

**12º CONGRESSO
FLORESTAL ESTADUAL
DO RIO GRANDE DO SUL**

12 a 14 de maio de 2015

ISBN: 978-85-66608-01-4

ISSN: XXXX - XXXX

ANAIS

VOLUME II

**12º CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL
DO RIO GRANDE DO SUL**

12 a 14 de maio de 2015

NOVA PRATA - RS

Dezembro/2015

Floresta e
Sociedade



Caracterização reológica e estrutural de amostras de amido de pinhão (*Araucaria angustifolia*) do banco de germoplasma da Embrapa

Rheological and structural characterization of samples of “pinhão” starch (*Araucaria angustifolia*) of the germplasm bank of Embrapa

Marcelo Lazzarotto²
Lucas Stiegler Ribeiro¹
Layse do Prado Cordoba¹
Rossana Catiê Bueno de Godoy²
Egon Schnitzler¹

¹Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, Av. General Carlos Cavalcanti, 4748, Uvaranas, CEP 84.030-900 - Ponta Grossa, PR - Brasil. lucas.stiegler@gmail.com, laysecordoba@hotmail.com, egons@uepg.br

²Embrapa Florestas - Estrada da Ribeira, KM 111 - P.O. Box 319 - CEP 83.411-000 - Colombo, PR- Brasil. marcelo.lazzarotto@embrapa.br, catie.godoy@embrapa.br

Resumo: A semente da *Araucaria angustifolia*, conhecida como pinhão, pode ser uma boa fonte de amido. Este amido apresenta estrutura diferenciada em relação às fontes convencionais. Apesar da importância comercial e cultural, a *Araucaria angustifolia* encontra-se em risco de extinção. A forma mais segura de garantir a preservação da Araucária é através do uso e exploração econômica de seus produtos não madeiráveis. É um produto originalmente brasileiro com poucos estudos e não apresenta padronização em suas características. Nesse estudo foram caracterizadas 4 amostras de amido de diferentes procedências do banco de germoplasma da EMBRAPA Florestas (Colombo, PR). Realizaram-se análises reológicas (Rápido visco-análise - RVA) e estruturais (Microscopia eletrônica de varredura - MEV). Nas análises dos perfis reológicos demonstraram uma similaridade entre as amostras, diferenciando-as principalmente pela Viscosidade de pico e tendência a retrogradação. Através do MEV confirmou-se a forma característica do grânulo de amido de pinhão e calculou-se seu diâmetro médio, que se apresentou entre 12-16µm. Com os resultados destas análises observou-se que os comportamentos foram similares, porém as diferenças genéticas influenciaram nestes resultados. Os resultados do MEV foram similares com a literatura.

Palavras-chave: análise térmica, DSC, RVA, gelatinização.

Abstract: The seed from *Araucaria angustifolia*, known as “pinhão”, can be a good source of starch. This starch has different structure compared to conventional sources. Despite the commercial and cultural importance, the *Araucaria angustifolia* is endangered. The safest way to ensure the preservation of Araucaria is through the use and economic exploitation of its non-wood products. It is an originally Brazilian product with few studies and has no standardization in its features. In this study we characterized 4 starch samples from different origins of the germplasm bank of Embrapa Forests (Colombo, PR). The samples were characterized using rheological (Rapid Visco-analysis) and structural (Scanning Electron Microscopy - SEM) analysis. The analysis of the rheological profiles showed a similarity of samples, differing mainly by the peak viscosity and retrogradation. By the SEM it was confirmed the characteristic form of the “pinhão” starch and it was calculated its average diameter, which stayed about 12-16 µm. With the results of these analyzes showed that the behavior was similar, but genetic differences have influenced these results. The SEM results were similar to the literature.

Keywords: thermal analysis, DSC, RVA, gelatinization.

1. Introdução

O pinhão é a semente da *Araucaria angustifolia*, árvore típica do continente Sul-americano. Possui altos teores de carboidratos em sua composição, podendo chegar a 84% em matéria seca. Grande parte polissacarídeos, eles podem ser extraídos de maneira simples das sementes descascadas e trituradas, com a utilização de água, sem a presença de aditivos. Com uma peneira adequada, é possível separar resíduos de proteínas e fibras (Cross et al.



(1985); Pinto et al. (2012)). A composição centesimal envolve a presença de: 7,9% de proteínas, 5,1% de fibras, 1,3% de gorduras e 1,1% de cinzas (Pinto et al. (2012)). Os minerais Cu e Mg estão presentes em maior quantidade nessa semente (Bello-Pérez et al. (2006)).

Apesar da grande importância comercial e cultural, a *Araucaria angustifolia* encontra-se em risco de extinção. Isto devido à exploração desordenada de madeira, derrubadas para expansão de território e limitações na propagação da própria espécie (Spada et al. (2012)). Nesse contexto, visando estudos, conservação e uso sustentável dos recursos genéticos, foram criados bancos de germoplasma, sendo um deles na EMBRAPA Florestas, em Colombo – PR. Neste local estão materiais genéticos de 224 diferentes tipos de pinheiros do Paraná (Costa et al. (2013); Villalobos et al. (1991)).

O amido tem função de reserva energética nas plantas. É caracterizado quimicamente como uma macromolécula composta por monômeros de glicose. Sua aplicação, além da indústria alimentícia, é bem difundida nas indústrias de papel e celulose, têxtil entre outras. Essa versatilidade se deve as suas propriedades de formar géis viscosos e também por agir como estabilizante. O amido é composto por duas cadeias, a amilose e amilopectina. A amilose é linear e possui ligações glicosídicas α 1-4; a amilopectina possui α 1-4 e α 1-6, apresentando ramificações. A porcentagem de cada uma dessas cadeias faz com que as propriedades de amidos de diferentes fontes botânicas variem muito (Bello-Pérez et al. (2006); Costa et al. (2013)).

Este estudo teve como objetivo extrair e caracterizar amostras de amido de pinhão com a utilização das técnicas: Rápido Visco-analisador (RVA) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV). A origem do material genético é do banco de germoplasma da EMBRAPA Florestas, Colombo, PR, Brasil.

2. Metodologia de Trabalho

2.1 Obtenção das amostras

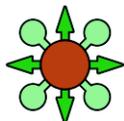
No presente estudo, quatro espécies foram selecionadas do banco de germoplasma da EMBRAPA Florestas, Colombo, PR, Brasil. As amostras foram identificadas e numeradas de 1 a 4. As amostras vieram de árvores de 4 materiais genéticos diferentes.

A extração do amido de pinhão foi realizada de acordo com Pinto et al. (2012), com algumas modificações: a casca foi removida, assim como a segunda película (camada mais fina) que está aderida nas sementes. As sementes isoladas foram trituradas e igual volume de água destilada foi adicionado a essa massa. Após as amostras serem agitadas por 5 min foram peneiradas (200 mesh) e a dispersão foi centrifugada (5000 rpm, 4 °C, 10 min). O amido resultante foi seco em estufa com circulação de ar a 35 °C e mantidas em dessecador com cloreto de cálcio anidro até massa constante.

2.2 Rápido Visco-análise (RVA)

As curvas de propriedade de pasta (RVA) foram obtidas por meio de um viscosímetro RVA-4 (Newport Sci., Austrália). Preparou-se uma suspensão de aproximadamente 3 g de amido para 25 g de água destilada. Durante a análise a amostra é submetida a um aquecimento controlado e ciclo de arrefecimento sob cisalhamento constante. Atinge-se 50 °C nos primeiros 2 min, então a amostra é aquecida de 50 a 95°C a 6 °C min⁻¹, a temperatura de 95 °C é mantida durante 5 min e então resfria-se até 50°C a 6 °C min⁻¹, mantendo a 50 °C durante 2 min (Ribeiro et al., 2014).

2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)



A Microscopia de varredura eletrônica (MEV) foi realizada no equipamento VEGA3 (TESCAN, República Tcheca). A escala de leitura foi de 20 μm , com 20 kV de tensão no feixe de elétrons, filamento de tungstênio e detector de elétrons retro-espelhado. O equipamento se baseia na passagem de elétrons através da amostra, previamente preparada. Inicialmente a amostra é fixada em uma fita adesiva de carbono e passa pelo processo de metalização com plasma de ouro e paládio. A leitura da imagem se dá a partir do detector de elétrons, o microscópio eletrônico, que registra as imagens e as transmite a um software instalado no computador acoplado ao equipamento.

2.4 Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey foram utilizados para comparar as amostras a um nível de significância de 95% de confiança ($p < 0,05$) utilizando o software SASM-Agri 8.2 - Sistema para Análise e Separação de Médias em Experimentos Agrícolas (Brazil).

3. Resultados e Discussão

Os perfis reológicos das amostras de amido de pinhão estão expostos na Figura 1. Percebe-se que as formas das curvas foram bem semelhantes, havendo diferença significativa em praticamente todos os parâmetros, como por exemplo, viscosidade e tempo de pico, quebra, tendência a retrogradação e viscosidade final, como se pode observar na Tabela 1.

Tabela 1. Valores obtidos na análise de RVA e diâmetros médios obtidos na MEV.

Table 1. Values obtained in RVA analysis and average diameters obtained in the SEM.

Amostra	RVA					MEV	
	Temperatura de Pasta / $^{\circ}\text{C}$	Viscosidade de pico /cP	Tempo do Pico /seg	Tendência a Retrogradação/ cP	Quebra/cP	Viscosidade Final/cP	$d_a/\mu\text{m}$
1	64,88 \pm 0,18 ^a	3091,00 \pm 1,41 ^a	336,25 \pm 0,35 ^c	1308,50 \pm 0,71 ^c	1799,00 \pm 1,41 ^a	2600,50 \pm 0,71 ^b	12,87 \pm 3,71 ^c
2	60,85 \pm 0,21 ^b	1931,50 \pm 0,71 ^d	448,10 \pm 0,14 ^a	1343,10 \pm 0,14 ^b	810,50 \pm 0,71 ^d	2464,10 \pm 0,14 ^c	16,10 \pm 3,40 ^a
3	62,55 \pm 0,35 ^{bc}	2980,95 \pm 0,07 ^b	364,00 \pm 5,66 ^b	1372,50 \pm 4,95 ^a	1679,95 \pm 0,07 ^b	2673,50 \pm 4,95 ^a	14,56 \pm 3,02 ^b
4	60,23 \pm 1,10 ^c	2700,45 \pm 0,64 ^c	319,90 \pm 0,14 ^d	1190,25 \pm 0,35 ^d	1499,45 \pm 0,64 ^c	2391,25 \pm 0,35 ^d	12,83 \pm 2,51 ^c

(*) (cP) centipoises, (seg) segundos, (d_a) diâmetro médio. O grau de cristalinidade relativo foi calculado em porcentagem, os picos foram determinados em 2θ . As médias da mesma coluna que possuem letras semelhantes não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Em relação aos valores de Temperatura de pasta/ $^{\circ}\text{C}$ se obteve valores menores aos encontrados por Ribeiro et al. (2014) em seu estudo. Klein et al. (2013) encontrou o mesmo valor de Temperatura de pico para a amostra (1) de pinhão ($\sim 64^{\circ}\text{C}$) e Stahl et al. (2007) obteve Temperatura de pasta de $59,6^{\circ}\text{C}$.

Dentre todas as amostras, a amostra (4), apresentou a menor tendência à retrogradação, sendo uma propriedade reológica de grande interesse para a indústria de alimentos, pois para processos industriais geralmente são buscados amidos com menores valores de retrogradação (Maia et al. (1999)). A amostra (2) apresentou o menor valor de Viscosidade de pico/cP (1931 cP), sendo o maior valor o da amostra (1), 3091 cP. Todas as amostras nesse parâmetro diferiram estatisticamente entre si, considerando Teste de Tukey à 5% de significância.

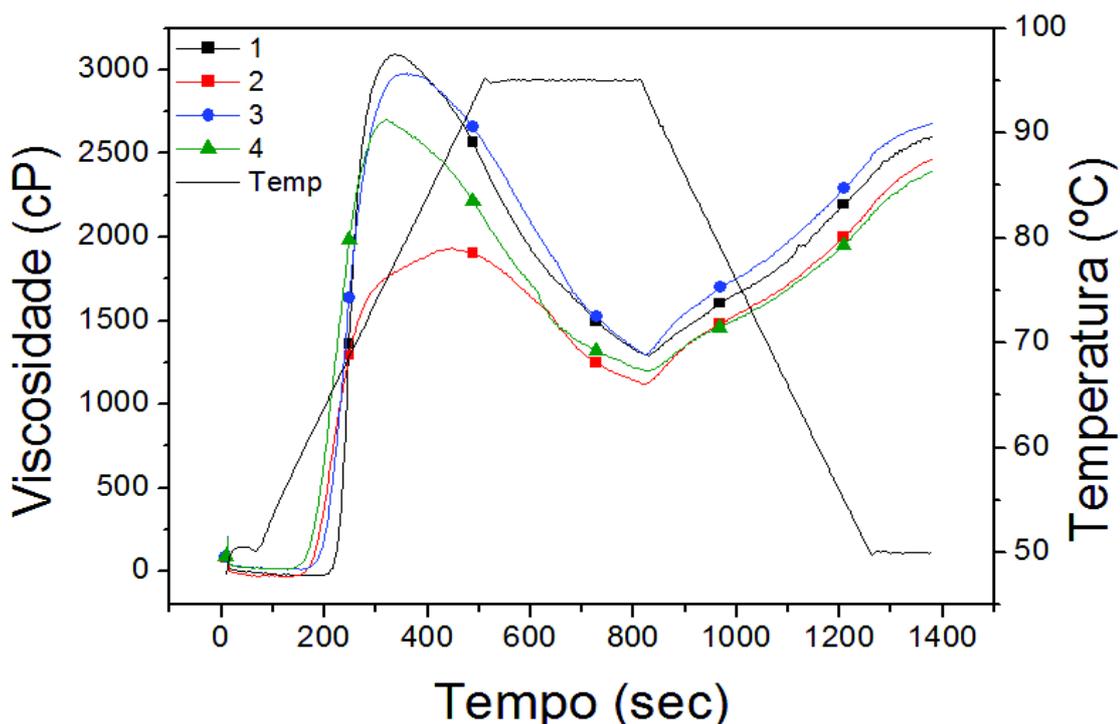


Figura 1. Curvas obtidas para as amostras de amido de pinhão nas propriedades de pasta, RVA.

Figure 1. Curves obtained for “pinhão” starch samples in the pasting properties, RVA.

Oliveira et al. (2014) e Beninca et al. (2013) descrevem um comportamento reológico semelhante para amidos de milho ceroso e de mandioca tratados com ácido, em meio aquoso. Ribeiro et al. (2014) obteve o mesmo comportamento para amostras de amido de pinhão, comprovando a eficácia e confiabilidade da análise de RVA na caracterização do comportamento reológico de pastas amiláceas.

Na Figura 2 observam-se as micro-imagens obtidas no MEV com um aumento de 2000x. Através dela foi possível calcular os diâmetros médios dos grânulos, os quais estão apresentados na Tabela 1. Os valores apresentaram-se muito próximos aos obtidos por Ribeiro et al. (2014) que obteve o diâmetro médio de 14 μ m para o amido de pinhão analisado, semelhante também ao amido de abacate, obtido por Lacerda et al. (2014).

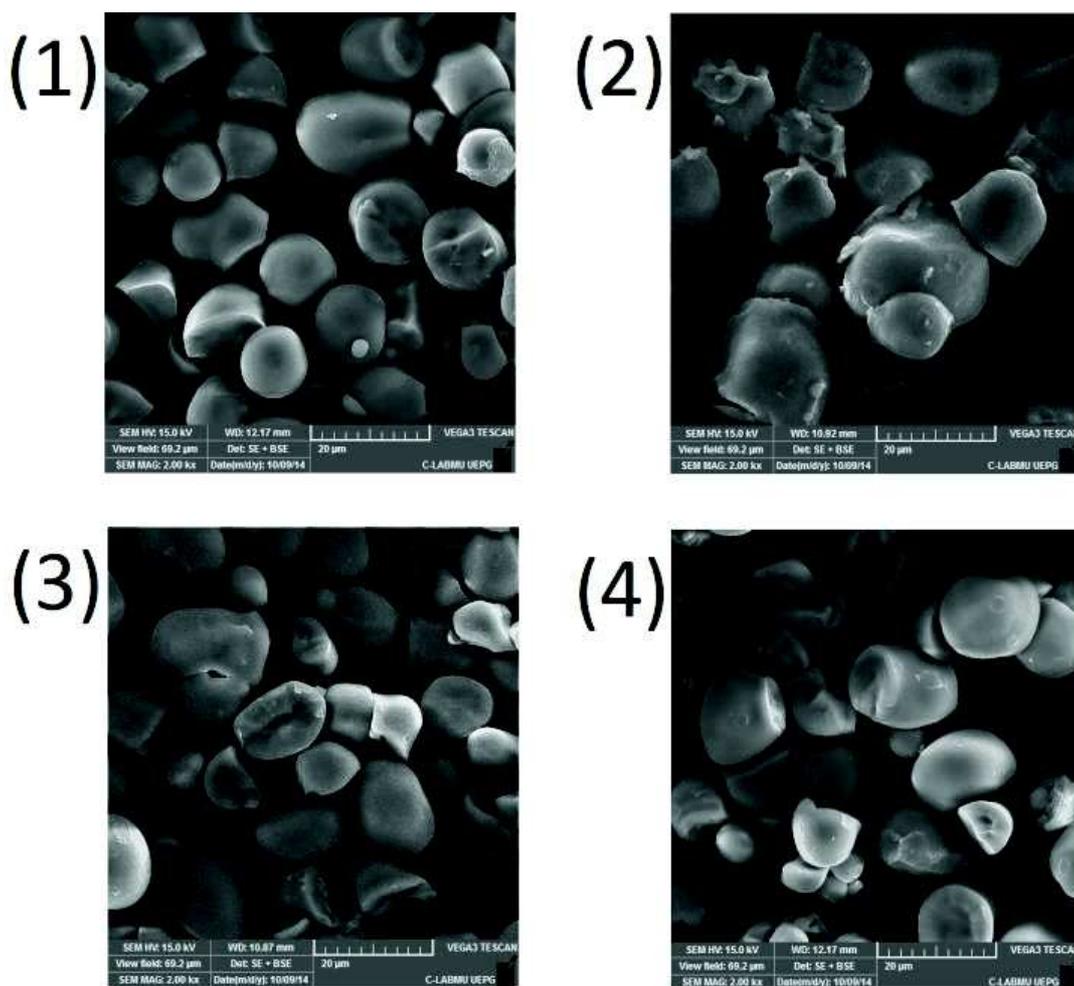


Figura 2. Micro-imagens obtidas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) para as amostras de diferentes tipos de amido de pinhão.

Figure 2. Micro-images obtained in a scanning electron microscope (SEM) for samples of different types of “pinhão” starch.

Como descrito por Bello-Pérez et al. (2006) o amido de pinhão é uma mistura de grânulos esféricos e ovais, com tamanho entre 10 e 25 µm, características que podem ser observadas pelas micro-imagens das 4 amostras analisadas.

4. Conclusões

A análise do perfil reológico obtida pelo RVA demonstrou um comportamento similar em todas as amostras, mas com diferentes valores, variando de acordo com a espécie do pinhão. A tendência a retrogradação apresentou valores muito próximos para todas as amostras.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) auxiliou na interpretação do tamanho do diâmetro médio, formato e estrutura dos grânulos.

Agradecimentos

Os autores agradecem os recursos financeiros disponibilizados pela Fundação Araucária - PR, Coordenação de Pesquisa e Educação Superior (CAPES) e do CNPq, Brasil. Agradecem também a EMBRAPA Florestas pela disponibilização das amostras analisadas.

Referências Bibliográficas



BELLO-PÉREZ, L.A.; GARCÍA-SUÁREZ, F.J.; MÉNDEZ-MONTEALVO, G.; NASCIMENTO, J.R.O.; LAJOLO, F.M.; CORDENUNSI, B.R. Isolation and Characterization of Starch from Seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel Starch for Application in Food Industry. **Starch/Stärke**, v. 58, p. 283-291, 2006.

BENINCA, C.; COLMAN, T.A.D.; LACERDA, L.G.; CARVALHO-FILHO, M.A.S.; BANNACH, G.; SCHNITZLER, E. The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. **Thermochimica Acta**, v. 552, p. 65-69, 2013.

COSTA, F.J.O.G.; LEIVAS, C.L.; WASZCZYNSKYJ, N.; GODOI, R.C.B.; HELM, C.V.; COLMAN, T.A.D.; SCHNITZLER, E. Characterisation of native starches of seeds of *Araucaria angustifolia* from four germplasm collections. **Thermochimica Acta**, v.565, p. 172-177, 2013.

CROSS, H.; PEPPER, T.; KEARSLEY, M.W.; BIRCH, G.G. Mineral Complexing Properties of Food Carbohydrates. **Starch/Stärke**, v.37, p.132-135, 1985.

KLEIN, B.; PINTO, V. Z.; VANIER, N. L.; ROSA ZAVAREZE, E.; COLUSSI, R.; EVANGELHO, J. A.; 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.

LACERDA, L.G.; COLMAN, T.A.D.; BAUAB, T.; CARVALHO-FILHO, M.A.S.; DEMIATE, I.M.; VASCONCELOS, E.C.; SCHNITZLER, E. Thermal, structural and rheological properties of starch from avocado seeds (*Persea Americana*, Miller) modified with standard sodium hypochlorite solutions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.115, p.1893-1899, 2014.

MAIA, L.H.; WANG, S.H.; ASCHERI, J.L.; CABRAL, L.C.; FERNANDES, M.S. Pasting viscosity, water absorption and water solubility index of dehydrated rice-soybean porridges. **Food Science and Technology**, v. 19, p. 391-396, 1999.

MAN, Y.B.; GHANI, M.B.; HASHIM, D.B.; RAHMAN, R.A. Study of sago starch (*Metroxylon sagu*) gelatinization by differential scanning calorimetry. **Journal of food processing and preservation**, v. 25, p. 101-121, 2001.

OLIVEIRA, C.S.; ANDRADE, M.M.P.; COLMAN, T.A.D.; COSTA, F.J.O.G.; SCHNITZLER, E. Thermal, structural and rheological behaviour of native and modified waxy corn starch with hydrochloric acid at different temperatures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.115, p.13-18, 2014.

PINTO, V.Z.; VANIER, N.L.; KLEIN, B.; ZAVAREZE, E.R.; ELIAS, M.C.; GUTKOSKI, L.C.; HELBIG, E.; DIAS, A.R.G. Physicochemical, crystallinity, pasting and thermal properties of heat-moisture-treated pinhão starch. **Starch/Stärke**, v.64, p. 855-863, 2012.

RIBEIRO, L. S.; CORDOBA, L. P.; COLMAN, T.A.D.; OLIVEIRA, C.S.; ANDRADE, M.M.P.; SCHNITZLER, E. Influence of some sugars on the thermal, rheological and morphological properties of “pinhão” starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.117, p.935-942, 2014.

SPADA, J. C.; NOREÑA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Study on the stability of β -carotene microencapsulated with pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p. 1166-1173, 2012.

STAHL, J.A.; LOBATO, L.P.; BOCHI, V.C.; KUBOTA, E.H.; GUTKOSKI, L.C.; EMANUELLI, T. Physicochemical properties of Pinhão (*Araucaria angustifolia*, Bert, O. Ktze) starch phosphates. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40, p. 1206-1214, 2007.

VILLALOBOS, V. M.; FERREIRA, P.; MORA, A. The use of biotechnology in the conservation of tropical germplasm. **Biotechnology Advances**, v. 9, p. 197-215, 1991.