

EFEITO DA MODIFICAÇÃO QUÍMICA POR REAÇÃO DE CROSS-LINKING NAS PROPRIEDADES DO AMIDO DE SEMENTE DE ABACATE (*Persea americana* Mill)

IZIS RAFAELA ALVES SILVA *
FABÍOLA SAMARA MEDEIROS DE ALBUQUERQUE **
JAILANE DE SOUZA AQUINO ***
VICENTE QUEIROGA NETO ****

O objetivo deste trabalho foi obter informações a respeito das propriedades do amido da semente de abacate cv. "Manteiga" e submetê-lo à modificação química por *cross-linking*, visando obter características reológicas aplicáveis à elaboração de produtos alimentícios. O amido nativo extraído das sementes apresentou teor de amido de 74,47 % e rendimento para o processo de extração utilizado de 11,36 %. O grau de substituição (GS) do amido nativo por *cross-linking* foi de 0,006. Os grânulos de amido nativo e modificado apresentaram formato oval e circular, cujas dimensões variaram de 26 a 26,34 µm para o diâmetro menor e de 35,75 a 36,85 µm para o diâmetro maior. Verificou-se padrão de cristalinidade do tipo C, mostrado por difratometria de raios X. O amido modificado por *cross-linking* apresentava melhores características reológicas que os grânulos do amido nativo, podendo ser aplicado em alimentos para bebês, semi-prontos para serem levados ao forno de micro-ondas, produtos esterilizados, doces e alimentos congelados.

PALAVRAS-CHAVE: AMIDO; MODIFICAÇÃO QUÍMICA; CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS; SEMENTE DE ABACATE.

- * Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Docente, Departamento de Tecnologia em Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sertão Pernambucano, IF Sertão, Petrolina, PE (e-mail: izis.rafaela@gmail.com).
- ** Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB (e-mail: fabiola-samara2011@hotmail.com).
- *** Doutora em Nutrição, Docente, Departamento de Nutrição, UFPB, João Pessoa, PB (e-mail: lalaaquino@hotmail.com).
- **** Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Docente, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB (e-mail: vqneto@cstr.ufcg.edu.br).

1 INTRODUÇÃO

O abacate (*Persea americana* Mill), fonte de vitaminas, fibras e lipídeos pode ser utilizado tanto na forma “in natura” como manufaturado. A polpa de abacate, por apresentar elevado teor de lipídeo, pode representar opção para a indústria de óleo dependendo do cultivar, porém a sua extração gera biomassa formada por casca e semente (SALGADO *et al.*, 2008). Tango, Carvalho e Soares (2004), avaliando diversos tipos de abacate encontraram variação no percentual de amido das sementes entre 7,8 e 29,3 %, sendo a média geral de 20,1 %. Assim, a semente de abacate pode ser usada como nova fonte de amido, além de representar solução para o aproveitamento de biomassas geradas por indústrias de processamento da fruta.

O amido, polímero natural, é composto basicamente pelos polissacarídeos amilose e amilopectina. Trata-se do principal carboidrato de reserva das plantas que constitui fonte de energia essencial para muitos organismos, especialmente humanos. O amido assume grande importância para a tecnologia de alimentos devido às propriedades funcionais que apresenta, como poder de inchamento e solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo e capacidade de formar gel, entre outros (MIRMOGHATAIE, KADIVAR e SHAHEDI, 2009).

Apesar de suas características notáveis, o amido nativo apresenta limitações como, faixa estreita de viscosidade, retrogradação em baixa temperatura e textura indesejável, sendo necessária a busca de alternativas para suprir essas limitações. Uma delas seria a realização de modificações no amido nativo a fim de atender a demanda de propriedades peculiares dos produtos alimentícios. Dessa forma, amidos de diferentes fontes são submetidos a modificações pelas vias química, física, enzimática ou combinação de diferentes vias, tendo suas propriedades nativas tecnologicamente melhoradas (MBOUGUENG *et al.*, 2011).

A modificação química por reação de *cross-linking* resulta da ação de reagentes bi ou poli-funcionais, capazes de reagir com mais de um grupo hidroxila, formando ligações cruzadas que proporcionam o controle da textura, tolerância ao aquecimento, à acidez e à agitação mecânica (CARMONA-GARCIA *et al.*, 2009).

Este trabalho teve como objetivo agregar valor à semente de abacate cv. “Manteiga”, como fonte amilácea, mediante modificação química de seu amido nativo por *cross-linking* e analisar a eficiência da modificação por meio de suas características reológicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL EXPERIMENTAL

Para a realização do experimento foram utilizados 10 kg de abacate (*Persea americana* Mill) cv. “Manteiga”, adquiridos no Mercado Produtor do município de Juazeiro (BA). Os frutos foram selecionados de acordo com o estágio de maturação e similaridade na cor das cascas.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Extração do amido

Obteve-se o extrato amiláceo da semente de abacate cv. “Manteiga” de acordo com adaptações do método descrito por Loos, Hood e Graham (1981). As sementes, depois de lavadas e cortadas em pequenos pedaços, foram colocadas em infusão com água destilada contendo metabissulfito de sódio ($0,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) durante 48 h em refrigeração. O amido foi extraído pela trituração da matéria-prima com solução de metabissulfito de sódio $0,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ em liquidificador por 30 min. Após a homogeneização, peneirou-se a mistura em malha de 200 mesh (0,074 mm). Em seguida, foram realizadas duas decantações por 24 h com resuspensão em solução de metabissulfito

de sódio 0,2 g.100 g⁻¹ e centrifugação a 5000 g por 15 min, sendo o sobrenadante descartado. Retirou-se a mucilagem formada na superfície do resíduo com auxílio de espátula. O amido foi liofilizado (Terroni Equipamentos LTDA, modelo LS 3000, São Paulo-SP, Brasil), à temperatura de -45 °C e armazenado em recipiente seco e limpo sob refrigeração. Calculou-se o rendimento do amido da semente de abacate cv. "Manteiga" dividindo a massa do amido seco após extração pela massa da semente sem casca vezes 100.

2.2.1.1 Composição centesimal do amido

Determinou-se a composição centesimal do amido nativo (amido, umidade, proteínas, lipídeos e cinzas) de acordo com os métodos do Instituto Adolfo Lutz (2005).

2.2.2 Modificação do amido

2.2.2.1 *Cross-linking* e determinação do grau de substituição

A modificação do amido por *cross-linking* foi realizada de acordo com o método descrito por Woo (1999). Uma massa de 100 g de amido, 10 g de sulfato de sódio e 12 g da mistura (99:1) de trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio, respectivamente, foram misturados em água (140 mL). A mistura foi ajustada para pH 11 com NaOH 1 M e submetida à agitação por 3 h a 45 °C. Após esse período, ajustou-se o pH da dispersão para 6,5 com HCl 1 M. A dispersão foi centrifugada a 3.000 g por 10 min, lavada com água destilada (4 vezes), seca em estufa de circulação forçada a 40 ± 2 °C durante 1 noite. O amido modificado foi pulverizado, peneirado a 200 mesh (0,074 mm) e armazenado sob refrigeração em embalagem fechada.

Quantificou-se o teor de fósforo dos amidos antes e após o *cross-linking* de acordo com o método descrito por Ranganna (1991). O percentual de fósforo incorporado foi usado na equação de Smith e Caruso (1964) para obtenção do grau de substituição (GS):

$$GS = \frac{162P}{3100 - 102P} \quad (1)$$

Em que: P = percentual de fósforo incorporado na amostra de amido, 3100 e 102 são constantes.

2.2.3 Estrutura dos grânulos

2.2.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Preparou-se uma dispersão de aproximadamente 2 g.100 mL⁻¹ do amido nativo e modificado em álcool isopropílico, sendo colocadas algumas gotas dessa dispersão sobre fita adesiva colada à base de suporte metálico. Após a evaporação do solvente, o material seco foi recoberto com ouro (*sputtering*) e a amostra analisada em microscópio eletrônico de varredura digital, modelo LEO-1430 (USLU e POLAT, 2012).

2.2.3.2 Microscopia óptica (MO)

Três lâminas para cada amostra foram preparadas com duas gotas de suspensão de 100 mg de amido em 5 mL de solução 1:1 de glicerina:água e cobertas por lamínula. De cada lâmina foram tomadas medidas de 100 grânulos (YONEMOTO, CALORI-DOMINGUES, FRANCO, 2007).

2.2.3.3 Difração de raios X (DRX)

O difratograma de raios X foi obtido a partir de amido na forma de pó, contendo cerca de 11 % de umidade. O intervalo dos ângulos 2θ variou de 4 a 60° em Difratorômetro D 5000 (Marca Siemens), na velocidade de 1,2° por minuto operando com potência de 40 kV por 20 mA (ZOBEL, 1964).

2.2.4 Propriedades funcionais

O poder de intumescimento e a solubilidade dos amidos foram determinados segundo o método descrito por Leach, Mccowen e Schoch (1959). Usou-se o método de Beuchat (1977) para determinar a capacidade de absorção de água e de óleo dos amidos nativo e modificado. A avaliação da estabilidade do gel de amido em quatro ciclos de congelamento e descongelamento foi realizada pelo método de White, Abbas e Johnson (1989).

Determinou-se a claridade de pasta conforme Craig *et al.* (1989), utilizando suspensões de amido (0,3 g.100 mL⁻¹). Para monitorar a tendência à retrogradação, as amostras foram armazenadas por 24 horas a 4° C e depois resfriadas à temperatura ambiente para a determinação da transmitância no primeiro e no sétimo dias de estocagem.

A viscosidade das amostras foi determinada em Analisador Rápido de Viscosidade (RVA-4), com o programa Thermocline for Windows versão 2.3 (Newport Scientific Pty Ltd.), segundo a metodologia 162 proposta pela International Association for Cereal Science And Techonology (ICC, 1995), utilizando-se o perfil *Standard1*.

Os parâmetros de gelatinização do amido foram determinados de acordo com Lawal e Adebawale (2005), utilizando Calorímetro Exploratório Diferencial (marca Shimadzu), modelo DSC 60, acoplado a software de computador (Pyris, Perkin Elmer, Belerica, MA, USA), em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL por min. Adicionou-se o volume de 5 µL de água, usando micro pipeta, em 2 mg de cada amostra de amido em cadinhos de alumínio de DSC. Os cadinhos foram hermeticamente fechados, novamente pesados e deixados em repouso por 24 horas em temperatura ambiente para distribuição uniforme da água no amido. Usou-se a faixa de temperatura de escaneamento de 30 a 150 °C e razão de aquecimento de 10 °C por minuto. Em todas as medições, o termograma foi registrado com cadinho de DSC vazio e selado como referência.

2.2.5 Análises estatísticas

A análise estatística para comparação dos resultados expressos em médias \pm erro padrão foi realizada mediante ANOVA e teste de Tukey ao nível de 5 %. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Assistat versão 7.6 (SILVA e AZEVEDO, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MODIFICAÇÃO DO AMIDO

3.1.1 Composição centesimal e rendimento do processo de extração

Os resultados da análise de composição centesimal do amido nativo da semente de abacate cv. "Manteiga", juntamente com o rendimento do seu processo de extração encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO AMIDO NATIVO E RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO

Componentes	g.100 g ⁻¹
Amido	74,47±0,070
Umidade	4,57±0,300
Proteínas	0,52±0,120
Lipídeos	0,38±0,070
Cinzas	0,19±0,005
Outros Carboidratos*	24,44
Rendimento	11,36

* Calculado por diferença.

O teor de amido encontrado na semente de abacate (74,47 g.100 g⁻¹) mostrou-se similar ao reportado por Henríquez *et al.* (2008) para amido de semente de pinhão (77,17 g.100 g⁻¹).

A umidade do amido nativo da semente abacate (4,57 g.100 g⁻¹) foi menor em relação à constatada por Rengsutthi e Charoenrein (2011) em amido de semente de jaca (9,59 g.100 g⁻¹) e amido de milho (11,74 g.100 g⁻¹). Cabe ressaltar que a umidade encontrada no amido nativo foi inferior a 14 %, valor que a legislação brasileira (BRASIL, 2005) estabelece como limite para sua boa conservação.

Os baixos percentuais verificados, para proteínas (0,52 g.100 g⁻¹), lipídeos (0,38 g.100 g⁻¹) e cinzas (0,19 g.100 g⁻¹) revelam a facilidade com que o amido pode ser extraído e purificado. Henríquez *et al.* (2008) avaliando amido nativo de semente de pinhão encontraram valores para proteína (0,94 g.100 g⁻¹) superiores aos obtidos no presente estudo. Os teores de lipídeos e cinzas verificados por Rengsutthi e Charoenrein (2011) em amido de milho (0,02 g.100 g⁻¹) foram inferiores e as cinzas obtidas de fécula de batata (0,27 g.100 g⁻¹) superiores.

A extração do amido da semente de abacate apresentou rendimento de 11,36 g.100 g⁻¹, valor enquadrado na faixa de rendimento em amido das tuberosas araruta (8-16 g.100 g⁻¹) e mandioquinha salsa (5-23 g.100 g⁻¹). No entanto, mostrou-se inferior ao rendimento verificado para batata inglesa (18 g.100 g⁻¹), mandioca (22-27 g.100 g⁻¹) e inhame (18-23 g.100 g⁻¹) (FRANCO *et al.*, 2002).

3.1.2 Grau de modificação

A modificação por *cross-linking* incorporou quantidade de fósforo equivalente a 0,012 % ao amido nativo, com consequente grau de substituição de 0,0006 ± 0. Os valores encontrados estão de acordo com o que preconiza o Codex Alimentarius (2013) para amido modificado com mistura de trimetafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio (limite de 0,4 % de fósforo).

3.2 ESTRUTURA DOS GRÂNULOS

3.2.1 Forma e tamanho

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para investigar a morfologia dos grânulos de amido nativo, bem como o efeito da introdução de ligações cruzadas. A modificação química não alterou a forma do grânulo que apresentou formas geométricas similares ao amido nativo, destacando-se pequena quantidade de grânulos circulares e predomínio do formato oval.

O amido nativo apresentou superfície lisa e sem ranhuras (Figura 1). A modificação química

pela reação de *cross-linking* não causou danos significativos à superfície do grânulo, que não revelou bruscas deformações (Figura 2). Esse fato pode estar relacionado ao baixo grau de modificação obtido com o reagente utilizado.

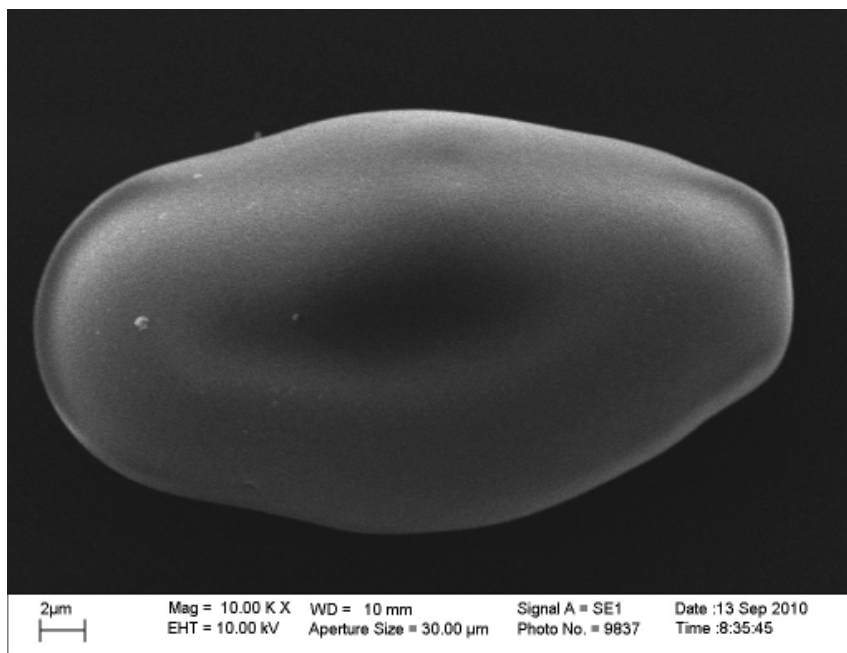


FIGURA 1 - MICROGRAFIA OBTIDA POR MEV (RESOLUÇÃO DE 1000 X) DO AMIDO NATIVO

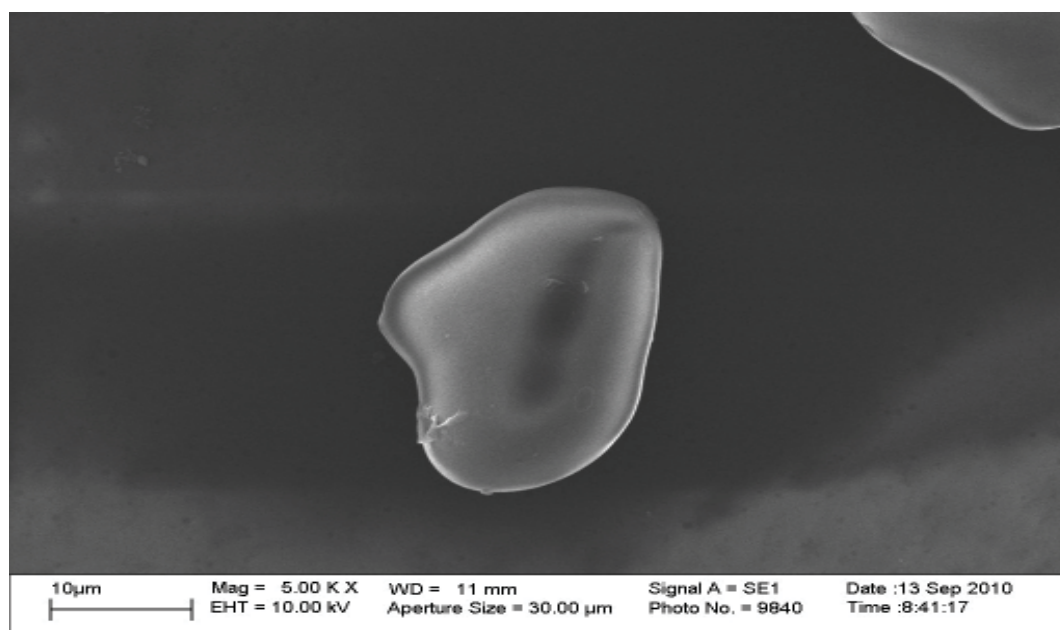


FIGURA 2 - MICROGRAFIA OBTIDA POR MEV (RESOLUÇÃO DE 1000 X) DO AMIDO MODIFICADO POR *CROSS-LINKING*

As dimensões de diâmetro dos amidos nativo e modificado não mostraram diferenças significativas entre as médias do diâmetro menor e maior de acordo com os resultados obtidos pela análise de microscopia óptica, como ilustra a Figura 3. Comparado a outras fontes botânicas, os amidos nativo e modificado da semente de abacate apresentaram tamanho similar ao diâmetro maior médio da batata (39,50 µm) e ao diâmetro menor médio da araruta (22,05 µm) (LEONEL, 2007).

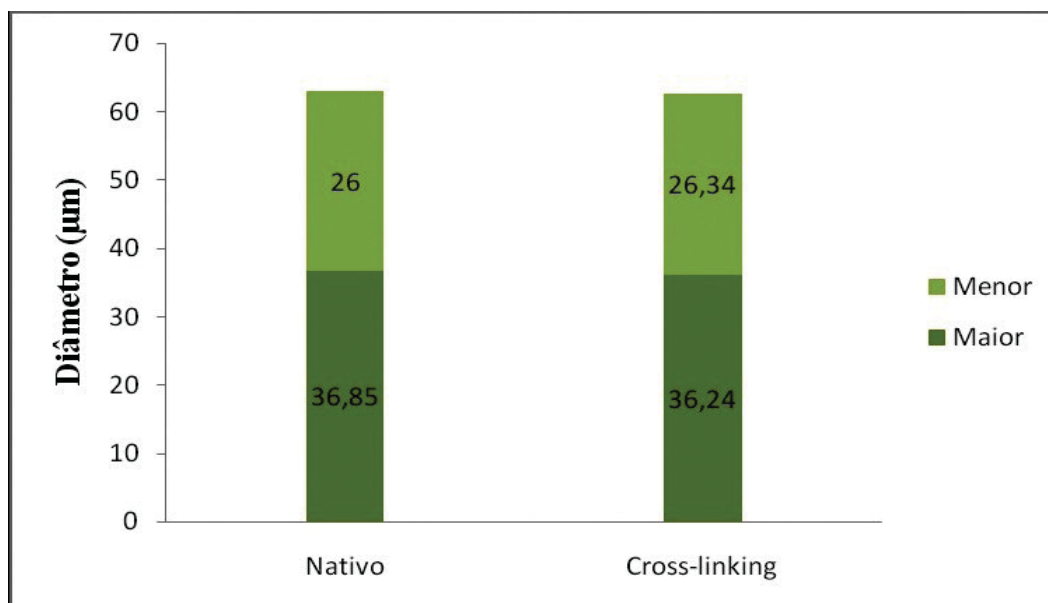


FIGURA 3 - TAMANHO DOS GRÂNULOS DE AMIDOS NATIVO E MODIFICADO DA SEMENTE DE ABACATE

3.2.2 Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X foi usada para estabelecer o padrão de cristalinidade e verificar se houve alteração após modificação química do amido nativo. Os difratogramas de raios X de todas as amostras são mostrados na Figura 4.

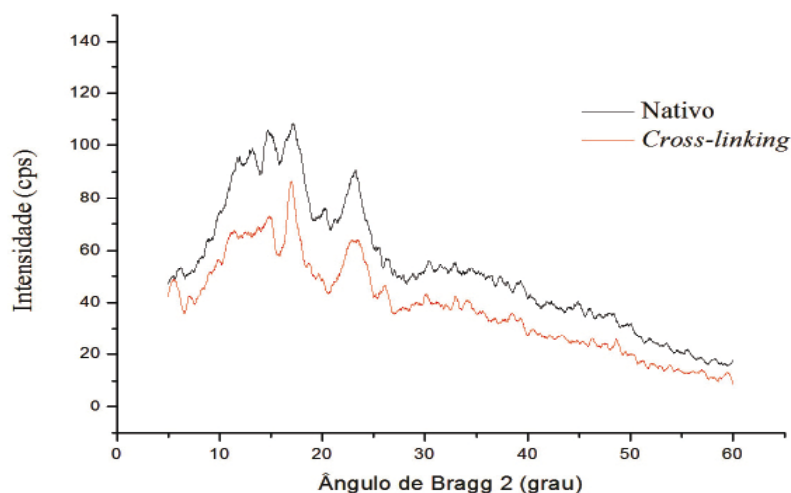


FIGURA 4 - DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DOS AMIDOS DA SEMENTE DE ABACATE: NATIVO E MODIFICADO POR *CROSS-LINKING*

Eixo X = 2θ .

Os grânulos de amido, devido à sua cristalinidade, revelaram na análise de difração em raios X diferentes formas de empacotamento das duplas hélices de amilopectina, chamados cristais dos tipos A, B ou C (CHEETHAM e TAO, 1998). O amido nativo apresentou difratograma de raios X

característico do tipo C com três picos principais em torno dos ângulos de difração de 14,8; 17,2 e 23,1° a 2 θ . O tipo C, forma polimórfica, pode ser considerado como a mistura dos tipos A e B, sendo típico de leguminosas e sementes (VAN SOEST *et al.*, 1996).

O amido modificado por *cross-linking* apresentou três picos principais em torno dos ângulos de difração de 14,8; 16,9 e 23,3° a 2 θ , podendo-se constatar que a modificação química não alterou a estrutura cristalina do grânulo de amido nativo.

3.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

3.3.1 Poder de intumescimento e solubilidade

Os dados referentes ao poder de intumescimento e solubilidade dos amidos nativo e modificado por *cross-linking* da semente de abacate em função da temperatura estão expostos na Tabela 2.

TABELA 2 - EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE O PODER DE INTUMESCIMENTO E SOLUBILIDADE DO AMIDO NATIVO E *CROSS-LINKING* DA SEMENTE DE ABACATE CV. "MANTEIGA"

Amido	Temperaturas				
	55 °C	65 °C	75 °C	85 °C	95 °C
Poder de Intumescimento (g.g⁻¹)					
Nativo	0,930 ^a ±0,030	0,970 ^a ±0,020	8,320 ^a ±0,900	10,770 ^a ±0,640	10,940 ^a ±0,190
<i>Cross-linking</i>	0,840 ^b ±0,008	0,860 ^b ±0,007	0,860 ^b ±0,010	0,870 ^b ±0,010	0,890 ^b ±0,010
Solubilidade (g.100 g⁻¹)					
Nativo	0,012 ^b ±0,001	0,037 ^b ±0,006	0,327 ^a ±0,021	0,447 ^a ±0,035	0,554 ^a ±0,180
<i>Cross-linking</i>	0,044 ^a ±0,006	0,070 ^a ±0,010	0,074 ^b ±0,006	0,080 ^b ±0,000	0,090 ^b ±0,000

^aCada valor representa à média e desvio padrão da triplicata

^bDiferença significativa entre as colunas representada pelas letras minúsculas.

O poder de intumescimento e a solubilidade aumentaram para todas as amostras de acordo com a elevação da temperatura. O amido nativo apresentou maior poder de intumescimento em temperaturas superiores a 75 °C, que sugere o início da formação da pasta. No amido modificado por *cross-linking*, o inchamento se manteve praticamente constante com o aumento da temperatura porque o poder de intumescimento é limitado nesse tipo de modificação devido à presença de fortes ligações entre as moléculas de amido.

O poder de intumescimento geralmente é influenciado pela força de ligação entre as moléculas e pela estrutura molecular da amilopectina. Baixo intumescimento pode ser atribuído à presença de vários cristais formados pela associação de longas cadeias de amilopectina. Maior cristalinidade implica em maior estabilidade granular, o que consequentemente reduz a capacidade de inchamento do grânulo (SINGH *et al.*, 2004).

O amido nativo apresentou poder de intumescimento de 0,97; 8,32 e 10,77 g. g⁻¹ nas temperaturas de 65, 75 e 85 °C, respectivamente. Muccillo (2009) estudando amido de pinhão nativo (*Araucaria brasiliense*) obteve 1,91; 3,84 e 11,08 g. g⁻¹ nas temperaturas de 50, 60 e 70 °C.

Os dados revelaram que a modificação por *cross-linking* reduziu a capacidade de intumescimento do amido nativo. Mirmoghtadaie, Kadivar e Shahedi (2009) estudando amido de aveia nativo e modificado por *cross-linking* em diferentes concentrações observaram o mesmo comportamento. Carmona-Garcia *et al.* (2009) obtiveram resultado semelhante utilizando a mesma

modificação nas temperaturas de 80 e 90 °C em amido nativo de banana. Os resultados confirmaram que a introdução de grupos de fosfato em amido reforça as ligações de hidrogênio nas moléculas do grânulo, fazendo com que a gelatinização ocorra em temperatura superior.

O inchamento do grânulo ocorre simultaneamente à perda de birrefringência e precede a solubilização. A solubilidade dos amidos apresentou comportamento similar ao poder de intumescimento, como pode ser visto na Tabela 2 (a solubilidade aumentou de acordo com a temperatura).

O amido nativo apresentou percentual de solubilidade de 0,012; 0,037; 0,327; 0,447 e 0,554 % nas temperaturas de 55, 65, 75, 85 e 95 °C, respectivamente. Os valores encontrados no presente estudo foram inferiores aos relatados por Adebawale, Afolabi e Olu-Owolabi (2006) avaliando amido nativo de feijão espada nas temperaturas de 50, 60, 70, 80 e 90 °C.

Os amidos com ligações cruzadas incham menos e são menos solúveis que amidos não modificados devido, provavelmente, ao intercruzamento. Carmona-Garcia *et al.* (2009) estudando amido modificado por *cross-linking* em banana verificaram que a modificação diminuiu a solubilidade do grânulo nas temperaturas de 70, 80 e 90 °C em relação ao amido nativo.

3.3.2 Viscosidade

Os resultados dos parâmetros da viscosidade dos amidos nativo e modificado foram agrupados de acordo com os valores médios obtidos na análise RVA (Tabela 3).

TABELA 3 - PARÂMETROS PRINCIPAIS DA VISCOSIDADE DO AMIDO NATIVO E CROSS-LINKING DA SEMENTE DE ABACATE POR MEIO DE CURVAS AVALIADAS PELO ANALISADOR RÁPIDO DE VISCOSIDADE

Parâmetros (RVA)	Nativo	Cross-linking
Temperatura da pasta (°C)	80,22	95,20
Viscosidade de pico	284,34	10,08
Viscosidade mínima	163,34	4,25
Quebra (<i>Breakdown</i>)	121	5,83
Viscosidade final	467,42	4,25
Tendência a retrogradação (<i>Setback</i>)	304,08	0
Tempo de pico (min)	5	6,60

O amido modificado apresentou maior temperatura de pasta e menor viscosidade de pico em relação ao amido nativo, o que pode ser explicado pela formação de ligações cruzadas que dificultam a gelatinização.

O amido modificado por *cross-linking* mostrou-se estável frente ao aquecimento, apresentando quebra reduzida quando comparado ao nativo (elevado pico de viscosidade). Segundo Singh *et al.* (2003), os amidos com alto grau de inchamento são menos resistentes à quebra no cozimento exibindo, conseqüentemente, diminuição significativa na viscosidade depois de atingir o valor máximo. O amido modificado por *cross-linking* apresentou menor tendência a retrogradação em relação ao amido nativo.

3.3.3 Claridade da pasta e tendência a retrogradação

O amido nativo apresentou pasta opaca com valor de 2,2 % de transmitância (Tabela 4) e o modificado por *cross-linking* pasta moderadamente transparente.

TABELA 4 - EFEITO DO TEMPO DE ESTOCAGEM NA TRANSPARÊNCIA DO GEL DOS AMIDOS DA SEMENTE DE ABACATE NATIVO E MODIFICADO POR *CROSS-LINKING*

Amido	% Transmitância		
	Claridade da Pasta	Retrogradação	
		1° dia	7° dia
Nativo	2,20 ^b ±0,20	0,40 ^b ±0,00	0,20 ^b ±0,00
<i>Cross-linking</i>	42,25 ^a ±4,15	43,50 ^a ±5,51	47,30 ^a ±4,67

^bCada valor representa a média e desvio padrão da triplicata.

^aDiferença significativa entre as colunas representada pelas letras minúsculas.

O estudo sobre o efeito do período de armazenamento na transparência do gel revelou que o amido nativo estocado durante sete dias sob refrigeração evidenciou pequena redução na claridade de sua pasta. Segundo Stahl *et al.* (2007) isso acontece porque durante a estocagem ocorre a retrogradação que torna as dispersões de amido opacas dando origem a gel rígido.

A pasta obtida do amido modificado foi ficando mais translúcida com o tempo, indicando que as ligações de hidrogênio formadas pelo intercruzamento impedem a reorganização das cadeias de amilose (retrogradação), permitindo maior passagem de luz. Tal fato confirma que o amido modificado por *cross-linking* é mais resistente à retrogradação que o amido nativo.

3.3.4 Capacidade de absorção em água e óleo

Os resultados expostos na Figura 5 mostram que a modificação por *cross-linking* (70,48 g H₂O.100 g⁻¹ amido) reduziu a tendência do amido nativo (79,88 g H₂O.100 g⁻¹ amido) em absorver água. As interações entre a ligação de hidrogênio e as moléculas do amido ao se tornarem mais numerosas e mais fortes reduziram as superfícies disponíveis para tais ligações com as moléculas de água.

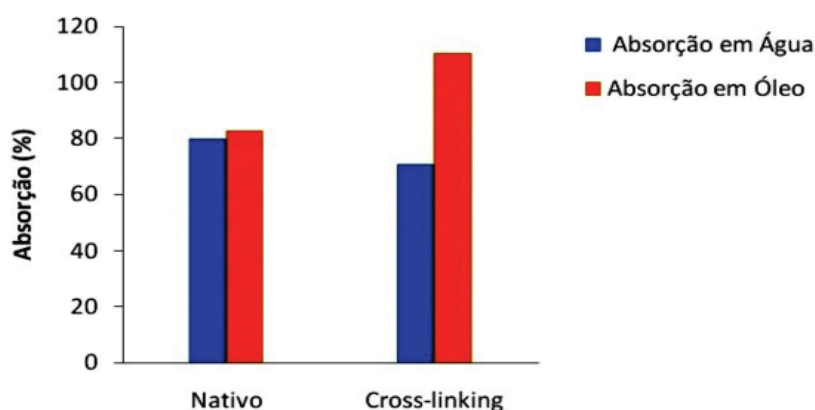


FIGURA 5 - CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE ÁGUA E ÓLEO EM AMIDOS NATIVO E MODIFICADO DA SEMENTE DE ABACATE CV. "MANTEIGA"

Observou-se também que a tendência hidrofóbica do amido nativo (82,71 g óleo. 100 g⁻¹ amido) melhorou após a modificação por *cross-linking* (110,27 g óleo.100 g⁻¹ amido). Esse comportamento ocorreu porque a introdução de grupos funcionais melhora a afinidade com grupos apolares.

3.3.5 Estabilidade ao congelamento e descongelamento

A análise de resistência a ciclos de congelamento e descongelamento torna-se importante para caracterizar o amido em termos de sua aplicabilidade em alimentos que devem ser refrigerados ou congelados, visto que a liberação de água prejudica a qualidade do produto final.

A liberação de água das pastas de amido quando submetidas a ciclos de congelamento e descongelamento pode ser observada pelos dados da Tabela 5. Os valores foram expressos em porcentagem de água liberada em relação à massa inicial da pasta.

TABELA 5 - SINÉRESE DAS PASTAS DE AMIDOS NATIVO E MODIFICADO DA SEMENTE DE ABACATE EM QUATRO CICLOS DE CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO

Amido	1 ciclo	2 ciclo	3 ciclo	4 ciclo
Nativo	7,05 ^b ±0,87	12,89 ^a ±1,34	2,06 ^a ±0,22	1,12 ^a ±0,85
Cross-linking	63,38 ^a ±1,63	1,80 ^b ±0,76	0,00 ^b ±0,00	0,00 ^a ±0,00

*Cada valor representa a média e desvio padrão da triplicata.

*Diferença significativa entre as colunas representada pelas letras minúsculas.

A porcentagem de água liberada pelo amido nativo (7,05 %) no primeiro ciclo foi inferior aos valores encontrados no amido modificado por *cross-linking* (63,38 %). A partir do segundo ciclo, os percentuais de água liberada pelo amido modificado ficaram bem abaixo do encontrado no primeiro ciclo, enquanto o amido nativo continuou a liberar água. No terceiro e quarto ciclos houve redução do percentual de água liberada pelo amido nativo e o amido modificado já não apresentava mais sinérese.

Shirai *et al.* (2007), estudando os amidos nativos de batata, batata doce, mandioquinha, mandioca, milho irregular e ceroso verificaram baixa estabilidade das amostras frente a ciclos de congelamento e descongelamento em razão do aumento da liberação de água com o passar do tempo.

Deetae *et al.* (2008) avaliaram a estabilidade de amidos nativo e modificado por *cross-linking* de arroz frente ao congelamento e descongelamento. Verificaram que a modificação reduziu o percentual de água liberado do primeiro ao quarto ciclo, enquanto no quinto ciclo houve aumento da sinérese. Para Mirmoghtadaie, Kadivar e Shahedi (2009), a modificação por acetilação e *cross-linking* de amido de aveia em diferentes concentrações apresentou maior liberação de água com o passar dos dias em relação ao amido nativo.

3.3.6 Análise térmica: gelatinização

As propriedades térmicas das amostras de amido nativo e modificado são apresentadas na Tabela 6.

TABELA 6 - TEMPERATURAS E ENTALPIA ASSOCIADAS COM A GELATINIZAÇÃO DOS AMIDOS NATIVO E MODIFICADO POR CROSS-LINKING DA SEMENTE DE ABACATE CV. "MANTEIGA"

Amido	Temperaturas (°C)				ΔH (J.g ⁻¹)
	Ti	Tp	Tf	Tf-Ti	
Nativo	43,17	88,57	94,65	51,48	666,34
Cross-linking	46,10	87,37	92,60	46,50	622,71

Ti = temperatura inicial; Tp = temperatura de pico; Tf = temperatura final; ΔH = entalpia de gelatinização.

O amido modificado mostrou temperatura inicial (46,10 °C) maior do que a encontrada no amido nativo (43,17 °C). Segundo Gunaratne e Corke (2007) isto ocorre porque a modificação por *cross-linking* reduz o poder de intumescimento, retardando o processo de gelatinização. A amostra modificada por *cross-linking* apresentou pouco efeito sobre os parâmetros de gelatinização, uma vez que não houve diferença significativa em relação à temperatura de pico endotérmico (87,37 °C) e temperatura final (92,60 °C). A energia envolvida no processo de gelatinização do amido modificado foi inferior à do amido nativo.

Choi *et al.* (2009) estudando amido nativo de milho obtiveram valores de 64,5; 70,7; 87,5 °C e 7,6 J.g⁻¹C referente a T_i, T_p, T_f e ΔH, respectivamente. Os valores reportados por esses autores divergiram dos valores verificados no presente estudo (Tabela 6), o que pode ser atribuído ao uso de diferentes fontes botânicas. Deetae *et al.* (2008) estudando amido nativo de arroz constataram valores de 71,64; 76,38; 83;50; 11;86 °C e 11,74 J.g⁻¹ para T_i, T_p, T_f, T_f-T_i e ΔH, respectivamente.

Mirmoghtadaie, Kadivar e Shahedi (2009) estudaram amido de aveia modificado por acetilação e *cross-linking* em níveis variados. Constataram que a temperatura de pico do amido modificado por *cross-linking* em concentrações de 0,05 % e 0,1 % apresentaram valores de 62,6 e 63,1 °C, respectivamente, não diferindo do amido nativo (T_p = 62,7 °C). Tal fato mostra-se similar aos resultados encontrados no presente estudo para esse tipo de modificação.

4 CONCLUSÃO

A semente de abacate, cv. "Manteiga", apresentou grande potencial como fonte amilácea devido ao seu teor de pureza e rendimento no processo de extração, podendo constituir complementação financeira aos empreendedores de produtos de abacate. Os amidos nativo e modificado apresentaram semelhanças com a araruta e a batata em relação à forma e tamanho dos grânulos. Em termos de cristalinidade, as amostras apresentaram estrutura do tipo C característica de fontes de amido oriundas de sementes. A modificação química por *cross-linking* melhorou as características reológicas do amido nativo, que pode ser utilizado em alimentos infantis, semi-prontos (a serem submetidos ao forno micro-ondas), produtos esterilizados e como agentes ligantes em produtos de confeitaria, sendo ideal para alimentos congelados devido sua baixa tendência à retrogradação.

ABSTRACT

THE EFFECT OF CHEMICAL MODIFICATION BY CROSS-LINKING REACTION ON THE PROPERTIES OF STARCH MADE OF *Persea americana* Mill AVOCADO SEEDS

The aim of this study was to obtain information on the properties of starch from the seed of avocado cv. "Butter" and submit it to chemical modification by cross-linking in order to provide rheological characteristics applicable in obtaining food. The native starch showed the starch content of 74.47 % and yield on extraction process of 11.36 %. The degree of substitution (DS) of native starch by cross-linking was 0.006. The granules of native and modified starch had oval and circular dimensions, ranging from 26 to 26.34 µm for the smaller diameter and 35.75 to 36.85 µm for the major diameter. The crystallinity pattern shown by X ray diffraction was type C. The starch modified by cross-linking showed improvement in the rheological characteristics of native starch granules therefore it can be applied to babyfood, semi-ready food to be taken to the microwave, sterile products, fresh and frozen foods.

KEY-WORDS: THICKENER; CHEMICAL MODIFICATION; CHARACTERISTICS RHEOLOGICAL.

REFERÊNCIAS

- 1 ADEBOWALE, K.O.; AFOLABI, T.A.; OLU-OWOLABI, B.I. Functional, physicochemical and retrogradation properties of sword bean (*Canavalia gladiata*) acetylated and oxidized starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, n. 93, p. 101, 2006.
- 2 BEUCHAT, L.R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.25, p.258-261, 1977.

- 3 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 263, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos**. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18822&Word=>>>. Acesso em: 20 jun. 2009.
- 4 CARMONA-GARCIA, R.; MIRNA, M.S.R.; GUADALUPE, M.M.; BELLANIRA, G.M.; LUIS, A.B.P. Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (*Musa paradisiaca*). **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. n. 117, p. 122, 2009.
- 5 CHEETHAM, N.W.H.; TAO, L. Solid state NMR studies on the structural and conformational properties of natural maize starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, n. 4, p. 277–284, 1998.
- 6 CHOI, H. S.; KIMB, H.S.; PARK, C.S.; KIMA, B.Y.; BAIK, M.Y. Ultra high pressure (UHP)-assisted acetylation of corn starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, p. 862–868, 2009.
- 7 CRAIG, S.A.S.; MANINGAT, C.C.; SEIB, P.A.; HOSENEY, R.C. Starch paste clarity. **Cereal Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 173–182, 1989.
- 8 DEETAE, P.; SHOBSNGOB, S.; VARNYANOND, W.; CHINACHOTI, P.; NAIVIKUL, O.; VARAVINIT, S. Preparation, pasting properties and freeze–thaw stability of dual modified crosslink-phosphorylated rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, p. 351–358, 2008,
- 9 FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.; LEONEL, M.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. **Série culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002.
- 10 GUNARATNE, A.; CORKE, H. Functional properties of hydroxypropylated cross linked, and hydroxypropylated cross linked tuber and root starches. **Cereal Chemistry**, v. 84, p. 30–37, 2007.
- 11 HENRÍQUEZ, C.; WSCOBAR, B.; FIGUEROLA, F.; CHIFFELLE, I.; SPEISKY, H.; ESTÉVEZ, A.M. Characterization of Piñon seed (*Araucaria araucana* (Mol) K. Koch) and the isolated starch from the seed. **Food Chemistry**, v. 107, p. 592–601, 2008.
- 12 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4 ed. Brasília, 2005. 1018 p.
- 13 INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR CEREAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. **Rapid pasting method using the newport rapid viscoanalyser**. Vienna, 1995. 10 p. (Standard, 162).
- 14 LAWAL, O.S.; ADEBOWALE, K.O. Physicochemical characteristics and thermal properties of chemically modified Jack bean (*Canavalia ensiformis*) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 331–341, 2005..
- 15 LEACH, H.W.; MCCOWEN, L.D.; SCHOCH, T.J. Structure of starch granule. I Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v. 36, n.6, p.534–544, 1959.
- 16 LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n.3, p.579–588, 2007.
- 17 LOOS, P.J.; HOOD, L.F.; GRAHAM, H.D. Isolation and characterization of starch from breadfruit. **Cereal Chemistry**, v. 54, p.282–286, 1981.
- 18 MBOUGUENG, P.D.; TENIN, D.; SCHER, J.; TCHIÉGANG, C. Influence of acetylation on physicochemical, functional and thermal properties of potato and cassava starches. **Journal of Food Engineering**, v.108, p.320–326, 2012.
- 19 MIRMOGHATAIE, L.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M. Effects of *cross-linking* and acetylation on oat starch properties. **Food Chemistry**, v. 116, p. 709–713, 2009.
- 20 MUCCILLO, R.C.S.T. **Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- 21 RANGANNA, S. **Analysis and quality control for fruit and vegetable products**. New Delhi: McGraw-Hill, 1991. 1112 p.
- 22 RENGSUTTHI, K.; CHAROENREIN, S. Physico-chemical properties of jackfruit seed starch (*Artocarpus heterophyllus*) and its application as a thickener and stabilizer in chili sauce, **Food Science and Technology**, v. 44, p. 1309–1313, 2011.
- 23 SALGADO, J.M.; DANIELI, F.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; FRIAS, A.; MANSI, D. N. Óleo de abacate (*Persea americana* Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.28, p.20–26, 2008.
- 24 SHIRAI, M.A.; HAAS, A.; FERREIRA, G.F.; MATSUGUMA, L.S.; FRANCO, C. M .L.; DEMIATE, I.M. Características físico-químicas de amidos modificados por tratamento oxidativo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.27, n.2, p. 239–247, 2007.
- 25 SILVA, F. de A.S.; AZEVEDO, C.A.V. de. A new version of the Assistant – statistical assistance software. Version 7.5. In:

WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., 2008. Orlando. **Annals...**Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2008. p. 393 – 396.

- 26 SINGH, N.; KAUR, M.; SANDHU, K.S.; GURAYA, H.S. Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties of starches from some indian black gram (*Phaseolus mungo* L.) cultivars. **Starch/stärke**, v.56, n.11, p.535-544, 2004.
- 27 SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.
- 28 SMITH, R.J.; CARUSO, J. Determination of phosphorous. In: BEMILLER, R. J. N.; WHISTLER, M. L.; WOLFROM, L.; SMITH, R. J. (Eds.). **Methods in carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1964. p. 42–44.
- 29 STAHL, J.A.; LOBATO, L.P.; BOCHI, V.C.; KUBOTA, E.H.; GUTKOSKI, L.C.; EMANUELLI, T. Physicochemical properties of pinhão (*Araucária angustifolia*) starch phosphates. **Food Science and Technology**, n.40, p. 1206-1214, 2007.
- 30 TANGO, J.S.; CARVALHO, C.R.L.; SOARES, N.B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-23, 2004.
- 31 USLU, M-K.; POLAT, S. Effects of glyoxal cross-linking on baked starch foam. **Carbohydrate Polymers**, v.87, p. 1994–1999, 2012.
- 32 VAN SOEST, J.J.G.; HULLEMAN, S.H.D.; DE WIT, D.; Vliegenthart, J.F.G. Crystallinity in starch bioplastics. **Industrial Crops and Products**, v. 5, p. 11–22, 1996.
- 33 WHITE, P.J.; ABBAS, I.R.; JOHNSON, L.A. Freeze-thaw stability and refrigerated-storage retrogradation of starches. **Starch**, v. 41, p. 176-181, 1989.
- 34 WOO, K.S. **Cross-linked, RS4 type resistant starch**: preparation and properties. 1999. 181 s. PhD Thesis, University Manhattan, Kansas State, 1999.
- 35 YONEMOTO, P.G.; CALORI-DOMINGUES, M.A.; FRANCO, C.M.L. Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 761-771, 2007.
- 36 ZOBEL, H. F. X. Ray analysis of starches granules. In: WHISTLER, R.L. (Ed.). **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1964. p. 109–113.