

MODIFICAÇÃO QUÍMICA DO AMIDO DE MANDIOCA PRÉ-GELATINIZADO PARA APLICAÇÃO EM MASSA RESFRIADA DE PÃO DE QUEIJO

REBRAPA

Franciele Leila Giopato Viell¹, Francieli Cassia Gomes Barroso Simão Alves¹, Solange Aparecida Fávaro Tosoni², Natara Fávaro Tosoni², Giseli Cristina Pante², Manuel Salvador Vicente Plata-Oviedo*¹.

*mapaov@utfpr.edu.br

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos –PPGTA, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão;

²Departamento Acadêmico de Alimentos, DALIM, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14685/rebrapa.v4i2.124>

Resumo: O objetivo deste estudo foi modificar quimicamente o amido de mandioca pré-gelatinizado a fim de obter amidos resistentes à ação da α -amilase presente no ovo e avaliar sua aplicação em massas resfriadas de pão de queijo. Neste estudo, o amido nativo foi inter cruzado com trimetafosfato de sódio na concentração de 0,5% (b.s.). O amido inter cruzado foi oxidado com hipoclorito de sódio (2,0%), peróxido de hidrogênio (2,0%) e combinações de peróxido de hidrogênio com permanganato de potássio (0,1%), sulfato ferroso (0,05%) e ozônio (1,0 g/h). As oxidações ocorreram por um período de 2 horas a temperatura ambiente. Os amidos modificados foram pré-gelatinizados e secos por pulverização. Foram avaliados o teor de carboxilas, o índice de solubilidade e absorção de água e a suscetibilidade enzimática à α -amilase dos amidos. Massas de pão de queijo foram preparadas com os amidos modificados, moldadas e armazenadas sobre refrigeração (8 °C) por dezesseis dias. Foram avaliados o índice de pegajosidade das massas, que representa sua estabilidade durante o armazenamento refrigerado, e as características físicas dos pães de queijo. Os amidos estudados apresentaram menor suscetibilidade à hidrólise enzimática. Durante o armazenamento refrigerado, as massas exibiram menor índice de pegajosidade, boa consistência e os pães de queijo exibiram boa aparência, entretanto apresentaram menor volume específico e índice de expansão. Os resultados obtidos no estudo mostram que as características dos amidos modificados, ao longo do período de estocagem, promoveram uma maior estabilidade ao produto.

Palavras-chave: Amido de mandioca, Intercruzamento, Oxidação, Pão de queijo.

Chemical modification of pregelatinized cassava starch for application in cold cheese bread dough:

The objective of this study was to chemically modify the pregelatinized cassava starch to obtain resistant starches to the action of α -amylase present in the egg and evaluate their application in cold cheese bread dough. In this study native cassava starch was cross-linked with sodium trimetaphosphate in a concentration of 0.5% (d.b.). The cross-linked starch was oxidized with sodium hypochlorite (2.0%), hydrogen peroxide (2.0%) and combinations of hydrogen peroxide with potassium permanganate (0.1%), ferrous sulfate (0.05%) and ozone (1.0 g/h). All oxidations occurred during a period of 2 hours at room temperature. The modified starches were pregelatinized for 30 minutes at 95 °C and spray dried. The solubility index and water absorption, content of carboxyl groups and the enzymatic susceptibility to α -amylase of the modified starches were evaluated. Cheese bread dough was prepared with pregelatinized modified starch and stored under refrigeration (8 °C) for sixteen days. The tackiness index of the dough, which represents its stability during refrigerated storage, and physical characteristics of the cheese breads were evaluated. The starches studied exhibited lower susceptibility to enzymatic hydrolysis. During refrigerated storage, doughs showed a lower rate of tackiness, good consistency and the cheese breads exhibited good appearance, however they had lower specific volume and rate of expansion. The results of the study show that the characteristics of the modified starch during the storage period, promoted better product stability.

Key-words: Cassava Starch, Cross-linking, Oxidation, Cheese bread.

1 Introdução

O amido é um polímero degradável renovável e que pode ser obtido a partir de várias fontes botânicas (ZHANG *et al.*, 2010). A estrutura do amido nativo pode ser modificada por métodos físicos, químicos, enzimáticos ou por meios genéticos para promover propriedades funcionais específicas (DIAS *et al.*, 2011; BENINCA *et al.*, 2013). O intercruzamento, oxidação e pré-gelatinização (SINGH; KAUR; MCCARTHY, 2007) são exemplos de modificações químicas e físicas importantes aplicadas a amidos.

O intercruzamento é uma técnica essencial para modificar as propriedades dos amidos nativos. Esta modificação é realizada por tratamento de amidos com reagentes capazes de formar ligações éter ou éster entre os grupos hidroxila (-OH) das moléculas de amido (MANOI e RIZVI, 2010). Segundo Singh, Kaur e Mccarthy (2007) esta modificação reforça as ligações de hidrogênio natural do amido fortalecendo sua estrutura e aumentando sua estabilidade ao cozimento, cisalhamento e condições ácidas. Além disso, os amidos intercruzados apresentam maior resistência à hidrólise enzimática (KHONDKAR; TESTER e KARKALAS, 2009).

O amido oxidado é comumente produzido pela reação do amido com um agente oxidante sob condições controladas de pH e temperatura (WANG; WANG, 2003). Esta modificação é comumente utilizada para obter amidos com baixa viscosidade em altas concentrações de sólido (ZHANG *et al.*, 2012). Durante a oxidação, os grupos hidroxilas das moléculas de amido são oxidados a grupos carbonílicos (C=O) e carboxílicos (COOH), principalmente em C-2, C-3 e C-6 (KUAKPETOON e WANG, 2008). Os amidos podem ser oxidados por diversos agentes oxidantes como hipoclorito de sódio (KUAKPETOON e WANG, 2001; WANG e WANG, 2003; KUAKPETOON e WANG, 2008; DIAS *et al.*, 2011), peróxido de hidrogênio (ZHANG *et al.*, 2012), ozônio (CHAN *et al.*, 2011), periodato (YU; CHANG e MA, 2010; ZHANG *et al.*, 2010) permanganato de potássio e persulfato de amônia (SINGH; KAUR e MCCARTHY, 2007). Em condições ótimas de reação, o hipoclorito introduz principalmente grupos carboxílicos, o peróxido grupos carbonílicos (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON e SRIROTH, 2010), enquanto o ácido periódico ou periodatos introduzem exclusivamente grupos aldeídos (SONG *et al.* 2010).

A pré-gelatinização é uma modificação física do amido nativo, amplamente utilizada. Esta modificação permite a obtenção de amidos dispersíveis em água fria (FU *et al.*, 2012; SINGH; KAUR e MCCARTHY, 2007). Na fabricação de pão de queijo, a utilização de amidos pré-gelatinizados elimina a etapa de escaldamento da massa, pois sua preparação pode ser feita apenas com a adição de água ou leite frio. Entretanto, massas resfriadas de pão de queijo formuladas com amido de mandioca pré-gelatinizado ao serem armazenadas à temperatura de refrigeração (5 a 8°C) adquirem consistência pegajosa e o pão de queijo obtido é de

formato achatado, tornando-se um desafio para a indústria alimentícia. O desenvolvimento da pegajosidade pode estar associado a α -amilase do ovo in natura presente na massa, que possui ação hidrolítica sobre o amido (BROOKS, 1962). Na tentativa de aumentar a estabilidade das massas resfriadas de pão de queijo, foi realizada esta pesquisa que teve por objetivo modificar quimicamente o amido de mandioca a fim de obter amidos instantâneos resistentes a ação da α -amilase presente no ovo.

2 Material e Métodos

2.1 Material

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Alimentos, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão. O amido nativo de mandioca foi doado pela Pinduca Alimentos e o pré-gelatinizado pela Indemil Indústria e Comércio Ltda. Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico, ácido clorídrico (36,5% m/m, Isofar), cloridrato de hidroxilamina (95%, Nuclear), hidróxido de sódio (98%, Isofar), trimetafosfato de sódio, ácido láctico 85% m/m, bissulfito de sódio 95%, hipoclorito de sódio 5-6 % m/m, iodeto de potássio 99%, permanganato de potássio 99%, sulfato ferroso 98% e o peróxido de hidrogênio 30 % m/m adquiridos da Dinâmica®.

2.2 Tratamentos do amido

Os tratamentos foram resultados da combinação de duas modificações químicas diferentes (intercruzamento seguido da oxidação) e uma modificação física (pré-gelatinização). O amido de mandioca nativo foi intercruzado e parte deste amido foi tratado com cinco condições de oxidação distintas. Foi avaliado ainda o amido de mandioca nativo e o amido de mandioca pré-gelatinizado comercial, resultando em oito amostras: I, amido intercruzado; I/HIP, amido intercruzado e oxidado com hipoclorito de sódio (NaClO); I/PER, amido intercruzado e oxidado com peróxido de hidrogênio (H₂O₂); I/PER/P, amido intercruzado e oxidado com H₂O₂/permanganato de potássio (KMnO₄); I/PER/S, amido intercruzado e oxidado com H₂O₂/sulfato ferroso (FeSO₄); I/PER/O, amido intercruzado e oxidado com H₂O₂/ozônio e ainda AN, amido nativo; C, amostra controle. Com exceção do I/HIP, os demais amidos modificados foram hidrolisados com ácido clorídrico (HCl) 0,5 mol/L por 2 horas a temperatura ambiente para reduzir a viscosidade e possibilitar a secagem.

2.3 Intercruzamento

O amido foi intercruzado de acordo com método descrito por Rubens (1980). O amido nativo foi

disperso em água destilada na proporção 1:1,5 (m/m), o trimetafosfato de sódio (TMFS) (0,5% em relação ao peso de amido b.s.) foi adicionado e o pH foi ajustado para 11,5 pela adição de hidróxido de sódio (NaOH) 3% (m/v). A dispersão foi agitada continuamente por 12 horas em temperatura ambiente. A solução foi neutralizada até pH 6,5 com adição de ácido clorídrico (HCl) 3% (m/v). O amido foi recuperado por filtração, lavado com água destilada e seco a 45 °C.

2.4 Oxidação

O amido inter cruzado foi oxidado com NaClO na concentração de 2% (m/m) de cloro ativo em relação ao peso do amido (450 g, b.s.). A dispersão foi mantida sobre agitação por 2 horas e o pH conservado em torno de 8,5 mediante adição de soluções de HCl e NaOH 3% (m/v). O pH foi ajustado para 6,5 com adição de HCl 3% (m/v). O amido foi recuperado por filtração, lavado com água destilada e seco a 45 °C.

Na oxidação com H₂O₂, 450 g (b.s.) de amido inter cruzado foi disperso em 675 mL de água destilada e adicionou-se 25 mL de H₂O₂ (30%, m/m) e 1 mL de ácido láctico (85% m/m). A dispersão foi mantida sobre agitação por 2 horas, e em seguida o agente oxidante foi neutralizado com bissulfito de sódio e o pH foi ajustado para 6,5 com adição de NaOH 3% (m/v). O amido foi recuperado por filtração, lavado com água destilada e seco a 45 °C. A oxidação do amido com as combinações H₂O₂/KMnO₄ e H₂O₂/FeSO₄ foram realizadas de maneira análoga a oxidação com H₂O₂, adicionando-se a etapa de adição dos catalisadores, KMnO₄ (0,1% m/m) e FeSO₄ (0,05% m/m) após a adição do peróxido. Na oxidação do amido com H₂O₂/ozônio o amido inter cruzado (450 g, b.s.) foi disperso em 675 mL de água destilada e adicionou-se 25 mL de H₂O₂ (30% m/m). Após acidulação com 1,0 mL de ácido láctico (85% m/m), a dispersão foi transferida para a uma coluna de reação construída por um tubo de PVC. Trabalhou-se com gerador de ozônio (Ozone&Life® modelo O&L3.0 RM) com uma produção de 1,0 g/h por 2 horas. O ozônio residual ao abandonar a coluna de reação foi neutralizado com iodeto de potássio 3%. Após a oxidação a dispersão foi recuperada da coluna, o pH foi ajustado para 6,5 com adição de NaOH 3% (m/v) e o amido foi recuperado por filtração, lavado com água destilada e seco a 45 °C.

2.5 Pré-gelatinização e secagem

O amido foi disperso em água na proporção 1:6 (m/m) e em seguida a dispersão foi aquecida por 30 minutos contados após a solução atingir 90 °C. As amostras foram secas utilizando um secador por pulverização (*Spray dryer*). A temperatura de entrada foi fixada em 190 °C, a taxa do ar quente foi mantida a 3,75 m³/min. A vazão de alimentação e do ar comprimido foram de 0,70 L/h e 45 L/min. respectivamente durante todo o

experimento. O amido seco foi recolhido no fundo do ciclone e armazenado em pote plástico.

2.5 Grupos carboxilas

O teor de grupos carboxilas foi determinado segundo o método proposto por Smith (1967) com modificações. Os amidos foram dispersos em 100 mL de solução de HCl 0,1 mol/L e agitados por 30 minutos. As dispersões foram filtradas e lavadas com água destilada até completa remoção do íon cloreto e em seguida secas a 45 °C. Amostras de 2,0 g dos amidos lavados foram dispersos em 300 mL de água destilada e a solução foi aquecida em banho de água fervente com agitação contínua por 15 minutos até a completa gelatinização do amido. As amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e tituladas com solução padronizada de NaOH 0,1 mol/L até pH 8,3. Como branco foi utilizada uma amostra de 2,0 g de amido nativo de mandioca, a qual foi gelatinizada e titulada de maneira análoga ao amido oxidado. O teor de grupos carboxilas foi calculado conforme Equação 1, onde V_b: volume de NaOH gasto no ensaio em branco (mL); v_a: volume de NaOH gasto na titulação da amostra (mL); F: molaridade do NaOH e P: peso da amostra (g, b.s.).

$$\% \text{COOH} = \frac{[(V_b - V_a) \cdot F \cdot 0,045 \cdot 100]}{P} \quad \text{Eq. (1)}$$

2.6 Determinação do índice de solubilidade (ISA) e absorção de água (IAA)

As determinações do ISA e IAA foram realizadas segundo a metodologia descrita por Anderson *et al.* (1969) com modificações. Precisamente, amostras de 1,0 g de amido (b.s.) foram transferidas para tubos de centrífuga, previamente tarados. Foram adicionados 10 mL de água destilada, os tubos foram agitados mecanicamente em agitador de tubos tipo vortex para a homogeneização. A suspensão foi mantida sobre agitação por 30 minutos a 27 °C e em seguida, os tubos foram centrifugados (1591 g por 15 min.). O sobrenadante foi depositado em placas de petri previamente taradas e os tubos (sem sobrenadante) foram pesados para determinação da massa do resíduo da centrifugação. As placas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 105 °C por 4 horas, resfriadas em dessecador por 30 minutos e pesadas para determinação do peso da massa solúvel. O ISA corresponde ao percentual de resíduo que se solubiliza na água destilada adicionada no início da análise calculado conforme Equação (2), onde PMS: peso da massa solúvel (g) e P: peso da amostra (g, b.s.). O IAA refere-se a razão entre o peso do resíduo da centrifugação e o peso da amostra e o resultado é

expresso em g gel/g matéria seca conforme Equação (3), onde PRS: peso do resíduo da centrifugação (g).

$$\% \text{ ISA} = \left(\frac{\text{PMS} \cdot 100}{\text{P}} \right) \quad \text{Eq. (2)}$$

$$\text{IAA} = \left(\frac{\text{PRS}}{\text{P}} \right) \quad \text{Eq. (3)}$$

2.7 Suscetibilidade enzimática à α -amilase pelo método do iodo

As amostras de amidos foram submetidas à hidrólise enzimática por meio da incubação do amido com a enzima α -amilase presente na gema do ovo (YO; HONG e HATCH, 1987). Precisamente, 1,0 g de amido (b.s.) foi disperso em 5 mL de etanol 95% e 90 mL de água destilada. A solução foi aquecida por 5 minutos a 95 °C, resfriada com agitação, e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL completando-se o volume com água destilada (solução de amido 1%, m/v). Para o preparo da solução de ovo 2%, dispersou-se cerca de 2,0 g de ovo em pó em 80 mL de água destilada transferindo-se o conteúdo para um balão volumétrico de 100 mL completando-se o volume, a solução foi filtrada usando papel filtro qualitativo.

Em tubo de ensaio de 15 mL foi depositado 1 mL da solução de amido 1%, 3 mL de tampão fosfato pH 6,9 e 2 mL de água destilada. Após a homogeneização, 1 mL de solução de ovo 2% foi adicionada. Para o controle, realizado para cada amostra, foi depositado em tubo de ensaio de 15 mL, 1 mL da solução de amido 1% (m/v), 3 mL de tampão fosfato pH 6,9 e 3 mL de água destilada. Como branco foi utilizado 1 mL de solução de ovo 2% (m/v), 3 mL de tampão fosfato pH 6,9 e 3 mL de água destilada. Os tubos foram incubados à 37 °C por 120 minutos em banho térmico. Após a incubação foi adicionado 5 mL de solução de HCl 0,1 mol/L para inativar a α -amilase do ovo. Os tubos foram centrifugados (292 g por 5 min.) para evitar a presença de sólidos em suspensão.

Em tubo de ensaio de 10 mL, foram depositados 0,5 mL da solução incubada, 5,0 mL de água destilada e 0,5 mL de solução de iodo. Após homogeneização, os tubos ficaram 20 minutos em repouso a 25 °C ao abrigo da luz. A solução de iodo foi preparada pela diluição de 0,2 g de iodo (I₂) e 2,0 g de iodeto de potássio (KI) em 100 mL de água destilada. A absorbância (A) da solução de cada tubo foi determinada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 620 nm (para amostra (AA), controle (AC) ou branco) utilizando cubeta de vidro. Para cada amostra, controle ou branco a leitura foi realizada em triplicata. O percentual de suscetibilidade à hidrólise enzimática foi calculado conforme Equação 4.

$$\% = \left[\frac{(\text{AC} - \text{AA})}{\text{AC}} \right] \cdot 100 \quad \text{Eq. (4)}$$

2.8 Elaboração do pão de queijo

Para avaliação, as massas foram preparadas substituindo parcialmente o amido pré-gelatinizado comercial (controle) pelos amidos modificados pré-gelatinizados (Tabela 1). As massas foram elaboradas seguindo as seguintes etapas: pesagem dos ingredientes; mistura dos amidos, gordura, sal e ovos; incorporação da água e do queijo; homogeneização e refrigeração (8 °C).

Tabela 1- Formulação, em gramas, utilizada para elaboração da massa do pão de queijo.

Ingredientes	Controle	Teste
Amido nativo	97	92
Amido pré-gel comercial	30	15
Amido modificado	-	20
Gordura	30	30
Ovo <i>in natura</i>	36	36
Queijo mussarela	36	36
Sal	3	3
Água	80	80

2.9 Estabilidade da massa durante o armazenamento refrigerado

Para monitorar a estabilidade da massa durante o período de armazenamento refrigerado determinou-se o índice de pegajosidade segundo a metodologia descrita por Kischner (2008). As massas foram divididas em porções de 20 gramas, modeladas, colocadas individualmente em potes plásticos com tampa de peso conhecido, e armazenadas na geladeira a 8 °C durante 16 dias. Para avaliação da pegajosidade, os potes foram retirados da geladeira no 1°, 8° e 16° dia de armazenamento e deixados em repouso à temperatura ambiente por duas horas. Os potes foram agitados com giros transversais e horizontais por 60 segundos, a massa modelada foi retirada e o pote de plástico com a tampa foi pesado. O incremento de peso, que representa a massa aderida ao pote de plástico, foi considerado como índice da pegajosidade.

2.10 Avaliação física do pão de queijo

As massas foram assadas em forno elétrico em condições padronizadas de tempo e de temperatura (200 °C por 20 min.). A análise física foi realizada determinando-se peso, diâmetro, altura, volume, volume específico e índice de expansão. O diâmetro e a altura da massa moldada foram determinados por meio de um paquímetro e seu peso determinado em balança

analítica. As mesmas medidas foram realizadas nos pães de queijo após assados. A caracterização física dos pães de queijo após assados foi realizada segundo a descrição de Pereira *et al.* (2004), com modificações calculando o volume (cm³), o volume específico (cm³/g) e o índice de expansão, conforme as Equações 5, 6 e 7, onde r: raio; VPA: volume do pão de queijo assado e VM: volume da massa moldada.

$$\text{Volume} = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 \quad \text{Eq. (5)}$$

$$\text{Volume específico} = \frac{\text{Volume}}{\text{peso}} \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\text{Índice de expansão} = \frac{\text{VPA}}{\text{VM}} \quad \text{Eq. (7)}$$

2.11 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey (p<0,05).

3 Resultados e Discussão

3.1 Índice de solubilidade (ISA) e absorção de água (IAA)

O índice de solubilidade do amido nativo (AN) foi 3,27% não diferindo significativamente (p>0,05) do controle (4,56%) (Tabela 2). A solubilidade aumentou com a modificação do amido, entretanto as diferenças entre as amostras foram discretas, exceto em I/HIP que apresentou 85,92%. A solubilidade representa a quantidade de moléculas de amido solubilizadas a uma determinada temperatura e em geral, aumenta com o

incremento no grau de oxidação (SPIER, 2010). A alta solubilidade dos amidos modificados (I, I/PER, I/PER/P, I/PER/S e I/PER/O) em relação ao amido pré-gelatinizado comercial (C; 4,56%) provavelmente foi consequência da hidrólise ácida do amido realizada depois das modificações, com a finalidade de diminuir a viscosidade e possibilitar a secagem por pulverização. A elevada solubilidade do amido I/HIP foi o resultado da degradação das macromoléculas do amido pelo efeito aditivo da oxidação e hidrólise do hipoclorito de sódio. O efeito hidrolítico do hipoclorito de sódio nos amidos de batata, milho e arroz tem sido relatado por Kuakpetoon e Wang (2001) que usando a técnica de cromatografia de exclusão de alta performance observaram uma diminuição da população de macromoléculas de maior tamanho e um aumento das de menor tamanho.

O índice de absorção de água representa a capacidade de hidratação dos grânulos. Como pode ser observado na Tabela 2, exceto o amido pré-gelatinizado comercial (C), todas as amostras apresentaram baixo índice de absorção de água (IAA) que podem estar relacionados com altos valores de solubilidade dos amidos, produto da hidrólise ácida antes da secagem e consequente degradação das macromoléculas, observando-se uma relação negativa entre o índice de absorção e o índice de solubilidade (Figura 1).

3.2 Suscetibilidade enzimática à α-amilase e teor de grupos carboxílicos

O amido inter cruzado (I) apresentou menor suscetibilidade à hidrólise enzimática quando comparado com a amostra controle (C) passando de 24,39% para 7,75%, porém, esta diferença foi atenuada em I/PER (12,28%), I/PER/P (11,21%) e I/PER/S (11,93%) (Tabela 2), mostrando que estes tratamentos favoreceram o ataque enzimático, porém permaneceram significativamente (p<0,05) menores que o amido pré-gelatinizado comercial (C). Estes resultados também podem ser observados no gráfico da Figura 2.

Tabela 2- Percentual médio de índice de solubilidade (ISA) e absorção de água (IAA), suscetibilidade à hidrólise pela α-amilase e teor de grupos carboxílicos dos amidos de mandioca nativo e modificados.

Amostra	ISA (%)	IAA (g gel/g)	Suscetibilidade à hidrólise %	COOH (%)
C	4,56 ^e ± 0,28	9,49 ^a ± 0,49	25,9 ^a ± 0,44	0,02 ^d ± 0,01
AN	3,27 ^e ± 0,06	1,92 ^e ± 0,11	24,39 ^a ± 0,23	ND*
I	47,03 ^b ± 1,27	3,39 ^d ± 0,08	7,75 ^e ± 0,77	0,06 ^c ± 0,01
I/HIP	85,92 ^a ± 3,78	1,06 ^f ± 0,08	4,43 ^d ± 0,93	0,56 ^a ± 0,01
I/PER	32,54 ^d ± 1,59	5,53 ^b ± 0,03	12,28 ^b ± 0,62	0,09 ^b ± 0,01
I/PER/P	42,85 ^b ± 1,38	4,03 ^c ± 0,05	11,21 ^c ± 0,45	0,08 ^{bc} ± 0,01
I/PER/S	36,82 ^c ± 1,77	3,77 ^{cd} ± 0,13	11,93 ^{bc} ± 0,59	0,09 ^{bc} ± 0,01
I/PER/O	43,33 ^b ± 1,94	3,83 ^{cd} ± 0,03	7,34 ^e ± 0,23	0,06 ^c ± 0,01

C, Amostra controle (pré-gel comercial); AN, amido nativo; I, amido inter cruzado; I/HIP, amido inter cruzado e oxidado com NaClO; I/PER, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂; I/PER/P, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/KMnO₄; I/PER/S, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/FeSO₄; I/PER/O, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/ozônio. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si (p<0,05).

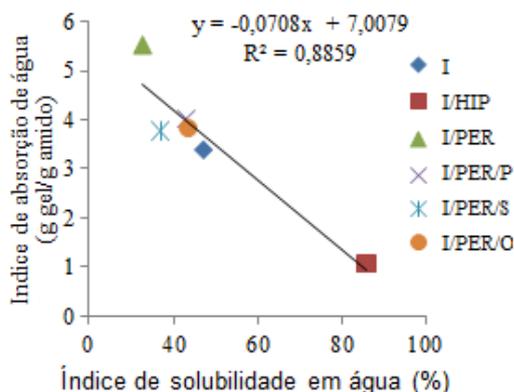


Figura 1- Relação entre a solubilidade e o índice de absorção de água dos amidos de mandioca nativo e modificados por diferentes tratamentos. I, amido inter cruzado; I/HIP, amido inter cruzado e oxidado com NaClO; I/PER, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂; I/PER/P, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/KMnO₄; I/PER/S, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/FeSO₄; I/PER/O, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/ozônio.

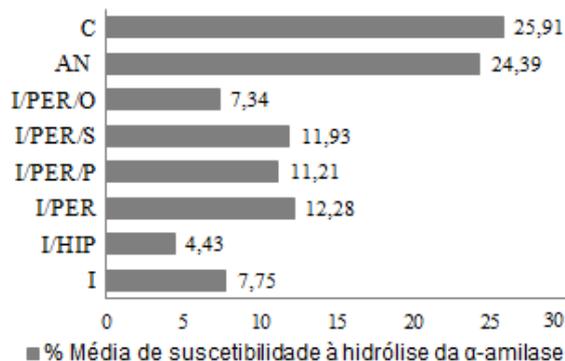


Figura 2- Percentual médio de suscetibilidade à hidrólise enzimática dos amidos de mandioca nativo e modificados. C, Amostra controle (pré-gel comercial); AN, amido nativo; I, amido inter cruzado; I/HIP, amido inter cruzado e oxidado com NaClO; I/PER, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂; I/PER/P, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/KMnO₄; I/PER/S, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/FeSO₄; I/PER/O, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/ozônio.

O aumento da resistência á hidrólise em amidos inter cruzados tem sido reportada por diversos autores (WOO e SEIB, 2002; KHONDKAR; TESTER e KARKALAS, 2009; KOO; LEE e LEE, 2010; CHUNG *et al.*, 2010). Acredita-se que esta modificação estabelece novas ligações covalentes entre as macromoléculas e reforça a estrutura do amido (SINGH; KAUR e MCCARTHY, 2007).

Apesar da oxidação do amido facilitar a ação hidrolítica da α-amilase (KUAKPETOON e WANG, 2006) no presente trabalho observou-se que a oxidação do amido inter cruzado com peróxido de hidrogênio/ozônio (I/PER/O) não alterou a suscetibilidade à hidrólise, não diferindo significativamente (p<0,05) do amido inter cruzado (I). Entretanto, quando o amido inter cruzado foi oxidado com hipoclorito de sódio (I/HIPO) houve uma redução

significativa (p<0,05) da suscetibilidade passando de 7,75% para 4,43%. Segundo Spier (2010), o efeito da oxidação na suscetibilidade enzimática depende das condições e da intensidade da reação. A oxidação com hipoclorito de sódio favorece a produção de grupos carboxílicos (ZHANG *et al.*, 2012) e a alta resistência à hidrólise enzimática observada no amido tratado com esse agente oxidante pode ser atribuída a este grupo funcional (COO⁻), que quando presente em teor expressivo (0,56%) pode interagir com grupos NH₃⁺ da enzima inibindo a atividade catalítica.

O conteúdo de carboxila aumentou com a oxidação dos amidos (Tabela 2), entretanto as diferenças entre as amostras foram discretas variando entre 0,06% a 0,09%, exceto em I/HIPO que apresentou teor médio de 0,56%. Este resultado está de acordo com Kuakpetoon e Wang (2006) que ao oxidarem amido de milho com 5% de NaClO obtiveram amido modificado com 0,56% de carboxila. O teor de grupos carboxílicos está condicionado ao agente oxidante e as condições de reação utilizadas. A oxidação com hipoclorito é geralmente realizada em condições alcalinas favorecendo a produção de grupos carboxílicos enquanto que o peróxido de hidrogênio, ozônio e permanganato de potássio favorecem a oxidação dos grupos hidroxilas para aldeído e cetonas (ZHANG *et al.*, 2012).

Segundo Dias *et al.* (2007), o conteúdo de carboxila expressa o total de oxidação sofrida pelos grânulos de amido (Tabela 2) e de acordo com Almeida (2012) elevados percentuais podem relacionar-se à severidade do processo oxidativo empregado na modificação. A amostra I/HIPO foi a que apresentou maior conteúdo de carboxila (0,56%). A amostra I que apresentou 0,06% de carboxila manteve-se significativamente igual quando este amido foi oxidado com peróxido de hidrogênio/ozônio (I/PER/O), mostrando que as condições de oxidação empregadas foram brandas. Amorim (2011) ao oxidar amido de mandioca com ozônio (40 ppm/60 min.) observou um conteúdo de carboxila de 0,07%. A degradação do amido durante a oxidação favorece a hidrólise enzimática e esta degradação depende da severidade da oxidação. A brandura do processo oxidativo observado em I/PER/O pode explicar porque este amido não apresentou alterações significativas à suscetibilidade enzimática quando comparado com I.

O conteúdo médio de carboxila de C foi de 0,02%, valor este, inferior ao encontrado por Shirai *et al.* (2007) e Amorim (2011) em amido de mandioca nativo, que foi de 0,05% e 0,06% respectivamente, sugerindo que o amido empregado para fabricação do pré-gel utilizado como controle não foi oxidado.

3.3 Estabilidade da massa durante o armazenamento refrigerado

Os valores médios do índice de pegajosidade das massas de pão de queijo são apresentados na Tabela 3.

A massa foi avaliada após 1, 8 e 16 dias de armazenamento à temperatura de 8 °C. A consistência pegajosa desenvolvida pela massa durante o período de armazenamento é uma característica indesejável e representa instabilidade do produto quando armazenado. Deste modo quanto maior o índice de pegajosidade desenvolvido durante o armazenamento refrigerado menor sua estabilidade.

Tabela 3- Índice de pegajosidade das massas de pão de queijo após 8 e 16 dias de armazenamento.

Amostra	Índice de pegajosidade (%)*	
	8	16
C	20,59 ^a ±0,61	74,27 ^a ±1,33
I	0,02 ^b ±0,01	0,69 ^{bc} ±0,08
I/HIP	0,01 ^b ±0,00	0,45 ^c ±0,04
I/PER	0,47 ^b ±0,03	1,91 ^b ±0,10
I/PER/P	0,04 ^b ±0,00	0,58 ^{bc} ±0,00
I/PER/S	0,04 ^b ±0,01	1,76 ^{bc} ±0,15
I/PER/O	0,67 ^b ±0,02	0,87 ^{bc} ±0,08

C, Amostra controle (pré-gel comercial); AN, amido nativo; I, amido inter cruzado; I/HIP, amido inter cruzado e oxidado com NaClO; I/PER, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂; I/PER/P, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/KMnO₄; I/PER/S, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/FeSO₄; I/PER/O, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/ozônio. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si (p≤0,05). *Índice de pegajosidade: Porcentagem de massa aderida ao pote.

No primeiro dia de armazenamento todas as massas não apresentaram pegajosidade (0,00%). No oitavo dia de armazenagem a amostra C exibiu 20,59% de pegajosidade ao passo que nas amostras modificadas (I, I/HIPO, I/PER, I/PER/P, I/PER/F e I/PER/O) este índice foi significativamente (p<0,05) menor, variando de 0,01% a 0,67%. Durante todo período de armazenamento refrigerado (8 °C) o índice de pegajosidade das amostras modificadas foi relativamente baixo e as diferenças entre os tratamentos foram discretas (Tabela 3), as massas apresentaram boa consistência e os pães de queijo exibiram boa aparência. Simultaneamente, o tratamento C apresentou 74,27% de pegajosidade e exibiu massa mole, pegajosa e difícil de ser manuseada. Além disso, o pão de queijo obtido foi de formato achatado. Estes resultados estão de acordo com Kischner (2008), e segundo ele, o ovo in natura é

o principal responsável pelo desenvolvimento destas características na massa, provocada pela ação hidrolítica da α-amilase do ovo sobre o amido (BROOKS, 1962). A hidrólise excessiva do amido provoca a liberação de dextrinas que possuem característica pegajosa quando em contato com a água, causando o amolecimento demasiado da massa. Os resultados desta análise indicam que os pães de queijo produzidos com as amostras estudadas apresentaram boa estabilidade durante o armazenamento evidenciando sua resistência à hidrólise enzimática.

3.4 Avaliação física do pão de queijo

Os valores médios de índice de expansão e volume específico dos pães de queijo são mostrados na Tabela 4.

O índice de expansão e o volume específico foram gradativamente reduzidos durante o período de armazenagem em todas as amostras estudadas e no controle. Este comportamento sugere que a retrogradação, processo de reassociação das moléculas de amido gelatinizadas (ALMEIDA, 2012), sofrida pela massa durante este período reflete sobre as características do pão de queijo assado. Todas as amostras apresentaram menor índice de expansão quando comparados com o controle. Este comportamento também foi observado no volume específico (Tabela 4).

O volume específico é expresso pela relação entre o volume e o peso do produto após o forneamento e está relacionado com a capacidade de expansão do amido (ZAVAREZE; STORCK; PEREIRA, 2009). Por sua vez, a expansão é altamente dependente da velocidade de gelatinização do amido (SILVA *et al.* 1998) e esse processo é dificultado com o inter cruzamento. Por apresentarem estrutura reforçada, os amidos inter cruzados apresentam maior temperatura de gelatinização que os amidos nativos (REDDY; YANG, 2010) o que indica uma possível explicação para a menor capacidade de expansão e consequentemente menor volume específico das amostras estudadas.

Tabela 4- Valores médios de índice de expansão e volume específico dos pães de queijo avaliados após 1, 8 e 16 dias de armazenamento.

Amostra	Índice de expansão			Volume específico (cm ³ /g)		
	1	8	16	1	8	16
C	2,80 ^a ±0,11	1,34 ^{bc} ±0,13	0,57 ^b ±0,04	1,98 ^a ±0,07	1,27 ^a ±0,12	1,15 ^a ±0,04
I	2,03 ^b ±0,18	1,27 ^{bc} ±0,03	1,11 ^a ±0,10	1,26 ^{bc} ±0,05	0,86 ^c ±0,04	0,79 ^b ±0,05
I/HIP	1,88 ^{bc} ±0,02	1,48 ^b ±0,06	1,18 ^a ±0,08	1,12 ^c ±0,06	0,88 ^c ±0,05	0,76 ^b ±0,01
I/PER	1,99 ^{bc} ±0,03	1,77 ^a ±0,12	1,15 ^a ±0,05	1,32 ^b ±0,06	1,08 ^b ±0,06	0,74 ^b ±0,05
I/PER/P	1,81 ^{bc} ±0,19	1,38 ^{bc} ±0,07	1,22 ^a ±0,13	1,26 ^{bc} ±0,08	0,88 ^c ±0,02	0,80 ^b ±0,07
I/PER/S	1,72 ^{bc} ±0,01	1,15 ^c ±0,05	1,13 ^a ±0,03	1,12 ^c ±0,06	0,79 ^c ±0,06	0,74 ^b ±0,03
I/PER/O	1,70 ^c ±0,03	1,14 ^c ±0,13	1,11 ^a ±0,03	1,21 ^{bc} ±0,06	0,71 ^c ±0,07	0,73 ^b ±0,01

C, Amostra controle (pré-gel comercial); AN, amido nativo; I, amido inter cruzado; I/HIP, amido inter cruzado e oxidado com NaClO; I/PER, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂; I/PER/P, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/KMnO₄; I/PER/S, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/FeSO₄; I/PER/O, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/ozônio. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si (p≤0,05).

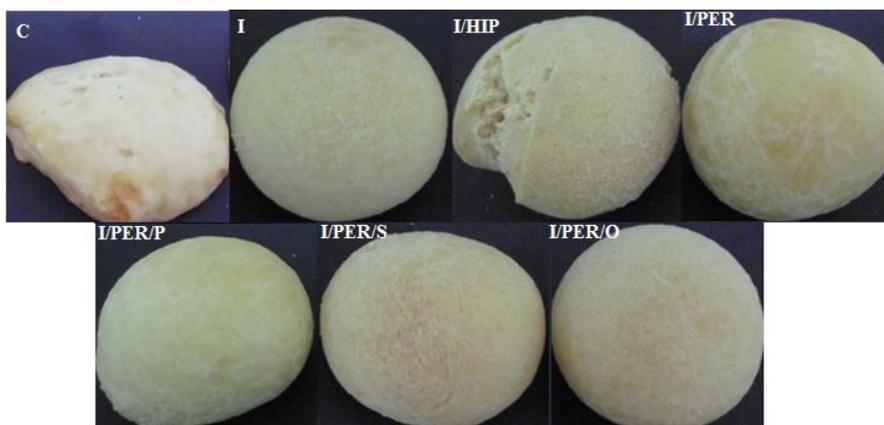


Figura 3- Aspecto dos pães de queijo elaborados com amido pré-gelatinizado comercial e modificados por diferentes tratamentos após 16 dias de armazenamento. C, Amostra controle (pré-gel comercial); I, amido inter cruzado; I/HIP, amido inter cruzado e oxidado com NaClO; I/PER, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂; I/PER/P, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/KMnO₄; I/PER/S, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/FeSO₄; I/PER/O, amido inter cruzado e oxidado com H₂O₂/ozônio.

Os resultados mostram que apesar de menor índice de expansão todas as amostras apresentaram maior estabilidade durante o armazenamento quando comparadas com o tratamento C, constatou-se durante este período em C uma redução de 79,60% da expansão ao passo que em I, I/HIPO, I/PER, I/PER/P, I/PER/F e I/PER/O o percentual de queda foi reduzido para 37,09% em média.

A Figura 3 exibe o aspecto dos pães de queijo após 16 dias de armazenamento, evidenciando a diferença entre o controle e os amidos modificados avaliados.

4 Conclusão

Todos os amidos modificados avaliados no estudo apresentaram menor suscetibilidade à hidrólise da α -amilase presente no ovo, entretanto o amido inter cruzado/oxidado com hipoclorito de sódio foi o mais resistente. Este amido também apresentou maior conteúdo de grupos carboxílicos. Durante o período de armazenamento refrigerado as massas elaboradas exibiram índice de pegajosidade reduzido e os pães de queijo apresentaram ótima aparência, ao contrário do controle. As modificações aplicadas reduziram o volume específico e índice de expansão dos pães de queijo. Contudo, os resultados permitem concluir que todas as modificações estudadas quando aplicadas em massas resfriadas de pão de queijo promovem maior estabilidade ao produto durante o período de armazenamento avaliado (16 dias). Este aumento da estabilidade pode ser evidenciado pela redução do índice de pegajosidade da massa e melhor aparência do pão de queijo quando comparados ao controle.

5 Referências

ALMEIDA, E. C. Amido modificado de taro (*Colocasia esculenta* L. Schott): Propriedades

funcionais. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

AMORIM, E. O. C. Avaliação da eficiência da descontaminação de amido de mandioca com ozônio. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN JUNIOR, L. Gelatinization of Corn Grits by Roll-and Extrusion-Cooking. *Cereal Science Today*, v. 14, n.1, p. 4-12, 1969.

BENINCA, C.; COLMAN, T. A. D; LACERDA, L. G.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; BANNACH, G.; SCHNITZLER, G. The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. *Thermochimica Acta*, v. 552, n.1, p. 65-69, 2013.

BROOKS, J. α -Amylase in whole egg and its sensitivity to pasteurization temperatures. *Journal of Hygiene*, v.60, p.145-151, 1962.

CHAN, H. T.; LEH, C. P.; BHAT, R.; SENAN, C.; WILLIAMS, P. A.; KARIM, A. A. Molecular structure, rheological and thermal characteristics of ozone-oxidized starch. *Food Chemistry*, v. 126, n. 3, p. 1019-1024, 2011.

CHUNG, H. J.; LEE, S. Y.; KIM, J. H.; LEE, J. W.; BYUN, M. W.; LIM, S. T. Pasting characteristics and in vitro digestibility of γ -irradiated RS4 waxy maize starches. *Journal of Cereal Science*, v. 52, n. 1. p. 53-58, 2010.

DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E.; HELBIG, E.; MOURA, F. A.; VARGAS, C.G.; CIACCO, C. F. Oxidation of fermented cassava starch using hydrogen peroxide. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, n.1, p. 185-191, 2011.

FU, Z. Q.; WANG, L. J.; LI, D.; ADHIKARI, B. Effects of partial gelatinization on structure and thermal properties of corn starch after spray drying. *Carbohydrate Polymers*, v. 88, n. 4, p. 1319-1325, 2012.

- KISCHNER, R. Avaliação do ovo e queijo no desenvolvimento da pegajosidade de massas resfriadas de pão de queijo elaboradas com amido pré-gelatinizado. 2008. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Alimentos) - Curso Superior em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2008.
- KHONDKAR, D.; TESTER, R. F.; KARKALAS, J. Effect of cross-linking on the resistance to enzymatic hydrolysis of waxy maize starch and low-methoxy pectin. *Food Hydrocolloids*, v. 23, n. 2, p. 387-393, 2009.
- KOO, S. H.; LEE, K. Y.; LEE, H. G. Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch. *Food Hydrocolloids*, v. 24, n. 6, p. 619-625, 2010.
- KISCHNER, R. Avaliação do ovo e queijo no desenvolvimento da pegajosidade de massas resfriadas de pão de queijo elaboradas com amido pré-gelatinizado. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.
- KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Characterization of different starches oxidized by hypochlorite. *Starch/Starke*, v. 53, n. 5, p. 211-218, 2001.
- KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Locations of hypochlorite oxidation in corn starches varying in amylose content. *Carbohydrate Research*, v. 343, n. 1, p. 90-100, jan. 2008.
- KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Structural characteristics and physicochemical properties of oxidized corn starches varying in amylose content. *Carbohydrate Research*, v. 341, n. 11, p. 1896-1915, 2006.
- 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.
- RUBENS, R. W. Foodstuffs containing cross-linked starches using STMP. US n. 4219646, 1980.
- REDDY, N.; YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films. *Food Chemistry*, v. 118, n. 3, p. 702-711, 2010.
- SANGSEETHONG, K.; TERMVEJSAYANON, N.; SRIROTH, K. Characterization of physicochemical properties of hypochlorite and peroxide-oxidized cassava starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 82, n. 2, p. 446-453, 2010.
- SANTOS, J. R. U. Desenvolvimento de pão de queijo funcional pela incorporação de isolado protéico de soja e polidextrose. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006. Ver se tem no texto.
- SHIRAI, M. A.; HAAS, Â.; FERREIRA, G. F. MATSUGUMA, L. S. FRANCO, C. M. L.; DEMIATE, I. M. Características físico-químicas e utilização em alimentos de amidos modificados por tratamento oxidativo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 2, p. 239-247, 2007.
- SILVA, C. E. M.; FAÇANHA, S. H. F.; SILVA, M. G. Efeito do teor de 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, p. 60-62, 1998.
- SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications- A review. *Food Hydrocolloids*, v. 21, n. 1, p. 1-22, 2007.
- SMITH, R. J. Characterization and analysis of starches. In: WHISTLER, R.L.; PASCHALL, E.F. *Starch: chemistry and technology*, v. 2, New York: Academic Press, 1967. p. 569-635.
- SONG, L.; SANG, Y.; CAI, L.; SHI, Y. C.; FARRAH, S. R.; BANEY, R. H. The effect of cooking on the antibacterial activity of the dialdehyde starch suspensions. *Starch/Starke*, v. 62, n.9, p. 458-466, 2010.
- SPIER, F. Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- WANG, Y. J.; WANG, L. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*, v. 52, n. 3, p. 207-217, 2003.
- WOO, K.S.; SEIB, P. A. Cross-linked resistant starch: preparation and properties. *Cereal Chemistry*, v. 79, n. 6, p. 819-825, 2002.
- YO, Y.J.; HONG, J.; HATCH, R. T. Comparison of α -Amylase Activities from different assay methods. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 30, n. 1, p. 147-151, 1987.
- YU, J.; CHANG, P. R.; MA, X. The preparation and properties of dialdehyde starch and thermoplastic dialdehyde starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 79, n. 2, p. 296-300, 2010.
- ZHANG, Y. R.; WANG, X. L.; ZHAO, G. M.; WANG, Y. Z. Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation. *Carbohydrate Polymers*, v. 87, n. 4, p. 2554-2562, 2012.
- ZHANG, S. D.; WANG, X. L.; ZHANG, Y. R.; YANG, K. K.; WANG, Y. Z. Preparation of a new dialdehyde starch derivative and investigation of its thermoplastic properties. *Journal of Polymer Research*, v. 17, n. 3, p. 439-446, 2010.
- ZAVAREZE, E. da R.; STORCK, C. R.; PEREIRA, J. M. Elaboração de pão de queijo com substituição do amido de mandioca por amido de batata-doce (Ipomoea batatas) submetido a diferentes processos de secagem. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 12, n. 1, p. 68-76, 2009.833, 2009.