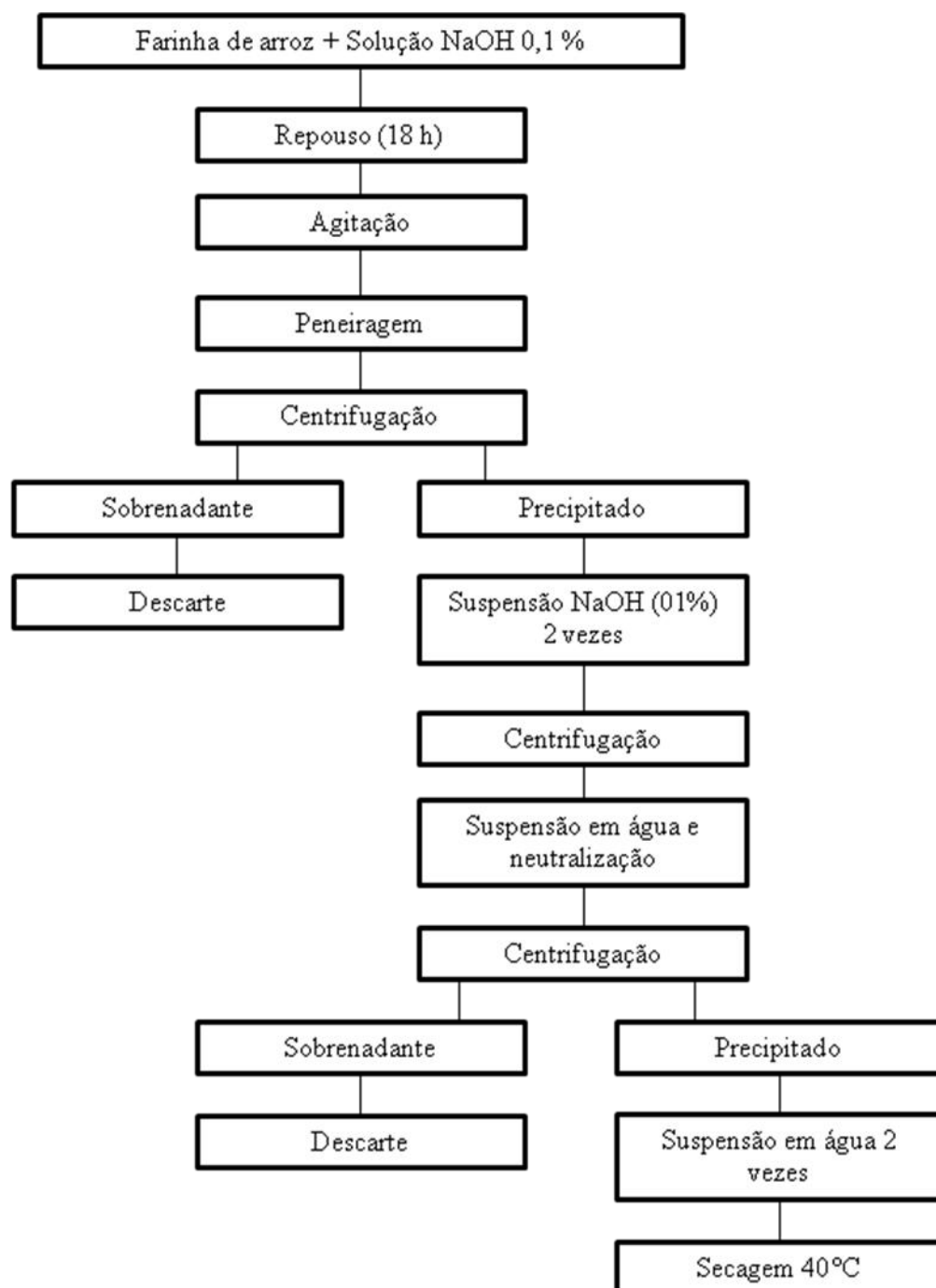


Figura 6. Fluxograma de extração de amido de arroz pelo método alcalino.

4.2.2 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 farinha utilizados para extração.

4.2.3 Caracterização do amido nativo

4.2.3.1 Grau de pureza

Para determinar o grau de pureza os amidos foram caracterizados pela composição química. O conteúdo de umidade foi determinado pelo método nº 44-15A, da AACC (1995), utilizando estufa a 130°C por uma hora. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl nº 46-13, da AACC (1995), sendo o teor de proteína bruta obtido pela multiplicação pelo fator 5,95. O teor de cinza foi analisado pelo método nº 08-01, da AACC (1995), usando mufla a 600°C até peso constante. O teor de lipídios foi determinado pelo método nº 30-20, da AACC (1995), em extrator Soxhlet utilizando éter de petróleo como solvente.

4.2.3.2 Teor de amilose

O teor de amilose foi determinado por método colorimétrico com iodo, conforme método de McGrane; Cornell e Rix (1998). Aproximadamente 20mg de amido desengordurado (b.s) juntamente com de 8 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) à 90% foi agitado durante 20min e posteriormente condicionado à banho de 85°C/15 min. Após arrefecimento, o conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 25 mL e homogeneizado. Uma alíquota de 1 mL da solução foi adicionada de 5 mL de solução de I_2/KI ($0,0025 \text{ mol. L}^{-1}$ de I_2 e $0,0065 \text{ mol. L}^{-1}$ de KI) e o volume completado para 50 mL. A solução resultante foi homogeneizada e mantida em repouso por 15 min previamente a leitura da absorbância em 600nm. Para a realização da curva de calibração foi utilizado 20 mg de amilose de batata pura submetida ao mesmo processo descrito para o amido, sendo retirados alíquotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mL para determinação da absorbância.

4.2.4 Estrutura molecular

4.2.4.1 Cromatografia de permeação em gel em Sepharose CL-2B de amido inteiro

As amostras foram preparadas conforme descrito por Bertoft et al, (2008), com algumas modificações. Os grânulos de amido (8 mg) foram dissolvidos em DMSO a 90% (0,3 mL) por agitação suave em banho de água fervente por 10 minutos, em seguida foram deixadas à temperatura ambiente durante 24 h. Após as amostras foram aquecidas durante 10 min e diluídas com água quente (0,7 mL). A distribuição de tamanho dos componentes do amido foi obtido por cromatografia sobre uma coluna de Sepharose CL-2B (1,6 x 32 cm) (Pharmacia, Uppsala, Suécia). Uma solução de amido dissolvido de 0,3 mL foi eluída através da coluna com NaOH a 0,01 mol. L⁻¹, a uma taxa de 0,5 mL.min⁻¹. As frações de 1 mL foram recolhidas e o teor de hidratos de carbono foi determinado pelo reagente de fenol-ácido sulfúrico. Os máximos de comprimento de onda (λ max) do complexo de iodo-glucano foram examinados usando 0,1 m λ de 0,01 mol. L⁻¹ de soluções I₂/0,1 mol. L⁻¹ KI, posteriormente as frações foram neutralizadas com HCl 0,01 mol. L⁻¹.

4.2.4.2 Análise da composição de amido desramificado

Os grânulos de amido foram dissolvidos em 90% de DMSO, como descrito acima, e desramificada com pululanase e isoamilase como descrito por Bertoft et al, (2008). A distribuição do comprimento da cadeia de amostras de amido desramificado (1 mL) foi submetido a cromatografia numa coluna de Sepharose CL-6B (1,6 x 90 cm) (Pharmacia, Uppsala, Suécia), eluiu-se com NaOH 0,5 mol. L⁻¹ a 1 mL / min. As frações de 1 mL foram recolhidas e em cada fração de segundo 1 mL foi analisada para hidratos de carbono, utilizando o reagente de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). O teor de amilose (AM) das amostras de amido foi definida de acordo com Sargeant (1982).

4.2.5 Modificação Química

Os amidos foram acetilados de acordo com o método proposto por Mark & Mehltretter (1972) com algumas modificações. O amido foi seco em estufa a 60 °C durante 16 horas. Uma amostra de 200 g foi dispersa em 600 mL de anidrido acético em um reator fechado com agitação de 2000 rpm (RW 20, IKA, Germany) por 5 min. Após a mistura, foi adicionado lentamente 20 g de solução de NaOH 50% e a temperatura foi aumentada para 90 °C durante 15 min. A reação foi interrompida em três tempos de reação (10, 30 e 90 min). No final de cada tempo de reação, a temperatura da mistura foi reduzida para 25 °C, então foi adicionado 300 mL de etanol 92,6°Gl para auxiliar na precipitação do amido. A dispersão foi centrifugada a 3000 g por 10 min, e o precipitado foi adicionado de 300 ml de álcool e centrifugado. Esta operação foi realizada 4 vezes. A amostra de amido acetilado foi seca em estufa com circulação de ar a 40 °C por 16 h.

4.2.6 Avaliação dos Amidos

4.2.6.1 Determinação do grau de substituição (GS) e percentual de grupos acetil (% Acetil)

O percentual de grupos acetila (% Acetil) e o Grau de substituição (GS) dos acetatos de amido foram determinados por titulometria conforme Wurzburg (1964). Amostras de aproximadamente 1 g de amido acetilado foram colocadas em frasco de 250 mL e adicionadas de 50 mL de álcool etílico 75%. O frasco foi frouxamente fechado e as amostras foram aquecidas em banho-maria a 50 °C por 30 min. Após resfriadas as amostras foram adicionadas de 40 mL de KOH 0,5 mol. L⁻¹ e mantidas sob agitação de 200 rpm por 72 h em agitador orbital (Certomat® MO, B. Braun Biotech International, Germany). Decorrido o tempo, o excesso de álcali foi titulado com HCl 0,5 mol. L⁻¹, utilizando-se fenolftaleína como indicador. A solução neutralizada foi mantida sob agitação por 2 horas e o excesso de álcali, o qual pode ter lixiviado da amostra, foi titulado. Uma amostra em branco com o amido nativo também foi analisada. O grau de substituição é definido como o número médio de sítios por unidade de anidroglicose que recebeu um grupo substituinte. O % Acetil e o GS foram calculados de acordo com as Equações 1 e 2, respectivamente.

$$\% \text{ Acetil} = \frac{[(\text{mL do branco} - \text{mL da amostra}) \times M \text{ HCl} \times 0,045 \times 100]}{\text{peso da amostra (g)}} \quad (1)$$

$$\text{GS} = \frac{162 \times \% \text{ Acetil}}{[4300 - (42 \times \% \text{ Acetil})]} \quad (2)$$

4.2.6.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho das amostras de amidos de arroz nativo e modificados foram obtidos em espectrofotômetro com transformada de Fourier (IR Prestige-21; Shimadzu) na região de 4000-400 cm^{-1} . Foram preparadas pastilhas a partir da mistura das amostras com KBr em uma proporção de 1:100 (amostra:KBr). Foram recolhidas 100 leituras a uma resolução de 4 cm^{-1} . As medidas foram coletadas em absorbância.

4.2.6.3 Poder de Inchamento e Solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos foram determinados na temperatura de 90°C, conforme método descrito por Leach et al. (1959). A determinação envolveu a suspensão em tubos de centrifuga de 1 g de amido em 50 mL de água aquecida. Após 30 min de aquecimento em banho maria, os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e centrifugados a 1000 g por 20 min. O sobrenadante foi coletado e seco em estufa (105°C) até peso constante para a quantificação da fração solúvel. Os tubos, previamente tarados, contendo os grânulos de amido intumescidos, foram pesados para determinar o poder de inchamento. A solubilidade foi calculada pela relação da massa solúvel e a massa inicial de amido, expressa em porcentagem, enquanto o poder de inchamento foi obtido pela relação da massa final intumescida pela massa inicial de amido, sendo descontada a quantidade de amido solúvel.

4.2.6.4 Propriedades de Pasta

As propriedades viscoamilográficas dos amidos foram avaliadas por RVA - *Rapid Visco Analyser* (modelo RVA-4, Newport Scientific, Austrália), por meio do perfil Standard Analysis 1 utilizando-se 3,0 g de amostra corrigida para 14% de umidade. As amostras foram aquecidas a 50 °C em 1 min e, posteriormente, a 95 °C em 3,5 min, sendo mantidas a 95 °C durante 2,5 min. A seguir, foram resfriadas para 50 °C em 3,8 min e mantidas a 50 °C por 2 min. A velocidade de rotação foi mantida a 960 rpm durante 10 s e então mantida a 160 rpm durante o restante do processo. Foram avaliadas a temperatura de início de formação de pasta, a viscosidade máxima, a viscosidade mínima, a quebra da viscosidade, a viscosidade final e a tendência à retrogradação.

4.2.6.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As propriedades térmicas foram analisadas utilizando-se um calorímetro diferencial de varredura (DSC) modelo DSC 60, Osaka, Japão. Foram pesados aproximadamente 2,5 mg de amido em cadinhos de alumínio e misturados com água destilada na proporção de 1:3, (m/m). Após a mistura os cadinhos foram selados e deixados em repouso a temperatura ambiente por uma hora para equilíbrio. A amostra foi aquecida a uma razão de 10°C.min⁻¹ de 30 a 120°C. Um cadinho vazio foi usado como referência. Foram identificadas as temperaturas de transição vítrea (To), temperatura de cristalização (Tp), temperatura de fusão (Tc) e entalpia (ΔH) dos amidos.

4.2.6.6 Análise termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica dos amidos foram analisadas por análise termogravimétrica (TGA). Os testes foram realizados numa faixa de 25 a 600 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio (10 mL/min).

4.2.6.7 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 (Ac) e a área total coberta pela curva (Ac + Aa), composta pela área da região cristalina (Ac) e a área da região amorfa (Aa), a partir da Equação 3:

$$IC (\%) = \frac{Ac \times 100}{Ac + Aa} \quad (3)$$

4.2.6.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos de amido foi examinada pelo microscópio eletrônico de varredura (Shimadzu, SSX-550). As amostras de amido foram inicialmente suspensas em acetona para se obter uma suspensão 1% (m/v) e mantidos em banho ultrassônico durante 15 min. Uma pequena quantidade de cada amostra foi espalhado diretamente sobre a superfície do topo do stub e secou-se em estufa a 32 °C durante uma hora. Subsequentemente, todas as amostras foram revestidas com ouro e examinadas por Microscopia Eletrônica de Varredura sob uma voltagem de aceleração de 15 kV e uma ampliação de 5000x.

4.2.7 Elaboração dos filmes

Os filmes foram elaborados conforme método descrito por Shimazu et al. (2007) segundo a técnica do tipo *casting*. Utilizou-se 4 g de amido por 100 g de solução filmogênica. O glicerol foi utilizado como plastificante, sendo este empregado na concentração de 30% (base amido). As soluções filmogênicas foram aquecidas até 90°C e mantidas por uma hora. Em seguida, 20 g de cada solução filmogênica foi espalhada em placas circulares de acrílico e secas em estufa com circulação de ar a 30 °C por 16 horas.

4.2.7.1 Avaliação subjetiva

Na avaliação subjetiva foram empregados parâmetros estabelecidos por Gontard (1991), verificando-se as seguintes características dos filmes: continuidade (ausência de ruptura após a secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis, bolhas de ar ou zonas de opacidade) e manuseabilidade (possibilidade de ser manuseado sem riscos de ruptura).

4.2.7.2 Umidade

O teor de umidade dos filmes foram determinados pelo método da estufa a 105 °C com circulação natural de ar até peso constante (AACC, 1995), sendo os resultados calculados em base úmida e expressos em g.100 g⁻¹.

4.2.7.3 Espessura

A espessura dos filmes foi avaliada em triplicata, através da média dos valores de oito pontos aleatórios em diferentes seguimentos do filme utilizando-se micrômetro digital (modelo INSIZE).

4.2.7.4 Determinação de cor e opacidade

A cor dos filmes foi obtida através da média de 5 determinações sendo uma no centro e as outras no perímetro, utilizando um colorímetro (Minolta, CR 400, Osaka, Japão). Os filmes foram colocados em uma placa branca definida como padrão e a escala CIE-Lab e luz do dia (D65) foram usadas para medir a cor dos filmes.

A opacidade dos filmes foi determinada utilizando-se um colorímetro (Minolta, CR 400, Osaka, Japão). As determinações foram realizadas em triplicata. A opacidade foi calculada como sendo a relação entre a opacidade do filme

sobreposto ao padrão preto (Ppreto) e ao padrão branco (Pbranco) (HUNTERLAB, 1997).

4.2.7.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas (resistência à tração e alongação) foram realizadas em texturômetro (Texture Analyser TA.XT plus, Stable Micro Systems) operando de acordo com o método ATM D 882 (ASTM, 2000), com separação inicial das garras de 50 mm e velocidade do probe de 1 mm/s. Seis a dez amostras de cada filme. Foram recortadas (85 mm de comprimento e 25 mm de largura) e fixadas, uma a cada vez, no texturômetro.

A resistência à tração foi calculada dividindo-se a força máxima no rompimento do filme, pela área de secção transversal (Equação 4). A alongação foi determinada dividindo-se a distância final de separação do probe pela distância inicial de separação (50 mm), multiplicada por 100 (Equação 5). A média das espessuras requeridas para o cálculo da área seccional foi determinada utilizando-se oito medidas obtidas ao longo do filme.

$$RT = \frac{Fm}{A} \quad (4)$$

Onde:

RT: resistência a tração (Mpa).

Fm: força máxima no momento da ruptura do filme (N)

A: área da secção transversal (m²)

$$E = \frac{d_r}{d_i} \quad (5)$$

Onde:

E = Alongação (%);

di = distância inicial de separação (cm);

dr = distância no momento da ruptura (cm) [diferença entre a distância de separação do probe no momento da ruptura e a distância inicial.

4.2.7.6 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada utilizando-se uma amostra de filme de 1,5 cm de diâmetro seco em estufa com circulação de ar a 105°C durante 24 horas. A amostra foi imersa em 50 mL de água destilada e o sistema foi mantido sob agitação (175 rpm) a temperatura de 20°C durante 24 h, utilizando-se shaker (Certomat). Após, a amostra foi seca sob as mesmas condições da amostra inicial.

A solubilidade foi calculada em percentagem pela diferença da massa inicial e massa final dos filmes dividida pela massa inicial.

4.2.7.7 Solubilidade em ácido

A solubilidade em ácido foi determinada pelo mesmo método da solubilidade em água, sendo utilizado ao invés de água, ácido clorídrico 0,1 mol. L⁻¹.

4.2.7.8 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente pelo método padrão da American Society for Testing and Materials E96-00 descrito por Sarantópoulos et al. (2002). Os filmes foram aplicados em cápsulas contendo CaCl₂ (cloreto de cálcio) e vedadas com parafina. Nestas condições, o ambiente interno da cápsula obtém uma umidade relativa de 2%. Todo o conjunto foi colocado em dessecador a temperatura ambiente e com umidade relativa de 75%, obtida através de uma solução saturada de NaCl (cloreto de sódio). O ganho de umidade foi determinado através de pesagens em 24 h e 48 h.

A permeabilidade do filme foi calculada através do ganho de peso (g) e o tempo (h) durante o experimento conforme a Equação 6:

$$PVA = \frac{\Delta W}{t} \times \frac{X}{A \Delta P} \quad (6)$$

Onde:

PVA= Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/KPa.dia.m^2)

ΔW = Ganho de peso (g)

X= espessura do filme (mm)

t= Período de tempo (dias)

A= Área exposta (m^2)

ΔP = Diferença de pressão parcial (kPa)

4.2.7.9 Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica dos amidos foram analisadas por análise termogravimétrica (TGA). Os testes foram realizados numa faixa de 25 a 600 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio (10 mL.min^{-1}).

4.2.7.10 Análise de biodegradabilidade

A biodegradabilidade dos filmes foi determinada pela avaliação da atividade microbiana através da medição da liberação de C-CO_2 seguindo a metodologia proposta pela ASTM G-160-03 (2004).

4.2.7.10.1 Quantificação do carbono dos filmes

Quantificou-se o carbono presente nos filmes pelo método Walkley-Black (CAMARGO, 1986) modificado. Em um erlenmeyer adicionou-se uma amostra de 0,03g de filme e 10 mL de solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1 mol. L^{-1} . Posteriormente 20 mL de H_2SO_4 concentrado foram adicionados, agitando o erlenmeyer durante um minuto para garantir a completa mistura do filme com os reagentes. Após repouso de 20 a 30 min, para arrefecimento, foram adicionado 100 mL de água e 4 gotas da solução do complexo indicador O-fenantrolina-sulfato ferroso $0,025 \text{ mol. L}^{-1}$ e procedeu-se a titulação com FeSO_4 . O final da titulação foi determinado pela mudança da coloração escura para a verde.

4.2.7.10.2 Avaliação do percentual de degradação

Em um frasco de vidro hermético, adicionou-se 100 g de solo com pH 6,8 e 10% de umidade e no seu interior foi introduzido uma porção correspondente a 500 mg de carbono na forma de filme.

Na parte superior do solo foi colocado um copo plástico de poliestireno (capacidade de 50 mL) contendo 20 mL de solução de NaOH 1 mol.L⁻¹, sendo os frascos fechados. Uma amostra somente com solo foi usada como controle. A partir de 18 dias e em intervalos 39, 55, 80, 100 e 142 dias o copo foi retirado e a solução de NaOH foi transferida para erlrmeyer de 50 mL, neste foi acrescentado 5mL de solução de cloreto de bário 25%, 3 gotas de indicador fenolftaleína e titulou-se com HCl 1 mol.L⁻¹.

A cada retirada de amostra para titulação, um novo copo contendo a solução de NaOH foi novamente reposto ao sistema.

O cálculo da liberação de C-CO₂.100g⁻¹ está apresentado na Equação 7:

$$\text{mgCO}_2 \cdot 100\text{g}^{-1} = (\text{VPB} - \text{VPA}) \times \text{M ácido} \times \text{Eq.g. C} - \text{CO}_2 \quad (7)$$

onde:

VPB= volume de HCl gasto na prova em branco

VA= volume de HCl gasto nas amostras

M ácido = concentração do HCl (mol. L⁻¹)

Eq. C-CO₂= Equivalente grama do C-CO₂ (=6)

Com base na liberação de CO₂ calculou-se o % de filme degradado conforme a equação abaixo:

$$\% \text{ Filme degradado} = \frac{\text{CO}_2 \text{ solo com filme} - \text{CO}_2 \text{ solo sem o filme}}{500} \times 100 \quad (8)$$

4.2.8 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e à comparação de médias pelo teste de Tukey, com nível de 5% de significância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento de extração

Na Fig. 7 está apresentado o rendimento de extração dos amidos de arroz com baixo, médio e alto teor de amilose.

O amido com baixo teor de amilose apresentou menor rendimento de extração em relação aos amidos com média e alta amilose. Segundo Zavareze, (2009) o menor rendimento de extração do amido de baixo teor de amilose deve-se à maior absorção de água dos grânulos, dificultando a separação das proteínas aderidas ao grânulo de amido, assim como a maior dificuldade de separação do material durante a peneiragem e centrifugação.

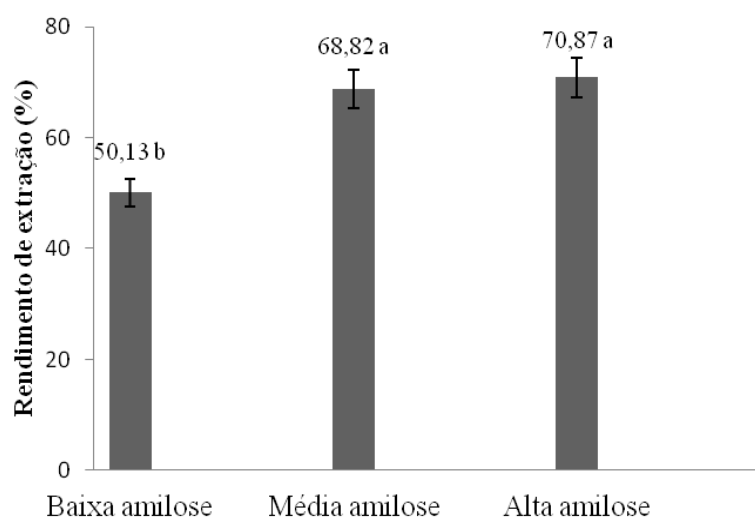


Figura 7. Rendimento de extração dos amidos de arroz com diferentes teores de amilose. * Letras diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

O rendimento de extração dos amidos foi superior ao encontrado por Zavareze et al.,(2009) que estudaram a caracterização química e rendimento de extração de amido de arroz com diferentes teores de amilose (cultivares IRGA 417, Sasanishiki e Moti), os autores obtiveram rendimento de 56,3; 46,7 e 28,9% para os amidos de alta, média e baixa amilose respectivamente, utilizando a mesma metodologia de extração.

5.2 Caracterização do amido nativo

Na Tab. 1 estão apresentados os teores de amilose e composição química dos amidos de arroz com diferentes conteúdos de amilose.

Tabela 1. Teor de amilose e composição química dos amidos de arroz com diferentes conteúdos de amilose.

Amido*	Amilose (%)	Proteínas (% b.s)	Lipídios (% b.s)	Cinzas (% b.s)	Amido (% b.s)
Alta amilose	32,0 ^a	0,41 ^a	0,178 ^a	0,265 ^a	99,14 ^a
Média amilose	20,1 ^b	0,19 ^b	0,159 ^a	0,176 ^b	99,47 ^a
Baixa amilose	8,3 ^c	0,17 ^b	0,178 ^a	0,251 ^a	99,40 ^a

*Letras minúsculas distintas na mesma coluna representam diferença significativa entre as médias submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. b.s= base seca.

O teor de amilose variou de 8,3 % no amido de baixa amilose a 32 % no amido de alta amilose. Os valores encontrados foram similares aos encontrados por Zavareze (2009) ao estudar amido de arroz com diferentes teores de amilose.

As proteínas estão entre os maiores componentes presentes na farinha de arroz, sendo superadas apenas pelos carboidratos, portanto são utilizadas como parâmetro de determinação da eficiência do método de extração de amido, ou seja, quanto menor o teor de proteínas presente no amido isolado, melhor a qualidade do produto.

Os amidos extraídos apresentaram baixo resíduo de proteínas, lipídios e cinzas, mostrando boa eficiência no método de extração de amido. Os valores de proteínas encontradas neste estudo foram inferiores às encontradas por Puchongkavarin et al. (2005) que encontraram resíduos de proteínas de 0,48% em amido de arroz extraído por método alcalino.

5.3 Estrutura molecular do amido

Os amidos nativos de alto, médio e baixo conteúdo de amilose foram eluídos em coluna de separação de tamanho em gel (GPC) de agarose Sheparose 2B CL,

sendo que o conteúdo de carboidratos da distribuição do peso molecular das frações e a ligação com iodo foram analisados e estão representadas na Fig. 8.

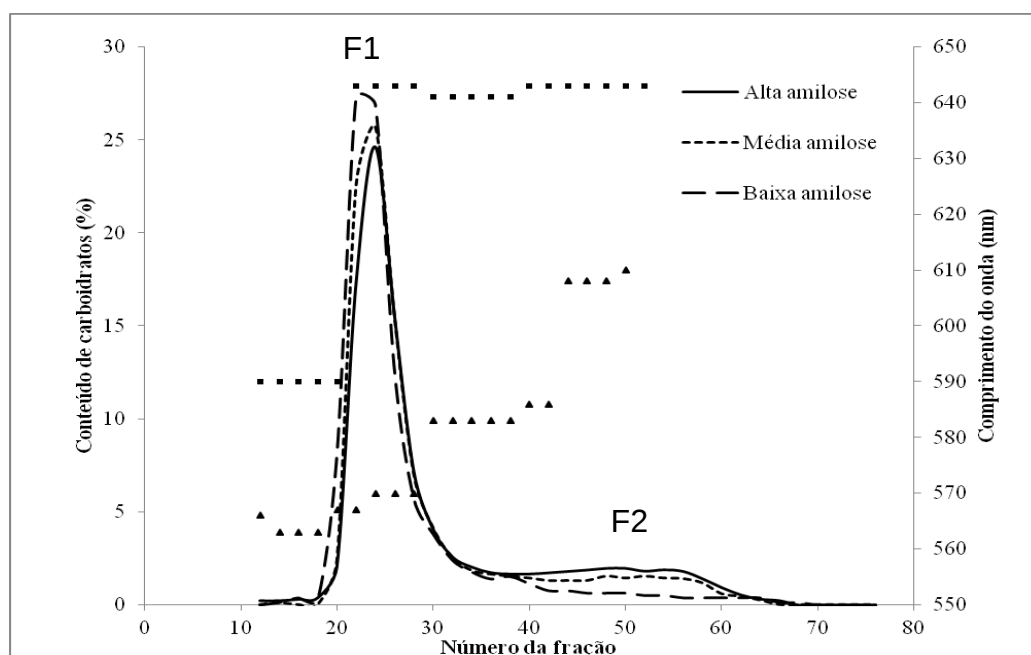


Figura 8. Cromatografia de exclusão de tamanho em gel Sepharose CL 2B (GPC) de amido de arroz de alta, média e baixa amilose. No eixo principal o conteúdo total de carboidratos (linhas contínua, pontilhada e tracejada) e no eixo secundário o comprimento de onda máximo (λ_{max}) (quadrados para arroz de alta amilose e triângulos para arroz de média amilose).

As amostras de amido de arroz apresentaram abundância nas frações com alta massa molecular (F1) com pequenas variações entre os diferentes amidos, sendo que o amido com baixo teor de amilose apresentou pico mais intenso referente às cadeias com alta massa molecular. A fração F1 é representada principalmente pela amilopectina, estas devem sair nas primeiras frações devido ao alto grau de ramificações e por consequência, elevada massa molecular.

As frações de baixa massa molecular (F2) apresentaram a seguinte ordem em relação à concentração de carboidratos após a separação: Alta amilose > média amilose > baixa amilose. Este comportamento é devido às amostras com baixo conteúdo de amilose apresentarem cadeias essencialmente lineares, com menor massa molecular. (KIM & HUBER, 2010).

A avaliação do comprimento de onda máximo (λ_{max}) representa a complexação das cadeias laterais de amilopectina e as cadeias lineares de amilose com o iodo, sendo que quanto mais compridas (elevado grau de polimerização (DP))

forem as cadeias, maior será o λ max obtido. Segundo Bailey e Whelan, (1961) complexação das moléculas de amido com iodo pode resultar em cores que variam do roxo avermelhado (537-550 nm), roxo (554-555), roxo azulado (557-565 nm), azul (568 nm) e azul esverdeado (571nm). Os mesmos autores descreveram que a formação de cor ocorre somente nas moléculas de amido com DP maior que 17 carbonos e que DP de 366 a 568 apresentam um λ max de 645 nm. Moléculas de amido com DP menor que 17 C não apresentam formação de cor quando expostas ao iodo.

O amido nativo de alta amilose apresentou um λ max entre 641-643 nm entre as frações 22 -52, indicando a presença de cadeias laterais de amilopectina longas, materiais intermediários e amilose homogêneas. A pequena variação do λ max entre as cadeias laterais da amilopectina e as cadeias lineares da amilose pode indicar que estas cadeias apresentam comprimento (DP) relativamente semelhantes.

A separação entre amilose e amilopectina não é muito precisa nestas condições, com isso a denominação de materiais intermediários ocorre devido à presença de cadeias menores de amilopectina e cadeias longas de amilose. Isso se explica, pois as mesmas apresentam pesos moleculares semelhantes e com isso ocorre a sobreposição destas cadeias entre as frações 24 e 30 (Yoon & Lim, 2003).

O amido de média amilose apresentou um λ max menor entre as frações 30 e 42, indicando assim, cadeias de amilose com comprimento menor em relação ao amido de alta amilose. No final da eluição, a partir da fração 44, o amido de media amilose apresentou um aumento no λ max, indicando a presença de cadeias longas e completamente lineares.

O amido de baixa amilose não apresentou comprimento de onda (λ Max) devido as cadeias laterais da amilopectina e as cadeias lineares da amilose serem muito curtas, provavelmente com DP menor que 18 carbonos fazendo com que não ocorra a formação de cor quando expostas ao iodo, assim não apresentaram absorbância nesse comprimento de onda.

Na Fig. 9 estão apresentadas as frações do amido desramificado pelas enzimas pululanase e isoamilase e eluídos em coluna de permeação em gel de agarose Sepharose CL 6B. As enzimas pululanase e isoamilase são enzimas desramificadoras de amido específicas, e atuam apenas nas ligações α -(1,6) entre moléculas de glicose (ROBYT, 2009). As frações 1, 2 e 3 incluem longas cadeias lineares, materiais intermediários e cadeias curtas de glicose, respectivamente. Após

a desramificação as cadeias longas representam a amilose e as cadeias curtas são as cadeias que formavam as ramificações da amilopectina.

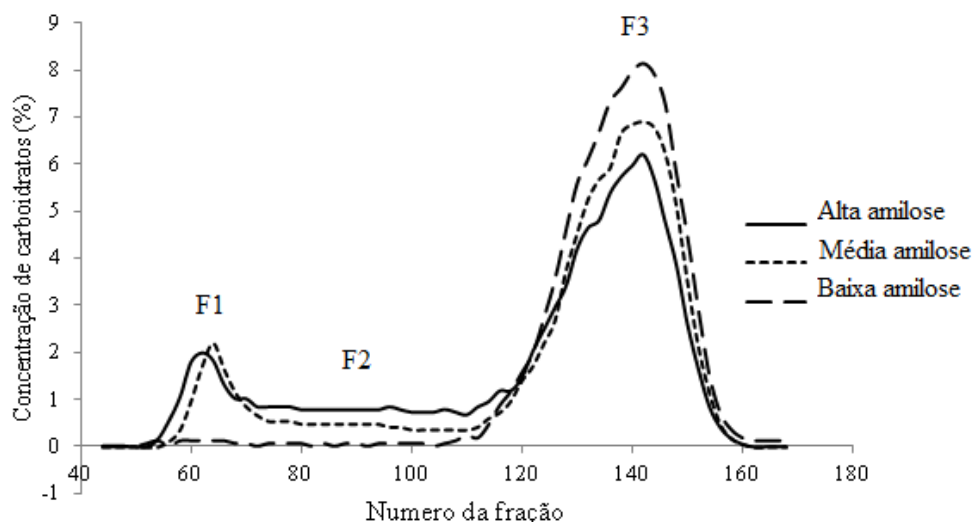


Figura 9. Cromatografia de exclusão de tamanho em gel Sepharose CL 6B (GPC) de amido de arroz de alta, média e baixa amilose desramificados. F1- Fração 1; F2- Fração 2; F3- Fração 3

As frações de alto peso molecular F1 foram maiores no amido de alta amilose e menores no amido de baixa amilose. A concentração da fração F2 foi maior para o amido de alta amilose, seguido do de média e baixa amilose. O padrão de distribuição da F3 é referente principalmente a amilopectina (Vamadevan, 2013). Este padrão indica uma elevada proporção de cadeias de amilopectina no amido de baixa amilose, enquanto que a presença destas cadeias é menor nos amidos de média e alta amilose. Sendo assim, a totalidade de cadeias curtas (F3) eluídas na coluna 6B apresentou a seguinte ordem: Alta amilose < média amilose < baixa amilose.

As cadeias poliméricas com maior tamanho (DP) são eluídas na fração F1 e representam as cadeias lineares de amilose e algumas poucas cadeias de amilopectina. Já a fração F2 contém cadeias menores de amilose e cadeias do tipo B₂ das amilopectinas (cadeias longas). A fração F3 é composta ponderadamente de cadeias laterais e cadeias mais curtas do tipo B das amilopectinas e algumas poucas cadeias originais das amiloses (HIZUKIRI, 1985). Com base nisso, a porcentagem de amilose foi calculada pela soma das frações F1 e F2. O resultado do conteúdo de

amilose foi de aproximadamente 30%, 22% e 9% nos amidos de alta, media e baixa, respectivamente, valores estes, similares aos encontrados neste trabalho (Tab. 1) pelo método colorimétrico proposto por McGrane; Cornell e Rix (1998).

5.4 Avaliação dos amidos modificados

5.4.1 Determinação do grau de substituição (GS) e percentual de grupos acetil (% Acetil)

A acetilação proporcionou diferentes percentuais de grupos acetil e graus de substituição dos amidos, dependendo do teor de amilose e do tempo de reação (Tab. 2). O grau de substituição e o percentual de grupos acetil aumentaram conforme a redução do teor de amilose dos amidos de arroz e o aumento do tempo de reação.

A acetilação do amido ocorre por um mecanismo de adição-eliminação (GARG & JANA, 2011). Os três grupos livres de hidroxila do amido tem diferentes reatividades. O OH primário em C (6) é mais reativo e acetilado mais rapidamente do que os OH secundários em C (2) e C (3), devido ao impedimento estérico e eletrônico. Tal fato pode justificar o maior grau de substituição do amido com baixo teor de amilose. Entre os dois grupos hidroxilas secundários, em C (2) a hidroxila é mais reativo do que o C(3), principalmente porque o C (2) é mais próximo ao hemiacetal (FEDOROVA & ROGOVIN, 1963). O C (6) por ser mais reativo tem sido o principal sítio de reação para substituição dos grupos hidroxilas pelos grupos acetil.

Os amidos de arroz acetilados com 90 min de reação apresentaram os maiores graus de substituição, sendo que o amido de baixa amilose acetilado com 90 min de reação apresentou o maior grau de substituição. Luo & Shi (2012) ao estudar amido de milho com alta, média e baixa amilose acetilados também obtiveram resultados similares. Esses autores justificaram a maior facilidade de inserção de grupos acetil no amido ceroso comparado ao amido de alta amilose, devido a maior presença de sítios de reação no amido ceroso.

De acordo com Sodhi e Singh (2005), a variação do grau de substituição entre os diferentes amidos de arroz pode ser devido a diferenças no empacotamento intragranular. Eles relataram que a maneira em que as cadeias de amilose são

empacotadas em regiões amorfas, assim como o arranjo das cadeias de amilose e amilopectina podem afetar a reação de substituição química nas unidades de glicose das macromoléculas de amido.

Tabela 2. Percentual de grupos acetil (Ac%) e grau de substituição (DS) de amido de arroz de alta, média e baixa amilose acetilados em diferentes tempos de reação.

Propriedades	Tempo de modificação (min)	Amido		
		Alta [*]	Média	Baixa
% Grupos acetil	10	6,17 ^{cC}	9,23 ^{cB}	10,34 ^{cA}
	30	10,22 ^{bC}	10,75 ^{bB}	11,60 ^{bA}
	90	16,10 ^{aB}	17,85 ^{aC}	20,47 ^{aA}
Grau de substituição	10	0,24 ^{cC}	0,38 ^{cB}	0,43 ^{cA}
	30	0,42 ^{bC}	0,45 ^{bB}	0,49 ^{bA}
	90	0,72 ^{aB}	0,81 ^{aC}	0,96 ^{aA}

*Valores acompanhados por letra minúscula na mesma coluna e maiúsculas na mesma linha para cada propriedade diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

5.4.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Análise por espectroscopia FTIR foi usada para monitorar mudanças na estrutura dos amidos promovidas pela acetilação, analisando a frequência e as bandas.

A Fig. 10 apresenta o espectro de FTIR dos amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose nativos e acetilados. Os amidos nativos e acetilados apresentaram picos a 3450 cm^{-1} , o que é atribuído à vibração de estiramento O-H, e em 2960 cm^{-1} , que podem ser atribuídos ao estiramento da ligação C-H (DIOP et al., 2011).

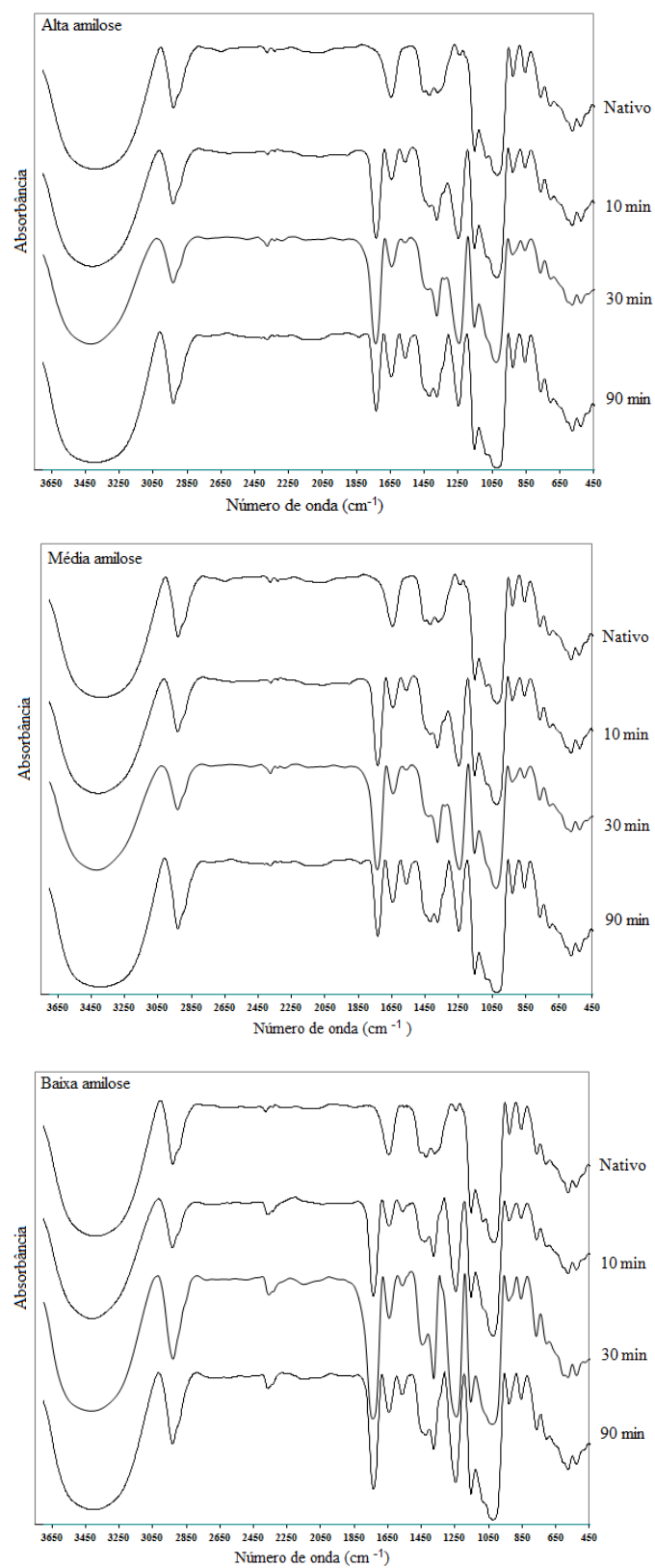


Figura 10. Espectros FTIR de amidos de arroz de alta amilose (a), média amilose (b) e baixa amilose (c), nativos e acetilados.

Os amidos acetilados com alto, médio e baixo teor de amilose, apresentaram em todos os tempos de reação a introdução do grupo carbonila ($C=O$) dos grupos acetil, sendo verificado pelo surgimento de uma banda a 1750 cm^{-1} .

A banda encontrada no amido a 1650 cm^{-1} foi designado como o deformação H-O-H, que pode ser atribuído à água associada a moléculas de amido. A redução da largura das bandas nos amidos acetilados é o resultado de uma menor afinidade para a água em comparação com os amidos nativos. Luo e Shi (2012) também relataram que os amidos acetilados possuem um caráter hidrofóbico devido à inserção de grupos acetil nas cadeias de amido.

5.4.3 Poder de inchamento e solubilidade

Os resultados de poder de inchamento e solubilidade a 90°C dos amidos de arroz estão apresentados na Tab. 3.

A acetilação reduziu o poder de inchamento dos amidos, com exceção dos amidos de baixa amilose acetilados com 10 e 30 min de reação, em que não houve diferença significativa comparado ao amido nativo. A maior redução do poder de inchamento foi mostrada nos amidos acetilados com 90 min de reação, os quais apresentaram os maiores graus de substituição (Tab 1). Em amidos acetilados, a introdução dos grupos acetil, que são grupos hidrofóbicos, pode dificultar as interações com a água, reduzindo o poder de inchamento.

A solubilidade dos amidos também foi influenciada pelas condições de acetilação. Os amidos de arroz de alta e baixa amilose, acetilados com 90 min de reação, apresentaram menor solubilidade comparados aos seus respectivos amidos nativos.

A redução da solubilidade do amido é devido ao menor lixiviamento de moléculas de amilose e pode ser resultado de uma maior interação entre as moléculas de amilose e amilopectina, impedindo a saída de moléculas do grânulo. As mudanças na massa molecular dos amidos acetilados devido a introdução de grupos acetil pode dificultar o lixiviamento das moléculas de amilose dos grânulos, embora, a característica de solubilidade do amido acetilado seja dependente do grau de substituição e de polimerização. Lawal (2004) também encontrou tendências

semelhantes de diminuição na solubilidade de amido de inhame acetilado, em comparação com o amido nativo.

Tabela 3. Efeito do tempo de acetilação amido de arroz com baixo, médio e alto teor de amilose sobre o poder de inchamento e solubilidade.

Amido	Tratamento (min)	Poder de Inchamento (g.g^{-1}) *	Solubilidade (%)
Alta amilose	Nativo	17,84 ^a	12,74 ^a
	10	11,28 ^c	11,60 ^a
	30	13,33 ^b	12,01 ^a
	90	7,62 ^d	7,27 ^b
Média amilose	Nativo	22,18 ^a	11,29 ^b
	10	13,91 ^c	8,46 ^c
	30	16,44 ^b	13,71 ^a
	90	9,82 ^d	11,93 ^b
Baixa amilose	Nativo	17,15 ^a	6,09 ^a
	10	18,76 ^a	4,85 ^b
	30	16,07 ^a	2,98 ^c
	90	9,51 ^b	4,26 ^b

* Letras minúsculas distintas na mesma coluna para o mesmo teor de amilose representam diferença significativa entre as médias submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

5.4.4 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta dos amidos de alto, médio e baixo teor de amilose nativos e acetilados estão apresentados na Tab. 4 e suas respectivas curvas de RVA na Fig. 11. A acetilação reduziu a temperatura de pasta dos amidos de arroz, com exceção do amido de arroz de alta amilose com o menor GS (10 min de reação). De acordo com Saartrat et al, (2005), a temperatura de pasta apresenta menor valor em amido acetilado que em amido nativo, e este diminui à medida que os grupos acetil aumentam. Esta característica é uma das muitas vantagens conseguidas com a acetilação, porque permite sugerir o uso dos amidos acetilados

em processos em que um agente de espessamento deve gelatinizar a temperaturas mais baixas, ou simplesmente para reduzir os custos de energia durante o fabrico dos produtos em que são utilizados esses amidos (BETANCUR et al., 1997).

Tabela 4. Propriedades de pasta de amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose nativos e acetilados.

Propriedades ^a	Tempo de reação (min)	Alta amilose	Média amilose	Baixa amilose
Temperatura de pasta (°C)	Nativo	75,42 ^{bA}	70,65 ^{aB}	65,85 ^{aC}
	10	81,80 ^{aA}	62,55 ^{bB}	50,22 ^{bC}
	30	61,97 ^{cA}	59,55 ^{bcA}	50,07 ^{bB}
	90	nd*	52,77 ^{cA}	53,35 ^{bA}
Pico de viscosidade (RVU)	Nativo	261,66 ^{bC}	290,50 ^{aB}	324,37 ^{bA}
	10	318,00 ^{aB}	204,29 ^{bC}	413,37 ^{aA}
	30	285,54 ^{bB}	203,54 ^{bC}	393,62 ^{aA}
	90	47,33 ^{cB}	131,41 ^{cA}	107,83 ^{cA}
Quebra (RVU)	Nativo	30,46 ^{bcA}	51,08 ^{aA}	178,25 ^{bB}
	10	65,87 ^{aB}	23,96 ^{bC}	284,62 ^{aA}
	30	36,83 ^{abB}	25,12 ^{bB}	280,92 ^{aA}
	90	4,38 ^{cB}	1,50 ^{cB}	80,71 ^{cA}
Viscosidade final (RVU)	Nativo	349,54 ^{aA}	347,21 ^{aA}	197,08 ^{bB}
	10	325,21 ^{abA}	284,87 ^{bB}	318,37 ^{aA}
	30	312,42 ^{bAB}	290,00 ^{bB}	321,42 ^{aA}
	90	104,12 ^{cB}	223,62 ^{cA}	55,58 ^{cC}
Retrogradação (RVU)	Nativo	118,33 ^{aA}	107,79 ^{aA}	50,96 ^{bB}
	10	73,08 ^{bC}	104,54 ^{aB}	189,62 ^{aA}
	30	63,71 ^{bC}	111,58 ^{aB}	208,71 ^{aA}
	90	61,16 ^{bB}	93,71 ^{aA}	28,46 ^{cC}

*Valores acompanhados por letra minúscula na mesma coluna e maiúsculas na mesma linha para cada propriedade diferem estatisticamente ($p < 0,05$), * nd = não detectado.

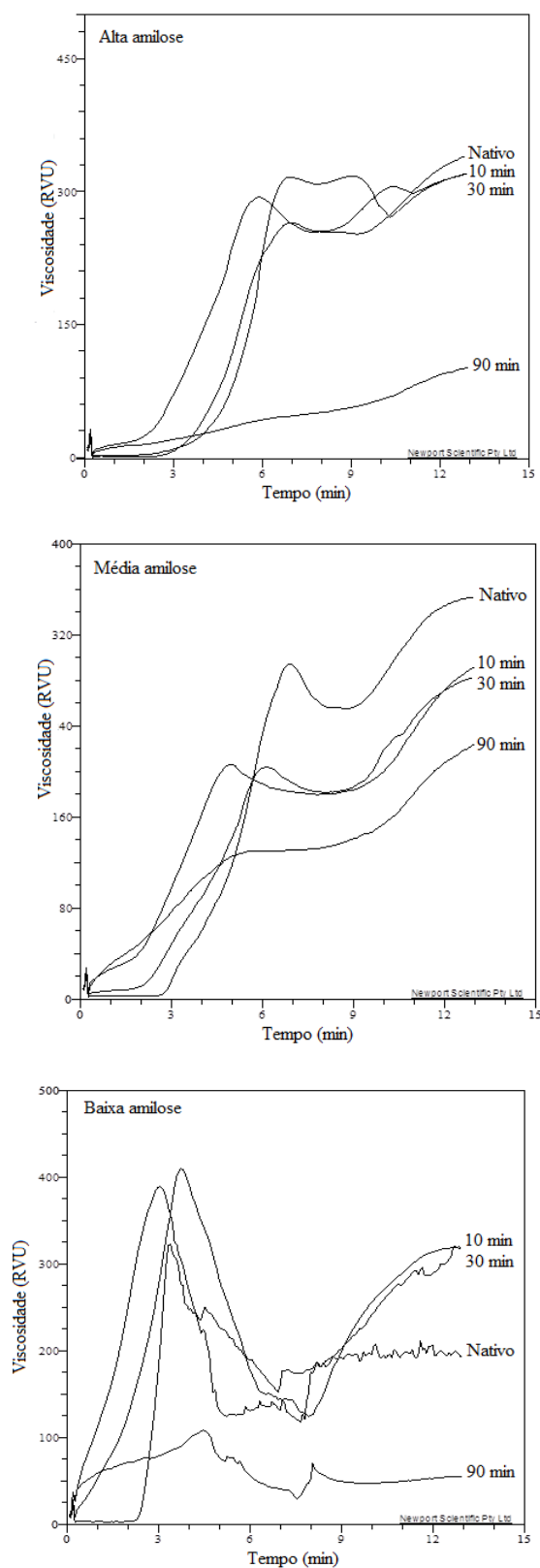


Figura 11. Viscoamulografia de amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose nativos e acetilados.

Os amidos de arroz de alto e baixo teor de amilose, acetilados com baixo grau de substituição (10 e 30 min de reação), apresentaram maiores picos de viscosidade comparados aos nativos. Esses amidos acetilados com maior grau de substituição (90 min de reação) apresentaram redução nos picos de viscosidade comparados aos respectivos amidos nativos. O pico de viscosidade dos amidos de média amilose em todos os graus de substituição apresentaram valores menores quando comparados ao amido nativo. A acetilação reduziu a viscosidade final dos amidos de arroz, com exceção dos amidos de baixa amilose quando acetilados com 10 e 30 min de reação, onde houve um aumento na viscosidade final. Saartrat et al, (2005) também verificaram que as viscosidades de amidos de canna acetilados foram menores do que aqueles dos amidos nativos.

A intensa redução na viscosidade dos amidos de arroz de alta, média e baixa amilose acetilados com 90 min de reação (Fig. 14) não pode ser atribuída a gelatinização parcial dos grânulos de amido, pois conforme as micrografias mostradas na Tab. 8 não houve perda da integridade granular. A redução da viscosidade dos amidos acetilados comparados aos amidos nativos pode ser devido a introdução dos grupos acetil que impede a associação das cadeias de amido reduzindo a formação de ligações de hidrogênio o que proporciona caráter hidrofóbico.

A acetilação reduziu a quebra da viscosidade dos amidos de arroz, aumentando a estabilidade térmica e mecânica dos amidos acetilados, com exceção dos amidos de alta e baixa amilose acetilados com 10 e 30 min de reação.

Os amidos de arroz de alta amilose acetilados em todos os graus de substituição e o amido de baixa amilose acetilado com maior grau de acetilação apresentaram menores valores de retrogradação comparados ao amido nativo. A redução da retrogradação se deve a introdução de grupos acetil nas cadeias de amido que podem evitar estreito alinhamento paralelo das cadeias de amilose e, assim, obtendo-se valores inferiores. Sodhi e Singh (2005) também verificaram que amidos acetilados apresentaram valores de retrogradação mais elevados do que seus respectivos nativos. No entanto esse efeito não foi observado para os amidos com baixo e médio teor de amilose acetilados com 10 e 30 min de reação (Tab. 4).

5.4.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As propriedades térmicas dos amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose nativos e acetilados foram determinadas utilizando calorimetria diferencial de varredura estando apresentadas na Tab. 5. Os amidos nativos apresentaram maior temperatura de gelatinização não apresentando diferença para os diferentes teores de amilose. A acetilação reduziu os valores de T_o , T_p e T_c , sendo que quanto maior foi o tempo de reação menor foi a temperatura de gelatinização dos amidos. A gelatinização do amido é controlada em parte pela estrutura molecular da amilopectina e pela estrutura dos grânulos. A diminuição da temperatura de gelatinização ocorre devido a abertura prematura das hélices duplas de amilopectina e a fusão das lamelas cristalinas dos amidos induzidos pela acetilação.

Luo e Shi (2012) e Singh et al. (2004), ao acetilar amido de milho e de batata, respectivamente, relataram uma diminuição significativa da temperatura de gelatinização do amido após acetilação. Wotton e Bamunuarachchi, (1979) também relataram que a introdução dos grupos acetil nas cadeias de polímero resultou em desestabilização da estrutura granular, provocando assim uma diminuição da temperatura de gelatinização.

Quando comparados os valores de ΔH dos amidos nativos pode-se observar um maior valor do ΔH no amido com baixo teor de amilose, este resultado pode ser explicado pela diferença na cristalinidade do amido, uma vez que quanto maior a cristalinidade do amido, maior energia necessária para gelificação. Com a acetilação ocorreu uma diminuição dos valores das ΔH dos amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose (Tab. 5). A ΔH reflete principalmente a perda da ordem das duplas hélices, e a perda da cristalinidade dentro do grânulo. Quanto maior for o GS do amido (Tab. 1), uma maior diminuição nos valores ΔH será observada.

Tabela 5. Propriedades térmicas de amido de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose, nativos e acetilados.

Amostra	Tempo de reação (min)	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)
Alta amilose	Nativo	59,79	65,70	71,05	7,28
	10	54,90	63,07	67,49	1,17
	30	52,22	53,32	59,46	0,27
	90	49,90	50,22	54,60	0,01
Média amilose	Nativo	61,89	67,94	73,56	9,44
	10	52,28	54,80	60,04	0,07
	30	51,46	50,37	57,36	0,06
	90	45,15	47,66	50,18	0,04
Baixa amilose	Nativo	60,62	67,36	75,70	13,57
	10	56,57	61,29	64,30	0,69
	30	50,62	55,99	65,54	0,42
	90	50,17	57,07	59,68	0,03

A diminuição nos valores de ΔH dos amidos acetilados é resultado de que algumas das duplas hélices presentes em regiões cristalinas e não cristalinas e dos grânulos foram rompidas durante a reação de acetilação. O ΔH menor sugere uma menor percentagem de estruturas organizadas ou menor estabilidade dos cristais.

5.4.6 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) tem sido utilizada para avaliação da estabilidade térmica dos materiais, sendo um dos principais métodos de avaliação das propriedades térmicas. De acordo com as curvas de TGA, todos os amidos de arroz, nativos e acetilados (Fig. 12a, 12b e 12c) apresentaram uma primeira perda de massa em um intervalo de 40-125 °C provavelmente originada pela perda de umidade.

Os amidos nativos de baixa e média amilose (Fig. 12a e 12b) apresentaram maior perda de massa inicial que os amidos acetilados em torno de 10% a uma

temperatura entre 40-250 °C, enquanto que os amidos acetilados nos diferentes tempos apresentaram comportamento similar entre si, perdendo em torno de 6 % de peso neste intervalo.

O amido de arroz nativo com alto teor de amilose e o acetilado com 90 minutos de reação apresentaram menor perda (5,5 e 3,0 %) respectivamente, no intervalo de 40-250 °C, enquanto que os amidos acetilados com 10 e 30 min de reação perderam em torno de 9,0 % de massa. A menor perda de massa do amido acetilado com 90 min de reação indica maior estabilidade deste material até 250 °C.

No intervalo de 250-400 °C os amidos de baixa e média amilose acetilados apresentaram comportamento similar (perda aproximada de 70% de massa), mostrando que a acetilação neste intervalo de tempo influencia no comportamento térmico, entretanto, a intensidade da acetilação não altera estes resultados.

No intervalo de temperatura de 250-400 °C o amido de arroz de alta amilose acetilado com 90 min de reação apresentou em torno de 85.0% de perda de massa, enquanto que os demais amidos nativos e acetilados com 10 e 30 min de reação apresentaram perda de aproximadamente 70,0 % de massa.

O amido nativo de baixo teor de amilose mostrou uma maior perda de massa inicial, em comparação aos acetilados, que se estendeu até 280 °C. Este resultado pode ser dado devido a maior cristalinidade do amido nativo.

Garg & Jana, (2011) ao estudar amidos acetilados com diferentes graus de substituição verificaram que as amostras de amido acetilado foram termicamente mais estáveis do que o amido nativo. Os autores justificam que o aumento da estabilidade térmica foi devido a baixa quantidade de grupos hidroxila remanescentes em molécula de amido após a modificação. O aumento na massa molecular e as ligações covalentes devido a acilação dos grupos hidroxila também foram responsáveis pelo aumento da estabilidade térmica.

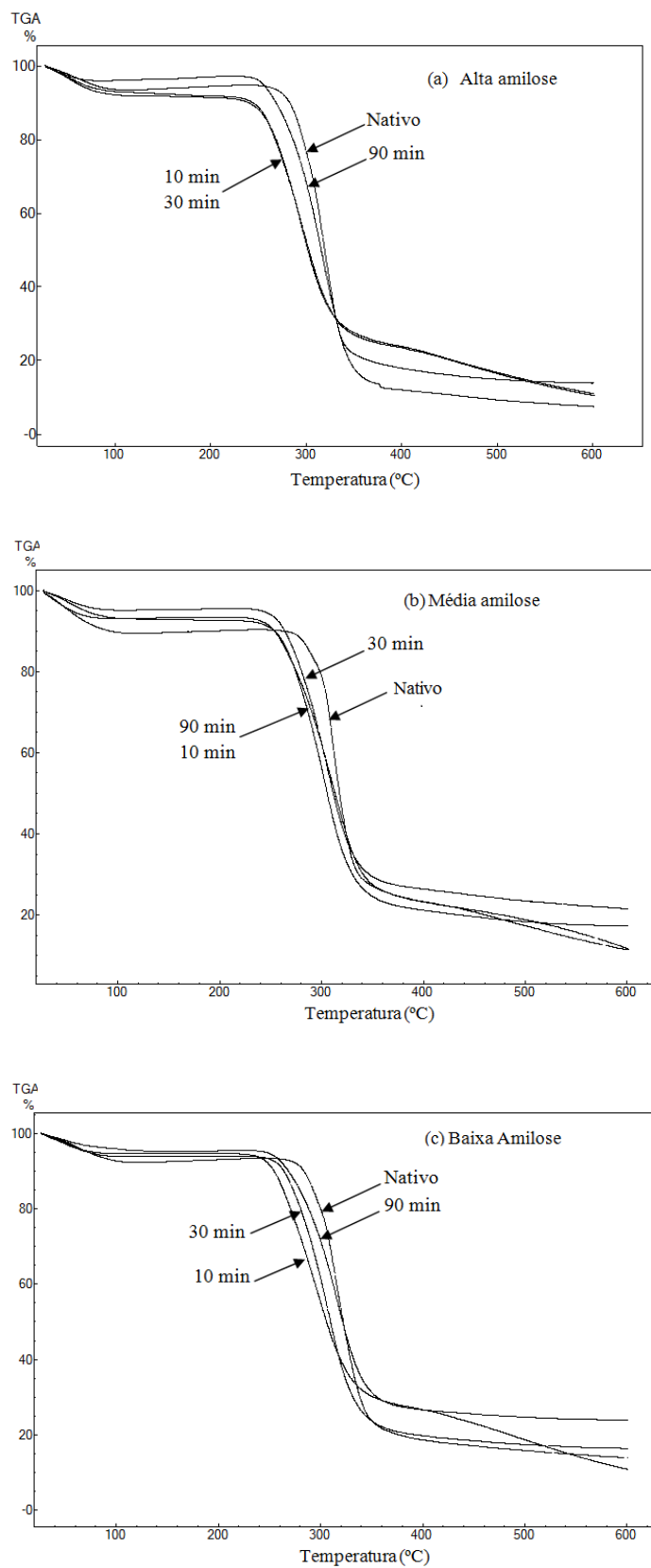


Figura 12. Curvas da análise termogravimétrica (TGA) de amidos de arroz com alto (a), médio (b) e baixo (c) teor de amilose, nativos e acetilados.

5.4.7 Índice de cristalinidade relativa (Raio-X)

Os difratogramas de raios X dos amidos de arroz nativos e acetilados estão apresentados na Fig. 13. Os amidos de arroz nativos e acetilados mostraram padrões de difração típicos da estrutura cristalina do tipo A, tal como definido pelos picos a $2\text{-teta} = 15^\circ, 17^\circ, 17,8^\circ, 19^\circ, 23^\circ$. A intensidade destes está apresentada na Tab 6.

Tabela 6. Intensidade dos picos principais dos difratogramas de raio X e cristalinidade relativa dos amidos de arroz com diferentes teores de amilose e diferentes tempos de acetilação.

Amido	Tempo de acetilação (min)	Intensidade (CPS ^a)					CR ^b (%)
		15	17	18	20	23	
	Nativo	1708	1998	2090	1440	1708	22,86
Alta amilose	10	616	758	838	770	922	19,90
	30	770	898	1040	914	1126	18,27
	90	642	750	876	828	1000	14,79
	Nativo	884	1102	1226	950	1302	27,26
Média amilose	10	612	758	864	772	990	23,90
	30	604	776	850	804	1018	23,15
	90	794	1032	1096	960	1240	20,24
	Nativo	820	1036	1092	834	1200	33,71
Baixa amilose	10	678	828	952	744	1004	25,99
	30	686	812	852	694	956	25,75
	90	930	1110	1260	1028	1288	19,03

^a CPS: Contagens por segundo

^b Cristalinidade Relativa

Os amidos acetilados mostraram uma diminuição nas intensidades dos picos em comparação com o nativo, com exceção do amido de baixo teor de amilose acetilado com 90 min de reação. A acetilação reduziu a cristalinidade relativa de

todos os amidos (Tab. 6 e Fig. 13), e os valores mais baixos foram encontrados nos amidos acetilados com o maior grau de substituição.

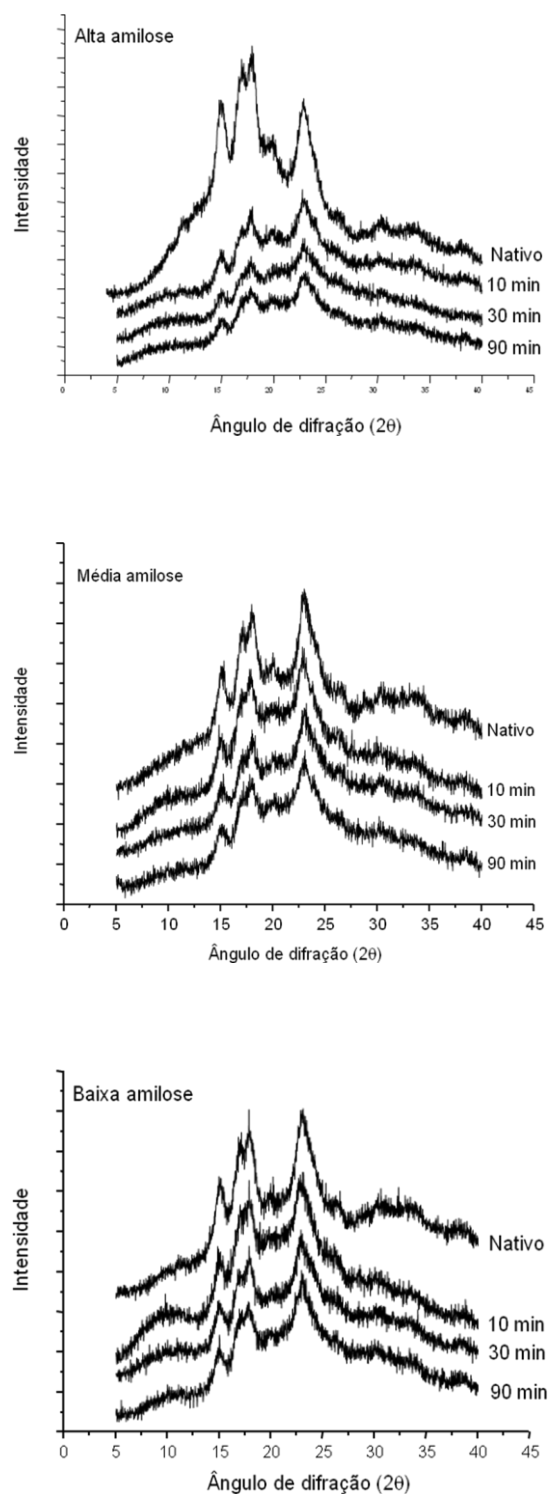


Figura 13. Difrátogramas de raios X de amidos de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose, nativos e acetilados.

Sha et al., (2012) relataram que com o aumento da proporção de grupos acetil no amido de arroz, a cristalinidade foi gradualmente reduzida e o pico de difração por sua vez também foi reduzido. Eles descreveram que as mudanças nos padrões de difração indicam que as interações do tipo de ligações de hidrogênio intermolecular foram danificadas.

Conforme Luo e Shi (2012) a acetilação reduz a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares o que resulta na redução da estrutura cristalina ordenada. Estes autores estudaram a acetilação de amidos de milho com graus de substituição entre 0,27 e 1,29, e reportaram que houve uma destruição na estrutura cristalina nos amidos com alto grau de substituição. Xu et al. (2004) também relataram que o amido de milho de alta amilose, quando acetilado com um grau de substituição entre 1,11 e 2,23, apresentou destruição das estruturas cristalinas ordenadas.

5.4.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos de amido foram investigados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e são apresentados na Fig 14.

As micrografias dos amidos de arroz mostraram a presença de grânulos poliédricos. Os amidos acetilados apresentaram leve agregação dos grânulos nos tempos de 10 min e 30 min de reação.

Sodhi e Singh (2005) relataram que o MEV não revelou diferenças significativas entre morfologia externa de amidos nativos e acetilados. No entanto, esses autores relataram que a acetilação trouxe ligeira agregação de grânulos. Observações semelhantes foram relatados em relação à morfologia de amidos acetilados de milho, batata (Singh et al., 2004) e amidos de arroz (Gonzalez & Perez , 2002).

Sha et al., (2012) mostraram que a superfície de grânulos de amido acetilado era menos lisa do que o amido nativo. No entanto, os grânulos ainda mantiveram uma estrutura de partícula relativamente completa após a modificação. Esses autores justificam que a maior intensidade de acetilação danificou as ligações de hidrogênio intermoleculares e alguns grânulos de amido foram rompidos.

Reportam ainda, que as regiões cristalinas também estavam envolvidos na reação, mas sem ocorrência da perda da estrutura granular.

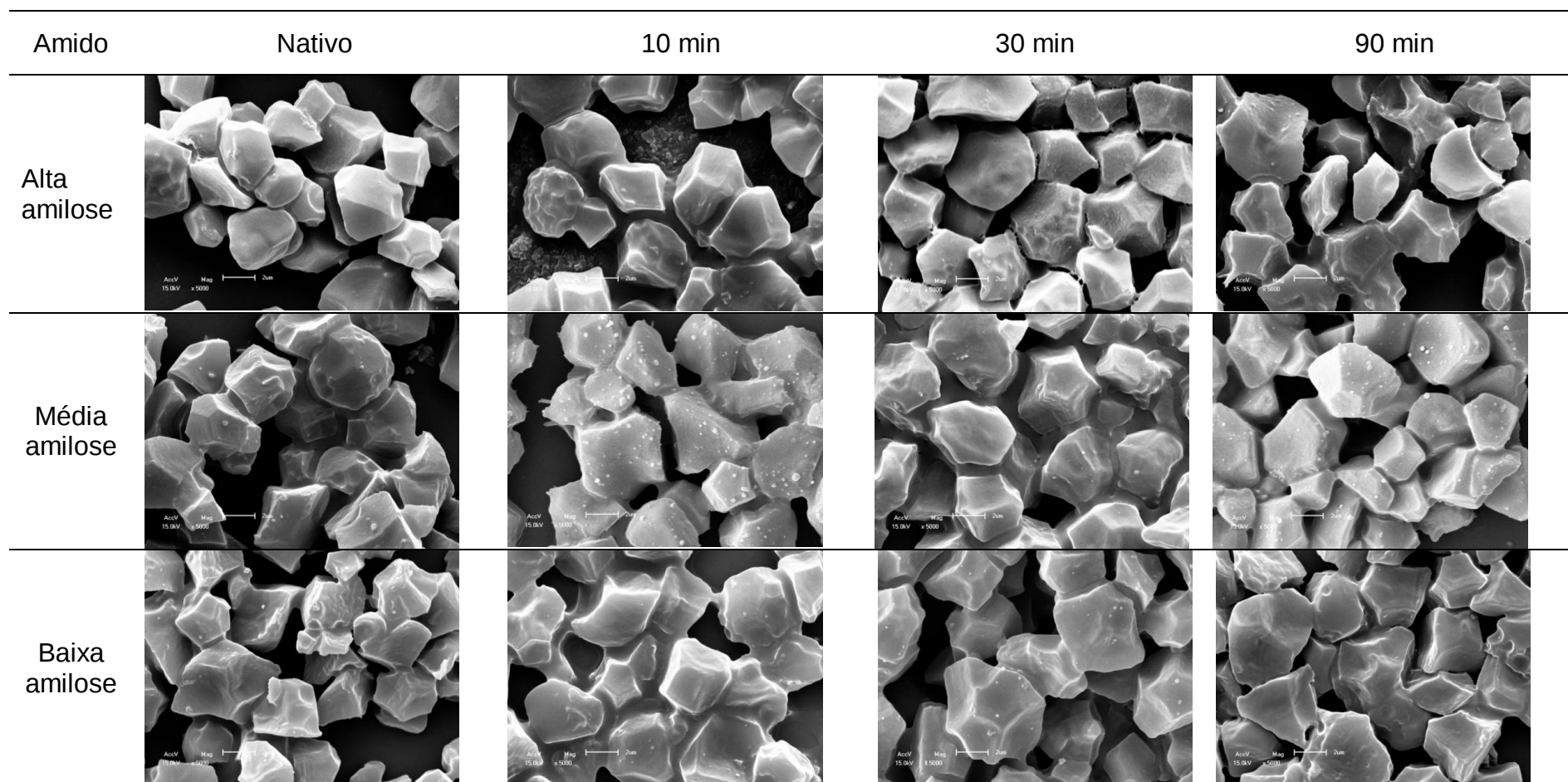


Figura 14. Micrografias obtida através de microscopia eletrônica de varredura dos amidos de arroz com diferentes teores de amilose nativos e acetilados.

5.5 Filmes de amido de arroz

5.5.1 Avaliação subjetiva

No presente estudo foi possível obter filmes com amido de alta e de média amilose. Vários testes preliminares foram realizados com o objetivo de obter filmes de amido de baixa amilose. Entretanto, não foi possível obter filme de amido de baixa amilose com características desejáveis. Em baixas concentrações de plastificante o filme se mostrou quebradiço, enquanto que com concentrações mais elevadas apresentaram alta pegajosidade, razão pela qual os mesmos não foram avaliados.

A amilose proporciona melhor formação de filmes devido à capacidade de suas cadeias lineares em interagir por ligações de hidrogênio com maior facilidade do que a amilopectina.

Segundo Rindlav-Westling et al., (1998) filmes elaborados de amilopectina são bastante frágeis devido ao maior grau de emaranhamento provocado pela extensa ramificação e o comprimento médio de cadeia curta da amilopectina.

Ming et al., (2011) caracterizaram filmes biodegradáveis de amido de milho com diferentes teores de amilose e verificaram que o teor de amilose afetou significativamente as propriedades mecânicas e térmicas dos filmes biodegradáveis a base de amido. Reportaram ainda, que os filmes elaborados com amido de alta amilose apresentaram melhores propriedades mecânicas. Os autores justificaram os resultados pelo fácil emaranhamento de longas cadeias de amilose e também pela estrutura granular retida em filmes de alta amilose, que podem atuar como auto-reforço.

Os filmes de amido de alta e média amilose apresentaram-se transparentes e brilhantes (Fig. 15 e 16). A acetilação proporcionou filmes com melhor continuidade do que os com amido nativo.

A melhor continuidade dos filmes pode ser explicada pela acetilação diminuir a viscosidade final dos géis, proporcionando assim, uma solução filmogênica menos viscosa, com mais sólidos e apresentando menor retrogradação do que os amidos nativos.

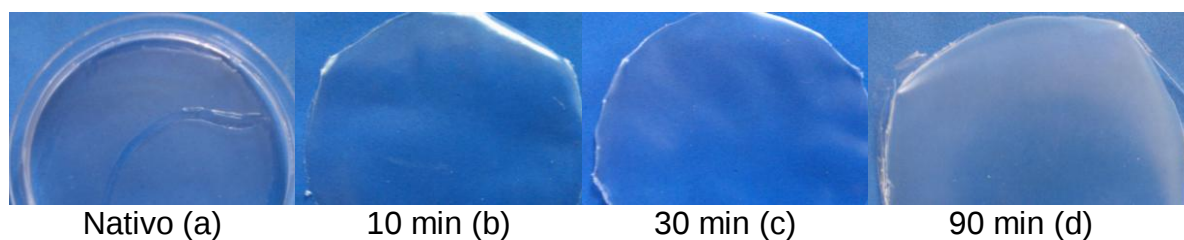


Figura 15. Filmes de amido de arroz de alta amilose nativos e acetilados em diferentes tempos.

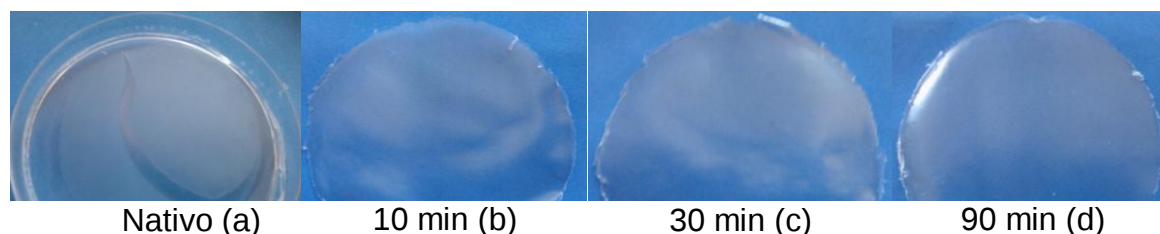


Figura 16. Filmes de amido de arroz de média amilose nativos e acetilados em diferentes tempos.

5.5.2 Determinação de espessura, umidade cor e opacidade

Na Tab. 7 estão apresentados os valores de espessura, umidade e propriedades de cor de filmes de amido de arroz com diferentes teores de amilose nativos e acetilados.

A espessura dos filmes elaborados com amido de alta amilose variou de 0,148 a 0,159 mm, sendo que a menor espessura foi do filme elaborado com amido de alta amilose submetido ao tratamento de 30 min, os demais não apresentaram diferenças entre si. Para os filmes elaborados com amido de média amilose não foram observadas diferenças significativas apresentando média de 0,155 mm.

Segundo Embuscado e Huber (2009) os filmes biodegradáveis geralmente apresentam espessuras menores que 0,300 mm, sendo esta uma característica física importante, pois em seu uso como embalagem deve-se considerar o tipo, volume e peso do alimento que vai ser armazenado.

A espessura é uma característica importante, pois a partir dela é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira a gases e ao vapor de água do material, bem como fazer estimativas da vida útil de alimentos neles acondicionados. Pela determinação da espessura é possível avaliar a homogeneidade de um filme quanto a este parâmetro. Variações na espessura de um material acarretam problemas no seu desempenho mecânico e variações nas propriedades de barreira (CETEA, 1996).

Tabela 7. Espessura, umidade e propriedades de cor de filmes de amido de arroz com diferentes teores de amilose nativos e acetilados.

Amido	Trat.	Espessura (mm)	Umidade (%)	L*	a*	b*	Opacidade (%)
Alta amilose	Nativo	0,158 ^a	13,49 ^b	95,72 ^b	0,05 ^d	2,52 ^a	12,38 ^a
	10 min	0,158 ^a	21,43 ^a	96,40 ^a	0,33 ^a	1,87 ^c	11,98 ^a
	30 min	0,148 ^b	18,76 ^a	96,01 ^{ab}	0,24 ^b	2,01 ^{bc}	11,29 ^a
	90 min	0,158 ^a	20,11 ^a	95,73 ^b	0,17 ^c	2,17 ^b	11,51 ^a
Média amilose	Nativo	0,159 ^a	20,67 ^b	95,66 ^b	-0,20 ^c	2,71 ^a	13,27 ^a
	10 min	0,149 ^a	21,08 ^b	96,20 ^a	0,41 ^a	1,84 ^b	11,23 ^b
	30 min	0,155 ^a	20,17 ^b	96,38 ^a	0,19 ^b	2,55 ^a	11,65 ^b
	90 min	0,156 ^a	23,42 ^a	95,53 ^b	0,21 ^b	2,51 ^a	11,59 ^b

*Valores acompanhados por letra minúscula na mesma coluna para cada propriedade diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Os filmes elaborados com amido de alta amilose acetilados apresentaram maior teor de umidade do que aqueles com amido nativo. Nos filmes de média amilose observou-se maior teor de umidade somente no filme elaborado com amido acetilado por 90 min. O menor valor de umidade para os filmes elaborados com amido nativo de alta amilose se deve a maior quantidade de amilose que promove uma retrogradação mais intensa do amido, promovendo uma maior sinerese, facilitando a secagem. A acetilação, por introduzir grupos acetil promove um maior distanciamento entre as cadeias de

amido, reduzindo a retrogradação e por conseguinte retendo mais água no filme.

Tendo em vista que o teor de umidade influencia fortemente na qualidade e estabilidade dos alimentos. A alta umidade dos filmes pode proporcionar alterações nos mesmos, ou ainda, modificar o conteúdo de umidade nos produtos alimentícios, que podem apresentar redução na vida de prateleira pela aceleração de reações físicas, químicas e enzimáticas. (LABUZA & CONTRERAS-MEDELLIN, 1981).

Dentre as propriedades óticas de filmes para aplicação em embalagem, destacam-se a cor e a transparência (opacidade). A cor pode ser considerada um importante parâmetro de caracterização dos filmes e está associada com a matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos (BERTUZZI; ARMADA; GOTTIFREDI, 2007). Para uma boa apresentação visual do produto, é desejável que as embalagens plásticas apresentem elevado brilho e alta transparência, entretanto este não é fator limitante de uso.

A cor e a opacidade dos filmes elaborados com amido de arroz nativos e acetilados estão apresentados na Tab. 7. Os filmes de alta e média amilose modificados com 10 e 30 min apresentam valores de L^* significativamente superiores aos filmes elaborados com amidos nativos e modificados com 90 min de reação. A acetilação em níveis mais baixos aumenta os valores de L^* , entretanto quando o GS aumenta, os valores de L^* tendem a diminuir. A acetilação também promoveu uma diminuição significativa dos valores de b^* nos filmes elaborados com amido de alta amilose acetilado em todos os níveis, entretanto nos filmes de média amilose ocorreu diferença apenas para o filme acetilado com 10 min, que apresentou menor valor.

A opacidade dos filmes de amido de arroz de alta amilose acetilados não apresentou diferenças significativas ($p \leq 0,05$), já para os filmes elaborados com amido de média amilose, a acetilação reduziu a opacidade.

5.5.3 Solubilidade em água, solubilidade em ácido e permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Na Tab. 8 pode-se observar os valores de solubilidade em água, solubilidade em ácido e permeabilidade ao vapor de água.

Os valores obtidos para a solubilidade em ácido dos filmes de amido de arroz foram elevados, superiores a 30%, demonstrando deficiência destes quando em contato com o ácido.

A acetilação não trouxe melhoras para esta propriedade dos filmes, sugerindo que os filmes de amido de arroz nativos e acetilados não são indicados para a cobertura de alimentos ácidos.

A solubilidade em água dos amidos nativos e acetilados estão apresentados na Tab. 8.

Os menores valores de solubilidade em água foram obtidos nos amidos nativos. Ao contrário do esperado, a acetilação promoveu uma maior solubilidade dos filmes de amido, provavelmente por facilitar a penetração da água no interior do filme pela redução da retrogradação.

Segundo Larotonda (2002) o amido acetilado tem aplicações que são reguladas por suas características, tais como, o grau de acetilação, peso molecular, entre outras. Estas características variam muito dependendo do grau de substituição, sugerindo assim, que as intensidades da acetilação utilizadas neste estudo não foram suficientes a ponto de melhorar esta propriedade.

A solubilidade é considerada uma propriedade importante na aplicação de filmes comestíveis e como proteção de alimentos com alta atividade de água, alimentos ácidos ou quando os filmes devem estar em contato com a água durante o processamento de cobertura do alimento (GONTARD & GUILBERT, 1998; PEREZ-GAGO & KROCHTA, 2001).

Tabela 8. Solubilidade em água, solubilidade em ácido e permeabilidade ao vapor de água de filmes elaborados com amido de arroz nativos e acetilados.

Amido	Trat.	Sol. Ac. (%)	Sol. água (%)	PVA 24h	PVA 48h
Alta amilose	Nativo	34,69 ^a	19,94 ^c	nd*	nd
	10 min	39,78 ^a	25,75 ^b	9,71 ^a	15,10 ^b
	30 min	38,10 ^a	24,61 ^b	6,87 ^b	12,56 ^c
	90 min	36,57 ^a	41,19 ^a	7,87 ^b	20,38 ^a
Média amilose	Nativo	38,26 ^a	17,19 ^c	nd	nd
	10 min	40,54 ^a	22,50 ^b	5,33 ^b	13,64 ^b
	30 min	32,34 ^a	32,11 ^a	9,54 ^a	17,51 ^a
	90 min	30,87 ^a	30,07 ^a	10,33 ^a	19,70 ^a

*Valores acompanhados por letra minúscula na mesma coluna para cada propriedade diferem estatisticamente ($p < 0,05$), * nd = não detectado; Trat= tratamento; Sol. Ac.= Solubilidade em ácido (%); Sol. Água= Solubilidade em água (%); PVA 24 = Permeabilidade ao vapor de água em 24h (g.mm/m².dia.kPa); PVA 48 = Permeabilidade ao vapor de água em 24h (g.mm/m².dia.kPa).

A permeabilidade é definida como uma propriedade do filme em condições bem definidas de temperatura, umidade relativa, espessura e diferença de pressão parcial. A permeabilidade é o produto da difusividade, que representa a mobilidade das moléculas do permeado através do polímero, e do coeficiente de solubilidade, representado pela concentração do permeante no interior do filme em equilíbrio com uma pressão externa (GONRARD, 1998).

Os filmes elaborados com amido nativo (Fig 14a e 15a) não puderam ser avaliados quanto à permeabilidade ao vapor de água, pois estes apresentaram rupturas ao longo do filme fazendo com que esta propriedade não pudesse ser avaliada.

A intensidade de acetilação influenciou significativamente a permeabilidade para os filmes de alta amilose, sendo que os filmes elaborados com amido acetilado por 30 min e 90 min apresentaram os menores valores comparados com o amido modificado por 10 min quando avaliados por 24h. Tal

comportamento não foi observado nos filmes de média amilose, pois nestes, a permeabilidade ao vapor de água aumentou conforme aumentou a intensidade da acetilação.

Matta Jr. et al., (2011) ao estudar as propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol obtiveram valores de permeabilidade ao vapor de água durante 24h de 9,44 a 24,45 g.mm/m².dia.kPa, ou seja, valores similares e/ou superiores aos encontrados neste estudo.

Quando avaliado por 48h os valores de permeabilidade ao vapor de água aumentaram grandemente, ocorrendo a duplicação em muitos tratamentos comparados a 24 horas. Para o amido de alta amilose a permeabilidade aumentou com a intensidade da acetilação. Nos filmes com amido de média amilose os valores encontrados aumentaram proporcionalmente à intensidade da acetilação.

A derivação química há muito tempo tem sido estudada como uma maneira de resolver a alta higroscopicidade do amido, com o objetivo de produzir materiais à prova d' água. Segundo Fringant et al., (1998), dependendo da natureza dos substituintes e do grau de substituição (GS), as propriedades do amido modificado podem variar de uma maneira bem ampla.

A intensidade de modificação utilizada neste estudo promoveu alterações significativas para esta propriedade, aumentando significativamente a permeabilidade ao vapor de água, o que é indesejável em filmes para aplicação em produtos alimentícios.

Quando a atividade de água do alimento é maior do que a umidade relativa do ambiente na qual este se encontra, ocorre migração de água do alimento para o ambiente, provocando alterações das características como a textura e propriedades organolépticas. Em caso contrário, ocorre troca de umidade do ambiente para o interior do alimento podendo criar condições favoráveis para o desenvolvimento de micro-organismos ou ainda provocar a perda da textura e da aparência característica do produto (LABUZA & CONTRERAS-MEDELLIN, 1981).

5.5.4 Propriedades mecânicas

Os resultados obtidos de resistência à tração e alongação dos filmes elaborados de amido de arroz de diferentes teores de amilose nativos e acetilados estão apresentados na Tab. 9.

Os valores de resistência à tração dos filmes de amido modificados com 10 min de reação foram inferiores quando comparados a seus respectivos amidos nativos, entretanto, este valor aumentou com a intensidade da modificação.

Larotonda (2002), ao aplicar amido acetilado em papel observou que o papel suportou tensões de ruptura cerca de 1,5 vez maior do que as amostras não impregnadas. Tais resultados levam acreditar que em níveis superiores a acetilação tende a aumentar os valores destes parâmetro.

Meira (2012), ao caracterizar filmes de amido de mandioca modificado por reticulação e acetilação obteve valores superiores aos encontrados neste estudo, o autor observou que os filmes elaborados com amido acetilado com GS de 0,6 apresentaram maior resistência a tração que os filmes elaborados com GS 1,1.

Os valores para alongação (Tab. 9) demonstram que uso de amido acetilado na elaboração dos filmes proporcionou filmes mais flexíveis e elásticos comparado aos filmes com amido nativo. Os filmes elaborados com amido de alta amilose acetilados não diferiram entre si. Já o amido de média amilose os tempos de acetilação de 10 e 30 minutos de reação apresentaram os maiores valores para essa propriedade, evidenciando que acetilações mais intensas podem reduzir a alongação. Este comportamento nas propriedades mecânicas dos filmes de amido acetilado é explicado pela substituição dos grupos OH⁻ na molécula de amido pelo grupo acetil provendo maior alongação.

Tabela 9. Propriedades mecânicas dos filmes elaborados com amido de arroz com diferentes teores de amilose nativos e acetilados.

Amido	Tratamento*	Resistência à tração (Mpa).	Elongação (%)
Alta amilose	Nativo	2,48 ^b	64,30 ^b
	10 min	0,93 ^d	106,00 ^a
	30 min	1,52 ^c	105,95 ^a
	90 min	3,22 ^a	95,85 ^a
Média amilose	Nativo	3,51 ^a	11,35 ^c
	10 min	1,05 ^b	95,40 ^{ab}
	30 min	1,45 ^b	109,05 ^a
	90 min	2,19 ^{ab}	82,70 ^b

*Valores acompanhados por letra minúscula na mesma coluna para cada propriedade diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

5.5.5 Análise termogravimétrica

As curvas obtidas por análise termogravimétrica (TGA) dos filmes de amido de arroz de alta e média amilose nativos e acetilados estão apresentadas nas Fig. 17 e 18.

De acordo com as curvas de TGA, observa-se que os filmes dos amidos de alta e média amilose apresentaram comportamentos semelhantes de degradação térmica, ocorrendo diferenças somente entre os tratamentos para uma mesma faixa de amilose.

Verifica-se que os filmes de amidos de arroz nativos e acetilados apresentaram uma primeira perda de massa em um intervalo de 40-125 °C originada a partir da perda de umidade. Os filmes elaborados com os amidos nativos apresentaram uma maior resistência inicial à degradação pela temperatura, pois a perda de massa começou posterior aos filmes de amidos acetilados. Enquanto que os filmes elaborados com amidos nativos perderam

em torno de 14% de massa até 250°C, os filmes de amido acetilado neste intervalo de temperatura já tinham perdido em torno de 18 a 20% de massa.

As interações inter e intra moleculares podem afetar fortemente a temperatura de início de decomposição térmica de um polímero, estando relacionado à forma como o calor é transportado pela massa polimérica. O transporte de calor mais eficiente favorecerá a degradação térmica, o inverso causará uma degradação superficial. A mobilidade das macromoléculas a uma determinada temperatura também afetará a sua estabilidade térmica naquela temperatura. (PAOLI, 2008)

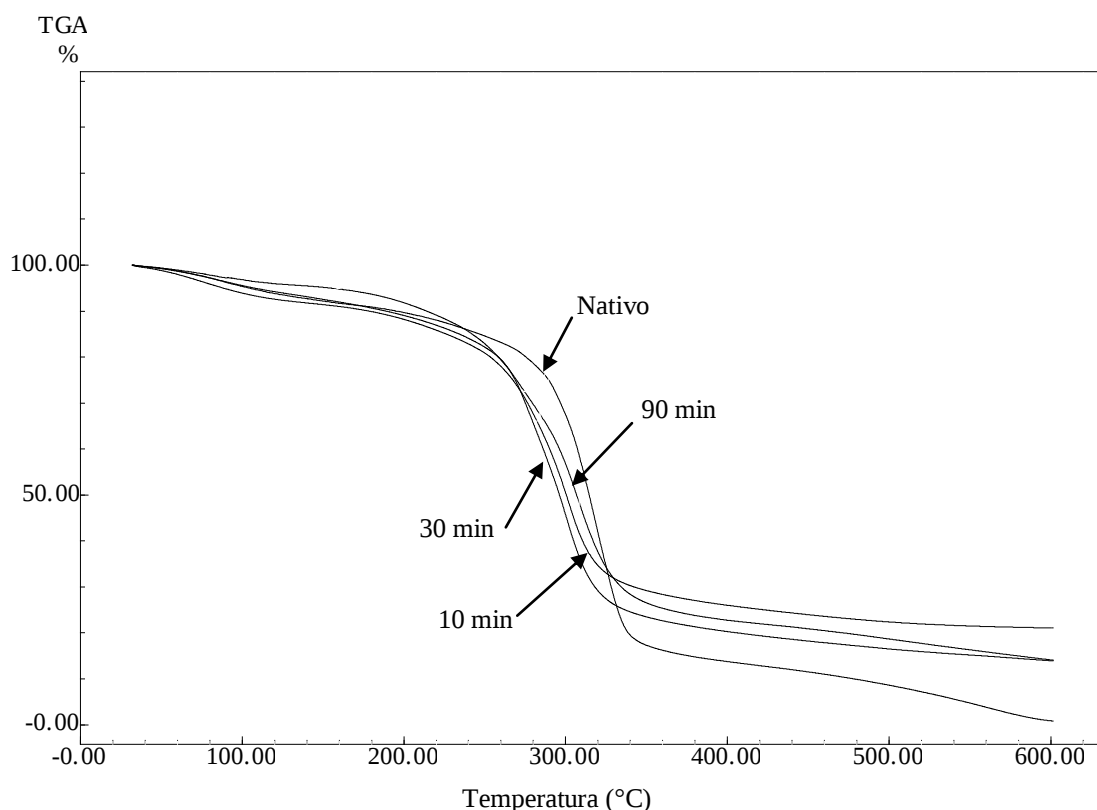


Figura 17. Curvas da análise termogravimétrica (TGA) dos filmes de amido de arroz de alta amilose nativos e acetilados

Em altas temperaturas os filmes de amido acetilados apresentaram maior resistência comparado ao amido nativo. Na faixa de 250 a 400°C os filmes de amido nativo já haviam perdido em torno de 70 % de massa, enquanto que os filmes elaborados com amidos acetilados perderam em torno de 55% de massa.

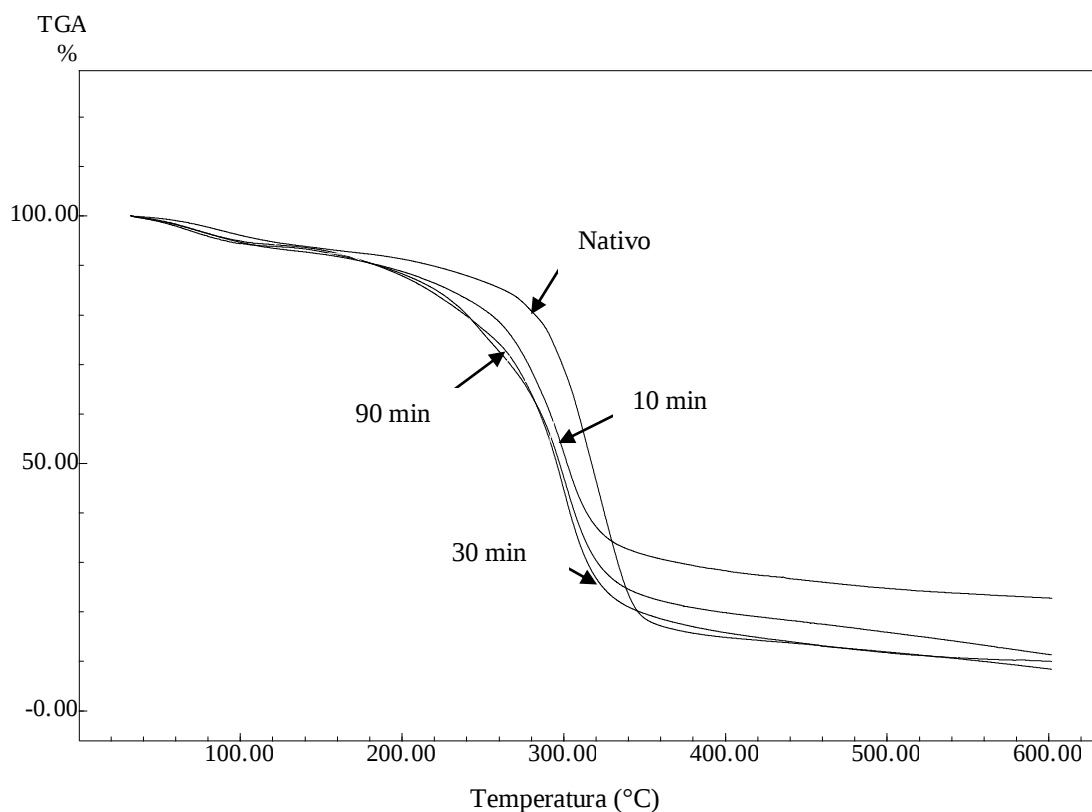


Figura 18. Curvas da análise termogravimétrica (TGA) dos filmes de amido de arroz de média amilose nativos e acetilados

5.5.6 Análise de biodegradabilidade

Os filmes foram analisados quanto à biodegradabilidade pela avaliação da atividade microbiana através da liberação e acúmulo de $C\text{-CO}_2$. As curvas com o percentual de degradação dos filmes de amido de arroz nativos e acetilados estão apresentadas nas Fig. 19 e 20.

Os filmes elaborados com amido nativo apresentaram uma menor taxa de liberação de CO_2 , conseqüentemente um menor percentual de degradação, demorando um tempo maior para ser degradado do que os amidos acetilados.

O aumento do grau de acetilação (Tab. 2) dos amidos leva a maior taxa de liberação de CO_2 , promovendo maior degradabilidade dos filmes. A maior biodegradabilidade destes filmes pode ser devido a inserção dos grupos acetil,

por estes reduzirem as interações inter e intramoleculares promovidas pelas ligações de hidrogênio, permitindo a entrada e manutenção da água, facilitando a ação dos microrganismos presentes no solo.

A biodegradação de um determinado material ocorre quando ele é usado como nutriente por um determinado conjunto de micro-organismos (bactérias, fungos ou algas) que existe no meio ambiente onde o material vai ser degradado (PAOLI, 2008). Para que os micro-organismos cresçam usando o material como nutriente é necessário que eles produzam as enzimas adequadas para quebrar alguma das ligações químicas da cadeia principal do polímero. Além disso, é necessário ter as condições adequadas de temperatura, umidade, pH e disponibilidade de oxigênio.

A velocidade de crescimento dos micro-organismos vai determinar a velocidade com a qual o material está sendo biodegradado. A escala de tempo na qual ocorre a biodegradação é uma das variáveis mais importantes a serem consideradas. De um modo geral, a escala de tempo adequada é da ordem de semanas ou meses.

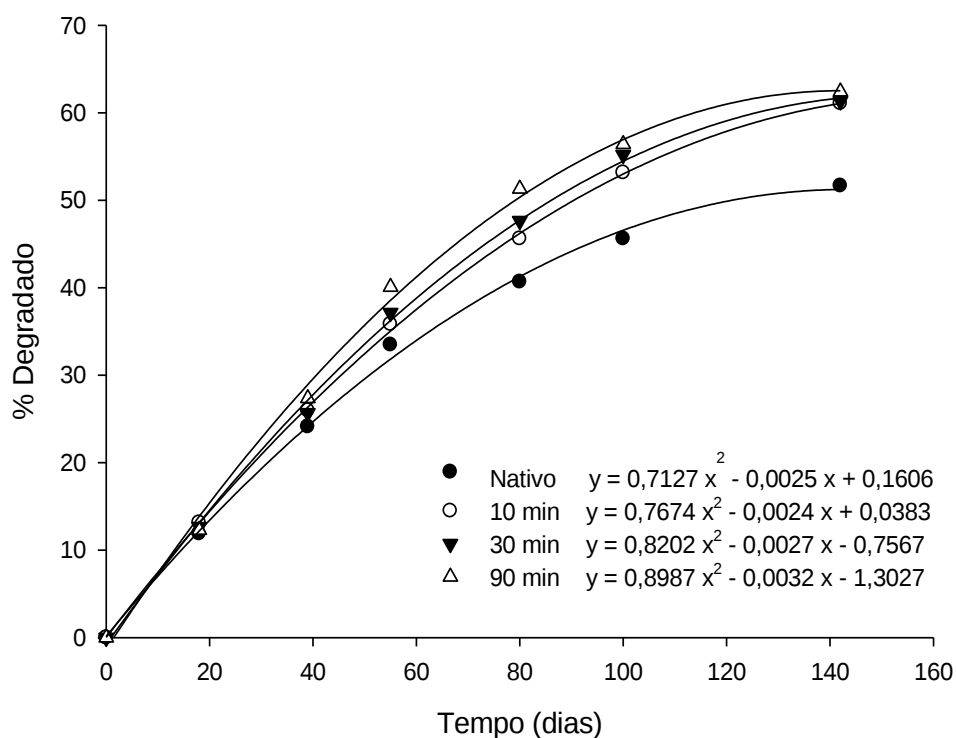


Figura 19. Percentual degradação dos filmes de amido de arroz de alta amilose, nativo e acetilados, em diferentes tempos.

Segundo Innocentini-Mei e Mariani (2005) as alterações químicas feitas no amido podem ser acompanhadas de uma completa assimilação microbiana dos produtos de degradação, resultando em dióxido de carbono e água, esta afirmação vem ao encontro dos resultados obtidos neste estudo.

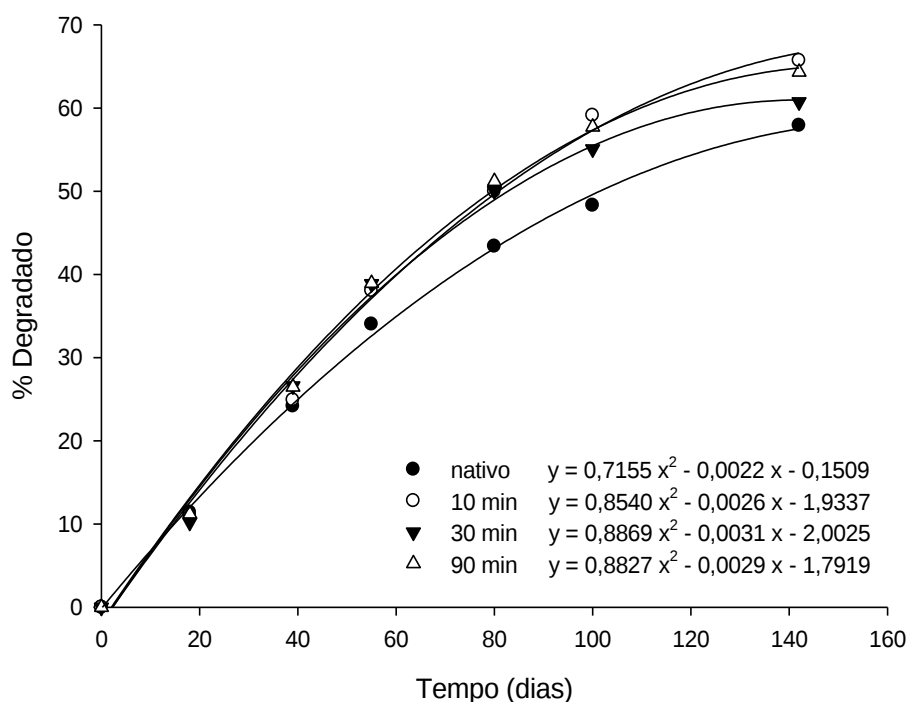


Figura 20. Percentual de degradação dos filmes de amido de arroz de média amilose, nativo e acetilado em diferentes tempos.

Calcularam-se as equações das curvas de % de degradação em relação ao tempo. Em todos os tratamentos o modelo quadrático apresentou melhor coeficiente de correlação (R^2). Pela derivação dessas equações (dCO_2/dt) pode-se comparar o % de degradação dos tratamentos em diferentes períodos estudados.

6 CONCLUSÕES

O amido de baixa amilose apresenta menor rendimento de extração, maior teor de carboidratos de elevada massa molecular e é mais suscetível a acetilação do que os amidos de média e alta amilose.

A acetilação reduz a cristalinidade, a viscosidade da pasta, poder de inchamento, solubilidade e valores de T_o , T_p , T_c e ΔH dos amidos de arroz, permitindo obter produtos sensíveis a altas temperaturas e mais estáveis ao cozimento.

Os filmes elaborados com amido de arroz nativo de alta, média e baixa amilose não apresentam características adequadas.

A acetilação propicia melhora nas propriedades do amido de arroz de alta e média amilose para produzir filmes biodegradáveis, entretanto não é efetiva para o amido de baixa amilose.

A acetilação propicia melhor continuidade, maior alongação, biodegradabilidade mais rápida e maior resistência a temperatura dos filmes elaborados com amido de arroz de alta e média amilose, entretanto, aumenta deficiência nas propriedades de solubilidade em água e em ácido e reduz resistência a tração.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC- American Association Of Cereal Chemists. **Approved methods of the AACC**. 9. ed. St Paul, MN, 1995.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis**. 18 ed. Washington DC US, 2006.

ASTM, Designation D882-00: Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. In **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.

ASTM. Designation ASTM G160-03: Standard practice for Evaluating Microbial Susceptibility of Nonmetallic Materials By Laboratory Soil Burial, 2004.

ASTM. Designation E96-00: Standard method for water vapor transmission of materials. In **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.

AVÉROUS, Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review, **Journal of Macromolecular Science: Part C—Polymer Reviews**, v. C44, n. 3, p. 231–274, 2004.

BAILEY, J. M., & WHELAN, W. J. ARTICLE: Physical Properties of Starch: I. Relationship between iodine stain and chain length of Starch. **The Journal of Biological Chemistry**, 236, 969–973, 1961.

BALDWIN, E. A.; CARRIEDO, M. O. (Ed.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Lancaster (USA): Technomic Publishing Co., p.1-25, 1994.

BAO, J.; KONG, X.; XIE, J., XU, L. Analysis of genotypic and environmental effects on rice starch. 1. Apparent amylose content, pasting viscosity, and gel texture. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 6010-6016, 2004.

BERTOFT, E.; PIYACHOMKWAN, K.; CHATAKANONDA, P., SRIROTH, K. Internal unit chain composition in amylopectins. **Carbohydrate Polymers**, n. 74 p. 527–543, 2008.

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.

BRIASSOULIS, D. An overview on the mechanical behaviour of biodegradable agriculture films. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 12, p. 65-81, 2004.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, n. 2, p. 85-112, 1998.

BURGT, Y. E. M. V. D.; BERGSMA, J.; BLEEKER, I. P.; MIJLAND, P. J. H. C.; HOOFF, A. V. D. K-V; KAMERLING, J. P.; VLIEGENTHART, J. F. G.; Distribution of methyl substituents over crystalline and amorphous domains in methylated starches, **Carbohydrate Research**, n.320, p. 100-107, 1999.

CAI, J.;YANGA,Y.; MANA, J.; HUANGA, J.;WANG, Z.; ZHANGA, G.; GUA, M.; LIUA, Q.; WEI, C. Structural and functional properties of alkali-treated high-amylose rice starch. **Food Chemistry**, v. 145, p. 245-253, 2014.

CAMARGO, O. A. de. **Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos**. Campinas: IAC, 1986. 43p.

CASTRO, E. M.; VIEIRA, N. R. A.; RABELO, R. R.; SILVA, S. A. **Qualidade de grãos em arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999, 30 p.

CEREDA, M. P. (org.). **Propriedades gerais de amido**. (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, v. 1), São Paulo, Fundação Cargill, 2001, v. 1. Cap. 8. 221p.

CHA, D. S. E CHINNAN, M. S. Biopolymer-Based Antimicrobial Packaging: A review. **Food Science and Nutrition**, v.44, p. 223-237, 2004.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHANG, H.; LIN, J.; PAN, C. Type and concentration of acid on solubility and molecular size of acid-methanol-treated rice starches differing in amylose content. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 762-768, 2010.

DIAS, A. B., MÜLLER, C. M. O; LOROTONDA, F. D. S., LAURINDO, J. B., Biodegradable films based on Rice starch and rice flour, **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 213-219, 2010.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, n. 28, p. 350-356, 1956.

ed. Washington DC US, 2006.

EL-SHEIKH, M. A.; RAMADAN, M. A.; EL-SHAFIE, A. Photo-oxidation of rice starch. Part I: Using hydrogen peroxide. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 266-269, 2010.

FEDOROVA, A. F., & ROGOVIN, Z. A. Relative reactivity of cellulose hydroxyls on esterification in an acid medium. **Vysokomolekulyarnye Soedineniya (Abstr.)**, n. 5, p. 519–523, 1963.

FRINGANT, C.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Physical properties of acetylated starch based materials: relation with their molecular characteristics . **Polymer** . v. 37, n. 13, p. 2663-2673, 1996.

FRINGANT, C.; RINAUDO, M.; FORAY, M. F.; BARDET, M. Preparation of mixed esters of starch or use of an external plasticizer: two different ways to change the properties of starch acetate films. **Carbohydrate Polymers** . v. 35, p. 97-106, 1998.

FRINGRANT, C.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Physical properties of acetylated starch-based materials: relation with their molecular characteristics. **Polymer**, v. 37, n. 13, p. 2663-2673, 1996.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: Evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, p.177–191, 1997.

GARG, S.; JANA, A. K. Characterization and evaluation of acylated starch with different acyl groups and degrees of substitution. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1623-1630, 2011.

GOMES, A. S.; MAGALHÃES, A. M. **Arroz Irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa, 2004.

GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles: étude et amélioration des propriétés filmogènes du gluten**. 1991. 174 f. Tese (Doutorado em Biochimie, Biologie Cellulaire et Moleculaire) – Université Montpellier II, Montpellier.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Proteins as agricultural polymers for packaging production. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.75, n.1, p.1-9, 1998.

GRAAF, R. A.; BROEKROELOFS, G. A.; JANSSEN, L. P. B. M.; BEENACKERS, A. A. C. M. The kinetics of the acetylation of gelatinized potato starch . **Carbohydrate Polymers**. v. 28, p. 137-144, 1995.

GROSSI, R. C.; MAZIERO, F. L.; RIBEIRO, F. L.; MOREIRA, M. G.; MORAES, F. F. Production of biodegradable plastic from cassava starch . 1999.

HIZUKIRI, S. Relationship between the distribution of the chain length of amilopectin and the crystalline structure of starch granules. **Carbohydrate Research**, Londres, v. 141, p. 295-306, 1985.

KAVITHA R.; BEMILLER J. N., Characterization of hydroxypropylated potato starch, **Carbohydrate Polymers**, n. 37, p. 115-121, 1998.

KENNEDY, G.; BURLINGAME, B. Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry**, v.80, n.4, p. 589-596, 2003.

KIM, H.-S., HUBER, K.C. Channels within soft wheat starch A- and B-type granules. **Journal of Cereal Science**, n48, p. 159–172, 2008.

KIM, J.-Y.; PARK, D.-J.; & LIM, S.-T. Fragmentation of waxy rice starch granules by enzymatic hydrolysis. **Cereal Chemistry**, v.85, p. 182–187, 2008.

KLEIN, B.; PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. R.; COLUSSI, R.; EVANGELHO, J. A.; GUTKOSKI, L. C.; DIAS, A. R. G. Effect of single and dual

heat-moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhão starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1578-1584, 2013.

LABUZA, T. P.; CONTRERAS-MEDLIN, R. Predicion of protection requeriments for foods. **Cereal Food World**, v. 26, p. 335-343, 1981.

LAROTONDA, F. D. S. **Desenvolvimento de biofilmes a partir da fécula de mandioca**. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 63p, 2002.

LEITE, P. J. F.; LIMA, A. A. G.; NASCIMENTO, F, R, Poliestireno Biodegradável para Embalagens Descartáveis: Desenvolvimento de Blenda pela Incorporação de Amido de Mandioca. **Revista Baiana de Tecnologia**, v. 14, n. 1, p. 126-130, 1999.

LIM, J.; PAN, C.; SINGH, H.; CHANG, Y. Influence of molecular structural characteristics on pasting and thermal properties of acid-methanol-treated rice starches. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 441-447, 2012.

LSBU – London South Bank University. **Starch: An explanation of the origin, structure and properties of amylose and amylopectin**. Disponível em: <http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>. Acesso em 11 de janeiro de 2014.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. Caracterização de polímeros- Determinação de peso molecular e análise térmica. Rio de Janeiro, Editora E-papers, p.13-28, 2001.

LUNDUBWONG, N.; SEIB, P. A. Rice isolation by alkaline protease digestion of wet-millet rice flour. **Journal of Cereal Science**, Pennsylvania, v. 31, p. 63-74, 2000.

MAN, J.; QUIN, F.; ZHU, L.; SHI, Y.; GU, L.; LIU, Q.; WEI, C. Ordered structure and thermal property of acid-modified high-amylose rice starch. **Food Chemistry**, v. 134, p. 2242-2248, 2012.

MARK, A. M.; MEHLTRETTER, C. L. Facile preparation of starch triacetates. **Starch/ Starke**, v. 24, p. 73-76, 1972.

MATTA JR, M. D.; SARMENTO, S. B. S.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; ZOCCHI, S. S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido

de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros**, v.21, n.1, p. 67-72, 2011.

MCGRANE, S. J.; CORNELL, H.J.; RIX, C.J. A simple and rapide colourimetric method for determination of amylose in starch products. **Starch/Stärke**,v. 50, n. 158-163, 1998.

MILADINOV, V.D.; HANNA, M. A. Temperatures and ethanol effects on the properties of extruded modified starch . **Industrial Crops and Products** . Vol. 13, 2001.

MING, L.; PENF, L.; WEI, Z.; LONG, Y.; FENGWEI, X.; HUANYIN, P.; HONGSHEN, L. & LING, C. Extrusion processing and characterization of edible starch films with different amylose contents. **Food Engineering**, v. 106, p. 95-101, 2011.

NABESHIMA, H. A.; EL-DASH, A. Modificação química da farinha de arroz como alternativa para o aproveitamento dos subprodutos do beneficiamento do arroz. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 107-120, 2004.

NAVES, M. M. V. Características químicas e nutricionais do arroz. **Boletim do CEPPA**, v. 25, n. 1, p. 51-60, 2007.

NAYAK, P. L. Biodegradable polymers: opportunities and challenges. **Macromolecular Chemistry and Physics.**, v.39, n. 3, p. 481-505, 1999.

PEREZ-GAGO; KROCHTA, J.M. Desnaturation time and temperature affects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal of Food Science**, Chicago, v.66, n.5, p.705-710, 2001.

PRADELLA, J. G. C. Biopolímeros e intermediários químicos. **Relatório Técnico do Centro de Tecnologia de Processos e Produtos – LBI/CTPP**. Disponível em <http://www.anbio.org.br/pdf/2/tr06_biopolimeros.pdf>, acesso dia 03 de dezembro de 2013.

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.

RINDLAV- WESTLING, A.; STADING, M.; HERMANSSON A. M. & GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymer*, v. 36, p. 217-224, 1998.

ROBYT, J. F. **Enzymes and Their Action on Starch**. In: R. L. WISTLER, J. N. BeMILLER, & E. F. PASCHALL (Eds.), *Starch chemistry and technology*. New York: Academic Press, p.238-284, 2009.

ROSA, D. S.; FRANCO, L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 82-88, 2001.

SARGEANT, J. G. Determination of Amylose: Amylopectin Ratios of Starches. **Starch/ Stärke**, v. 34, n.3,p. 89-92,1982.

SEBIO, L. **Desenvolvimento de plástico biodegradável a base de amido de milho e gelatina pelo processo de extrusão: avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de barreira**. 2003. 158 p.(Dissertação) Mestrado em Engenharia de alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SHAARAWY, H. H.; EL-RAFIE, S.M.; EL-GHAFFAR, A.M.; EL-RAFIE, M.H. Electrocatalytic oxidation of rice starch using mixed oxidant generated via titanium/rhodium thermally activated modified electrode: Part (I). **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 208-213, 2009.

SHIH, F.F.; DAIGLE, K.W. Preparation and characterization of rice protein isolates. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 8, p. 885-889, 2000.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79-88, 2007.

SODHI, N.; SINGH, N. S. Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. *Journal of Food Engineering*, v. 70, p. 117-127, 2005.

SOUZA, A.C.; BENZE, R. FERRÃO, E.S.; DITCHFIELD, C. COELHO, A.C.V.; TADINI, C.C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay

nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46. P. 110-117, 2012.

STEENEKEN, P. A. M.; WOORTMAN, A. J. J. Substitution patterns in methylated starch as studied by enzymic degradation. *Carbohydrate Research*, v. 258,p. 207–221, 1994.

TATONGJAI, J. LUMDUBWONG, N. Physicochemical properties and textile utilization of low- and moderate-substituted carboxymethyl rice starches with various amylose content. **Carbohydrate Polymers**,v.81, p. 377-384.

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

TOMKA, I. Thermoplastic processable starch or starch derivative polymer mixtures, USA **Patent nº 6,117,925**, 2000.

Vamadevan, V. Organization of Glucan Chains in Starch Granules as Revealed by Hydrothermal Treatment (Tese de doutorado). University of Guelph (182p), 2013.

VANDEPUTTE, G.E.; DELCOUR, J.A. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 3, p. 245-266, 2004.

VAZQUEZ, A.; FORESTI, M.L.; & CYRAS, V.P. Production, chemistry and degradation of starch-based polymers. In **Biopolymers – New Materials for Sustainable Films and Coatings**. Chichester, United Kingdom: John Wiley and Sons Ltd. p. 15-42, 2011.

WADUGE, R. M. **Morphology and Molecular Organization of Developing Wheat Starch Granules**. 2012, 308p. Tese (Doctor of Philosophy in Food Science) University of Guelph, Guelph, 2012.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p.1184-1192, 2008.

WANG, L.; WANG, Y., J. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound, **Journal of Cereal Science**, Pennsylvania, v. 39, n. 2, p. 291 - 296, 2004.

WURZBURG, O. B. **Modified Starches: Properties and Uses**, Florida: CRC-Press, Inc., 1986.

WUZBURG, O. B. Acetylation, **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 4, 1964.

YOON, J. W.; LIM, T. S. Molecular fractionation of starch by density-gradient ultracentrifugation. **Carbohydrate Research**, n. 338, p. 611–617, 2003.

YOU, S.; IZYDORCZYK, M. S. Comparison of the physicochemical properties of barley starches after partial α -amylolysis and acid/alcohol hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, p. 489–502, 2007.

ZAVAREZE, E. R. DIAS, A. R. G. Propriedades físico-químicas, funcionais e aplicações de amido de arroz. In: ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; VANIER, N. L. **Qualidade de arroz da pós colheita ao consumo**. Pelotas: Ed. Gráfica Universitária, 2012. p. 161-171.

ZAVAREZE, E. R.; EL HALAL, S. L. M.; PEREIRA, J. M.; RADÜNZ, A. L.; ELIAS, M. C.; DIAS, A. R. G. Caracterização química e rendimento de extração de amido de arroz com diferentes teores de amilose. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 1, p. 24-30, 2009.

ZAVAREZE, E. R.; PINTO, V. Z.; KLEIN, B.; EL HALAL, S. L. M.; ELIAS, M. C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. DIAS, A. R. G. Development of oxidised and heat-moisture treated potato starch film. **Food Chemistry**, v. 123, p. 344-350, 2012.

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. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 849-868, 2002.

ANEXO I