

Amido resistente e suas propriedades físico-químicas

Resistant starch and its physicochemical properties

Alexandre Rodrigues LOBO¹
Glória Maria de LEMOS SILVA²

RESUMO

A partir da década de 80, começou a ser observado que uma fração do amido escapava da digestão no intestino delgado e chegava ao cólon, onde servia de substrato para a flora bacteriana. Essa fração foi denominada amido resistente e, a partir de então, constatou-se que determinados efeitos fisiológicos, inicialmente atribuídos às fibras alimentares, poderiam também ser atribuídos ao amido resistente. Vários fatores podem estar envolvidos na sua formação e eles, por sua vez, afetam a sua resposta fisiológica. Deste modo, torna-se importante o conhecimento dos aspectos físico-químicos envolvidos na formação do amido resistente.

Termos de indexação: amido resistente, amilose, amilopectina, propriedades físico-químicas.

ABSTRACT

Since the 1980s, it has been observed that a starch fraction was not digested in the small intestine, reaching the colon as a substrate for the bacterial flora. This fraction was called resistant starch and, from this time on, it was noticed that certain physiological effects, initially attributed to the dietary fiber, could also be attributed to the resistant starch. Several factors can be involved in its formation, and they, in turn, affect its physiological response. Therefore, the knowledge on the physicochemical aspects involved in the formation of the resistant starch becomes important.

Index terms: resistant starch, amylose, amylopectin, physicochemical properties.

¹ Pós-graduando em Ciência dos Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

² Departamento de Nutrição Básica e Experimental, Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Rua São Francisco Xavier, 524, 12º andar, Bloco D, Sala 12002/12006, Maracanã, 20550-013, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: G.M.L. SILVA. E-mail: gmlemos@bol.com.br

INTRODUÇÃO

O interesse do consumidor em alimentos específicos que contenham um papel na manutenção da saúde tem crescido nos últimos anos. O termo "alimentos funcionais" refere-se a estes gêneros alimentícios, os quais podem proporcionar benefícios nutricionais, dietéticos e metabólicos específicos, e contribuir para o controle e redução do risco de doenças.

O conceito de carboidratos complexos tem sido modificado pelas recentes descobertas relacionadas aos seus efeitos fisiológicos e nutricionais. Neste grupo de nutrientes incluem-se o amido e os polissacarídeos não-amido, os quais possuem diferenças em suas estruturas químicas e em seus efeitos fisiológicos.

O amido é formado por dois polímeros, a amilose e a amilopectina, que somente podem ser evidenciados após solubilização dos grânulos e separação. As propriedades mais importantes com influência no seu valor nutricional incluem a taxa e a extensão da digestão ao longo do trato gastrointestinal e o metabolismo dos monômeros absorvidos¹.

Por outro lado, alguns aspectos físico-químicos do amido podem afetar a sua digestibilidade em um alimento. De um modo geral, os principais fatores que podem interferir no aproveitamento deste polissacarídeo incluem: a sua origem botânica, a relação amilose/amilopectina, o grau de cristalinidade, a forma física e o tipo de processamento do amido, assim como interações ocorridas entre esta substância e outros constituintes do alimento²⁻⁵.

A partir da década de 80, os trabalhos de Englyst & Cummings (1987)⁶ deflagraram as pesquisas a respeito das frações do amido, assim como suas classificações e propriedades. Atualmente, vem crescendo o interesse dos pesquisadores em quantificar estas frações do amido nos alimentos, visando avaliar o seu real consumo e correlacionar estes achados com a nutrição e a saúde dos indivíduos.

O amido é classificado em função da sua estrutura físico-química e da sua susceptibilidade à hidrólise enzimática. Segundo Englyst *et al.* (1992)⁷, de acordo com a velocidade com a qual o alimento é digerido *in vitro*, o amido divide-se em: rapidamente digerível, quando, ao ser submetido à incubação com amilase pancreática e amiloglicosidase em uma temperatura de 37°C, converte-se em glicose em 20 minutos; lentamente digerível, se, nas condições anteriores, é convertido em glicose em 120 minutos; e amido resistente (AR), que resiste à ação das enzimas digestivas.

Por sua vez, o AR é constituído por três tipos de amido: o tipo 1, representa o grânulo de amido fisicamente inacessível na matriz do alimento, fundamentalmente por causa das paredes celulares e proteínas, pertencendo a este grupo grãos inteiros ou parcialmente moídos de cereais, leguminosas e outros materiais contendo amido nos quais o tamanho ou a sua composição impede ou retarda a ação das enzimas digestivas; o tipo 2 refere-se aos grânulos de amido nativo, encontrados no interior da célula vegetal, apresentando lenta digestibilidade devido às características intrínsecas da estrutura cristalina dos seus grânulos; e o tipo 3 consiste em polímeros de amido retrogradado (principalmente de amilose), produzidos quando o amido é resfriado após a gelatinização^{7,8}. O reaquecimento reduz o conteúdo deste tipo de amido em batatas, mostrando que a retrogradação é um fenômeno reversível⁹. Os três tipos de AR podem coexistir em um mesmo alimento. Assim, uma refeição contendo feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta os tipos 1 e 3, e em bananas verdes são encontrados os tipos 1 e 2^{9,10}.

Um quarto tipo de AR tem sido evidenciado quando o amido sofre modificações em sua estrutura química. Com o advento de sistemas de processamento mais sofisticados, tem sido possível obter produtos derivados do amido que podem atender necessidades específicas da indústria de alimentos. Esses produtos incluem os amidos substituídos quimicamente com grupamentos ésteres, fosfatos e éteres, bem como

amidos com ligações cruzadas, sendo estes também resistentes à digestão no intestino delgado^{9,11}.

O AR tem sido definido, em termos fisiológicos, como “a soma do amido e dos produtos da sua degradação que não são digeridos e absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis”¹². Deste modo, esta fração do amido apresenta comportamento similar ao da fibra alimentar, e tem sido relacionada a efeitos benéficos locais (prioritariamente no intestino grosso) e sistêmicos, através de uma série de mecanismos.

Alguns pesquisadores vêm estudando a presença e a formação do AR em vários alimentos normalmente consumidos pela população brasileira. Dados referentes aos seus teores em cerca de 128 alimentos estão disponíveis pela Internet, na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da Universidade de São Paulo¹³.

FATORES QUE INFLUENCIAM A FORMAÇÃO DO AMIDO RESISTENTE

Gelatinização e retrogradação do amido

Durante o processamento e armazenamento, as mudanças ocorridas na estrutura do amido influenciam profundamente as suas propriedades funcionais e fisiológicas⁸. A quantidade de água, o tempo e a temperatura de armazenamento são variáveis que influenciam no processo de cristalização e afetam diretamente os rendimentos do AR¹⁴.

A forma e a estrutura cristalina dos grânulos de amido são características de cada vegetal e podem ser visualizadas através de padrões de difração de Raios X, sendo divididos em três tipos: A, B e C. O tipo A é geralmente encontrado em amidos de cereais; o B é observado em alguns tubérculos, na banana verde e em amidos de milho com alto teor em amilose; e o C é encontrado frequentemente em amidos de

leguminosas e sementes, sendo considerado por alguns autores, uma combinação dos tipos A e B^{7,15}. Adicionalmente, quando moléculas de amilose associam-se com lipídeos no grânulo de amido, é visualizado um padrão de Raios X tipo V, que é parcialmente resistente à digestão enzimática^{7,15-17}.

Durante o aquecimento em meio aquoso, os grânulos de amido sofrem mudanças em sua estrutura, envolvendo a ruptura das pontes de hidrogênio estabilizadoras da estrutura cristalina interna do grânulo, quando uma temperatura característica para cada tipo de amido é atingida. Se o aquecimento prossegue com uma quantidade suficiente de água, rompe-se a região cristalina e a água entra, fazendo o grânulo romper-se e perder a birrefringência, isto é, não se visualiza mais a cruz de Malta sob luz polarizada¹⁸. Com a gelatinização, o amido torna-se mais facilmente acessível à ação das enzimas digestivas.

A gelatinização refere-se à formação de uma pasta visco-elástica túrbida ou, em concentrações suficientemente altas, de um gel elástico opaco. Conforme passa o tempo e a temperatura diminui (na refrigeração ou congelamento, principalmente), as cadeias de amido tendem a interagir mais fortemente entre si, obrigando a água a sair e determinando, assim, a chamada sinérese. A recristalização ou retrogradação ocorre quando, após uma solubilização durante o processo de gelatinização, as cadeias de amilose, mais rapidamente que as de amilopectina, agregam-se formando duplas hélices cristalinas estabilizadas por pontes de hidrogênio. Durante o esfriamento e/ou envelhecimento, estas hélices formam estruturas cristalinas tridimensionais altamente estáveis, com padrão B de difração de Raios X¹⁸.

Os polímeros da amilopectina retrogradada, limitados pela sua estrutura ramificada, são menos firmemente ligados que os da amilose retrogradada, conferindo a esta última uma maior resistência à hidrólise enzimática⁸. Segundo verificaram Eerlingen *et al.* (1993)¹⁹, ao estudarem a influência do

comprimento da cadeia de amilose na formação do AR, sob condições experimentais, o seu rendimento aumenta com o grau de polimerização da amilose. Colonna *et al.* (1992)⁸ encontraram em géis de amilose retrogradada um grau de polimerização entre 40 e 60.

Outros trabalhos mostraram que quanto maior o conteúdo de amilose, maior o rendimento do AR^{16,20}. Este efeito foi comprovado em diferentes tipos de amido, tais como os de milho, trigo, batata e milho com alto teor em amilose, fazendo pensar que a amilose era o único componente do amido a interferir na retrogradação. Entretanto, conforme estudos posteriores revelaram, sob determinadas condições de tempo e temperatura de armazenamento, a retrogradação da amilopectina não pode excluir-se da fração total do amido retrogradado^{14,21,22}.

Alguns estudos têm investigado a influência das diferentes formas de processamento na formação e rendimento do AR. García-Alonso *et al.* (1999)²³, avaliando os processos de gelatinização e retrogradação do amido em amostras de trigo, milho, arroz e batata, encontraram rendimentos semelhantes de AR quando as amostras foram submetidas a tratamentos térmicos diferentes (autoclave e água fervente). Neste mesmo trabalho, foi avaliada a relação entre o pH e a formação do AR. Dentre as amostras estudadas, somente o milho apresentou diferenças significativas na formação do AR. Segundo os autores, o pH não afeta a gelatinização do amido e a subsequente formação do AR.

Skrabanja & Kreft (1998)⁵ verificaram, em cereais, que um maior número de ciclos de autoclavagem e resfriamento resultaram em um aumento de 7% nos teores de amido retrogradado. Goñi *et al.* (1997)²⁴ reportaram um aumento no teor de AR (32%) em batatas fritas secas submetidas a um processo de congelamento prévio. Os autores sugerem que esse amido seria produzido pela degradação térmica na ausência de água.

Eerlingen *et al.* (1994a)²⁵ observaram um aumento de 10%, 6% e 4% nos teores de AR, quando amostras de amido de trigo gelatinizado foram armazenadas por vários dias em temperaturas de 100°C, 68°C e 0°C, respectivamente. Menezes *et al.* (1998)²⁶ evidenciaram um aumento no teor de AR em alimentos armazenados em temperaturas reduzidas (-20°C e 5°C) por um período de 24 horas. Posteriormente, Rosin (2000)²⁷ estudou o efeito do armazenamento de vários alimentos (arroz polido e integral, batata, ervilha, lentilha, macarrão, grão de bico, milho, polenta, feijão e pão francês) em condições de temperatura reduzida (-20°C), encontrando aumentos significativos na formação do AR em períodos de 7 e 30 dias.

Influência da forma física e das interações com outros componentes do alimento

Estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado que a forma física do alimento é o principal fator determinante da velocidade de digestão do amido^{28,29}. Com o processamento, os alimentos sofrem modificações em sua estrutura física, fazendo o amido ficar mais acessível à ação das enzimas digestivas. Além disso, a extensão da mastigação dos alimentos também pode interferir na disponibilidade do amido⁷.

Englyst *et al.* (1992)⁷, estudando as frações de amido em vários alimentos e suas respectivas resistências à digestão, observaram que a digestão do arroz polido é muito mais eficiente *in vivo* do que *in vitro*. Para os autores, o grau de resistência *in vivo* para o amido é de 1% a 3%, enquanto *in vitro* é de 11% a 12%. Neste mesmo trabalho, com relação ao feijão, foram verificados também altos teores de amido pouco digerível, apresentando respectivamente: 8% de amido rapidamente digerível, 19% de amido lentamente digerível e 18% de AR, em matéria seca.

A organização dos componentes da parede celular das leguminosas é um fator primordial na utilização do seu amido, e as células contendo os

grânulos apresentam paredes espessas e particularmente resistentes³⁰. Segundo Menezes & Lajolo (1995)³¹, a integridade da parede celular exerce uma importante função na utilização do amido, atuando como uma barreira física que dificulta o entumescimento, a completa gelatinização dos grânulos e a ação das enzimas digestivas sobre o amido. Outros estudos também evidenciaram a influência da parede celular na digestão do amido^{10,28,29}.

Um outro fator a ser levado em consideração na formação do AR são as interações que podem existir entre o amido e outros nutrientes constituintes do alimento.

Conforme se observaram em estudos sobre a biodisponibilidade do amido, uma pré-incubação com pepsina aumenta a acessibilidade do amido à α -amilase em farinhas de trigo, tanto cruas quanto cozidas, evidenciando que uma considerável fração do amido encontra-se encapsulada por proteínas³². A interação entre o amido e este nutriente também foi comprovada na elaboração de pães utilizando-se farinha de trigo com diferentes concentrações de proteína. Neste caso, verificou-se ação da proteína na dureza e na mastigação do pão, reduzindo sua digestão intestinal, em humanos³³.

Com relação aos lipídeos, foi constatada uma importante influência sobre a gelatinização e a retrogradação do amido. O mecanismo de interação entre a amilose e os lipídeos atribui-se à formação de associações por inclusão do lipídeo no interior da cadeia de amilose, que adota uma conformação em dupla hélice com estrutura parcialmente cristalina. Este complexo compete com a cristalização da amilose, deixando menor quantidade deste polissacarídeo livre para a formação de pontes de hidrogênio com outras cadeias de amilose^{5,16}.

A influência de outros constituintes dos alimentos na utilização de carboidratos tem sido documentada. De acordo com Thompson *et al.* (1987)³⁴, os fitatos possuem a capacidade de inibir a digestão *in vitro* do amido de leguminosas e a sua resposta glicêmica em humanos, mas esses

efeitos podem ser modificados na presença de cálcio. Segundo os autores, o fitato pode complexar-se com a α -amilase, a qual é uma enzima dependente de cálcio. Contudo, os autores alertam para a necessidade de se determinar o teor de fitato que possa significativamente exercer esses efeitos, sem prejudicar a biodisponibilidade dos minerais.

Escarpa *et al.* (1997)⁴, estudando a ação de alguns componentes dos alimentos (fibras insolúveis, cálcio, potássio, catequina e ácido fítico) na formação do amido resistente, evidenciaram que, com exceção das fibras insolúveis, todos os componentes testados reduziram a formação do AR.

Conforme relataram Eerlingen *et al.* (1994c)³⁵, açúcares (glicose, maltose, sacarose e ribose) tiveram uma significativa influência nos rendimentos de AR, quando presentes em uma alta concentração (relação amido-água-açúcar 1 : 10 : 5, p/p). Segundo os autores, o efeito dos açúcares pode ser positivo ou negativo, dependendo do tipo de amido.

MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DO AR

A necessidade de se obter um banco de dados confiável com relação ao teor de AR nos alimentos tem levado ao desenvolvimento de um número significativo de métodos *in vitro* e *in vivo* para a sua quantificação. Por outro lado, a complexidade das razões que podem condicionar a digestibilidade do amido *in vivo* fazem da determinação *in vitro* um problema considerável³⁶.

Existem na literatura vários métodos *in vitro* para a determinação de AR em alimentos, dos quais vários foram desenvolvidos durante o Programa *European Resistant Starch Research Group* (EURESTA), em 1992^{7,37}. De um modo geral, eles são baseados na diferença entre o amido total e a fração digerível, ou, ainda, na remoção do amido digerível através da utilização de diferentes enzimas e na quantificação direta do AR na fração residual^{7,9,36}.

Segundo McCleary (2001)³⁸, os métodos baseados na remoção do amido digerível e na quantificação do AR na fração residual devem ser utilizados em combinação com o método n. 985.29 da *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC), para a determinação da fibra alimentar total. De acordo com o autor, o AR deve ser previamente solubilizado com dimetilsulfoxido (DMSO) ou hidróxido de sódio antes da determinação da fibra alimentar.

Muir & O'Dea (1992)³⁹ determinaram o AR através de um procedimento enzimático precedido por uma etapa de mastigação da amostra por indivíduos saudáveis, com a finalidade de reproduzir as condições fisiológicas. Posteriormente, Akerberg *et al.* (1998)⁴⁰, baseados no protocolo seguido por Muir & O'Dea (1992)³⁹, propuseram um procedimento analítico que permite determinar paralelamente os teores de AR, amido disponível e fibra alimentar.

Baseando-se na definição fisiológica do AR, a qual inclui o amido e os produtos da sua degradação que não são absorvidos no intestino delgado¹², qualquer método de determinação do AR deveria levar em consideração todos os componentes incluídos nesta definição. Além disso, o método deve ser validado, utilizando-se dados de ensaios *in vivo* realizados em humanos saudáveis.

Para avaliar o teor de AR através de ensaios *in vivo*, tem sido empregadas as seguintes metodologias: utilização de indivíduos ileostomizados, permitindo a determinação direta e quantitativa do amido e de outros nutrientes que saem do intestino delgado; teste de respiração, onde o amido não absorvido é quantificado de forma indireta através do teor de H₂ expirado; e utilização de indivíduos intubados com uma cânula até o ceco, permitindo a determinação do teor de carboidratos diretamente no conteúdo intestinal aspirado⁹.

CONCLUSÃO

O conhecimento das propriedades físico-químicas do amido nos alimentos permite aos

pesquisadores entender melhor os fenômenos envolvidos na formação do AR. Além disso, evidencia-se a importância de conhecer o real conteúdo do AR nos produtos alimentícios, tanto *in natura* quanto processados, para a elaboração de dietas mais adequadas e o desenvolvimento de alimentos funcionais que possibilitem uma melhor nutrição, promoção de saúde e diminuição do risco de doenças.

REFERÊNCIAS

1. Asp NG. Classification and methodology of food carbohydrates as related to nutritional effects. *Am J Clin Nutr* 1995; 61 (Suppl):930S-7S.
2. Granfeldt YE, Drews AW, Björck IME. Starch bioavailability in arepas from ordinary or high amylose corn: concentration and gastrointestinal fate of resistant starch in rats. *J Nutr* 1993; 123:1676-84.
3. Muir JG, Birkett A, Brown I, Jones G, O'Dea K. Food processing and maize variety affects amounts of starch escaping digestion in the small intestine. *Am J Clin Nutr* 1995; 61:82-9.
4. Escarpa A, González MC, Morales MD, Saura-Calixto F. An approach to the influence of nutrients and other components on the resistant starch formation. *Food Chem* 1997; 60(4):527-32.
5. Skrabanja V, Kreft I. Resistant starch formation following autoclaving of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats an *in vitro* study. *J Agric Food Chem* 1998; 46:2020-23.
6. Englyst HN, Cummings JH. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:423-31.
7. Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(2 Suppl):S33-S50.
8. Colonna P, Leloup V, Buléon A. Limiting factors of starch hydrolysis. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(2 Suppl):S17-S32.

9. Champ M, Kozlowski F, Lecannu G. *In vivo* and *in vitro* methods for resistant starch measurement. *In: McCleary V, Prosky L. Advanced dietary fibre technology. Oxford: Blackwell Science; 2001. p.106-19.*
10. Noah L, Guillon F, Bouchet B, Buléon A, Molis C, Gratas M, *et al.* Digestion of carbohydrate from white beans (*Phaseolus vulgaris* L) in healthy humans. *J Nutr* 1998; 128:977-85.
11. Björk I, Gunnarsson A, Ostergard K. A study of native and chemically modified potato starch. *Starch/Stärke* 1989; 41:128-34.
12. Asp NG. Resistant starch Proceedings from the second plenary meeting of EURESTA: European FLAIR Concerted Action nº 11 on physiological implications of the consumption of resistant starch in man. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(2 Suppl):S1.
13. Universidade de São Paulo. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, USP; 1998. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela>
14. Escarpa A, González MC, Mañas E, García-Díaz L, Saura-Calixto F. Resistant starch formation: A standardization of a high-pressure autoclave process. *J Agric Food Chem* 1996; 44:924-28.
15. Gallant DJ, Bouchet B, Buléon A, Pérez S. Physical characteristics of granules and susceptibility to enzymatic degradation. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(2 Suppl):S3-S16.
16. Pomeranz Y. Research and development regarding enzyme-resistant starch (RS) in the USA: a review. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(2 Suppl):S63-S68.
17. Shi Y, Jeffcoat R. Structural features of resistant starch. *In: McCleary V, Prosky L. Advanced dietary fibre technology. Oxford: Blackwell Science; 2001. p.430-39.*
18. Germani R. Controle de qualidade tecnológica do grão e da farinha de trigo. Curso de Pós-Graduação em Controle e Garantia de Qualidade de Alimentos UFRJ – Embrapa/CTAA. Módulo III: controle de qualidade químico e físico-químico. Rio de Janeiro; 1999. p.27-31.
19. Eerlingen RC, Deceuninck M, Delcour J.A. Enzyme-resistant starch II: Influence of amylose chain length on resistant starch formation. *Cereal Chem* 1993; 70(3):345-50.
20. Sievert D, Czuchajowska Z, Pomeranz Y. Enzyme-resistant starch III. X-ray diffraction of autoclaved amylo maize VII starch and enzyme-resistant starch residues. *Cereal Chem* 1991; 68:86-91.
21. Eerlingen RC, Jacobs H, Delcour JA. Enzyme-resistant starch V: Effect of retrogradation of waxy maize starch on enzyme susceptibility. *Cereal Chem* 1994; 71(4):351-55.
22. Fredriksson H, Björck I, Andersson R, Liljeberg H, Silverio J, Eliasson AC, *et al.* Studies on α -amilase degradation of retrograded starch gels from waxy maize and high-amylopectin potato. *Carbohydr Polymers* 2000; 43:81-7.
23. García-Alonso A, Jiménez-Escrig A, Martín-Carrón N, Bravo L, Saura-Calixto F. Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. *Food Chem* 1999; 66:181-7.
24. Goñi I, Bravo L, Larrauri JA, Saura-Calixto F. Resistant starch in potatoes deep-fried in olive oil. *Food Chem* 1997; 59(2):269-72.
25. Eerlingen RC, Cillen G, Delcour JA. Enzyme-resistant starch IV: Effect of endogenous lipids and added sodium dodecyl sulfate on formation of resistant starch. *Cereal Chem* 1994; 71(2):170-77.
26. Menezes EW, Canzio AE, Lajolo FM. Formação de amido resistente em alimentos armazenados em baixas temperaturas. *In: Lajolo FM, Menezes EW. Fibra dietética temas em tecnologia de alimentos México: INP 1998; 2:191-8. [Anais do Simpósio Iberoamericano sobre Fibra Dietética em Alimentos- Projeto CYTED XI 6, São Paulo; 1997].*
27. Rosin PM. Formação de amido resistente em alimentos armazenados sob baixa temperatura (-20°C) – Estudo *in vitro* e *in vivo* [dissertação]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP; 2000.
28. Wong S, O’Dea K. Importance of physical form rather than viscosity in determining the rate of

- starch hydrolysis in legumes. *Am J Clin Nutr* 1983; 37:66-70.
29. Livesey G, Wilkinson JA, Roe M, Faulks R, Clark S, Brown JC, *et al.* Influence of the physical form of barley grain on the digestion of its starch in the human small intestine and implications for health. *Am J Clin Nutr* 1995; 61:75-81.
 30. Würsch P, Del Vedovo S, Koellreutter B. Cell structure and starch nature as key determinants of the digestion rate of starch in legume. *Am J Clin Nutr* 1986; 46:25-9.
 31. Menezes EW, Lajolo FM. Utilização do amido de leguminosas. *Arch Latinoam Nutr* 1995; 45(1 Supl):270S-272S.
 32. Annon G, Topping DL. Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. *Ann Rev Nutr* 1994; 14:297-320.
 33. Anderson H, Levine AS, Levitt MD. Incomplete absorption of the carbohydrate in all purpose wheat flour. *N Engl J Med* 1981; 302:891-92.
 34. Thompson LU, Button CL, Jenkins DJA. Phytic acid and calcium affect the *in vitro* rate of navy bean starch digestion and blood glucose response in humans. *Am J Clin Nutr* 1987; 46:467-73.
 35. Eerlingen RC, Van Den Broeck I, Delcour J.A, Slade L, Levine H. Enzyme-resistant starch VI: Influence of sugars on resistant starch formation. *Cereal Chem* 1994; 71(5):472-76.
 36. Tovar J. Métodos para la determinación del contenido de almidón resistente en los alimentos. *In: Lajolo FM, Saura-Calixto F, Penna EW, Menezes EW, et al.* Fibra dietética em Iberoamérica: tecnología y salud – obtención caracterización efecto fisiológico y aplicación en alimentos. São Paulo: Varela; 2001. p.433-44.
 37. Champ M. Determination of resistant starch in food and food products: interlaboratory study. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(2 Suppl):S51-S62.
 38. McCleary BV. Measurement of dietary fibre components: the importance of enzyme purity activity and specificity. *In: McCleary V, Prosky L.* Advanced dietary fibre technology. Oxford: Blackwell Science; 2001. p.89-105.
 39. Muir JG, O’Dea K. Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. *Am J Clin Nutr* 1992; 56:123-7.
 40. Akerberg AKE, Liljeberg HGM, Granfeldt YE, Drews AW, Björk IME. An *in vitro* method based on chewing to predict resistant starch content in foods allows parallel determination of potentially available starch and dietary fiber. *J Nutr* 1998; 128:651-60.
- Recebido para publicação em 5 de março de 2001 e aceito em 12 de julho de 2002.