

Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação

Resistant starch: physico-chemical characteristics, physiological properties and quantification methodologies

Melissa Walter¹ Leila Picolli da Silva² Tatiana Emanuelli³

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

Encontrado em diversos alimentos, o amido é a mais importante fonte de carboidratos da dieta. Potencialmente digerível pelas enzimas no trato gastrintestinal, é absorvido na forma de glicose no intestino delgado. Apesar disso, quantidade significativa de amido pode escapar a esta digestão, alcançando o cólon, onde é fermentado pela flora bacteriana. Esta fração, conhecida como amido resistente, tem sido intensamente estudada nos últimos anos devido aos potenciais benefícios à saúde humana. Vários métodos são utilizados para a determinação do amido resistente. Porém, nenhum é de aceitação unânime, uma vez que apresentam diferenças importantes nos protocolos e nos resultados obtidos. Neste contexto, o presente trabalho visa fornecer subsídios para um melhor entendimento sobre as características físico-químicas, propriedades metabólicas e fisiológicas, bem como, sobre as variações nas metodologias existentes para a determinação do amido resistente.

Palavras-chave: carboidratos, amido, protocolos, alimentos funcionais.

ABSTRACT

Found in different foods, starch is the most important source of carbohydrates in the diet. Potentially

digested by enzymes in the gastrointestinal tract, it is absorbed as glucose in the small intestine. Despite this fact, significant amount of starch may escape digestion, reaching the colon, where it is fermented by intestinal flora. This fraction, known as resistant starch, has been extensively studied for some years because of its potential beneficial effects on human health. Many methods are used to determine resistant starch. Nevertheless, none has received unanimous approval, since the existing ones have important differences in protocols and in obtained results. In this context, the present work aimed at providing subsidies to better understand the physico-chemical characteristics, metabolic and physiological properties as well as variations in the existing methodologies for resistant starch determination.

Key words: carbohydrates, starch, protocols, functional foods.

INTRODUÇÃO

O amido apresenta grande importância nutricional e industrial. Encontra-se amplamente distribuído em diversas espécies vegetais, como carboidrato de reserva, sendo abundante em grãos de cereais, raízes e tubérculos. É a fonte mais importante

¹Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Núcleo Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL), Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos (DTCA), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: melmelissaw@hotmail.com. Autor para correspondência.

²Bolsista recém doutor (ProDoc), Beneficiária de auxílio financeiro da Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), NIDAL, DTCA, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

³Professor Adjunto do DTCA, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

de carboidratos na alimentação humana, representando 80-90% de todos os polissacarídeos da dieta, e o principal responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados.

Estruturalmente, o amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$, formando uma estrutura ramificada. Embora a amilose seja definida como linear, atualmente se admite que algumas de suas moléculas possuem ramificações, semelhantes à amilopectina. Além disso, a presença de estruturas intermediárias entre amilose e amilopectina foi proposta para alguns amidos, como o de aveia (WANG & WHITE, 1994; ELIASSON, 1996). As proporções em que estas estruturas aparecem diferem entre as diversas fontes, entre variedades de uma mesma espécie e ainda, numa mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta (ELIASSON, 1996). Estas variações podem resultar em grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais diferenciadas, o que pode afetar sua utilização em alimentos ou aplicações industriais (WANG & WHITE, 1994).

Apresentando somente ligações α -glicosídicas, o amido é potencialmente digerível pelas enzimas amilolíticas secretadas no trato digestivo humano (ENGLYST & HUDSON, 1996). Até recentemente, devido à alta produção da α -amilase pancreática, se considerava que o amido era completamente hidrolisado por essa enzima, sendo absorvido no intestino delgado na forma de glicose. Entretanto, certos fatores, tais como relação amilose:amilopectina, forma física do alimento e inibidores enzimáticos, entre outros, podem influenciar a taxa na qual o amido é hidrolisado e absorvido. Assim, quantidade significativa de amido pode escapar à digestão no intestino delgado e alcançar o cólon, onde é fermentado (WOLF et al., 1999).

Para propósitos nutricionais, o amido pode ser classificado como glicêmico ou resistente. O amido glicêmico é degradado a glicose por enzimas no trato digestivo, podendo ser classificado como amido rapidamente (ARD) ou amido lentamente digerível (ALD) no intestino delgado. Em testes *in vitro*, o ARD é hidrolisado em glicose dentro de 20 minutos, enquanto o ALD é convertido em glicose entre 20 e 110 minutos (ENGLYST et al., 1992; YUE & WARING, 1998). Já o amido resistente é aquele que resiste à digestão no intestino delgado, mas é fermentado no

intestino grosso pela microflora bacteriana (YUE & WARING, 1998).

Amido resistente

O termo amido resistente foi sugerido inicialmente por ENGLYST et al. (1982). Estes pesquisadores constataram que muitos alimentos processados continham maior teor aparente de polissacarídeos não amiláceos do que os produtos crus correspondentes. Análises detalhadas revelaram que este aumento era devido a um composto formado por *n*-glicoses, que podia ser disperso em hidróxido de potássio. Assim, estes pesquisadores definiram amido resistente como sendo aquele que resiste à dispersão em água fervente e hidrólise pela ação da amilase pancreática e da pululanase. Esta fração era constituída principalmente de amilose retrogradada, que também parecia ser altamente resistente à digestão (CHAMP & FAISANT, 1996). A partir de 1992, a definição para amido resistente assumiu um caráter mais relacionado aos seus efeitos biológicos, representando “a soma do amido e produtos de sua degradação que não são absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis” (FAISANT et al., 1993; CHAMP & FAISANT, 1996; GOÑI et al., 1996). Pode-se dizer, então, que o amido resistente é a fração que não fornecerá glicose ao organismo, mas que será fermentada no intestino grosso para produzir gases e ácidos graxos de cadeia curta, principalmente. Devido a esta característica, considera-se que os efeitos do amido resistente sejam, em alguns casos, comparáveis aos da fibra alimentar e, por este motivo, normalmente é considerado como um componente desta (CHAMP & FAISANT, 1996).

O amido resistente pode ser classificado em amido fisicamente inacessível (AR₁), grânulos de amido resistente (AR₂) e amido retrogradado (AR₃), considerando sua resistência à digestão.

Amido resistente tipo 1 - A forma física do alimento pode impedir o acesso da amilase pancreática e diminuir a digestão do amido, fato que o caracteriza como resistente tipo AR₁ (fisicamente inacessível). Isto pode ocorrer se o amido estiver contido em uma estrutura inteira ou parcialmente rompida da planta, como nos grãos; se as paredes celulares rígidas inibirem o seu intumescimento e dispersão, como nos legumes; ou por sua estrutura densamente empacotada, como no macarrão tipo espaguete (ENGLYST et al., 1992; MUIR & O'DEA, 1992; GOÑI et al., 1996).

Amido resistente tipo 2 - Na planta, o amido é armazenado como corpos intracelulares parcialmente cristalinos denominados grânulos. Por meio de difração

de raios-x, podem-se distinguir três tipos de grânulos que, dependendo de sua forma e estrutura cristalina, denominam-se A, B e C. As cadeias externas relativamente curtas das moléculas de amilopectina de cereais (menos de 20 unidades de glicose) favorecem a formação de polimorfos cristalinos tipo A. Já as cadeias externas maiores das moléculas de amilopectina de tubérculos (mais de 22 unidades de glicose) favorecem a formação de polimorfos tipo B, encontrados também na banana, em amidos retrogradados e em amidos ricos em amilose. Embora com estrutura helicoidal essencialmente idêntica, o polimorfo tipo A apresenta empacotamento mais compacto do que o tipo B, o qual apresenta estrutura mais aberta e centro hidratado. Por sua vez, o polimorfo tipo C é considerado um intermediário entre os tipos A e B, sendo característico de amido de legumes e sementes (THARANATHAN, 2002; TESTER et al., 2004). A forma do grânulo influencia sua digestão, caracterizando o amido resistente tipo AR₂. Embora o grau de resistência dependa da fonte, geralmente grânulos dos tipos B e C tendem a ser mais resistentes à digestão enzimática (ENGLYST et al., 1992; MUIR & O'DEA, 1992).

Amido resistente tipo 3 - A maioria do amido ingerido pelo homem é submetido a tratamentos com calor e umidade, resultando no rompimento e gelatinização da estrutura do grânulo nativo, o que o torna digerível (BOTHAM et al., 1995). Quando o gel esfria e envelhece, o amido gelatinizado forma novamente uma estrutura parcialmente cristalina, insolúvel e resistente à digestão enzimática, porém diferente da conformação inicial (ENGLYST et al., 1992; MUIR & O'DEA, 1992). Este processo é conhecido como retrogradação, caracterizando o amido resistente tipo AR₃. A retrogradação da amilose, à temperatura ambiente, é um processo rápido (poucas horas), originando uma forma de amido altamente resistente à redispersão em água fervente e à hidrólise pela amilase pancreática (MUIR & O'DEA, 1992; BOTHAM et al., 1995). Já a retrogradação da amilopectina é um processo mais lento (dias a semanas) e dependente da concentração da amostra, sendo que, em excesso de água, ela pode ser revertida por aquecimento a 70°C (BOTHAM et al., 1995). Vários estudos têm demonstrado relação direta entre o conteúdo de amilose e a formação de amido resistente, o que não ocorre com a amilopectina (BERRY, 1986; EGGUM et al., 1993; SAMBUCETTI & ZULETA, 1996).

A digestibilidade do amido também pode ser afetada por fatores intrínsecos, como a presença de complexos amido-lípido e amido-proteína, de inibidores da α -amilase e de polissacarídeos não

amiláceos (GOÑI et al. 1996; THARANATHAN, 2002); bem como por fatores extrínsecos, como tempo de mastigação (determina a acessibilidade física do amido contido em estruturas rígidas), tempo de trânsito do alimento da boca até o íleo terminal, concentração de amilase no intestino, quantidade de amido presente no alimento e a presença de outros componentes que podem retardar a hidrólise enzimática (ENGLYST et al., 1992; THARANATHAN, 2002).

Neste contexto, é possível constatar que alimentos crus e processados contêm apreciáveis quantidades de amido resistente, dependendo da fonte botânica e do tipo de processamento, como moagem, cozimento e resfriamento (MUIR & O'DEA, 1993; GOÑI et al., 1996). Embora os três tipos ocorram naturalmente na dieta humana (MUIR & O'DEA, 1992), podendo coexistir em um mesmo alimento (CHAMP & FAISANT, 1996), o AR₃ é o mais comum e, do ponto de vista tecnológico, o mais importante, já que sua formação é resultante do processamento do alimento (GARCÍA-ALONSO et al., 1998). O conteúdo de amilose, a temperatura, a forma física, o grau de gelatinização, o resfriamento e a armazenagem, afetam o conteúdo de AR₃ (BERRY, 1986; EGGUM et al., 1993; GOÑI et al. 1996). Estes indicativos servem como base para explicar porque, ao contrário da fibra alimentar, as quantidades de amido resistente nos alimentos podem ser manipuladas de forma relativamente simples pelas técnicas de processamento (MUIR & O'DEA, 1992), influenciando a taxa e extensão esperada da digestão do amido no intestino delgado humano. Esta forma de manipulação poderia ser utilizada de forma benéfica tanto para o consumidor, na manutenção da boa saúde, como para a indústria alimentícia, que teria uma fonte de "fibra" que não causaria alterações organolépticas tão pronunciadas quanto as fontes tradicionalmente usadas nos produtos, como os farelos (ENGLYST & HUDSON, 1996; YUE & WARING, 1998).

Efeitos do amido resistente na saúde

O principal interesse em relação ao amido resistente é o seu papel fisiológico. Por não ser digerido no intestino delgado, este tipo de amido se torna disponível como substrato para fermentação pelas bactérias anaeróbicas do cólon (JENKINS et al., 1998). Dessa forma, essa fração compartilha muitas das características e benefícios atribuídos à fibra alimentar no trato gastrointestinal (BERRY, 1986; MUIR & O'DEA, 1992). Por exemplo, em indivíduos diabéticos, o consumo de carboidratos digestíveis não pode exacerbar a hiperglicemia pós-prandial e deve prevenir eventos hipoglicêmicos. No entanto, as diferenças nas respostas glicêmica e insulinêmica ao amido da dieta

estão diretamente relacionadas à taxa de digestão do amido (O'DEA et al., 1981). Dessa forma, alimentos lentamente digeridos ou com baixo índice glicêmico têm sido associados ao melhor controle do diabetes e, a longo prazo, podem até mesmo diminuir o risco de desenvolver a doença (JENKINS et al., 1998). Em estudo realizado por KABIR et al. (1998), com ratos normais e diabéticos, a substituição do amido com alto índice glicêmico por amido com baixo índice glicêmico numa dieta mista aumentou a oxidação da glicose, estimulada pela insulina, e diminuiu a incorporação da glicose nos lipídios totais.

O amido resistente também tem sido associado a reduções nos níveis de colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) e de triglicerídios na hiperlipidemia (JENKINS et al., 1988). SACQUET et al. (1983) e MORAND et al. (1992) observaram que a inclusão de amido resistente a dietas de ratos reduziu os níveis de colesterol e triglicerídios plasmáticos.

Não sendo digerido no intestino delgado, o amido resistente também pode servir de substrato para o crescimento de microrganismos probióticos, atuando como potencial agente prebiótico (HARALAMPU, 2000). A metabolização desse tipo de carboidrato pelos microrganismos, via fermentação, resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato; gases carbônico e hidrogênio e, em alguns indivíduos, metano; e diminuição do pH do cólon (ENGLYST et al., 1987; CHAMP & FAISANT, 1996; YUE & WARING, 1998). A maioria destes compostos age na prevenção de doenças inflamatórias do intestino, além de auxiliar na manutenção da integridade do epitélio intestinal. Adicionalmente, o amido resistente contribui para o aumento do volume fecal, modificação da microflora do cólon, aumento da excreção fecal de nitrogênio e, possivelmente, redução do risco de câncer de cólon (JENKINS et al., 1998; YUE & WARING, 1998).

Em estudos utilizando populações mistas de bactérias obtidas de fezes humanas, ENGLYST et al. (1987) observaram que 59% do amido fermentado foi recuperado como ácidos graxos de cadeia curta, na proporção molar de 50:22:29 para acetato, propionato e butirato, respectivamente. O decréscimo do pH resultante dessa fermentação pode, em parte, ser responsável pela pequena taxa de transformação de ácidos biliares primários em metabólitos secundários mutagênicos e pela redução de outras biotransformações bacterianas específicas no intestino grosso (CHAMP & FAISANT, 1996). Dados obtidos por JENKINS et al. (1998), em estudos com humanos, mostraram que a suplementação de amido resistente nas dietas resultou em maior concentração de butirato,

em comparação ao tratamento controle, constituído de baixo teor de fibra. Considerando que o butirato é importante fonte de energia para as células epiteliais do cólon, sua maior produção pode prevenir doenças colônicas, incluindo colite ulcerativa, as quais são provocadas por deficiência de energia. Em adição, é atribuído ao butirato a supressão do desenvolvimento de células cancerígenas e o aumento na proliferação de células da mucosa intestinal, o que pode diminuir o risco de câncer de cólon, visto que pacientes com este tipo de doença apresentaram taxas reduzidas de butirato durante a investigação inicial (ENGLYST et al., 1987; ASP, 1996; JENKINS et al., 1998; YUE & WARING, 1998). Quanto ao propionato e acetato, podem influenciar a gliconeogênese e a lipogênese hepáticas, respectivamente (ENGLYST et al., 1987; ASP, 1996).

Além desses benefícios, o aumento do volume fecal provocado pelo amido resistente pode ser importante na prevenção da constipação, diverticulose e hemorróidas, além de diluir compostos tóxicos, potenciais formadores de células cancerosas (YUE & WARING, 1998).

Quantificação do amido resistente

Normalmente, o amido dos alimentos é quantificado pelo teor de glicose liberada após sua completa hidrólise enzimática, pelo uso combinado de enzimas amilolíticas (ASP, 1996). A α -amilase promove a fragmentação da molécula de amido por hidrólise das ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$, produzindo açúcares redutores de baixo peso molecular (maltose, maltotriose e maltotetrose). Todavia, esta enzima não hidrolisa as ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow6)$ presentes na amilopectina e, por isso, deve-se utilizar a amiloglicosidase, para completa hidrólise do amido em glicose. No entanto, técnicas baseadas neste princípio não são eficientes para a determinação do amido resistente. Diante deste problema, a partir da década de 80, os esforços se concentraram no desenvolvimento de técnicas que contemplassem a determinação, conjunta ou separadamente, destas duas frações. Entretanto, a quantificação do amido resistente é problemática, uma vez que este não possui uma estrutura química diferenciada, sendo composto por um conjunto de estados físicos que alteram a taxa de digestão do amido convencional (HARALAMPU, 2000).

A determinação do amido resistente pode ser realizada por métodos *in vivo* ou *in vitro*. Nos métodos *in vivo*, são realizadas coletas de amostra diretamente do íleo ou estimativa da quantidade de amido fermentado no cólon (CHAMP & FAISANT,

1996). Porém, estas técnicas são onerosas e inconvenientes, tanto em estudos com humanos como com animais. Por este motivo, foram desenvolvidos métodos *in vitro*, os quais podem ser diretos ou indiretos. Nos diretos, o amido resistente é quantificado após remoção da fração digerível por tratamento enzimático, simulando a hidrólise que ocorre na parte superior do trato digestivo (boca, estômago e intestino delgado) (BERRY, 1986; CHAMP & FAISANT, 1996). Após esta etapa, o amido remanescente é solubilizado com hidróxido de potássio ou dimetilsulfóxido, e novamente hidrolisado por enzimas amilolíticas. Os métodos indiretos são baseados na determinação do amido total e do amido disponível, de onde se obtém, por diferença, a quantidade de amido resistente (CHAMP & FAISANT, 1996). Entretanto, estes métodos acumulam erros de duas determinações experimentais (GOÑI et al., 1996). Os métodos *in vitro* variam em relação ao modo como a amostra é preparada, tipos e quantidades de enzimas, condições de tempo e de temperatura de incubação e substâncias utilizadas para a solubilização da fração resistente. Estas variações dificultam a comparação dos resultados de amido resistente obtidos pelas distintas técnicas propostas.

Alguns destes métodos propõem que a preparação da amostra para análise *in vitro* seja realizada a partir do processo de mastigação, já que para medir a taxa e extensão da digestão do amido é necessário que a amostra seja analisada como ela é ingerida, sem moagem excessiva ou qualquer tratamento preparativo (ENGLYST et al., 1992; MUIR & O'DEA, 1992). No entanto, a mastigação é um método altamente individual e variável, sendo que a técnica escolhida deve ser reprodutível e refletir a divisão média do alimento alcançada pela mastigação. Desta forma, o mais indicado é que as amostras sejam trituradas por moagem, a qual, alterando a forma física do alimento, aumenta o acesso das enzimas amilolíticas (MUIR & O'DEA, 1992).

Apesar dos métodos existentes utilizarem enzimas amilolíticas na determinação do amido resistente, somente alguns recorrem à protease. O uso desta enzima é recomendado para melhor simulação das condições fisiológicas (enzimas digestivas proteolíticas, pH ácido). Além disso, a remoção de proteínas aumenta a acessibilidade da amilase, evitando associações amido-proteína e a encapsulação do amido por matriz protéica, a qual pode formar uma estrutura rígida e impedir a gelatinização e hidrólise do grânulo de amido (GOÑI et al., 1996; ESCARPA et al., 1997). Estudos com farinha crua e cozida mostraram que grande parte do amido está encapsulada por uma

matriz protéica, o que restringe a atividade da α -amilase (CHAMP, 1992). Várias pesquisas observaram decréscimo nos níveis de amido resistente em farinhas de legumes após incubação com proteases, antes ou após o cozimento, o que pode ser atribuído a alterações da parede celular e/ou à liberação das associações proteína-amido (EERLINGEN & DELCOUR, 1995)

Na quantificação do amido resistente, também são utilizadas diferentes combinações de temperatura, de acordo com a metodologia proposta. Por exemplo, o método 996.11 da AOAC (1998) utiliza temperaturas mais altas (50 e 100°C), enquanto outros métodos indicam temperaturas mais baixas, próximas à fisiológica. A importância deste fator está relacionada à gelatinização do amido, ou seja, quando se aplica α -amilase termorresistente a 100°C, o amido gelatiniza, não sendo possível a quantificação da fração resistente, presente nos alimentos crus. Ainda, a amilopectina retrogradada é facilmente hidrolisada, uma vez que exibe temperatura de fusão entre 55-70°C. Assim, em alguns casos, o uso de altas temperaturas pode subestimar o conteúdo de frações de amido resistente (AR₁ e AR₂), além de afetar o tempo de incubação.

A solubilização do amido resistente para posterior determinação só é possível com o uso de hidróxido de potássio ou dimetilsulfóxido. A dispersão do amido resistente nestes reagentes permite sua digestão pelas enzimas amilolíticas e posterior determinação. Embora as diferentes técnicas optem pelo uso de um ou outro destes reagentes, não são encontrados dados na literatura explicando o porquê desta escolha. BERRY (1986) apenas comenta que, por ser o dimetilsulfóxido um poderoso solvente para muitos materiais insolúveis em água, incluindo amidos nativos, há poucas dúvidas de que o amido resistente represente um componente que resiste à amilólise por razões físicas, mais do que razões químicas.

A fração de amido resistente, embora com características químicas, organolépticas e efeitos fisiológicos distintos, muitas vezes é quantificada junto com a fibra alimentar. Isto se deve ao fato de que os métodos utilizados não realizam a solubilização com hidróxido de potássio ou dimetilsulfóxido e, conseqüentemente, incluem o amido resistente no resultado final (JENKINS et al., 1998; YUE & WARING, 1998). Entretanto, deve-se observar que somente o amido resistente tipo AR₃ (retrogradado) é incluído nesta fração, uma vez que os passos de moagem e gelatinização solubilizam AR₁ e AR₂, respectivamente (ASP, 1996; WOLF et al., 1999).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento das propriedades fisiológicas do amido resistente permite sua melhor utilização na alimentação, inclusive em dietas diferenciadas, podendo complementar e/ou substituir a fração fibra de determinados alimentos, sem alteração significativa das características organolépticas destes. Desta forma, são necessárias técnicas adequadas para a quantificação do amido resistente nos alimentos, cujos resultados correlacionem com a resposta biológica, permitindo melhor avaliação de seus efeitos fisiológicos. Neste contexto, várias metodologias enzimáticas vêm sendo estudadas, mostrando-se promissoras as que tentam mimetizar os eventos enzimático-digestivos do trato gastrointestinal, as quais utilizam protease. Embora evidentes, os avanços nas técnicas atuais para a análise de amido resistente ainda não permitiram obter correlações seguras entre os valores determinados *in vitro* com aqueles observados *in vivo*, o que indica a necessidade de continuar as pesquisas sobre este assunto.

REFERÊNCIAS

- AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16.ed. Washington, 1998. 1018p.
- ASP, N.G. Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology. **Food Chem**, v.57, n.1, p.9-14, 1996.
- BERRY, C.S. Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. **J Cereal Sci**, v.4, p.301-314, 1986.
- BOTHAM, R.L. et al. A physicochemical characterization of chick pea starch resistant to digestion in the human small intestine. **Carbohydr Polym**, v.26, p.83-90, 1995.
- CHAMP, M. Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. **Eur J Clin Nutr**, v.46, n.2, p.S51-S62, 1992.
- CHAMP, M.; FAISANT, N. Resistant starch: analytical and physiological aspects. **Bol SBCTA**, v.30, n.1, p.37-43, 1996.
- EERLINGEN, R.C.; DELCOUR, J.A. Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. **J Cereal Sci**, v.22, p.129-138, 1995.
- EGGUM, B.O. et al. The resistant starch, undigestible energy and undigestible protein contents of raw and cooked milled rice. **J Cereal Sci**, v.18, p.159-170, 1993.
- ELIASSON, A.C. **Carbohydrates in food**. New York : Marcel Dekker, 1996. 561p.
- ENGLYST, H.N. et al. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, v.107, p.307-318, 1982.
- ENGLYST, H.N. et al. Polysaccharide breakdown by mixed populations of human faecal bacteria. **FEMS Microbiol Ecol**, v.95, p.163-171, 1987.
- ENGLYST, H.N.; HUDSON, G.J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chem**, v.57, n.1, p.15-21, 1996.
- ENGLYST, H.N. et al. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **Eur J Clin Nutr**, v.46, p.S33-S50, 1992.
- ESCARPA, A. et al. An approach to the influence of nutrients and other food constituents on resistant starch formation. **Food Chem**, v.60, n.4, p.527-532, 1997.
- FAISANT, N. et al. Structural discrepancies in resistant starch obtained *in vivo* in humans and *in vitro*. **Carbohydr Polym**, v.21, p.205-209, 1993.
- GARCÍA-ALONSO, A. et al. Influence of botanical source and processing on formation of resistant starch type III. **Cereal Chem**, v.75, n.6, p.802-804, 1998.
- GOÑI, I. et al. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. **Food Chem**, v.56, p.445-449, 1996.
- HARALAMPU, S.G. Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS₃. **Carbohydr Polym**, v.41, p.285-292, 2000.
- JENKINS, D.J. et al. Starchy foods and glycemic index. **Diabetes Care**, v.11, n.2, p.149-159, 1988.
- JENKINS, D.J.A. et al. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. **J Am Coll Nutr**, v.17, n.6, p.609-616, 1998.
- KABIR, M. et al. Dietary amylose-amylopectin starch content affects glucose and lipid metabolism in adipocytes of normal and diabetic rats. **J Nutr**, v.128, n.1, p.35-43, 1998.
- MORAND, C. et al. Replacement of digestible wheat starch by resistant cornstarch alters splanchnic metabolism in rats. **J Nutr**, v.122, p.345-354, 1992.
- MUIR, J.G.; O'DEA, K. Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. **Am J Clin Nutr**, v.56, p.123-127, 1992.
- MUIR, J.G.; O'DEA, K. Validation of an *in vitro* assay for predicting the amount of starch that escapes digestion in the small intestine of humans. **Am J Clin Nutr**, v.57, p.540-546, 1993.
- O'DEA, K. et al. Rate of starch hydrolysis *in vitro* as a predictor of metabolic responses to complex carbohydrate *in vivo*. **Am J Clin Nutr**, v.34, p.1991-1993, 1981.
- SAMBUCETTI, M.E.; ZULETA, A. Resistant starch in dietary fiber values measured by the AOAC method in different cereals. **Cereal Chem**, v.73, n.6, p.759-761, 1996.

SAQUET, E. et al. Effect of amylo maize starch on cholesterol and bile acid metabolisms in germfree (axenic) and conventional (holoxenic) rats. **Reprod Nutr Dev**, n.23, p.783-792, 1983.

TESTER, R. F. et al. Starch – composition, fine structure and architecture. **J Cereal Sci**, v.39, p.151-165, 2004.

THARANATHAN, R. N. Food-derived carbohydrates – Structural complexity and functional diversity. **Crit Rev Biotechnol**, v.22, p.65-84, 2002.

WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and properties of amylose, amylopectin, and intermediate materials of oat starches. **Cereal Chem**, v.71, n.3, p.263-268, 1994.

WOLF, B. W. et al. Effects of chemical modification on *in vitro* rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slowly digested starch. **J Agr Food Chem**, v.47, p.4178-4183, 1999.

YUE, P.; WARING, S. Resistant starch in food applications. **Cereal Food World**, v.43, n.9, p.690-695, 1998.