



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

**NORMA LÚCIA DE MIRANDA PIMENTEL**

**BISCOITO DE POLVILHO SUPLEMENTADO COM AMIDO  
RESISTENTE:  
UM NOVO ALIMENTO FUNCIONAL**

]

---

Londrina  
2007

**NORMA LÚCIA DE MIRANDA PIMENTEL**

**BISCOITO DE POLVILHO SUPLEMENTADO COM AMIDO  
RESISTENTE:  
UM NOVO ALIMENTO FUNCIONAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Victória Eiras Grossmann.

Londrina  
2007

**NORMA LÚCIA DE MIRANDA PIMENTEL**

**BISCOITO DE POLVILHO SUPLEMENTADO COM AMIDO  
RESISTENTE:  
UM NOVO ALIMENTO FUNCIONAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Maria Victória Eiras Grossmann  
Universidade Estadual de Londrina

---

Profa. Dra. Laura Beatriz Karam  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

---

Profa. Dra. Marta de Toledo Benassi  
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 16 de agosto de 2007.

Aos meus amados pais Carlos e Norma  
pelo exemplo de vida, amor incondicional,  
incentivo e paciência..

Ao meu avô Cícero pelo exemplo de vida e a  
saúde deixada após a sua partida.

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

A Profa. Maria Victória por ser essa profissional de extrema competência que passa os seus conhecimentos com tamanha facilidade que até nos faz pensar que a tarefa de um mestre é simples. E à pessoa Victória que nos “abraça” como uma mãe nos momentos de dificuldade, quando passamos pelos percalços da vida, dando uma palavra amiga, uma palavra de incentivo e nunca nos deixando desanimar.

Victória, só tenho a agradecer e dizer que se tivesse que começar tudo de novo escolheria você novamente como minha orientadora, pois você é uma mulher que me servirá de exemplo por toda a vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Às professoras Adelaide Del Pino Beléia e Marta de Toledo Benassi pela correção e valiosas sugestões feitas ao trabalho.

Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos – DCTA da Universidade Estadual de Londrina, pela atenção e conhecimentos transmitidos.

Às professoras Marney Cereda e Débora de Queiroz Tavares pelos materiais concedidos.

Às técnicas do laboratório, Berenice, Elza e Marli, pelo grande auxílio em todos os momentos solicitados.

Às empresas Tup Guar (Walter), National Starch (Karla) e Maeda, pela doação de matérias-primas.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Ao amigo Nelson pelo carinho e amizade.

À minha irmã Flávia pelo amor e cumplicidade.

Às queridas amigas Michele Rosset (Mimi) e Cícera Gonçalves (Cirça), pelo apoio, incentivo, compreensão, paciência e amizade inestimável.

A todos os amigos, pela amizade e os bons momentos compartilhados.

E a todos que não foram citados, mas que colaboraram de alguma forma para que esse trabalho pudesse ter sido concluído.

Em especial a Deus, sem o qual nada seria possível....

*“A mente que se abre a uma nova idéia  
jamais voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

PIMENTEL, Norma L. M. **Biscoito de Polvilho Suplementado com Amido Resistente: um novo alimento funcional.** 2007. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

## RESUMO

É cada vez maior a procura, pelos consumidores, por alimentos que, além de nutrir, lhes proporcionem qualidade de vida, bem-estar e diminuição dos riscos de doenças. Os alimentos funcionais incluem-se nessa categoria específica de alimentos, pois, quando ingeridos em quantidade e periodicidade adequadas, são capazes de produzir efeitos benéficos à saúde. O amido resistente (AR) tem sido extensivamente pesquisado por apresentar efeitos benéficos similares aos das fibras. Os biscoitos de polvilho, caracterizados por grande volume e pouco peso, são tradicionalmente consumidos em todo o território nacional, sendo assim um interessante veículo para o AR. O objetivo desta pesquisa foi produzir AR a partir de amido de mandioca fermentado (AF) e empregar este ingrediente para desenvolver biscoito de polvilho com apelo funcional. O amido resistente foi produzido pelo método de esterificação com ácido cítrico em temperatura elevada, em diferentes tempos de reação (3, 4 e 7h). Os biscoitos foram elaborados por substituição de parte do amido fermentado usado na formulação pelo amido fermentado resistente (AFR) produzido (4h de reação) ou por amido resistente comercial (amido de milho), de modo a promover a adição de 3, 5 e 7% de AR. Na análise viscoamilográfica dos AFR, nos diferentes tempos de reação, não foram observadas as curvas de viscosidade características do amido fermentado sem esterificação. O teor de AR apresentado pelo AF foi de 10,41% (bs) e a modificação deste, nos tempos de 3, 4 e 7h, aumentou o conteúdo para 11,19, 17,51 e 23,28% respectivamente. Através da microscopia eletrônica foi observado que a medida que o tempo de reação com ácido cítrico aumentou, ocorreram aumentos na aglomeração dos grânulos, corrosão na superfície, e modificações no formato. Os biscoitos de polvilho formulados com amido resistente comercial e AFR tiveram menor volume específico com o aumento da concentração de AR, enquanto que praticamente não houve diferença na dureza. No teste de aceitabilidade, empregando uma escala hedônica de sete pontos, os biscoitos formulados com adição de 3, 5 e 7% de AR comercial, obtiveram notas médias de 6,4, 6,2 e 6,2, respectivamente, notas equivalentes a gostei moderadamente e, os formulados com o AFR, 6,3, 5,5 e 4,9 (notas que variaram entre gostei moderadamente e nem gostei/ nem desgostei). Todos os biscoitos formulados com AR comercial foram bem aceitos, já os formulados com AFR a substituição de 5% de polvilho azedo por AR foi o limite.

**Palavras-chave:** Amido modificado. Polvilho azedo. Biscoito de polvilho. Amido de mandioca fermentado.

PIMENTEL, Norma L. M. **Sour cassava starch biscuits (*Biscoito de polvilho*) supplemented with resistant starch: a new functional food.** 2007. 60f. Dissertation (Master Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

### ABSTRACT

Consumers search each time more for foods that promote not only nutrition but also life quality, welfare and decreasing levels of diseases risks. Functional foods are included in this specific class of foods because, when ingested in adequate amount and periodicity, are capable to produce beneficial health effects. Resistant starch (RS) has been extensively studied as a consequence of its effects similar to the fibers ones. *Biscoitos de polvilho*, characterized by great volume and little weight, are traditionally consumed in all the Brazilian territory, being thus an interesting vehicle for RS. The objective of this research was to produce RS from fermented cassava starch (FCS) and to use this ingredient to develop *biscoitos de polvilho* with functional claim. RS was produced by the method of esterification with citric acid in high temperature, with different reaction times (3, 4, 7h). The biscuits were elaborated substituting part of the fermented starch used in formulation by the produced resistant fermented starch (RFCS) or by a commercial RS (maize starch), as a way to promote the addition of 3, 5 and 7% RS. Viscographic analysis of RFS, with different reaction times, did not show the characteristic curve of FCS without esterification. RS level in FCS was 10.41% (db) and the modification with times of 3, 4 and 7h increased this level to 11.19, 17.51 and 23.28%, respectively. Electronic microscopy showed that increasing reaction time with citric acid increased starch granule agglomeration, superficial corrosion and changes in the conformation. *Biscoitos de polvilho* formulated with commercial RS or RFS had lower specific volume with the increase of RS while the hardness practically was not affected. When acceptability was evaluated, using a seven points hedonic scale, the biscuits formulated with 3, 5 and 7% of commercial RS had medium notes 6.4, 6.2 and 6.2, respectively, and the ones with RFCS, 6.3, 5.5 and 4.9 (the grades were between like slightly and neither like nor dislike). All biscuits that were formulated with commercial AR had good acceptability, but those formulated with AFR, 5% cassava starch substituted for AR was the limit.

**Keywords:** Modified starch. Fermented starch. Sour cassava starch biscuit. Fermented cassava starch.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Evolução histórica da produção de amido de mandioca no Brasil -1990 a 2006 .....	19
<b>Figura 2</b> – Distribuição estadual da produção de amido de mandioca em 2006 .....	19
<b>Figura 3</b> – Principais setores compradores de fécula das fecularias em 2006.....	20
<b>Figura 4</b> – Fluxograma do processo de extração do amido de mandioca.....	21
<b>Figura 5</b> – Fluxograma de obtenção do polvilho azedo .....	22
<b>Figura 6</b> – Reação de ácido cítrico com amido .....	29
<b>Figura 7</b> – Fluxograma de produção de citrato de amido.....	32
<b>Figura 8</b> – Curvas viscográficas de amido de mandioca fermentado e citratos de amido de mandioca fermentado em condições de reação a 135°C / 3-7h .....	41
<b>Figura 9</b> – Microscopia eletrônica de varredura do amido de mandioca nativo e modificado .....	42
<b>Figura 10</b> – Microscopia eletrônica de varredura do amido de mandioca fermentado e modificado .....	43
<b>Figura 11</b> – Biscoito de polvilho com inclusão de 3, 5 e 7% (da esquerda para a direita) de AR, pela substituição de polvilho azedo por AR comercial .....	50
<b>Figura 12</b> – Biscoitos de polvilho com inclusão de 3, 5 e 7% (da esquerda para a direita) de AR, pela substituição de polvilho azedo por AFR.....	50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Parâmetros usados no Viscógrafo Brabender para análise viscoamilográfica .....	33
<b>Tabela 2</b> – Quantidades de ingredientes utilizados para a formulação do biscoito de Polvilho.....	35
<b>Tabela 3</b> – Caracterização dos amidos de mandioca nativo (AN) e fermentado (AF) e respectivos amidos resistentes (ANR e AFR) nos diferentes tempos de permanência na estufa .....	39
<b>Tabela 4</b> – Teor de AR em amido de mandioca fermentado (AF) e amidos de mandioca fermentado resistentes (AFR), com tratamento em estufa por 3, 4 e 7h .....	45
<b>Tabela 5</b> – Volume específico dos biscoitos de polvilho com diferentes níveis de adição de AR de fontes comercial ou AFR.....	47
<b>Tabela 6</b> – Dureza das diferentes formulações de biscoitos de polvilho.....	48
<b>Tabela 7</b> – Valores de aceitação para as diferentes formulações dos biscoitos de polvilho... (n = 102 provadores) .....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABAM</b>	Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca
<b>AF</b>	Amido Fermentado
<b>AFR</b>	Amido Fermentado Resistente
<b>AN</b>	Amido Nativo
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>ANR</b>	Amido Nativo Resistente
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>AOAC</b>	Association of Official Analytical Chemists
<b>AR</b>	Amido Resistente
<b>bs</b>	Base Seca
<b>CEPEA</b>	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
<b>CNNPA</b>	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>g</b>	Gramas
<b>h</b>	Hora
<b>HCl</b>	Ácido Clorídrico
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido Sulfúrico
<b>KOH</b>	Hidróxido de Potássio
<b>M</b>	Molar
<b>MERCOSUL</b>	Mercado Comum do Sul
<b>min.</b>	Minuto
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>N</b>	Newton
<b>N</b>	Nitrogênio
<b>NaOH</b>	Hidróxido de Sódio
<b>n°</b>	Número
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>p</b>	Peso
<b>s</b>	Segundos

<b>v</b>	Volume
<b>UB</b>	Unidades Brabender
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UVB</b>	Ultravioleta B
<b>UVC</b>	Ultravioleta C
<b>µm</b>	Micrômetro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	17
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
3.1 ASPECTOS GERAIS .....	18
3.2 POLVILHO DOCE E POLVILHO AZEDO .....	20
3.3 PROPRIEDADES DO AMIDO DE MANDIOCA FERMENTADO .....	24
3.4 BISCOITO DE POLVILHO .....	26
3.5 AMIDO RESISTENTE .....	28
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
4.1 MATERIAL .....	31
4.2 MÉTODOS .....	31
4.2.1 Produção de Amido Resistente (Citrato de Amido) .....	31
4.2.2 Caracterização dos Amidos Nativo e Fermentado, Antes e Após a Modificação com Ácido Cítrico (Amidos Resistentes) .....	33
4.2.2.1 Composição Química .....	33
4.2.2.2 Análise Viscoamilográfica .....	33
4.2.2.3 Microscopia Eletrônica .....	34
4.2.2.4 Quantificação de Amido Resistente .....	34
4.2.3 Formulação do Biscoito .....	35
4.2.4 Caracterização dos Biscoitos .....	36
4.2.4.1 Expansão .....	36
4.2.4.2 Dureza instrumental .....	36
4.2.4.3 Avaliação Sensorial .....	36
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	37
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS NATIVO E FERMENTADO, ANTES E APÓS A MODIFICAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO (AMIDOS RESISTENTES) .....	38
5.1.1 Proteína e Cinzas .....	38
5.1.2 Análise Viscoamilográfica .....	40
5.1.3 Microscopia Eletrônica.....	41
5.1.4 Quantificação de Amido Resistente .....	44
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS BISCOITOS .....	46
5.2.1 Volume Específico .....	46
5.2.2 Dureza.....	47
5.2.3 Avaliação Sensorial .....	48
<b>6 SUGESTÕES PARA FUTURAS PESQUISAS .....</b>	<b>51</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>59</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A busca do consumidor por alimentos que lhe proporcionem benefício à saúde tem aumentado nos últimos anos. Os alimentos funcionais enquadram-se nessa categoria específica, pois são capazes de produzir efeitos fisiológicos benéficos e contribuir para o controle e redução do risco de doenças (LOBO e SILVA, 2003).

Muitas pesquisas têm focado as propriedades funcionais dos alimentos. Estas são atribuídas à presença de uma substância ou um grupo de substâncias que, quando consumidas em quantidade e periodicidade adequadas, têm efeitos benéficos na saúde humana (WALTER, SILVA e DENARDIN, 2005). O amido resistente (AR) é um desses componentes.

O AR e os seus efeitos no trato gastrointestinal são similares àqueles atribuídos a outros compostos classificados como fibras (celulose, hemiceluloses, pectina, etc). Não é degradado pelas enzimas do trato gastrointestinal e fornecem carboidratos fermentáveis para as bactérias do cólon. Mas, os produtos finais da fermentação de AR são, quantitativamente, diferentes daqueles da fibra, produzindo, principalmente, butirato (25-30% do total são ácidos graxos de cadeia curta). O butirato é metabolizado e fornece energia, que é utilizada pelas células epiteliais do cólon para inibir ou evitar a transformação dessas células em células malignas; ou seja, o AR diminui o risco de câncer de cólon (WALTER, SILVA e DENARDIN, 2005).

Além disso, o AR pode ser usado como substrato para promover o crescimento de alguns microrganismos probióticos atuando como um potencial agente prebiótico (SAJILATA, SINGHAL e KULKARNI, 2006).

O consumo de AR tem sido relacionado com implicações benéficas na administração do diabetes e está associado com um decréscimo nos níveis de colesterol e triglicérides. Outros efeitos do consumo de AR são o aumento da frequência de evacuação e do bolo fecal, prevenção de constipação e hemorróidas (WALTER, SILVA e DENARDIN, 2005); e, ainda, auxílio em regimes de perda de peso (CEREDA e VILPOUX, 2003).

O AR pode ser obtido a partir de fontes naturais como, por exemplo, da banana verde e de cereais; ou por processamento do amido não resistente (APARICIO-SAGUILÁN *et al.*, 2007; KOKSEL *et al.*, 2007). Pode ser constituído de diferentes frações: amido fisicamente inacessível, amido retrogradado, complexos formados entre nutriente-amido, amido modificado quimicamente (CALIXTO *et al.*, 1993; GOÑI *et al.*, 1996).

Muitos pesquisadores têm investigado formas de modificação do amido granular para que a porcentagem de amido resistente aumente. Entre estas, pode-se citar: o tratamento de grânulos de amido nativo com ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ou ácido clorídrico (HCl) para remover a fração amorfa (SHIN *et al.*, 2007), ciclos de autoclavagem, gelatinização seguida de retrogradação do amido (NIBA, 2002, 2003) e esterificação com ácido cítrico em alta temperatura (XIE e LIU, 2004).

O amido<sup>1</sup> de mandioca, no Brasil, recebe também a denominação de polvilho, que pode ser doce ou azedo. O polvilho azedo é um tipo de amido de mandioca modificado por processo de fermentação e secagem solar, que apresenta características bem diversas das do polvilho doce. É um produto regional e geralmente de preparo artesanal (MAEDA e CEREDA, 2001). O polvilho azedo é usado, principalmente, na fabricação de biscoitos e de pão de queijo, e é insubstituível, devido às suas características de sabor e propriedades funcionais, principalmente a de expansão (PALATA-OVIEDO e CAMARGO, 1998; CEREDA *et al.*, 2003). Também pode ser utilizado na preparação de pães sem glúten, para indivíduos intolerantes a este (BERTOLINI *et al.*, 2001).

O biscoito de polvilho, tradicional em alguns estados do Brasil, como Minas Gerais, São Paulo e Paraná, é um dos produtos mais característicos fabricados com polvilho azedo. É produzido através da mistura de polvilho azedo, sal e leite até que a granulometria característica do polvilho azedo seja desfeita. Em seguida é feito o escaldamento, com água e gordura vegetal hidrogenada ferventes, que tem como objetivo pré-gelatinizar os grânulos de amido para facilitar a incorporação de água na massa. Os ovos são adicionados um a um e mais água é adicionada até a massa atingir o “ponto ideal”. Esse biscoito poderia ser um novo veículo para amido resistente e, considerando que o polvilho azedo é essencial para conferir-lhe as características próprias, seria interessante que a matéria-prima para a produção desse amido resistente fosse o próprio polvilho azedo.

---

<sup>1</sup> No texto da autora aparece a denominação fécula, em vez de amido, uma vez que, comercialmente, esta é a terminologia aplicada a amidos de raízes e tubérculos. Para padronização, neste trabalho, o termo fécula será sempre substituído pela denominação científica de amido.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver biscoitos de polvilho com apelo funcional, devido à adição de amido resistente.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Produzir e caracterizar amido resistente a partir de amido de mandioca;
- Desenvolver biscoitos de polvilho com diferentes teores de amido resistente;
- Avaliar as características de expansão e dureza dos biscoitos;
- Avaliar a aceitação dos biscoitos.

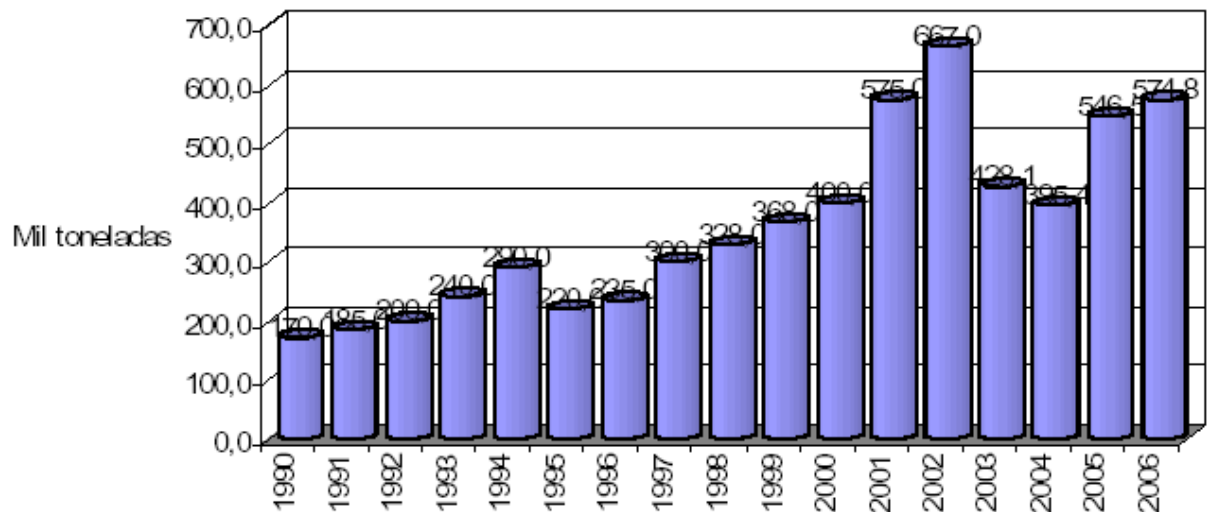
### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ASPECTOS GERAIS

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é cultivada praticamente em todo o território nacional e sua importância reside no fato de que suas raízes são comestíveis, possuindo alto teor de amido (CEREDA *et al.*, 2003).

A raiz da mandioca é um dos alimentos básicos da população brasileira, principalmente para a de baixa renda. Porém, mais do que isso, a indústria de beneficiamento da raiz vem apresentando um significativo desenvolvimento, garantindo a presença de vários produtos (fécula, polvilho azedo, dextrina, álcool, etc), como matérias-primas em uma série de indústrias, tanto alimentícias quanto não-alimentícias. Duas tendências vêm contribuindo para o desenvolvimento do setor: (1) a crescente diferenciação de produtos, com o surgimento de farinhas especiais, como as temperadas, por exemplo; e (2) as ótimas perspectivas para a utilização do amido de mandioca como matéria-prima para diversos setores industriais. A segunda tendência tem chamado a atenção do mercado, principalmente pela possibilidade de substituição do amido de milho e de outros cereais, pelo amido de mandioca (GAMEIRO, 2002).

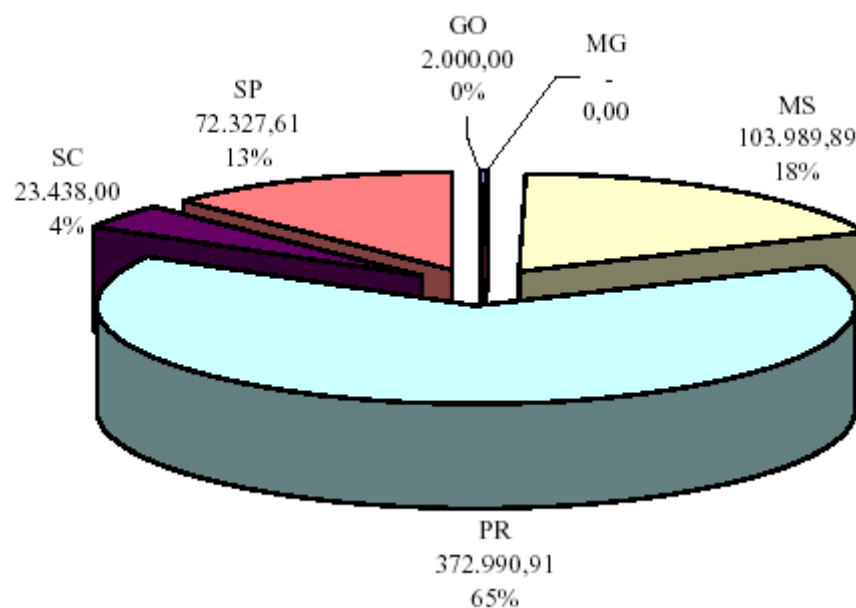
A produção brasileira de amido de mandioca em 2006 foi a terceira maior dos últimos 16 anos, ficando praticamente igual à de 2001 e perdendo apenas para 2002, quando a safra alcançou 667 mil toneladas (Figura 1) (CEPEA/ABAM, 2007).



FONTE: CEPEA/ABAM (2007).

**Figura 1** – Evolução histórica da produção de amido de mandioca no Brasil -1990 a 2006.

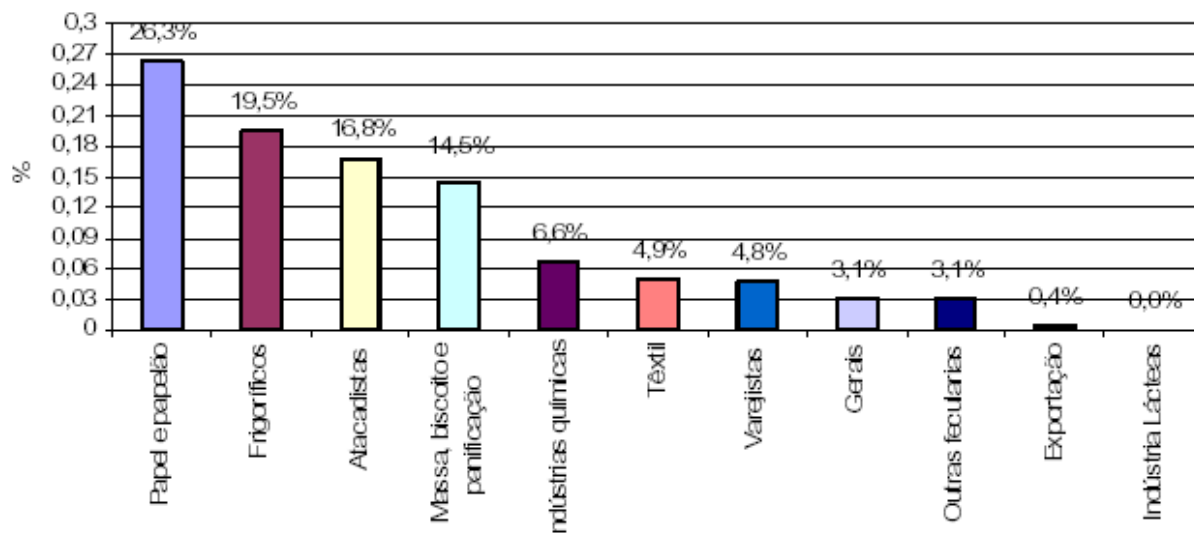
O principal estado produtor de amido de mandioca foi o Paraná, que respondeu por 65% do total produzido em 2006, seguido pelo Mato Grosso do Sul (18%), São Paulo (13%), Santa Catarina (4,0%) e, o estado de Goiás começou a apontar no cenário nacional, sinalizando a nova fronteira de produção de amido de mandioca no Brasil (Figura 2) (CEPEA/ABAM, 2007).



FONTE: CEPEA/ABAM (2007).

**Figura 2** – Estados produtores de amido de mandioca em 2006.

A Figura 3 ilustra os principais setores compradores de amido de mandioca em 2006, destacando-se o setor de papel e papelão que adquiriu mais de 26,0% da produção total, seguido pelo setor de frigoríficos (19,5%), atacadistas (16,8%), massas, biscoitos e panificação (14,5%), indústrias químicas (6,6%), setor têxtil (4,9%), e varejistas (4,8%). A compra de amido de mandioca por outras fecularias representou 3,1% (CEPEA/ABAM, 2007).



FONTE: CEPEA/ABAM (2007).

**Figura 3** – Principais setores compradores de fécula das fecularias em 2006.

Acrescenta-se ainda que do total comercializado pelas empresas, 61% foi de amido nativo, 35% de amido modificado, enquanto que 3 e 2 % foram de polvilho doce e azedo respectivamente (CEPEA/ABAM, 2007).

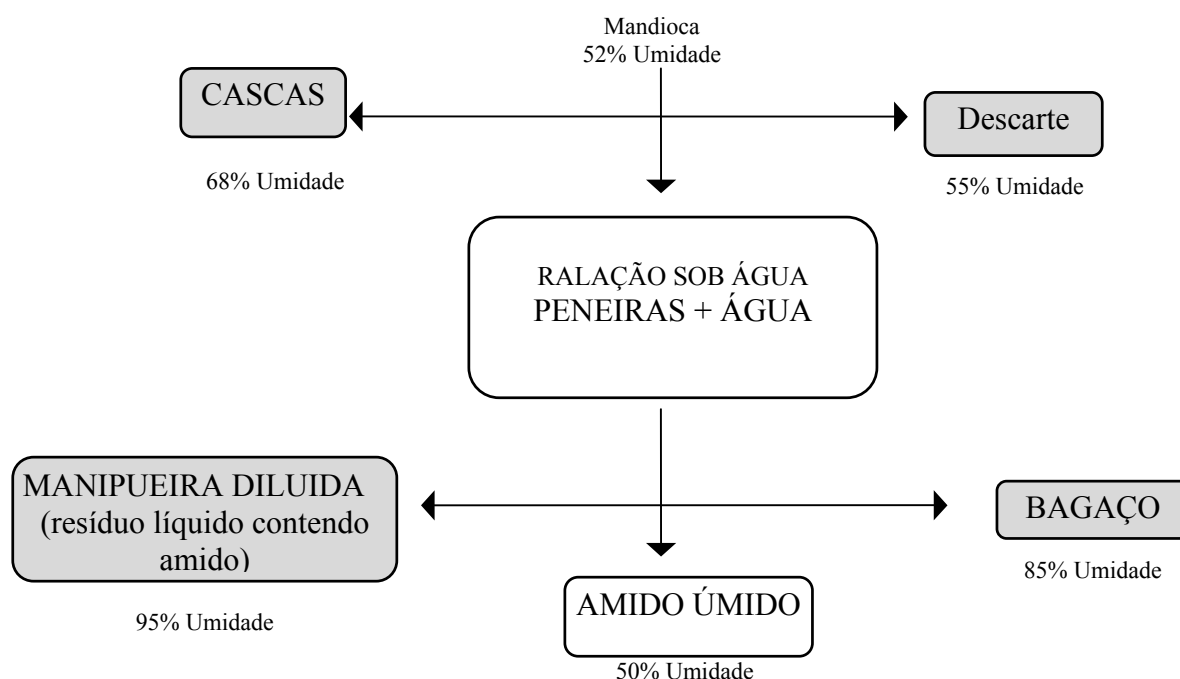
### 3.2 POLVILHO DOCE E POLVILHO AZEDO

De acordo com a Resolução RDC nº 263, de setembro de 2005 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), amidos são os produtos amiláceos extraídos de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes ou rizoma, e, os amidos extraídos de tubérculos, raízes e rizomas podem ser designados de fécula. O amido ou fécula de mandioca deve apresentar umidade máxima de 18,0 % (g/100g) (BRASIL, 2005).

O amido de mandioca, também comercialmente denominado de polvilho doce, é utilizado para diversas finalidades, inclusive a alimentícia. A sua produção ocorre em diferentes tipos de empresas, desde aquelas artesanais, de pequeno porte, até as modernas, de grande investimento. Neste último caso, não se desenvolvem processos de fermentação nem se estabelecem condições de contaminação com materiais biológicos ou outras sujidades; visto que se trata de uma matéria-prima de ampla aplicação, com uma possibilidade maior de comercialização na América do Sul com a implantação do mercado aberto (MERCOSUL) (DEMIATE *et al.*, 2003).

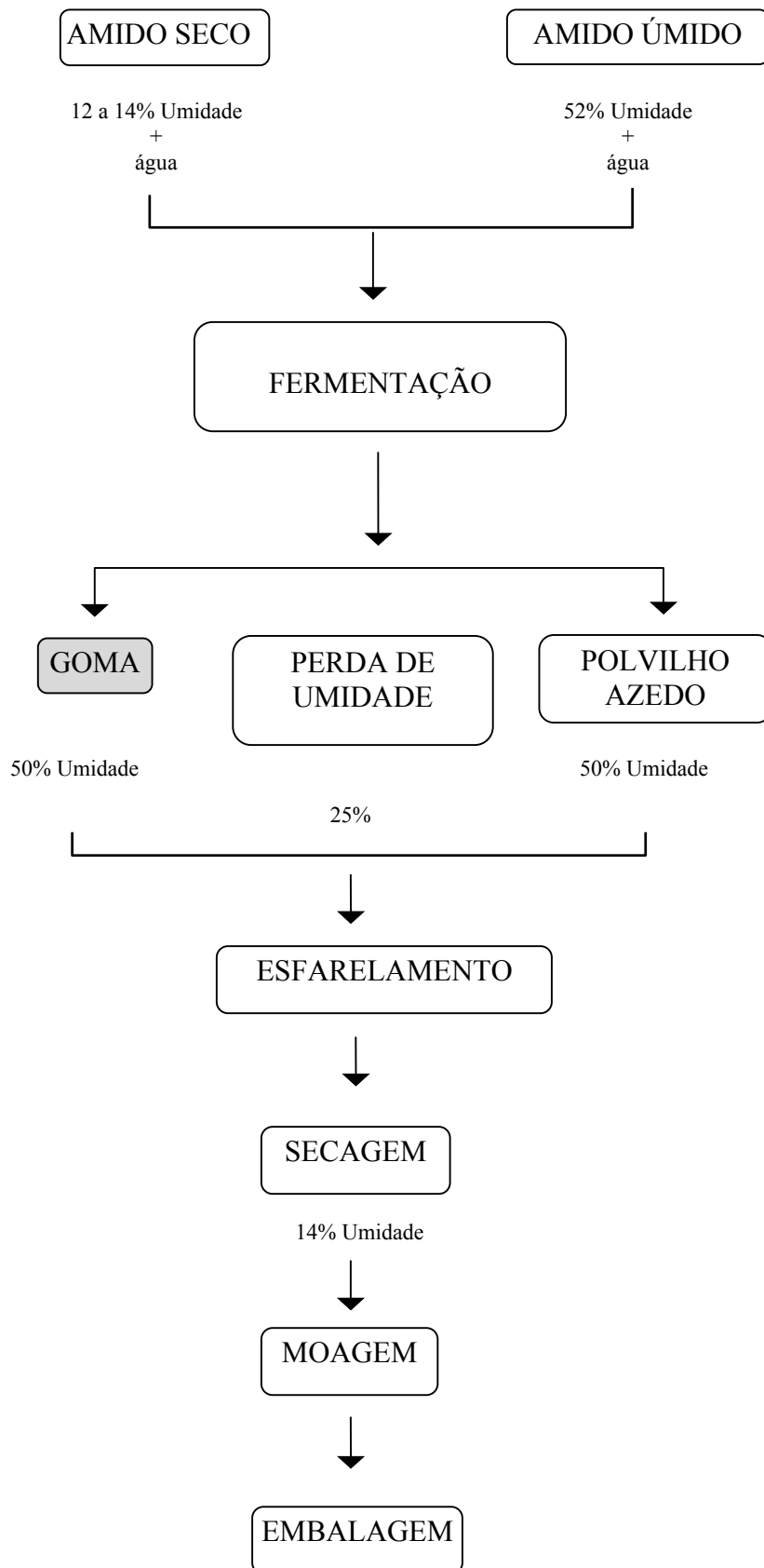
O polvilho azedo é o amido de mandioca modificado por fermentação e secagem solar (MAEDA e CEREDA, 2001). Apresenta cheiro característico e sabor ácido (CEREDA *et al.*, 2003).

A técnica utilizada para extração de amido de mandioca (Figura 4) para fazer o amido fermentado é a mesma que se usa para obtenção do produto não fermentado. A diferença é que este último necessita ser de melhor qualidade, em função do uso, o que só pode ser obtido com equipamentos mais sofisticados e caros, com capacidade mínima de 80 toneladas de raízes por dia (CEREDA *et al.*, 2003).



**Figura 4** – Fluxograma do processo de extração do amido de mandioca (CEREDA *et al.*, 2003).

É possível obter amido fermentado a partir do amido úmido ou seco, como se observa na Figura 5:



**Figura 5-** Fluxograma de obtenção do polvilho azedo (CEREDA *et al.*, 2003).

Cereda *et al.* (2003), descreveram a fabricação de polvilho azedo comercial. Os autores afirmam que o que define o produto, de características muito especiais, é o modo como é produzido. Além de obtido pela fermentação de polvilho doce, pode também ser produzido do amido recuperado do líquido de prensagem da massa ralada, como subproduto da fabricação de farinha de mandioca. A maioria dos produtores inicia o processamento pela raiz de mandioca, embora haja alguns que fermentem o polvilho doce extraído e armazenado durante a safra. As raízes são lavadas, descascadas, raladas e submetidas à extração, onde se separa o bagaço (massa) que contém as fibras e o "leite" de amido onde os grãos de amido estão em suspensão. O amido purificado é transferido para tanques de fermentação e deve permanecer nesses tanques sob uma camada de água, que no início chega a 20 cm e vai secando a medida que o tempo passa. O tempo necessário para que a fermentação se complete é variável. Nas regiões tradicionais produtoras de Minas Gerais a fermentação leva de 30 a 40 dias e requer um tempo maior nas regiões mais frias. O final da fermentação não é fácil de ser constatado. A formação de bolhas na superfície, embora seja adotada por alguns autores, não marca o final da produção de ácidos, que ocorre até 2/3 do tempo total de fermentação. Alguns produtores contam com seus próprios critérios, avaliando a superfície da massa em fermentação no tanque ou mesmo a acidez na boca. O valor do pH na massa de polvilho em fermentação cai para valores entre 3,0 e 3,5, chegando até mesmo a 2,5, provavelmente inibindo o processo fermentativo. Uma vez completada a fermentação, deixa-se secar a água da superfície dos tanques até que o polvilho fique com umidade ao redor de 30 - 50%. O polvilho fermentado é retirado dos tanques por meio de pás, podendo ou não passar por esfarelador mecânico, e espalhado para secar. A secagem é sempre feita ao sol, um processo que pode ser limitante à produção. Produtores que tentaram secagem artificial com uso de calor asseguram que não se obtém produto seco com o mesmo poder de expansão, quando aplicado na confecção de produtos panificáveis (como por exemplo, biscoito de polvilho e pão de queijo), sugerindo que mais que o calor, é a radiação solar a responsável por essa característica. No final da secagem, o polvilho azedo apresenta uma fina granulação, que lhe é característica.

O polvilho azedo é ainda um produto artesanal, mesmo quando fabricado em feclarias modernas. A secagem ao sol traz uma série de transtornos que vão da elevada contaminação com poeira até a falta de padrão nos lotes (CEREDA e VILPOUX, 2003).

### 3.3 PROPRIEDADES DO AMIDO DE MANDIOCA FERMENTADO

Na legislação brasileira não existe ainda uma classificação do amido de mandioca fermentado (polvilho azedo) segundo os índices de expansão ao forno, embora essa seja a diferença primordial entre os polvilhos doce e azedo (CEREDA e VILPOUX, 2003).

Maeda e Cereda (2001) estabeleceram uma proposta de classificação, baseando-se na expansão do polvilho azedo ao forno. Os limites propostos nesta classificação foram: tipo A, o polvilho azedo que apresentar índice de expansão ao forno superior a 16,00 mL/g; tipo B, entre 12,00 mL/g e 16,00 mL/g e, tipo C com índice de expansão inferior a 12,00 mL/g.

O polvilho azedo apresenta características que o diferenciam do doce em composição química, parâmetros viscográficos, índices de qualidade e tamanho de grânulos (CEREDA *et al.*, 2003).

A fermentação e a secagem ao sol influenciam as propriedades físico-químicas e sensoriais do amido de mandioca fermentado. O conteúdo de proteína aumenta, uma vez que estudos confirmaram a presença de uma microbiota natural (bactérias diversificadas, fungos e leveduras) responsável pela fermentação, e que ao término dessa fermentação permanecerá no produto; as propriedades de pasta, solubilidade e poder de inchamento do amido fermentado são mudados (FRANCO, CABRAL e TAVARES, 2002). O estudo comparativo entre os polvilhos azedo e doce mostrou que a fermentação confere ao produto sabor e odor característicos. A curva viscoamilográfica Brabender passa a apresentar picos menos elevados e o início do processo de gelatinização é detectado em temperatura inferior à do polvilho doce, para as mesmas concentrações. Esse fato pode explicar a possibilidade de gelatinização do polvilho azedo pelo processo de escaldamento. Quando se faz o escaldamento (utilizando água e gordura ferventes) do polvilho azedo, a temperatura desses ingredientes é suficiente para gelatinizá-lo, o que não ocorre com o polvilho doce (CEREDA *et al.*, 2003). O amido gelatinizado ajuda a reter CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) e expande a massa (CEREDA e VILPOUX, 2003).

Durante o processo fermentativo, o amido é o meio para o crescimento bacteriano, quando muitos ácidos orgânicos são produzidos, principalmente o lático, conferindo aos produtos fabricados com polvilho azedo um aroma e sabor peculiar (PALATA-OVIEDO e CAMARGO, 1997; DEMIATE *et al.*, 1999).

Os grânulos do amido de mandioca são modificados por ação de ácidos e enzimas amilolíticas durante a fermentação (CAMARGO *et al.*, 1988; MARCON *et al.*, 2006), mas a simples adição de ácido orgânico e/ou enzima não é suficiente para prover a capacidade de expansão (FRANCO, CABRAL e TAVARES, 2002). O ataque ácido é demonstrado por uma grande produção de ácidos orgânicos, incluindo os ácidos láctico, acético, butírico, propiônico, entre outros. A ação enzimática é observada como pequenas perfurações e fissuras em alguns grânulos de amido com o uso do microscópio eletrônico (MARCON *et al.*, 2006).

Palata-Oviedo e Camargo (1997) propuseram que a propriedade de expansão de amido de mandioca hidrolisado com ácido orgânico e seco pelo sol resulta em parte de interações químicas entre os ácidos orgânicos e o amido, catalisadas pelo segmento UV (ultravioleta) das radiações solares, o que pode explicar a propriedade de expansão do polvilho azedo.

Bertolini *et al.* (2001) afirmaram que se pode assumir que a expansão do amido de mandioca fermentado é uma consequência de suas propriedades termomecânicas, resultantes das mudanças estruturais do amido durante a fermentação e secagem sob o sol. A expansão ocorre com quantidade de água adequada quando a temperatura interna da massa está próxima à temperatura de fusão (90-100°C). Quando a temperatura da massa é a mesma que a da evaporação da água, a umidade da massa é suficiente para iniciar a expansão. Então, a menor viscosidade após a fusão, devido à despolimerização do amido, poderia diminuir a força de resistência à expansão no caso de amido de mandioca fermentado, quando comparado com amido de mandioca nativo.

Franco, Cabral e Tavares (2002) investigaram o efeito de fermentação e de secagem sob o sol na capacidade de expansão do amido de mandioca fermentado e observaram que o conteúdo de ácido láctico produzido durante a fermentação diminuiu em torno de 30% durante a secagem ao sol. Esses autores sugeriram a possibilidade de ocorrência de uma reação fotoquímica envolvendo o amido e resultando na formação de uma rede tridimensional que retém as bolhas de gás durante o cozimento do produto final.

Outra hipótese para explicar a propriedade de expansão do polvilho azedo é a de que bactérias lácticas produziram exopolissacarídeos, que seriam responsáveis pela formação de uma estrutura viscoelástica, a qual permitiria a retenção de gás e a expansão da massa de polvilho azedo durante o forneamento (CEREDA *et al.*, 2003).

Estudos mais recentes realizados por Vatanasuchart *et al.* (2005) encontraram que amidos de mandioca modificados por hidrólise com ácido láctico (1%) por 15

minutos e expostos a radiação UVB ou UVC (ultravioleta B ou C, que possuem diferentes comprimentos de onda), por 7, 9 e 11 horas, tiveram propriedades de expansão efetivas durante o assamento. Estes pesquisadores alegaram que as regiões amorfas dos grânulos de amido foram parcialmente despolidimerizadas pela hidrólise do ácido lático e a irradiação ultravioleta (UV), reduzindo o tamanho das moléculas de amido e facilitando a formação de uma estrutura de massa com menor viscosidade, conduzindo, conseqüentemente, a uma boa expansão.

### 3.4 BISCOITO DE POLVILHO

O biscoito de polvilho se caracteriza por ser um produto muito leve e volumoso, resultado da expansão no forno (CEREDA *et al.*, 2003). Existe uma infinidade de formulações de biscoito de polvilho no mercado, algumas incluindo, além de polvilho azedo, polvilho doce, farinha de milho, água, leite, ovos e sal. Estes biscoitos têm várias denominações regionais, como: bolo de vento, rosca de polvilho, corujão, biriba, no Brasil, *pan de bono* e *pan de yuca*, na Colômbia, e *chipa paraguaya*, no Paraguai (APLEVICZ, 2006).

Segundo Maeda e Cereda (2001), a formulação padrão do biscoito de polvilho consiste em polvilho azedo, gordura vegetal hidrogenada, sal e água; podendo ainda, o sabor ser incrementado pela a adição de leite e ovos.

A principal função do amido em produtos de panificação é absorver água e, deste modo, estabelecer a estrutura do produto (PEREIRA *et al.*, 2004).

A água é utilizada na fabricação de biscoito de polvilho para dissolver os ingredientes solúveis, influenciando também no escaldamento do polvilho. A quantidade de água é fundamental para o inchamento do grânulo de amido e sua quantidade depende dos ingredientes da fórmula e do processo de panificação utilizado, constituindo o meio dispersante para os outros ingredientes da formulação, além de favorecer o crescimento do biscoito durante o assamento (PEREIRA *et al.*, 2004; APLEVICZ, 2006). Em biscoitos de polvilho, a quantidade total de líquido na formulação afeta a consistência e a elasticidade da massa que deve ser suficientemente macia para ser moldada e suficientemente rígida para manutenção da forma até que esteja assada, devendo apresentar um certo grau de elasticidade para se expandir sem romper durante o assamento (APLEVICZ, 2006).

Em produtos de panificação, as gorduras contribuem para as propriedades de mastigação, conferindo-lhes maciez. O aumento do conteúdo de gordura, além do efeito amaciador, contribui para dar maior brilho e uma melhor aparência, como também atua no valor nutricional, sendo a mais concentrada fonte de energia presente nos alimentos. A gordura atua ainda como um lubrificante molecular, ajudando a massa a ter maior extensibilidade, contribuindo para maior elasticidade (PEREIRA *et al.*, 2004; SANTOS, 2006).

Nas receitas tradicionais, o leite é adicionado à mistura de escaldamento do polvilho e a gordura presente no leite confere melhor aparência da crosta do produto final. O leite também auxilia na obtenção de uma melhor coloração do biscoito (PEREIRA *et al.*, 2004; SANTOS, 2006; APLEVICZ, 2006).

O ovo tem capacidade aerante (pela formação de espuma da clara), capacidade emulsificante (pela ação da lecitina da gema) e a contribuição nutricional, servindo também como agente corante, de sabor e de aroma, originando biscoitos com melhor estrutura, textura mais leve e aerada, maior volume, característica de liga, cor amarela natural, além do fornecimento de proteínas, vitaminas (A, D e E) e minerais (PEREIRA *et al.*, 2004; SANTOS, 2006; APLEVICZ, 2006).

O sal contribui essencialmente para o sabor, sendo utilizado o cloreto de sódio comum iodado na fabricação de biscoito de polvilho (PEREIRA *et al.*, 2004; SANTOS, 2006). Estudos amilográficos mostram que o sal retarda a gelatinização do amido de mandioca, mantendo o grânulo intacto por um tempo mais longo durante o assamento e influencia também o escaldamento, por aumentar a temperatura da mistura (SANTOS, 2006).

Na fabricação de biscoitos de polvilho escaldados, o polvilho azedo proporciona ao produto sabor agradável, com crosta fina, crocante, com maior volume, além de maior absorção de água, fazendo com que se obtenha maior rendimento em biscoitos. O escaldamento é uma das principais etapas na fabricação do biscoito de polvilho por afetar a textura, o sabor e a aparência final do produto. Consiste em adicionar ao polvilho, água ou leite ferventes, que podem ser ou não acompanhados por óleo e também por sal. A mistura do escaldamento depende do produto, sendo comum adicionar um pouco de água antes do escaldamento a fim de hidratar o polvilho e promover o inchamento dos grânulos facilitando o processo. Uma parcela de produtores indica a mistura com água, leite, óleo e sal como a que resulta em biscoitos com melhor textura, sabor e aparência (APLEVICZ, 2006).

O biscoito apresenta, no seu interior, uma matriz de amido gelatinizado, que é responsável pela sua expansão e textura. Análises microscópicas permitem comprovar que

os grânulos apresentam-se com diferentes graus de integridade, segundo a sua posição no biscoito: os grânulos da superfície apresentam-se íntegros e sem inchamento. É provável que, durante o forneamento, os grânulos da superfície sejam desidratados e aqueles do interior sejam gelatinizados, provocando a expansão do biscoito (CAMARGO *et al.*, 1988).

Silva *et al.* (1998) investigaram a influência do teor de água, o efeito da pré-gelatinização do amido fermentado e a adição de amilose e de amilopectina no crescimento do biscoito, e, concluíram que: o tempo de formação do biscoito demonstrou ser altamente dependente do teor de água presente na sua formulação; os biscoitos formulados com amilose ou amilopectina em substituição ao amido fermentado, apresentaram baixo grau de expansão quando comparados ao padrão; e, a gelatinização total do amido modificado por fermentação, parece destruir completamente suas propriedades de expansão, pois não foi observado crescimento do biscoito com uma formulação padrão contendo apenas amido totalmente gelatinizado.

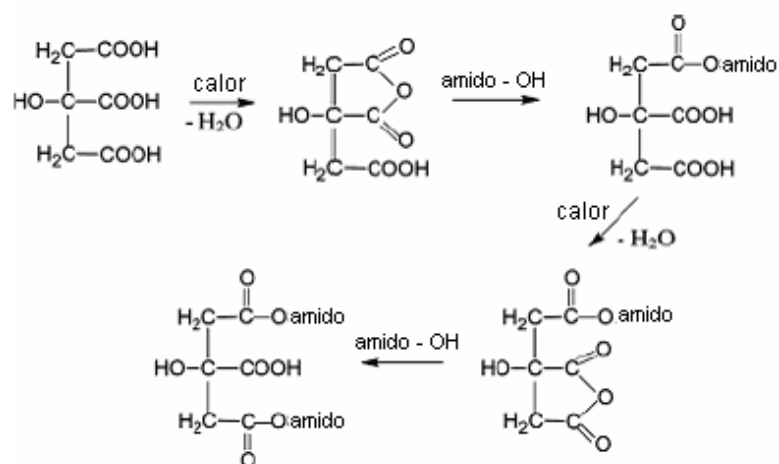
### **3.5 AMIDO RESISTENTE**

O amido é classificado em função da sua estrutura físico-química e da sua susceptibilidade à hidrólise enzimática. Segundo Englyst, Kingman e Cummings (1992), de acordo com a velocidade com o qual 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.

O amido resistente é definido como amido ou produtos de degradação do amido que não são degradados pelas enzimas do trato gastrointestinal de indivíduos saudáveis e podem ser completa ou parcialmente fermentados no cólon (FARAJ, VASANTHAN e HOOVER, 2004).

De acordo com Faraj, Vasanthan e Hoover (2004), o AR é classificado em quatro categorias: fisicamente inacessível à  $\alpha$ -amilase pancreática (AR1), amido granular (AR2), amido retrogradado (cristais de amilose) (AR3) e amido térmica ou quimicamente modificado (AR4). Por serem amidos nativos, os AR1 e AR2, perderão o potencial de amido resistente se forem gelatinizados durante o processamento do alimento (MUN e SHIN, 2006).

Xie e Liu (2004) mostraram que o tratamento de amidos de milho (normal, ceroso e com alto conteúdo de amilose), com ácido cítrico (140°C, 7h) aumentou o seu conteúdo de amido resistente para 78% ou mais, dependendo do tipo de amido de milho. O ácido cítrico é inofensivo à saúde humana, e a taxa de digestão do amido esterificado pela pancreatina diminui com o aumento do grau de substituição por citrato. De acordo com a Figura 6, quando o ácido cítrico é aquecido, este se desidrata para produzir um anidrido. O anidrido cítrico pode então reagir com o amido para formar o citrato de amido.



**Figura 6** – Reação de ácido cítrico com amido (XIE e LIU, 2004).

Segundo Sajilata, Singhal e Kulkarni (2006), o AR pode substituir uma porcentagem da farinha de trigo sem afetar significativamente o manuseio ou a reologia da massa de produtos panificáveis. Comparando a adição de AR com a adição de fibras no resultado final desses produtos, foi encontrado que o AR promove uma textura mais macia, aparência e sabor. Uma outra propriedade funcional do AR citada por estes pesquisadores é a sua capacidade de melhorar a crocância do produto.

O AR pode ser adicionado em vários alimentos, devido às suas diferentes propriedades físico-químicas em função do tipo e pode ser aplicado no desenvolvimento de gêneros alimentícios de baixa caloria e pouca gordura (MUN & SHIN, 2006). Aplicações potenciais incluem pães, tortilhas, massa de pizza, “cookies”, “muffins”, “wafer”, cereais matinais, “snacks”, bem como leites fermentados reduzidos de gordura, bebidas lácteas saborizadas e pré-misturas para sopas instantâneas e bebidas de chocolate (APARICIO-SAGUILÁN *et al.*, 2007).

Aparicio-Saguilán *et al.* (2007) prepararam “cookies” adicionados de AR produzido a partir de amido de banana (19,34% de AR). Após aplicação de um teste sensorial

afetivo, não encontraram diferença na preferência entre os “cookies” adicionados de AR e o controle.

Na pesquisa realizada por Wepner *et al.* (1999) sobre adição de citrato de amido em sistemas alimentares, encontraram que a adição de 10% de citrato de amido produzido através de diferentes fontes (amidos de trigo - 57,5% de AR, batata – 50,2% de AR, ervilha – 45,9% de AR e milho – 50,8% de AR) em pão provocou diminuição no volume deste (destacando uma maior diminuição no volume do pão após adição de citrato de amido de milho) e mudanças em outras características do produto (como por exemplo, as estruturas alveolares no miolo do pão apresentaram-se mais grosseiras e mais irregulares). Estes pães com adição de citrato de amido também apresentaram cor mais amarelada do que o padrão e o pão sem adição de citrato de amido foi claramente preferido na avaliação sensorial. Comentaram que a diminuição no volume e as mudanças em outras características do produto devido à adição de citrato de amido poderiam ser compensadas por nova variação na receita, assim como um aumento no conteúdo de água, ou ainda, que a adição de menor quantidade de AR poderia resultar em produto com características ótimas. No preparo de “wafer” com adição de citrato de amido, concluíram através da avaliação sensorial que um produto aceitável com um aumento no conteúdo de AR pode ser alcançado adicionando 7,5% de citrato de amido em “wafers” e que, quando maior quantidade de citrato de amido é adicionada ao produto, variações adicionais na receita conduziriam a um produto aceitável, nem tão duro e nem tão quebradiço. Na adição de citrato de amido em macarrão, foram observadas mudanças nas características do produto, tais como na dureza, na cor e na perda de sólidos durante o cozimento o que, poderia ser compensada através de alterações na receita em termos de níveis de ovo e/ou conteúdo de umidade. Observaram também que para a aplicação de citrato de amido no aumento do conteúdo de fibra nos alimentos, tem que ser levado em consideração que o conteúdo de AR pode mudar durante a produção do alimento devido à degradação deste.

Não se tem conhecimento de estudos em que o amido resistente tenha sido incorporado em biscoitos de polvilho.

Considerando que, hoje em dia, muitas doenças resultam de alimentação inadequada, e que algumas podem estar relacionadas com insuficiente ingestão de fibra, é razoável assumir que um aumento no consumo de componentes não digeríveis seria importante. Neste contexto, as fontes de AR seriam preferencialmente incluídas na dieta, já que não causam alterações sensoriais pronunciadas como fazem as tradicionais fontes de fibras (WALTER, SILVA e DENARDIN, 2005).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

Para a produção dos biscoitos foram utilizados amido de mandioca fermentado, ovos, sal, leite e gordura vegetal hidrogenada, adquiridos no comércio local.

Amido de mandioca resistente, outro ingrediente dos biscoitos, foi produzido em laboratório, a partir de amidos de mandioca nativo e fermentado, adquiridos no comércio local, segundo o item 4.2.1. Também foi utilizado o amido de milho resistente comercial (Hi-maize®260), doado pela National Starch & Chemical (Brasil), caracterizado através da metodologia do item 4.2.2.3.

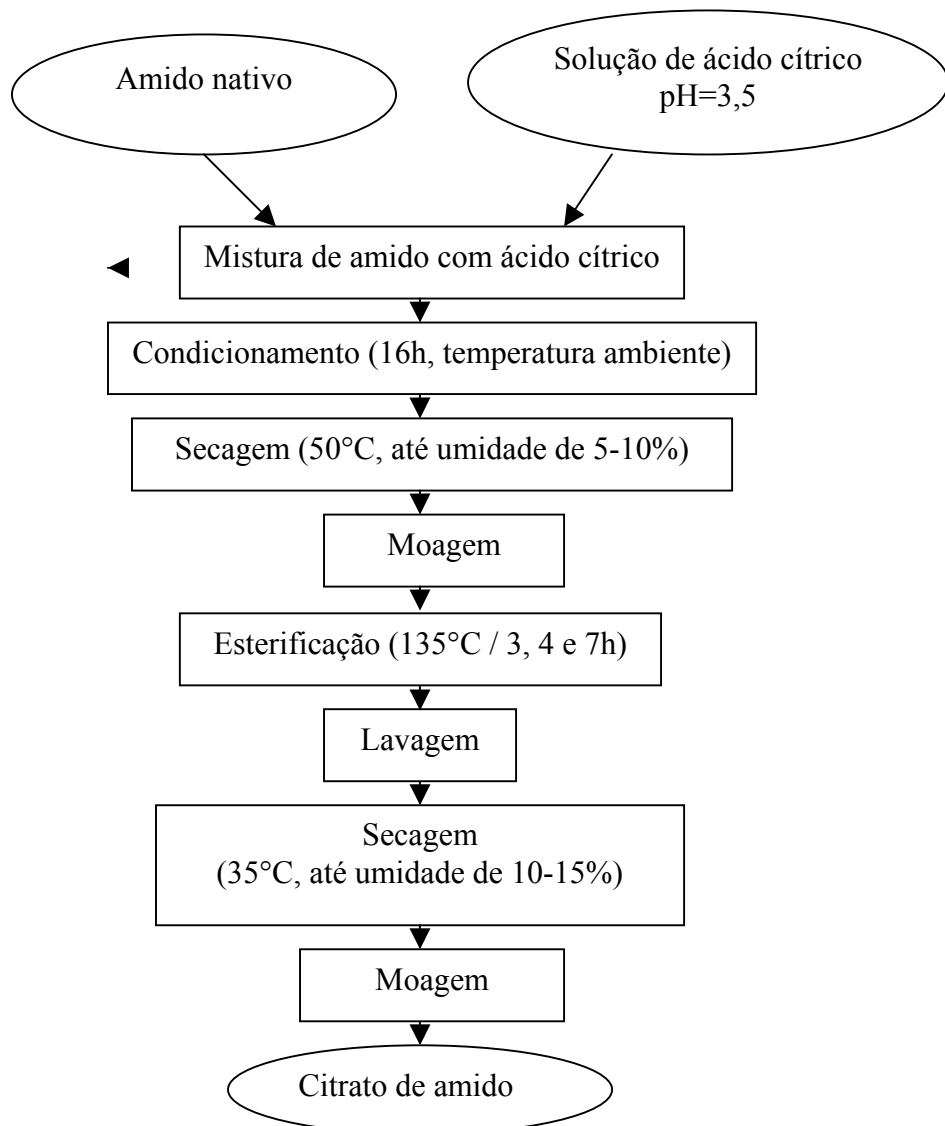
### **4.2 MÉTODOS**

#### **4.2.1 Produção de Amido Resistente (Citrato de Amido)**

O amido resistente foi produzido pelo método de esterificação com ácido cítrico em temperatura elevada, de acordo com a metodologia proposta por Xie e Liu (2004). Amidos de mandioca nativo e fermentado foram utilizados como matéria-prima

O método de produção de amido resistente (Figura 7) consistiu em dissolver 20g de ácido cítrico em 20mL de água e ajustar o pH para 3,5 com NaOH 10M e completar o volume final para 50mL adicionando água destilada. A solução de ácido cítrico (50mL) foi misturada com 50g de amido e condicionada à temperatura ambiente por 16 horas. Posteriormente, o amido foi colocado em estufa com circulação de ar forçado, a 50°C, e foi seco até atingir um nível de umidade de 5-10%. A mistura foi moída e seca em estufa com circulação de ar forçado por 3, 4 e 7h em uma temperatura de 135°C a fim de ocorrer a esterificação. A mistura seca foi lavada com 3 litros de água para remover o ácido cítrico que não reagiu. O amido lavado foi seco à temperatura ambiente até atingir umidade de 10 a 15% e, finalmente, moído.

Para a modificação do amido de mandioca fermentado, foram testados os três tempos de estufa (3, 4 e 7h). Para a do amido de mandioca nativo, foi testado apenas o tratamento em estufa pelo maior tempo (7h), para verificar a possível diferença com o amido de mandioca fermentado, frente ao tratamento químico.



**Figura 7** – Fluxograma de produção de citrato de amido.

## 4.2.2 Caracterização dos Amidos Nativo e Fermentado, Antes e Após a Modificação com Ácido Cítrico (Amidos Resistentes)

### 4.2.2.1 Composição Química

O teor de umidade, proteínas e cinzas dos amidos, antes e depois da modificação foi determinado conforme descrição da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1998).

### 4.2.2.2 Análise viscoamilográfica

A análise viscoamilográfica foi realizada em suspensões de amido a 10% (p/v, bs), no Viscógrafo Brabender (Brabender, Duisburg – Alemanha), equipado com cabeçote de 700cm.g de sensibilidade, para os amidos de mandioca nativo e fermentado e para as suas respectivas modificações (3, 4 e 7h de estufa a 135°C). Na Tabela 1, estão apresentados os parâmetros empregados no teste.

**Tabela 1** – Parâmetros usados no Viscógrafo Brabender para análise viscoamilográfica

<b>PARÂMETROS DO VISCÓGRAFO</b>	
Temperatura inicial (°C)	30
Razão para aumento da temperatura (°C/min)	1,5
Temperatura máxima (°C)	95
Tempo de permanência em temperatura máxima (min)	20
Razão para diminuição da temperatura (°C/min)	1,5
Temperatura mínima (°C)	50
Tempo de permanência em temperatura mínima (min.)	0

#### 4.2.2.3 Microscopia eletrônica

Foi realizada a observação do aspecto superficial dos grânulos de amido de mandioca nativo, fermentado e modificados, em microscópio eletrônico de varredura – The Quanta 200 – Philips (Holanda). Pequenas quantidades de amostras foram fixadas sobre “stubs” em fitas de carbono. Foram recobertas com uma camada de carbono, e em seguida, com uma camada de ouro com 20nm de espessura.

#### 4.2.2.4 Quantificação de amido resistente

Para a quantificação do teor de amido resistente, foi utilizado um kit de determinação de AR adquirido na Megazyme (Irlanda). É um método aprovado pela AOAC (método 2002.02) e pela AACC (método 32-40).

A quantificação foi realizada de acordo com o proposto no kit, porém, com modificações: foi feita a digestão do amido não resistente utilizando as enzimas  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase, e as soluções contendo este amido foram separadas por centrifugação. Após a determinação da fração digerível através da medida da absorbância de cada solução, por diferença encontrou-se o valor do amido resistente. Esta modificação foi necessária porque o método utiliza o hidróxido de potássio (KOH) para solubilizar o AR (após este já ter sido separado do amido não resistente) mas, de acordo com Shin, Song e Seib (2004), o KOH não solubiliza totalmente o AR4 devido à presença de ligações cruzadas.

A quantificação foi realizada de acordo com o proposto no kit, porém, com modificações: foi feita a digestão do amido não resistente utilizando as enzimas  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase, e as soluções contendo este amido foram separadas por centrifugação. Após a determinação da fração digerível através da medida da absorbância de cada solução, por diferença encontrou-se o valor do amido resistente. Esta modificação foi necessária porque o método utiliza o hidróxido de potássio (KOH) para solubilizar o AR (após este já ter sido separado do amido não resistente) mas, de acordo com Shin, Song e Seib (2004), o KOH não solubiliza totalmente o AR4 devido à presença de ligações cruzadas.

### 4.2.3 Formulação dos Biscoitos

Os biscoitos foram formulados com polvilho azedo, sal, ovos, leite, gordura vegetal hidrogenada e água, em proporções determinadas a partir de ensaios preliminares (Tabela 2). Foram testadas, nas formulações, as substituições de diferentes porcentagens de polvilho azedo pelo amido resistente comercial (National Starch) e pelo produzido em laboratório de modo a promover a adição de 3, 5 e 7% de AR na massa. Essas proporções de substituição de polvilho azedo por AR foram estabelecidas a partir da Portaria n° 27, de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL, 1998), que diz que para que um produto pronto para consumo seja fonte de fibra, deve conter, no mínimo, 3g de fibras / 100g (sólidos) e que para que um alimento tenha o atributo de alto teor de fibras, deve conter no mínimo 6g de fibras / 100g (sólidos). Como a legislação não determina as quantidades mínimas que um alimento deve conter para AR, utilizou-se a legislação para fibras como parâmetro.

**Tabela 2** – Quantidades de ingredientes utilizados para a formulação do biscoito de polvilho.

<b>MATÉRIA-PRIMA</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Polvilho azedo	650g
Sal	20g
Gordura vegetal hidrogenada + água	200mL + 250mL
Leite integral pasteurizado	250mL
Ovos	3
Água	*Qr

\*Qr = Quantidade requerida para dar o ponto (aproximadamente 250 mL).

Os ingredientes foram pesados seguindo a formulação estipulada. Colocou-se, em uma batedeira, os ingredientes secos (polvilho azedo, amido resistente, sal) e o leite e misturou-se bem, até desfazer a granulação característica do amido de mandioca fermentado. Em seguida, acrescentou-se a mistura de óleo e água em ebulição para “escaldar” o polvilho. A massa foi misturada continuamente e foram sendo acrescentados os ovos, um a um. Posteriormente, adicionou-se água em temperatura ambiente até obter a consistência ideal. Os biscoitos foram pingados com sacos de confeiteiro em assadeiras de inox e levados ao forno a 180°C por aproximadamente 20 minutos.

## **4.2.4 Caracterização dos Biscoitos**

### **4.2.4.1 Expansão**

O volume específico dos biscoitos foi determinado em 6 unidades de biscoitos escolhidas aleatoriamente, pela razão entre volume e peso. O volume foi calculado por deslocamento de sementes de painço.

### **4.2.4.2 Dureza instrumental**

A dureza (N) dos biscoitos (seis determinações) foi determinada em texturômetro TA-XT2i (Stable Micro Systems), e os registros feitos através do Software XTRAD.

Cada amostra foi disposta horizontalmente em uma plataforma e cortada por uma “ponta de prova” tipo faca, com velocidade pré-teste, teste e pós-teste de 5,00 mm/s, uma distância de 8,00mm e força do “trigger” de 0,2N.

### **4.2.4.3 Avaliação sensorial**

O método utilizado na avaliação sensorial dos biscoitos de polvilho com diferentes níveis de substituição de polvilho por AR foi o teste de aceitação. A escala hedônica de sete pontos ancorada com termos verbais (ver em ANEXO) foi utilizada, para que cada provador pudesse indicar o quanto gostou ou desgostou de cada amostra, uma vez que as expressões verbais da escala estão associadas a valores numéricos, para posterior análise estatística dos resultados.

Os provadores não treinados receberam três amostras codificadas, uma por vez, e foram solicitados a indicar o quanto gostaram ou desgostaram, segundo a escala. Estes

foram orientados a tomar água entre a prova de uma amostra e outra. Foram recrutados 102 provadores para a realização do teste.

### **4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados das análises físicas e químicas foram comparados empregando análise de variância (ANOVA) e a significância ( $p < 0,05$ ) das diferenças entre as médias foi avaliada pelo teste de Tukey.

Para a análise sensorial, o planejamento experimental utilizado foi o de blocos incompletos balanceados. Foram avaliadas 6 amostras por 102 provadores, sendo que cada provador avaliava 3 diferentes amostras em uma única sessão. Com os resultados, foi feita uma análise de variância, tendo amostras e provadores como causas de variação, e teste de médias (Tukey).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS NATIVO E FERMENTADO, ANTES E APÓS A MODIFICAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO (AMIDOS RESISTENTES)**

#### **5.1.1 Proteína e Cinzas**

Os amidos nativo (AN) e fermentado (AF) apresentaram teores de proteína e de cinzas de 0,21 e 0,16 e de 0,33 e 0,21%, respectivamente em base seca (Tabela 3).

Os valores médios encontrados de proteína (0,21%) e de cinzas (0,16%) para o AN foram semelhantes aos valores médios encontrados por Leonel, Garcia e Reis (2004): 0,23% para proteínas e 0,17% para cinzas.

Como citado anteriormente, a Resolução RDC n° 263, de setembro de 2005 da ANVISA, que revogou a Resolução CNNPA n° 12 de 1978 (BRASIL, 2005), não fixa nenhum padrão de identidade e qualidade referente ao teor máximo de proteínas e cinzas para amidos, féculas e farinhas. Mas, a antiga resolução 12/78 estabelecia um limite máximo de 0,5% de cinzas para os polvilhos doce e azedo. Os dois amidos (AN e AF) comerciais tiveram teor de cinzas abaixo desse limite.

Comparando o amido nativo (AN) com todos os amidos nativos resistentes (ANR), não houve diferença significativa entre os teores de proteína. Para o amido fermentado (AF) e os amidos fermentados resistentes (AFR), verificou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os que permaneceram 3 e 4h na estufa (Tabela 3).

**Tabela 3** – Caracterização dos amidos de mandioca nativo (AN) e fermentado (AF) e respectivos amidos resistentes (ANR e AFR) nos diferentes tempos de permanência na estufa.

Amostra	Tempo (h)	Proteína (N x 6,25) * (% bs)**	Cinzas* (% bs)**
AN	0	0,21 <sup>a</sup> ± 0,00	0,16 <sup>d</sup> ± 0,02
ANR	3	0,29 <sup>a</sup> ± 0,03	0,81 <sup>c</sup> ± 0,01
ANR	4	0,21 <sup>a</sup> ± 0,00	1,32 <sup>b</sup> ± 0,01
ANR	7	0,25 <sup>a</sup> ± 0,06	1,42 <sup>a</sup> ± 0,01
AF	0	0,33 <sup>A</sup> ± 0,00	0,21 <sup>D</sup> ± 0,01
AFR	3	0,23 <sup>B</sup> ± 0,03	1,18 <sup>C</sup> ± 0,02
AFR	4	0,27 <sup>B</sup> ± 0,00	1,56 <sup>B</sup> ± 0,03
AFR	7	0,31 <sup>A</sup> ± 0,00	1,84 <sup>A</sup> ± 0,01

\*Valores médios ± DP (desvio padrão) obtidos de triplicatas. \*\*bs = base seca. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de proteína e cinzas entre as amostras de amido de mandioca nativo e amido de mandioca nativo resistente (Tukey,  $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de proteína e cinzas entre as amostras de amido de mandioca fermentado e amido de mandioca fermentado resistente (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Quando se observa os valores médios de cinzas encontrado nas amostras de AN e os ANR, verifica-se que todas as amostras apresentam diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ). O mesmo ocorreu para o AF e seus AFR.

Para os amidos modificados, tanto do AN como do AF, ocorreu um aumento no teor de cinzas à medida que o tempo de reação entre o amido e o ácido cítrico aumentou.

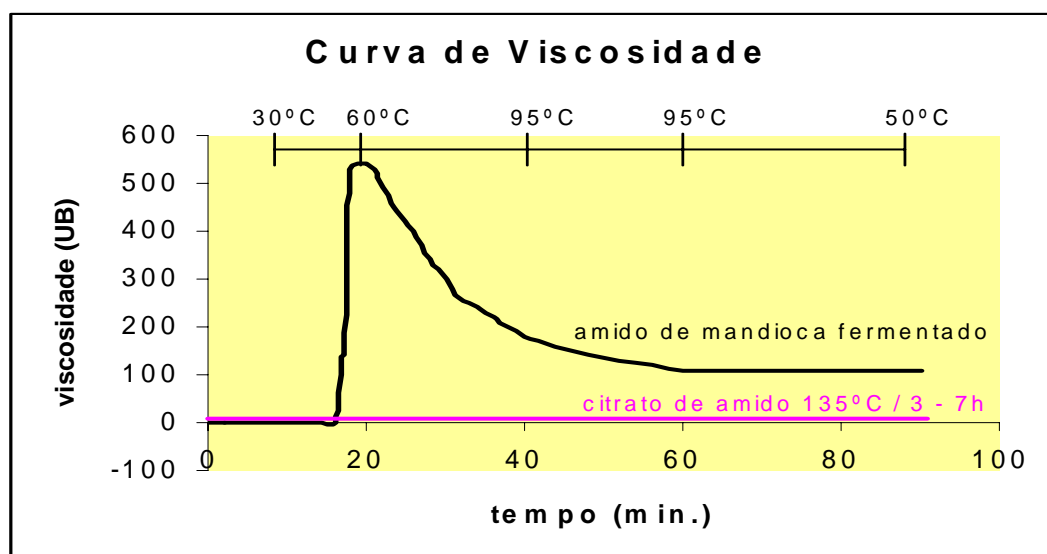
As variações percentuais tanto de proteína quanto as de cinzas ocorridas não podem ser levadas em consideração como decorrentes somente do processo de modificação, uma vez que as sucessivas lavagens pelas quais o amido passa após o tratamento, impedem que se estabeleçam balanços de massa, pois algum material pode ser perdido.

### 5.1.2 Análise Viscoamilográfica

Para todos os amidos de mandioca modificados (nos diferentes tempos de reação) não foram observadas as curvas de viscosidade características do amido sem modificação, sendo registradas retas paralelas ao eixo do tempo (Figura 8). Este resultado está de acordo com o encontrado por Xie e Liu (2004), que reportaram o mesmo comportamento em citratos de amidos de milho, indicando que a modificação ocorre dentro dos grânulos e que estes não gelatinizam nem intumescem durante o teste viscoamilográfico. Reportaram também, que o maior conteúdo de amido resistente no citrato de amido resultou em uma menor viscosidade, indicando que o amido com conteúdo de amido resistente maior absorve menos água.

Estes resultados também estão de acordo com a pesquisa realizada por Xie, Liu e Cui (2006), na qual, as micrografias feitas por microscopia eletrônica de varredura em citratos de amido (7%, p/p, de conteúdo de sólidos em água) mostraram que, com o aquecimento (100°C por 30 minutos), os grânulos dos amidos de milho normal e ceroso sem modificação gelatinizaram e romperam, mas, em contrapartida, os grânulos dos citratos de amido não incharam ou exibiram muito menos intumescimento.

Os resultados obtidos sugerem que os grânulos de amido de mandioca com a substituição de citrato, onde são formadas ligações cruzadas, resistem ao intumescimento granular, resultando conseqüentemente, resistência à hidrólise enzimática. Também se pode sugerir, de acordo com Shin *et al.* (2007) que a modificação química afeta a organização dos grânulos de amido.



**Figura 8** – Curvas viscográficas típicas de amido de mandioca fermentado e citratos de amido de mandioca fermentado em condições de reação a 135°C / 3-7h.

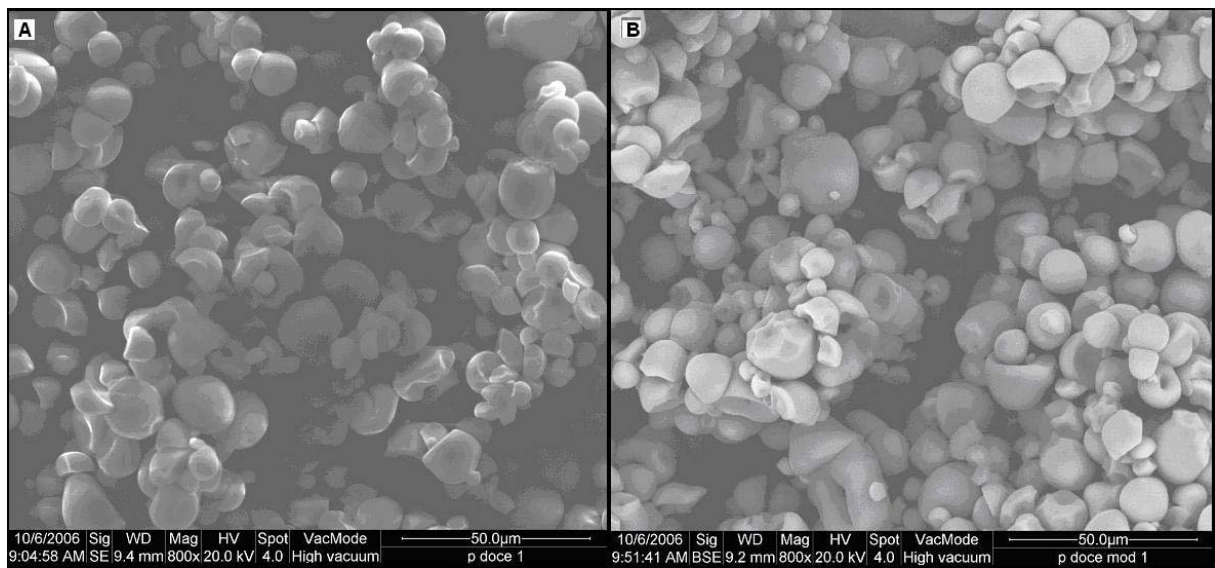
### 5.1.3 Microscopia Eletrônica

Os grânulos de amidos de mandioca nativo e fermentado não são uniformes quanto ao formato e tamanho, mas ambos apresentam grânulos predominantemente arredondados com uma das periferias retas (Figuras 9 A e 10 A).

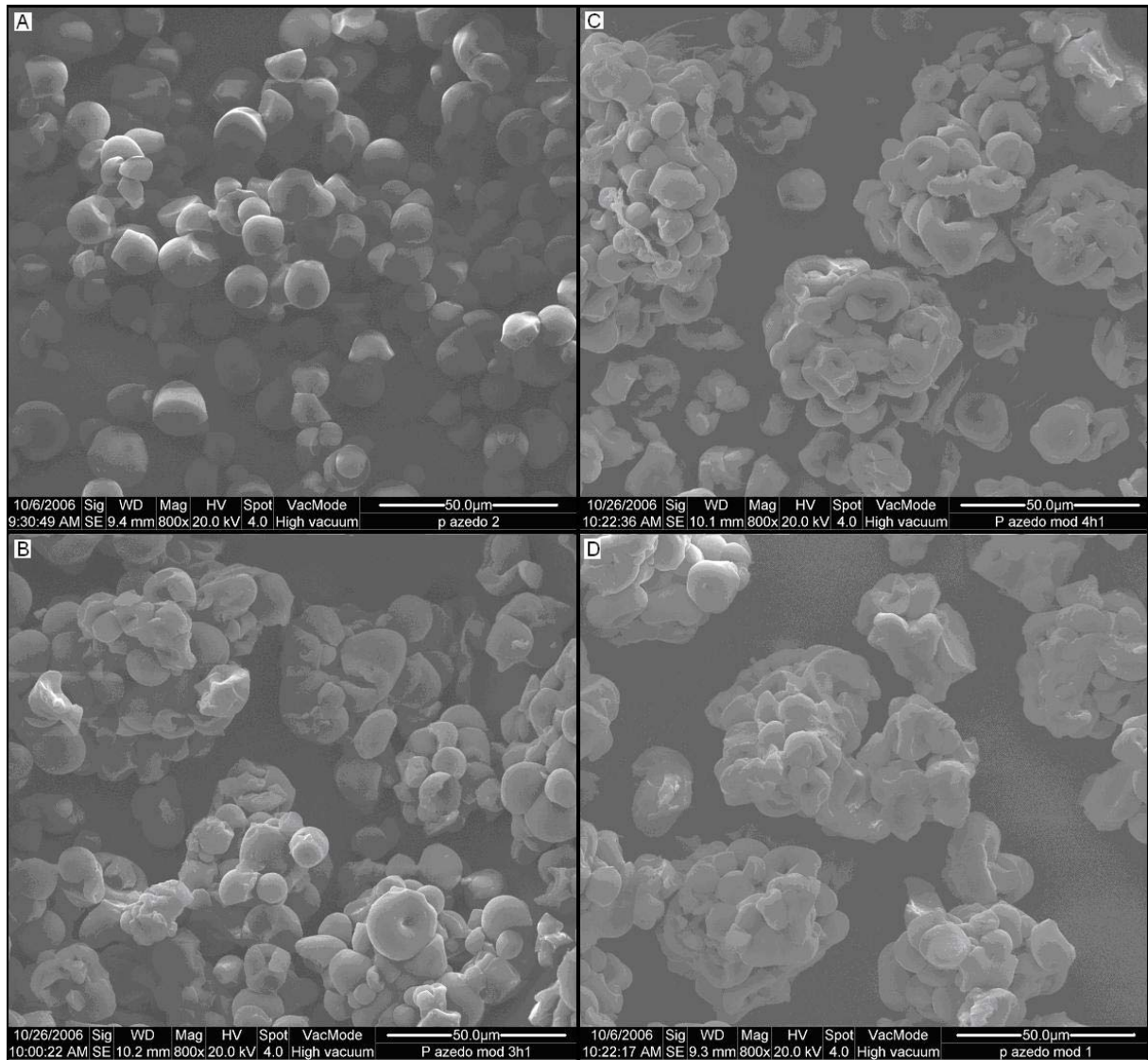
Segundo Palata-Oviedo e Camargo (1998); Marcon *et al.* (2006), o aspecto dos grânulos de amido de mandioca nativo difere também, daquele do amido de mandioca fermentado, devido à modificação causada pela fermentação, uma vez que as enzimas produzidas durante o processo fermentativo provocam algumas fissuras na superfície dos grânulos. Estas diferenças, porém, não são visualizadas nas micrografias apresentadas, em virtude do baixo aumento.

O AN e o AF apresentaram mudanças no aspecto dos seus grânulos após serem tratados com ácido cítrico e submetidos à temperatura de 135°C em estufa com circulação de ar forçado. Nas Figuras 9A e B pode-se ver que, com a exposição dos grânulos de amido de mandioca nativo à reação com ácido cítrico e ao calor, ocorre modificação destes. Estes grânulos vão se aglomerando e também sofrem corrosão na sua superfície com o passar do tempo. Da mesma maneira, nas Figuras 10B, C e D, observa-se que com o passar do tempo de exposição ao reagente químico e à alta temperatura, maior é a modificação sofrida pelo amido de mandioca fermentado. Os grânulos de amido também se aglomeram cada vez

mais com o passar do tempo e alguns dos grânulos apresentaram-se com aspecto de "donuts" ou rosquinhas, como observado também pelos autores Xie, Liu e Cui (2006), para os amidos de milho normal e ceroso tratados com ácido cítrico e alta temperatura. Estes autores descrevem, também, que esses grânulos com forma de "donut" podem ser consequência do inchamento granular seguido pelo colapso. E ainda sugerem que os reagentes químicos tais como o ácido cítrico, poderiam ter acesso diretamente a uma região organizada no centro do amido por canais e cavidades, que conduziriam a uma alteração na morfologia do grânulo.



**Figura 9** – Microscopia eletrônica de varredura (800x): A- amido de mandioca nativo, B- citrato de amido (tratamento por 7h). A escala corresponde a 50 µm.



**Figura 10** – Microscopia eletrônica de varredura (800x): A- amido de mandioca fermentado, B- citrato de amido fermentado (tratamento por 3h), C- citrato de amido fermentado (tratamento por 4h), D- citrato de amido fermentado (tratamento por 7h). A escala corresponde a 50  $\mu\text{m}$ .

Xie, Liu e Cui (2006) observaram em microscópio eletrônico de varredura os citratos de amido de milho após aquecimento a 100°C por 30 minutos e, relataram que a forma de “donut” dos grânulos dos citratos de amido de milho permaneceu virtualmente inalterada, confirmando que a formação do citrato resultou em ligações cruzadas no amido. As ligações cruzadas preservam a estrutura dos grânulos durante o aquecimento em água. Também observaram que, após o aquecimento, todos os citratos de amido de milho e seus controles perderam a birrefringência, devido à fusão da região cristalina do grânulo. Reportaram, ainda, que os conteúdos de AR foram superiores a 68% nestes citratos de amido

após o aquecimento, devido à formação de ligações cruzadas, indicando que estes são estáveis ao aquecimento, apesar de uma pequena perda na quantidade de AR.

#### 5.1.4 Quantificação de Amido Resistente

De acordo com os dados mostrados na Tabela 4, verificou-se que ocorreu uma tendência de aumento dos teores de AR nos amidos de mandioca fermentados modificados com ácido cítrico e alta temperatura, à medida que o tempo de reação na estufa aumentou. O teor de AR do AF não diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) daquele do AFR que permaneceu 3h na estufa, mas foi diferente dos do AFR com permanência de 4 e 7h.

Muitos são os métodos existentes para quantificar o teor de AR. De acordo com Walter, Silva e Emanuelli (2005), foram desenvolvidos os métodos *in vitro* de quantificação de AR, 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). Posteriormente, o amido remanescente é solubilizado com hidróxido de potássio ou dimetilsulfóxido, e novamente hidrolisado por enzimas amilolíticas e então é quantificado na forma de glicose. Os métodos indiretos são baseados na determinação do amido total e do amido disponível, de onde se obtém, por diferença a quantidade de AR. Esses métodos acumulam erros durante o procedimento, e ainda, de acordo com a técnica escolhida, existem variações em relação ao modo como a amostra é preparada, tipos e quantidades de enzimas, condições de tempo e temperatura de incubação e reagentes utilizados para a solubilização da fração resistente.

O trabalho proposto por Shin, Song e Seib (2004) compara a digestibilidade de AR4 usando diferentes métodos analíticos e diferentes enzimas. Foram utilizados os métodos de fibra total da AOAC e o gravimétrico, com a utilização da pancreatina. Um dos resultados encontrados por esses pesquisadores foi de 72,9% de AR pelo método da AOAC e de 10,5% pelo método gravimétrico para o amido de trigo, mostrando a grande diferença encontrada, dependendo da escolha da metodologia.

Muitas vezes, o AR é quantificado pela metodologia de determinação do teor de fibra alimentar da AOAC, superestimando assim o teor de AR, uma vez que, na determinação de fibras, após a destruição da região cristalina do amido pelo aquecimento,

pode ocorrer a formação de ligações cruzadas entre proteína e amido, podendo atuar como uma camada protetora para a digestão da  $\alpha$ -amilase, resultando em um maior nível de AR. Alguns pesquisadores sugerem que a utilização da protease seria muito importante para a obtenção de valores mais exatos na determinação de AR (SHIN, SONG e SEIB, 2004; WALTER, SILVA e EMANUELLI, 2005). Essa é uma possível explicação para a diferença encontrada no teor de AR do produto comercial utilizado nesse trabalho. Enquanto que o teor, informado pelo fabricante, empregando o método da AOAC (1998), foi de 70,00%, pelo método proposto pela Megazyme, a porcentagem de AR encontrada foi de 20,30%  $\pm$  2,20.

**Tabela 4** – Teor\* de AR em amido de mandioca fermentado e amidos de mandioca fermentado resistentes com tratamentos em estufa por 3, 4 e 7h.

Amostra	Tempo de estufa (h)	AR (% bs)**
Amido fermentado	0	10,41 <sup>c</sup> $\pm$ 2,27
Amido fermentado resistente	3	11,19 <sup>b,c</sup> $\pm$ 1,00
Amido fermentado resistente	4	17,51 <sup>a,b</sup> $\pm$ 3,29
Amido fermentado resistente	7	23,28 <sup>a</sup> $\pm$ 0,35

\*Valores médios  $\pm$  DP obtidos de triplicatas. \*\*bs = base seca. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de AR entre as amostras (Tukey,  $p < 0,05$ ).

O teor de AR do ANR com permanência de 7h em estufa foi determinado, a título de comparação, com o teor do AFR com o mesmo tempo de tratamento. Como o valor encontrado foi de 18,00%  $\pm$  0,79, não se deu prosseguimento às determinações dos teores de AR para os ANR com permanência em estufa por 3 e 4h, uma vez que se optou por trabalhar com o AFR por dois motivos: o 1º, porque se empregaria a mesma matéria-prima utilizada na confecção do biscoito de polvilho, e, o 2º, porque o teor de AR produzido, no mesmo tempo, no AFR, foi maior do que o do ANR.

Considerando que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no teor de AR entre os tratamentos com ácido cítrico por 4 e 7h na estufa, o tempo de 4h foi escolhido para a produção do AFR para emprego nos biscoitos de polvilho devido, a economia de tempo e menor gasto de energia.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS BISCOITOS

### 5.2.1 Volume Específico

Como observado na Tabela 5, os biscoitos de polvilho formulados com o amido resistente comercial apresentaram um maior volume específico do que os produzidos com o AFR produzido em laboratório. Uma das razões pode ser a de que a porcentagem de AR do produto comercial era um pouco maior do que a do AFR (20,3 e 17,5% respectivamente), ocorrendo uma menor substituição na quantidade de polvilho azedo por AR comercial. Outra, é que por não poder aplicar um processo de secagem adequado na produção do AFR em laboratório, este pode não ter tido a granulometria, dispersibilidade, capacidade de hidratação e gelatinização similares à do produto comercial com conseqüentes efeitos no desempenho tecnológico.

Os volumes específicos das três formulações (3, 5 e 7%) com o AR comercial não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), embora se observe uma tendência à diminuição com o aumento da concentração deste. Esse fato pode ser explicado pelo alto valor do desvio padrão, consequência das características do produto avaliado. O biscoito de polvilho é um produto bastante irregular, por sofrer expansão devido à formação e crescimento de bolhas de ar, resultando um produto cheio de alvéolos no seu interior. Para o biscoito de polvilho produzido com o AFR, a formulação com adição de 5% de AR não diferiu significativamente das formulações com 3 e 7% ( $p < 0,05$ ), mas o biscoito formulado com 3% diferiu daquele com 7%.

Como descrito no item 5.1.2., os grânulos de AF, após a esterificação com ácido cítrico, sofreram modificações drásticas. A substituição de citrato, formando ligações cruzadas, faz com que os grânulos resistam à gelatinização e ao intumescimento. Isto explica a diminuição do volume específico com o aumento da porcentagem de substituição de polvilho azedo por AR, que tem comportamento diferenciado em relação ao amido que não sofreu este tipo de modificação.

**Tabela 5** – Volume específico\* dos biscoitos de polvilho com diferentes níveis de adição de AR de fontes comercial ou AFR.

Amostra	Volume Específico (mL/g)*
Biscoito com adição de 3% de AR (comercial)	6,46 <sup>a</sup> ± 2,21
Biscoito com adição de 5% de AR (comercial)	5,01 <sup>a</sup> ± 1,85
Biscoito com adição de 7% de AR (comercial)	4,58 <sup>a</sup> ± 0,87
Biscoito com adição de 3% de AR (AFR)	4,82 <sup>A</sup> ± 1,42
Biscoito com adição de 5% de AR (AFR)	3,25 <sup>A,B</sup> ± 1,21
Biscoito com adição de 7% de AR (AFR)	1,91 <sup>B</sup> ± 0,64

\*Valores médios ± DP obtidos de sextuplicatas. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa com relação ao volume específico entre as amostras de biscoito de polvilho com diferentes teores de AR comercial (Tukey,  $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa com relação ao volume específico entre as amostras de biscoito de polvilho com diferentes teores de AFR (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Wepner *et al.* (1999) também observaram que a adição de AR (citrato de amido) provocou a diminuição de volume em pães.

### 5.2.2 Dureza

De acordo com os dados da Tabela 6, não foi encontrada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras de biscoito de polvilho formuladas com diferentes teores de AR comercial, em relação à dureza. No caso dos biscoitos formulados com AFR, apenas os com adição de 3 e 7% de AR apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Verifica-se que houve grande variabilidade nos resultados de cada amostra (alto desvio padrão), mas, isto é consequência das características do produto, da mesma maneira que ocorreu no caso do volume específico.

O fato de haver pouca diferença entre as amostras, para esta propriedade, é positivo, porque a dureza é uma característica importante para a aceitabilidade do produto.

**Tabela 6** –Dureza\* das diferentes formulações de biscoitos de polvilho.

Amostra	Dureza (N)
Biscoito com adição de 3% de AR (comercial)	10,44 <sup>a</sup> ± 2,07
Biscoito com adição de 5% de AR (comercial)	10,18 <sup>a</sup> ± 1,77
Biscoito com adição de 7% de AR (comercial)	10,13 <sup>a</sup> ± 2,09
Biscoito com adição de 3% de AR (AFR)	8,60 <sup>B</sup> ± 0,78
Biscoito com adição de 5% de AR (AFR)	9,41 <sup>A,B</sup> ± 0,98
Biscoito com adição de 7% de AR (AFR)	10,91 <sup>A</sup> ± 1,48

\*Valores médios ± DP obtidos de sextuplicatas. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa com relação a dureza entre as amostras de biscoito de polvilho com diferentes teores de Hi-maize®260 (Tukey,  $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa com relação a dureza entre as amostras de biscoito de polvilho com diferentes teores de AR 4h de estufa (Tukey,  $p < 0,05$ ).

### 5.2.3 Avaliação Sensorial

Os valores médios das notas dadas pelos provadores às amostras das diferentes formulações dos biscoitos de polvilho estão apresentados na Tabela 7. Todas as amostras que continham AR comercial e a formulada com AFR com incremento de 3% de AR tiveram a mesma aceitação e esta foi alta (entre 6,2 e 6,4 – gostei moderadamente, para um máximo possível de 7,0 – gostei muito). Apenas os biscoitos que continham teores adicionais de 5 e 7% de AR, proveniente de AFR, apresentaram menor aceitabilidade (notas 5,5 e 4,9, respectivamente), ficando a aceitação entre gostei pouco e não gostei e nem desgostei.

Apesar de não ser obrigatório o preenchimento do espaço reservado aos comentários na ficha sensorial (ANEXO), 44 provadores o fizeram, expondo suas opiniões em relação as amostras oferecidas. Dentre estes, 15 comentaram que a amostra com maior teor (7%) de AR proveniente de AFR apresentou sabor ácido, 10 encontraram a mesma característica para a amostra com 5% desse mesmo ingrediente e apenas 2 provadores disseram o mesmo para a amostra que tinha 3%. Foi citado, por 9 provadores, que a amostra com 7% de AR de AFR apresentou pouca expansão ou que estava dura. Outras características como crocância, aparência e sabor também foram citadas, porém de maneira menos enfática.

**Tabela 7** – Valores médios de aceitação\* para as diferentes formulações dos biscoitos de polvilho (n = 102 provadores)

Amostra	Nota
Biscoito com adição de 3% de AR (comercial)	6,4 <sup>a</sup>
Biscoito com adição de 5% de AR (comercial)	6,2 <sup>a</sup>
Biscoito com adição de 7% de AR (comercial)	6,2 <sup>a</sup>
Biscoito com adição de 3% de AR (AFR)	6,3 <sup>a</sup>
Biscoito com adição de 5% de AR (AFR)	5,5 <sup>b</sup>
Biscoito com adição de 7% de AR (AFR)	4,9 <sup>c</sup>

\*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Os comentários dos provadores de que os biscoitos de polvilho formulados com AFR apresentavam sabor ácido, podem ser justificados pelo fato de que o biscoito de polvilho apresenta, tradicionalmente, um sabor característico levemente acidificado, já que o ingrediente principal utilizado na sua produção é o polvilho azedo, o qual apresentou pH 3,5. O AFR utilizado para substituir parte do polvilho azedo apresentou pH 2,5, resultando, produtos mais acidificados do que o convencional. Isto, contudo, não constitui sempre uma propriedade negativa, uma vez que alguns provadores criticaram esse sabor mais ácido e outros o elogiaram.

Podemos observar na Figura 11 que os biscoitos de polvilho formulados com 3% de AR proveniente da fonte comercial apresentaram maior expansão. À medida que a porcentagem de AR aumentou, os biscoitos apresentaram menor expansão, crosta mais homogênea e compacta (com menos rachaduras).



**Figura 11** – Biscoito de polvilho com inclusão de 3, 5 e 7% (da esquerda para a direita) de AR, pela substituição de polvilho azedo por AR comercial.

O mesmo ocorreu, de forma mais acentuada, para os biscoitos de polvilho formulados com AFR (Figura 12).



**Figura 12** – Biscoitos de polvilho com inclusão de 3, 5 e 7% (da esquerda para a direita) de AR pela substituição de polvilho azedo por AFR.

## 6 SUGESTÕES PARA FUTURAS PESQUISAS

A pesquisa realizada foi de extrema importância para agregar conhecimento e como treinamento, que é o objetivo principal de um mestrado. Entretanto, seriam necessários estudos complementares, conforme as sugestões feitas a seguir:

1. Melhoramento do processo de produção do AR a partir do polvilho azedo, com novos testes de aplicação no biscoito de polvilho.
2. Quantificação do teor de AR do biscoito de polvilho para se ter idéia do quanto desse amido já está presente no produto em que se adicionará mais AR.
3. Quantificação do teor de AR do biscoito de polvilho suplementado com AR, uma vez que parte do que foi adicionado pode ser degradado durante o assamento, enquanto AR resultante da retrogradação pode ser formado no resfriamento.
4. Comprovação dos efeitos funcionais do biscoito de polvilho suplementado com AR, através de estudos de intervenção em humanos.

## 7 CONCLUSÕES

Foi possível produzir biscoitos de polvilho com boas características sensoriais, com suplementação de até 7% de AR, pelo emprego de um amido de milho comercial com teor de 20,3% de AR, em substituição parcial ao polvilho azedo. Também foi possível elaborar esses biscoitos com suplementação de AFR (17,51%), devendo-se levar em consideração que o produto final teve um sabor acidificado mais intenso do que o biscoito de polvilho tradicional e menor expansão, limitando a substituição parcial do polvilho azedo pelo AFR para uma porcentagem inferior a 7%.

Os biscoitos de polvilho desenvolvidos poderiam ser considerados um novo alimento funcional, embora seja recomendável a realização de estudos que comprovem seus efeitos benéficos para a saúde.

As modificações químicas e estruturais que ocorrem durante a fermentação do amido de mandioca, na produção do polvilho azedo, parecem favorecer a reatividade deste quando tratado com ácido cítrico. Isto explicaria a maior produção de citrato de amido a partir de amido fermentado em comparação com o amido nativo.

A metodologia utilizada para a produção do amido resistente é relativamente simples, e foi satisfatória, uma vez que foi observada a possibilidade de aumentos de até 120% de amido resistente, em relação à porcentagem inicial apresentada pelo amido de mandioca fermentado. Mas, um processo de secagem adequado na produção do AFR poderia melhorar as suas características quanto à dispersibilidade, capacidade de hidratação e gelatinização, que trariam conseqüentes efeitos benéficos no desempenho tecnológico.

## REFERÊNCIAS

ABAM – **Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca**. Disponível em: <[http://www.abam.com.br/prod\\_bra\\_9003.php](http://www.abam.com.br/prod_bra_9003.php)>. Acesso em 13 set. 2006.

APARICIO-SAGUILÁN, A.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; VARGAS-TORRES, A.; TOVAR, J.; ASCENCIO-OTERO, T. E.; BELLO- PÉREZ, L.A. Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3-4, 175-181, 2007.

APLEVICZ, K. S. Caracterização de produtos panificados à base de féculas de mandioca nativas e modificadas. **Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Universidade Estadual de Ponta Grossa, 131p., 2006.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 20 ed., Airlingtonn, 1998.

BERTOLINI, A. C.; MESTRES, C.; LOURDIN, D.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P. Relationship between thermomechanical properties and baking expansion of sour cassava starch (Polvilho azedo). **Journal of the Science of the Food and Agriculture**, v. 81, n. 4, p.429-435, 2001.

BRASIL. Portaria ANVISA, nº 27, de 13 de janeiro de 1998, aprova o **Regulamento referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes)**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/27\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/27_98.htm)>. Acesso em 05 mar. 2006.

\_\_\_\_\_. Resolução - RDC ANVISA, nº 263, de 22 de setembro de 2005, aprova o **Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos**. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=18822&word=>>>. Acesso em 17 mar. 2006.

CALIXTO, F. S.; GOÑI, I.; BRAVO, L.; MAÑAS, E. Resistant starch in foods: modified method for dietary fiber residues. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 3, p. 642-643, 1993.

CAMARGO, C.; COLONNA, P.; BULGON, A.; RICHARD-MOLAR, D. Functional properties of sour cassava (*Manihot utilissima*). Starch: polvilho azedo. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 45, n. 3, p. 273-289, 1988.

CEPEA / ABAM– **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada / Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca**. Valor de produção da fécula cai 7% em 2006 com produção 5,1% maior. Disponível em: <[http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/producao\\_fecula\\_2006.pdf](http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/producao_fecula_2006.pdf)>. Acesso em 10 ago. 2007.

CEREDA, M. P.; CHUZEL, G. C.; VILPOUX, O. F.; NUNES, O. L.G. S. Modificação de fécula por fermentação. **Série Biotecnologia**, v. 3, 2003. 49 p.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. **Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, v. 3, São Paulo, Fundação Cargill, 2003.

DEMIATE, I. M.; BARANA, A. C.; CEREDA, M. P.; WOSIACKI, G. Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n. 1, 1999.

DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; SOUZA, T. O.; WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P. Características de qualidade de amostras de polvilho doce. Publicado por UEPG Exact Soil Science, **Agricultural Science Engineering**, Ponta Grossa, v. 9, n. 1, p. 29-34, 2003.

ENGLYST, H. N.; KINGMAN, S. M.; CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, n.2, p. 33-50, 1992.

FARAJ, A.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R. The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. **Food Research International**, v. 37, n.5, p. 517-525, 2004.

FRANCO, C. M. L.; CABRAL, R.A.F; TAVARES, D.Q. Structural and physicochemical characteristics of lintnerized native and sour cassava starches. **Starch/Stärke**, v. 54, n.10, p. 469 -475, 2002.

GAMEIRO, A. H. Mandioca: de alimento básico à matéria-prima industrial. **Centro de estudos avançados em economia aplicada – ESALQ/USP**, Piracicaba, 2002.

GOÑI, I.; GARCIA-DIZ, L; MAÑAS, E.; SAURA-CALIXTO, F. Analysis of resistant starch: a method for foods and foods products. **Food Chemistry**, v. 56, n. 4, p. 445-449, 1996.

KOKSEL, H.; MASATCIOGLU, T.; KAHRAMAN, K.; OZTURK, S.; BASMAN, A. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. **Journal of Cereal Science** (2007), doi:10.1016/j.jcs.2007.04.007.

LEONEL, M.; GARCIA, A. C. D. B.; REIS, M. M. Caracterização físico-química e microscópica de amidos de batata-doce, biri, mandioca e taioba e propriedades de expansão após modificação fotoquímica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p. 129-137, 2004.

LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, v.16, n. 2, 2003.

MAEDA, K. C.; CEREDA, M. P. Avaliação de duas metodologias de expansão ao forno do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, 2001.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, K.; SIMAS, K N.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, n. 4, p. 362-372, 2006.

NIBA, L. L. Resistant starch: a potential functional food ingredient. **Nutrition & Food Science**, v.32, n. 2, p.62-67, 2002.

NIBA, L. L. Effect of storage period an temperature on resistant starch and  $\beta$ -glucan content in cornbread. **Food Chemistry**, v. 83, n. 4, p. 493-498, 2003.

PALATA-OVIEDO; M.; CAMARGO, C. Effect of acid treatments and drying processes on physico-chemical and functional properties of cassava starches. **Journal of the Science of the Food and Agriculture**, v. 77, n. 1, p. 103-108, 1998.

PEREIRA, J., CIACCO, C. F., VILELA, E. R., PEREIRA, R. G. F. A. Função dos ingredientes na consistência da massa e nas características do pão de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n 4, p. 494-500, 2004.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P. R. Resistant starch – A review. Comprehensive reviews in food science and food safety, **Institute of Food Technologists**, v.5, n. 1, p. 1-17, 2006.

SANTOS, J. R. U. Desenvolvimento de pão de queijo funcional pela incorporação de isolado protéico de soja e polidextrose. **Dissertação de mestrado em Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 277p., 2006.

SHIN, S. I.; CHANG, J. L.; KIM, D.; LEE, H. A.; CHEONG, J.; CHUNG, K. M.; BAIK, M.; PARK, C. S.; KIM, C. H.; MOON, T. W. Formation, characterization, and glucose response in mice to rice starch with low digestibility produced by citric acid treatment. **Journal of Cereal Science**, v. 45, n. 1, p. 24-33, 2007.

SHIN, M.; SONG, J.; SEIB, P. A. "In vitro" digestibility of cross-linked starches – RS4. **Starch/Stärke**, v. 56, n. 10, p. 478-483, 2004.

SILVA, C. E. M.; FAÇANHA, S. H. F.; SILVA, M. G. G. Efeito do teor de água, amilose, amilopectina e grau de gelatinização no crescimento do biscoito de amido de mandioca obtido por fermentação natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, 1998.

VATANASUCHART, N.; NAIVIKUL, O.; CHAROENREIN, S.; SRIROTH, K. Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion. **Carbohydrate Polymers**, v.61, p. 80-87, 2005.

XIE, X. S.; LIU, Q. Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches. **Starch/Stärke**, v. 56, n. 8, p. 364-370, 2004.

XIE, X. S.; LIU, Q.; CUI, S. W. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. **Food Research International**, v. 39, n. 3, p. 332-341, 2006.

WALTER, M.; SILVA, L.P.; DENARDIN, C. C. Rice and resistant starch: different content depending on chosen methodology. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 4, p. 279-285, 2005.

WEPNER, B.; BERGHOFER, E.; MIESENBERGER, E.; TIEFENBACHER, W. K.; PERRY, K.; LANSING, E. Citrate starch – Application as resistant starch in different food systems. **Starch/Stärke**, v. 51, n. 10, p. 354-361, 1999.

## REFERÊNCIAS CONSULTADAS

ADAMU, B. O. A.. Resistant starch derived from extruded corn starch and guar gum as affected by acid and surfactants: structural characterization. **Starch/Stärke**, v. 53, n. 11, p. 582–591, 2001.

ATICHOKUDOM-CHAI, N.; SHOBSNGOB, S.; CHINACHOTI, P.; VARAVINIT, S. A study of some physicochemical properties of high-crystalline tapioca starch. **Starch/Stärke**, v. 53, n. 11, p. 577-581, 2001.

CEREDA, M. P. Padronização para ensaios de qualidade da fécula de mandioca fermentada (polvilho azedo). **Boletim da Sociedade Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 219-336, 1983.

\_\_\_\_\_. Avaliação da qualidade de duas amostras de fécula fermentada de mandioca (Polvilho Azedo). **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p. 305-320, 1983a.

\_\_\_\_\_. Propriedades gerais do amido. **Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, v.1, São Paulo, Fundação Cargil, 2001.

CHAMP, M.; KOZLOWSKI, F.; LECANNU, G. “In vivo” and “in vitro” methods for resistant starch measurement. Em: LOBO, A. R. & SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, v.16, n 2, 2003.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Designs**. 2ª ed. Canadá, John Wiley & Sons, 1957. 611p.

DUTTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial dos Alimentos**. Editora Champagnat, 123p., Curitiba, 1996.

EERLINGEN, R. C.; DECEUNINCK, M.; DELCOUR, J. A. Enzyme-Resistant Starch. II. Influence of amylose chain length on resistant starch formation. **Cereal Chemistry**, v.70, n.3, 1993.

EMBRAPA, **Cultivo da mandioca na região centro sul do Brasil**, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandiocacentrosul/importancia.htm>>. Acesso em 24 out. 2006.

GARCIA, A. C. D. B; LEONEL, M. Efeito da concentração de ácido láctico sobre a propriedade de expansão em amidos modificados fotoquimicamente. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n. 3, p.629-634, Lavras., 2005.

HUTH, M.; DONGOWSKI, E.; GEBHARDT, E.; FLAMME, W. Functional properties of dietary fibre enriched extrudates from barley. **Journal of Cereal Science**, v. 32, n.2, p. 115-128, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, 2ª edição. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

JIN, Z. Y. Resistant starch derived from extruded corn starch and guar gum as affected by acid and surfactants: structural characterization. **School of Food Science**, v. 53, n. 11, p. 582-591, 2000.

MUN, S.; SHIN M. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. **Food Chemistry**, v. 96, n. 1, p. 115-121, 2006.

PEREIRA, J.; CIACCO, C. F.; VILELA, E. R.; TEIXEIRA, A. L. S; Féculas fermentadas na fabricação de biscoitos: estudo de fontes alternativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n. 2, 1999.

SOZER, N.; DALGIÇ, A. C.; KAYA, A. Thermal, textural and cooking properties of spaghetti enriched with resistant starch. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 2, 476-484, 2007.

THOMPSON, D. B. Strategies for the manufacture of resistant starch. **Department of Food Science**, 2001.

WALTER, M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 974-980, 2005.

**ANEXO**

**TESTE SENSORIAL**

Avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto gostou ou desgostou do produto.

7- gostei muito

6- gostei moderadamente

5- gostei pouco

4- nem gostei / nem desgostei

3- desgostei pouco

2- desgostei moderadamente

1- desgostei muito

AMOSTRA	VALOR

Comentários:

---

---