

196

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO
DA FÉCULA DE MANDIOCA
FERMENTADA.

Iracema Miwako Nakamura.

Engº Tecnólogo de Alimentos

Orientador:

Dr. Young Kun Park

Professor Assistente Doutor da

Faculdade de Tecnologia de Alimentos

Tese apresentada à Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciências em Tecnologia de Alimentos

À memória de meu pai.

A minha mãe e meus irmãos.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

INDICE

Resumo.

Summary

1 - Introdução e Revisão de Literatura

Matéria prima e sua utilização	1
Fêcula fermentada (polvilho azedo)	5
Tecnologia das fermentações e panificação	9

2 - Material e Métodos

Amostra	18
Reagentes e equipamentos	19
Meios de cultura	19
Determinação de umidade	21
Determinação do teor de proteína	21
Ensaio de fermentação	21
Microbiologia da fermentação	23
Ensaio de produção de biscoitos	25
Estudo amilográfico	26
Determinação da solubilidade e poder de intumescimento em água	27
Solubilidade em sulfóxido de dimetila	29
Suscetibilidade enzimática	29
Observação microscópica dos grânulos de amido	30

3 - Resultados e Discussão

Análise microbiológica da fermentação	31
Umidade e proteína	33

"Teste do biscoito".....	34
Estudo amilográfico.....	36
Solubilidade e intumescimento em água.....	38
Solubilidade em sulfóxido de dimetila.....	40
Suscetibilidade enzimática.....	41
Observações microscópicas dos grânulos.....	42
Quadros.....	45
Fotografias.....	51
Gráficos.....	57
4 - Conclusões.....	69
5 - Bibliografia.....	71
Agradecimentos.	

RESUMO

O polvilho azedo, de ampla aplicação em culinária, sendo na maioria das vezes insubstituível, é obtido fermentando a fécula de mandioca, através de processo rudimentar e empírico, cuja natureza é ainda pouco elucidada.

Este trabalho teve como objetivo dar alguma contribuição ao seu estudo, conhecendo a fermentação industrial e simulando-a em laboratório.

Foi observada a variação da microflora no decorrer da fermentação, e as possíveis influências exercidas por cada um dos microrganismos participantes, cuja atuação é verificada pela produção de ácidos orgânicos, gases, voláteis odoríferos e enzimas.

Um estudo comparativo mostrou que a fermentação, além de conferir ao polvilho, sabor e odor característicos, causa alterações nas propriedades físico-químicas: o polvilho fermentado fica mais solúvel e mais facilmente intumescido em água, e quando em suspensão aquosa é aquecido, a pasta que se forma é menos viscosa que a do polvilho doce.

SUMMARY

The "polvilho azedo" (fermented starch) which is of large application in Brazilian cookery where it is frequently irreplaceable, is obtained by a rudimentary and empirical fermentation process of cassava starch, which process is not yet very well known.

This work is intended to give some contribution to the study of this fermentation process, observing the practices used in industry and simulating it in the laboratory.

The change in the population of microflora during fermentation and the possible influences of each of the participating microorganism, whose action is demonstrated by the production of organic acids, gases, odoriferous volatiles and enzymes, were studied.

In addition to giving the characteristic flavor to the cassava starch, fermentation causes changes on its physico-chemical properties: the fermented starch becomes more soluble and easily swells in water, and when its aqueous suspension is heated, the paste formed is less viscous than that of the non - fermented cassava starch.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1. MATÉRIA PRIMA E SUA UTILIZAÇÃO

A mandioca vem desempenhando um importante papel desde os primórdios, como uma das principais "plantas de subsistência" de nossa população, tendo sido considerada "pão dos trópicos" (17) ou "pão dos brasileiros" (44), além de se constituir até hoje, matéria prima de ampla e diversificada industrialização.

Pela sistemática de ENGLER, citada por ALBUQUERQUE (4), a mandioca está classificada, pela Botânica, na Família Euphorbiaceae e Gênero *Manihot*. De acordo com SCHOLZ & CATÃO (72), a denominação *Manihot utilissima* é a mais usada para as mandiocas amargas e *Manihot palmata* para as doces na América do Sul, apesar de existirem outras sinonímias como *Manihot dulcis*, *Manihot saxicola*, etc. Mas como todas elas são simplesmente "formas de cultura", atualmente a Botânica só aceita a denominação *Manihot esculenta* Crtz, como nomenclatura científica. Quanto a nomes vulgares, existem muitos: mandioca, janiva, manduba, cassava, yuca, manioc, tapioca, etc (35, 72).

No Brasil costumam chamar aipim, ipi ou macaxeira, quando se tratam de formas doces (mansas), as quais estão mais difundidas no Norte e Nordeste do país, e mandioca, para formas amargas (bravas) mais utilizadas no Estado de São Paulo e Sul do país (72). Além disso, existem no Brasil centenas de nomes regionais para se referir às diferentes formas ou sub-formas, que na maioria das vezes são inadequadamente consideradas "variedades".

Esta planta é considerada nativa do Continente Americano, principalmente da Região Amazônica (4,71), de onde se difundiu a todas as regiões tropicais e sub-tropicais do mundo, pela sua facilidade de adaptação a clima e solo diversos, e também pela rusticidade de cultivo, não exigindo tratamentos sofisticados. Assim, entre os maiores produtores de mandioca estão incluídos: Madagascar, Nigéria, Congo, Ceilão, Tailândia, Indonésia e outros, além do Brasil que, durante décadas vem produzindo anualmente um terço de toda a produção mundial (23, 28, 49, 54, 55, 69, 72).

Apesar dessa alta potencialidade, sua industrialização é extremamente rudimentar, mesmo nos dias atuais, sem valor econômico, sendo no Brasil a maior parte realizada nas chamadas "casas de farinha" que estão espalhadas por todo o território nacional, nas zonas tradicionais de cultura de mandioca (22, 28, 44, 69, 72). Somente para ter uma idéia, podemos citar que existem cerca de 2100 "casas de farinha" em Sergipe, 2700 na Bahia e 300 em São Paulo. Nessas "casas", que são pequenas fábricas domésticas, os tubérculos são transformados principalmente em farinha, fécula e raspa (57), utilizando-se de processos quase que completamente manuais, sendo esses produtos destinados ao consumo do pessoal local. Uma quota considerável é consumida "in natura".

Tudo indica que dessa alta potencialidade pode advir grande importância econômica ao país, se for aproveitada por uma boa tecnologia orientada. Todavia, o desenvolvimento apresentado pela indústria de transformação de mandioca tem sido lento e pouco significativo, justamente por falta de entrosamento entre os proprietários dessas "casas" e o pessoal capacitado pa-

ra dar devidas orientações técnicas.

É interessante lembrar que já em 1944, o Serviço de Informação do Ministério da Agricultura publicava o Decreto de especificações e tabelas (21) para a classificação e fiscalização da exportação de produtos amiláceos de mandioca, visando a sua padronização. No entanto, ainda hoje, após três décadas, só temos algumas poucas instalações de maior capacidade, razoavelmente mecanizadas, cujos produtos apresentam qualidade suficiente para satisfazer as exigências do mercado importador e competir com outros países exportadores, principalmente com a Tailândia (24, 35, 54, 69, 79).

As atuais perspectivas para a exportação brasileira de mandioca industrializada residem principalmente na raspa peletizada e na fécula, sendo os grandes mercados para a fécula: Japão e Estados Unidos, e para a raspa: o Mercado Comum Europeu, notadamente Alemanha Ocidental, Bélgica e Holanda (35, 69, 79).

Os derivados de mandioca que tem suas características definidas pelo Conselho Nacional do Comércio Exterior (CONCEX), através da Resolução de 14 de maio de 1971, para exportação brasileira, são: farinha, raspa, fécula, tapioca e farinha de raspa (79).

Convém chamar a atenção aqui, que em alguns países de língua inglesa, a mandioca é denominada "tapioca" (tapioca starch, tapioca root, etc) (36, 41, 43, 48, 84), enquanto que para nós esta é um sub-produto da mandioca, isto é, a fécula sofre um tratamento especial e se apresenta sob forma de grânulos poliédricos ou esféricos (79).

O que se entende por amido e/ou fécula ?

O amido ou fécula é um carboidrato de estrutura complexa, sendo formado de duas frações de polissacarídeos, a amilose e amilopectina, e é encontrado em várias partes das plantas como reserva nutritiva, em forma de partículas insolúveis (29, 36, 84).

A amilose e amilopectina são cadeias formadas de glicoses polimerizadas através de ligações glicosídicas α , 1-4 e α , 1-6. Essas ligações glicosídicas podem ser rompidas pela ação de ácido ou enzimas amilolíticas. Os grânulos de amido tem tamanho e forma características de acordo com a espécie botânica, da qual são extraídos. Suas propriedades físico-químicas podem variar muito de uma variedade para outra e com o grau de maturidade da planta (37, 40).

Dentre os produtos especificados nas Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas (56), também publicadas no Diário Oficial do Estado de São Paulo, em 15 de agosto de 1970 com o nome de Código Nacional de Alimentação, encontramos as seguintes definições: o amido é o produto amiláceo extraído das partes aéreas comestíveis de vegetais, por exemplo, das sementes; e a fécula é o produto amiláceo extraído das partes subterrâneas comestíveis dos vegetais, ou sejam, tubérculos, raízes e rizomas. Sua classificação é feita de acordo com a origem e processo tecnológico de obtenção submetido. Assim, temos: amido de milho, fécula de batata, etc.

Porém, na literatura, geralmente se emprega amido para os dois casos.

A fécula de mandioca ou amido de mandioca é mais conhecido como polvilho, sendo que ele é classificado ainda em polvilho doce e polvilho azedo, de acordo com o seu teor de acidez.

O máximo de acidez permitido é de 1 ml de solução básica 1N por 100 g de amostra, para o polvilho doce, e 5 ml, para polvilho azedo.

1.2. FÉCULA FERMENTADA (POLVILHO AZEDO)

Nosso objetivo neste trabalho foi apresentar modesta contribuição ao estudo do polvilho fermentado, confrontando algumas de suas características com as do polvilho doce, uma vez que, a pesquisa sobre mandioca, na área agronômica, tem recebido grande enfoque nos últimos tempos, além de muitos estudos realizados no sentido de mecanização e racionalização da sua industrialização. (2, 4, 5, 8, 13, 17, 18, 22, 24, 25, 28, 33, 34, 35, 44, - 45, 49, 54, 55, 67, 68, 72).

Achamos interessante iniciar este trabalho desenvolvendo os seguintes aspectos: a) fazer alguns ensaios de fermentação de polvilho em laboratório, observar a fermentação industrial, acompanhar o desenvolvimento e variação da sua microflora durante o processo, tentando encontrar a provável influência que cada microrganismo possa causar ao processo; b) fazer ensaios de confecção de biscoitos com os polvilhos, com e sem adição de certos ingredientes, tentando descobrir o mecanismo porque o biscoito de polvilho azedo se expande; c) analisar algumas das suas propriedades físico-químicas, com o mesmo objetivo acima.

O polvilho azedo não é um produto amplamente comercializado no âmbito internacional. É um produto típico brasileiro, de grande consumo, principalmente no Estado de Minas Gerais

e São Paulo, embora seja bastante conhecido em todo o país, as vezes com o nome de goma azeda ou carimã (4, 11, 33). Existe no Brasil um grande número de derivados de mandioca, a maioria introduzida pela cultura indígena, porém nem sempre o tratamento adotado numa região corresponde aquele das outras regiões.

Cabe ressaltar que o polvilho azedo tem mercado aberto para ser produto de exportação, uma vez que em 1972 e 73, algumas fábricas de Minas Gerais exportaram mais de 13 mil toneladas por ano, para Espanha (69). Um dos grandes problemas apontados pelos exportadores parece ser a falta de uniformidade no produto durante o ano, do ponto de vista de qualidade e de quantidade.

De acordo com as análises realizadas por CEREDA (14), a maioria do polvilho doce produzido em escala industrial encontra-se dentro das especificações legais, porém o polvilho azedo apresenta grandes oscilações nas suas características físico-químicas (composição e teor de ácidos orgânicos, cor, viscosidade, etc.). Isto parece ocorrer porque a acidificação do produto tem sido feita através de fermentação natural, de uma maneira empírica, sem técnica definida e sem controle de qualidade.

Encontramos reduzida literatura referente ao assunto, e essas poucas informações obtidas são muitas vezes contraditórias.

De acordo com a tecnologia de fabricação, o polvilho azedo pode ser um produto principal (4, 25), ou um sub-produto de produtos derivados da mandioca (28, 33, 57).

O fluxograma de obtenção do polvilho é o seguinte: colheita ou recebimento das raízes, lavagem e descascamento, pi-

cagem e/ou ralação, prensagem e tamisagem da massa sob água corrente. Com esta última operação, o bagaço que se acumula é eliminado, e a fécula é arrastada por água, sendo separada dela por decantação em tanques ou planos inclinados ou por centrifugação. (24, 25, 28, 36, 44, 45, 72, 84). Se esta fécula é imediatamente submetida à secagem, obtém-se o polvilho doce, mas se ela sofrer uma fermentação adequada antes da secagem, o produto final é o polvilho azedo. Durante a fabricação de raspas ou farinha de mandioca, obtém-se o líquido de prensagem da massa sempre muito rico em fécula. Muitas fábricas deixam essa fécula residual acumular, e através de fermentação, utilizam-na para produzir polvilho azedo como sub-produto.

A fermentação pode ser feita em qualquer recipiente, desde o popular cocho de madeira a tanques de alvenaria revestidos ou não de azulejos (4, 11). Podemos observar durante as visitas feitas às pequenas fábricas de polvilho azedo, que a fermentação é geralmente feita em recinto aberto, e os tanques permanecem completamente descobertos durante todo o tempo. Onde se dispensam maiores cuidados, esses tanques ficam em um galpão aberto, simplesmente para proteger contra intempéries ou material estranho. Segundo os fabricantes, a ventilação natural é recomendada. A fécula decantada, pronta para fermentação, é colocada no tanque, é deixada em maceração com água, tomando-se o cuidado para que a mesma fique sempre coberta com aproximadamente 10 a 15 cm de água sobrenadante.

No tocante a tempo necessário para a fermentação, a literatura é bastante contraditória. (4, 11, 25, 28, 33, 44, 45). Há quem opine que 3 dias são suficientes, mas há os que recomen-

dam mais de 20 dias. Esta variação parece depender do grau de acidificação exigido e também das condições ambientais e climáticas - do local onde é realizada a fermentação. E o grau de acidificação por sua vez, parece depender da aplicação a que esse polvilho se destina.

Um outro ponto muito discutido por esses autores diz respeito à água de maceração. Enquanto alguns recomendam a renovação de água, periodicamente, durante a fermentação, outros não se referem ao assunto e há aqueles que são contra a renovação. Na opinião dos fabricantes consultados, não convém fazer essa troca de água.

Quanto ao final da fermentação, não existe nenhum - critério para determiná-lo. O processo é tido como terminado, empiricamente, de acordo com a observação visual. Os aspectos mais considerados são o aparecimento de espuma na superfície, bolhas persistentes de gás que se formam no interior da massa e odor forte característico. Não existe praticamente literatura esclarecendo a natureza dessa fermentação. O que existe são meras suposições de alguns autores de que talvez seja fermentação acética, butírica ou lática, ou ainda a combinação delas, provocada pelo desenvolvimento de floras microbianas naturais. Grande impulso ao estudo do produto foi dado por CEREDA (14), que analisou uma grande quantidade de polvilhos comerciais, fez vários ensaios de fermentação, caracterizando os microrganismos participantes e efetuando o reconhecimento dos ácidos orgânicos formados.

Como se pode ver no trabalho de HAYASHIDA (32), dependendo do processo, a identificação e controle dos ácidos orgânicos formados é muito importante, mesmo porque, as vezes, cada um

deles pode ter atuação peculiar.

Um aspecto interessante observado também em visita às fábricas foi a secagem da fécula fermentada, a qual se faz somente ao sol e vento, colocando-a em jiraus de bambu. Não sabemos se o fazem meramente por hábito, ou existe algum motivo, porém, o fato é que esse procedimento é anti-econômico, exigindo muito espaço, tempo prolongado e muita mão de obra.

Este produto de tradição nos nossos meios rurais, - que se manteve longe das pesquisas científicas por tanto tempo, é de certa forma um produto misterioso. Na opinião de muitas donas de casa, sua aplicação na área de culinária é diversificada e insubstituível. E um fato muito interessante é que quando se prepara o biscoito de polvilho azedo, a massa cresce espantosamente no forno, sem que na receita seja colocado nenhum agente de crescimento como levedos ou fermentos químicos.

1.3. TECNOLOGIA DAS FERMENTAÇÕES E PANIFICAÇÃO

O processo de transformação de alimentos através de fermentação é bastante antigo, principalmente nas preparações domésticas. Porém, somente há algumas décadas, a aplicação industrial de microrganismos chegou a seu auge. Hoje existe uma infinidade de produtos obtidos através de fermentação: vitaminas, aminoácidos, enzimas, antibióticos, etc. (63, 64, 65).

Em muitas indústrias de alimentos já estão sendo usadas culturas selecionadas de microrganismos, como nas de laticíneos, panificação, bebidas e alguns vegetais como pickles, azeito-

nas, etc... Mas existem ainda muitos alimentos tradicionais de certos países, que são processados por fermentação natural, onde culturas complexas de microrganismos se desenvolvem e se substituem - adequadamente (51, 63, 76, 77). No preparo de "shoyu", o microrganismo predominante é o *Aspergillus oryzae*, e no "tempeh" são o *Rhizopus* sp e *Neurospora* sp. O "sufu" é um queijo vegetal preparado de soja, através da fermentação por *Actinomyces*. O "idli", - "ragi" e "ang-kak" são mais alguns alimentos fermentados à base de arroz, consumidos principalmente na China, Índia e Indonésia. Na maioria desses casos, a fermentação aumenta o valor nutritivo do alimento.

O processo de fermentação é muito aplicado também - no aproveitamento da mandioca. Muito estudado é o "gari", um produto típico da Nigéria (1, 2, 3), cujo processamento consiste em fermentar a mandioca em pedaços, dextrinizar parcialmente o amido através de aquecimento e secar após a sua desintegração. O produto final é muito semelhante a nossa farinha de mandioca fermentada ou farinha d'água (4), ou "okara" (59) que é uma farinha obtida da soja. Durante a fermentação para preparar "gari", observaram a existência de dois estágios teóricos (15, 16): no primeiro desenvolve-se predominantemente o *Corynebacterium manihoti* que produz somente o ácido, e no segundo, as condições são tais que há grande desenvolvimento do *Geothricum candida*, produzindo uma grande variedade de aldeídos e ésteres que provavelmente são responsáveis pelo gosto e aroma característicos do "gari". Outros alimentos populares dos africanos que tem aspecto e preparação similares a de "gari" são o "lafun", "kazabe" e "fufu".

Pelo fato da mandioca conter alta porcentagem de am

do, tem sido muito utilizada em fermentações para produzir álcoois e bebidas alcoólicas (4, 6, 46, 81).

A obtenção de etanol a partir de mandioca, no Brasil, parece ter sido uma tentativa frustrada. Não porque o produto fosse de baixa qualidade, mas sim porque encontrou forte concorrente do ponto de vista econômico, a cana de açúcar.

A "tiquira" é uma aguardente de mandioca, cuja fabricação pelos indígenas era feita por processos primitivos e tinha sabor desagradável devido a certas substâncias como ácido butírico e ésteres. Hoje, usa-se uma técnica mais aperfeiçoada, reduzindo ao mínimo o desenvolvimento dos microrganismos indesejáveis. É a bebida regional do Maranhão, onde é muito apreciada. Em linhas gerais, ela é preparada da seguinte maneira: os "beijus" que são massas de mandioca ralada e prensada, são assados em fornos. Esses blocos são em seguida depositados entre folhas de bananeira, palmeira e mandioca, durante três a quatro dias, ficam cobertos de fungos, e então são transportados a recipientes de barro, onde a fermentação prossegue e a sacarificação se completa. Terminada a fermentação natural, destila-se o líquido alcoólico que é a "tiquira".

LIMA (46) identificou *Monilia citophila*, *Aspergillus niger* e *Penicillium purpurogenum* como principais fungos sacarificantes do amido na elaboração da "tiquira".

Além da "tiquira" existem outras bebidas alcoólicas conhecidas no Norte do Brasil, porém ainda não estudadas (4). São: "vicou", "caissuma", "cachiri", "paia" e "voua-paia".

Conforme o alimento a ser preparado, a fermentação pode ter objetivo variado, mas quando se trata de mandioca, ela

sempre contribui para eliminar ou diminuir o teor de substância tóxica nela contida, e que recebe vários nomes como linamarina, manihotina ou faseolunatina (66, 72). Esta substância tóxica é um glicosídeo complexo, podendo sofrer degradação pela ação de certas enzimas, pelo abaixamento de pH ou pelo calor. Ao que tudo indica, os nativos brasileiros também conheciam o fato. Assim, eles preparavam a mandioca "puba", "carimã" e a farinha d'água ou de pau (4, 11), produtos semelhantes a polvilho azedo e "gari". Sua preparação tradicional consiste em deixar o tubérculo em maceração, fermentando durante alguns dias, esmagar no cocho de madeira e prensar no "tipiti", que pode ser de torção ou de jacá, e submeter a uma secagem rápida no fogo ou pela radiação solar. Neste caso, além de eliminar os tóxicos, a fermentação tem a finalidade de facilitar a desintegração da polpa do tubérculo e separar o polvilho do material fibroso.

A técnica moderna de preparar a farinha de mandioca dispensa a fermentação; prepara-se através de ralação e torrefação. Mesmo assim, a população microbiana no produto existe em grande concentração. ROSEMBERG (66) encontrou nas amostras analisadas Eumicetos, Actinomicetos e Schizomicetos.

De acordo com HARRIS (31), a fermentação de farinha de mandioca por *Rhizopus* não traz nenhum efeito adverso ao conteúdo lipídico, sob o ponto de vista metabólico.

BRANCO (10) estudou a estabilização aeróbica de resíduos orgânicos de fecularias de mandioca, e chegou a conclusão - que no decorrer do processo observa-se uma seqüência biodinâmica de etapas sucessivas de evolução de microrganismos perfeitamente distintos: bactérias, leveduras, fungos e protozoários.

FURUKI (26) et alii citam no seu trabalho que *Actinomycetaceae* e *Fusarium solani* conseguem degradar cianetos, utilizando-os como fonte de nitrogênio, podendo ser utilizados no tratamento biológico de resíduos que os contenham.

BEECH (9), em seu estudo de fermentação acetona-butanólica de amido, usando *Clostridium acetobutylicum* e outras espécies de *Clostridia*, observou que existem vários contaminantes - que podem diminuir o rendimento do processo. Os mais prejudiciais são as espécies de *Lactobacillus* altamente produtoras de ácido lático. O *Bacillus subtilis*, embora comumente encontrado durante a fermentação, parece não lhe causar grandes prejuízos.

MYERS (53) que fez um exame microbiológico da lama de perfuração de poços de petróleo, relata que, entre as bactérias que fermentam o amido contido em alto teor na lama, uma das linhagens mais resistentes a paraformaldeído tem todas as características fisiológicas e morfológicas analisadas idênticas às de *Bacillus subtilis*.

É interessante notar que essa mesma espécie, isto é, *Bacillus subtilis*, que já é utilizada industrialmente na preparação de enzimas amilolíticas, foi encontrada por CEREDA (14), como bactéria predominante, ao lado do *Leuconostoc citrovorum*, durante a fermentação do polvilho azedo, com papel de destaque; embora isto não seja de se estranhar, uma vez que a fermentação é inteiramente natural, e o *Bacillus subtilis* se encontra normalmente no ar ambiente, na água e no solo.

Na experiência feita por KINOSHITA (38), *Bacillus subtilis* desenvolveu muito bem, numa ampla faixa de concentração de amido no meio de cultura, produzindo uma quantidade razoável de

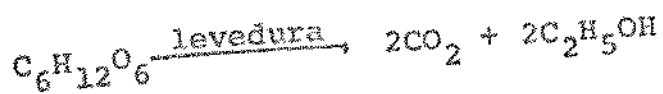
alfa-amilase.

SEKIGUCHI & OKADA (73) realizaram um estudo de caracterização de alfa-amilase produzida por *Bacillus subtilis* Marburg, e observaram que seu peso molecular é um pouco mais elevado que o de outras alfa-amilases mais conhecidas, sendo muito semelhante à amilase tipo sacarificante, diferindo bastante do tipo liquidificante.

Num trabalho desenvolvido por PARK et alii (61), foi demonstrado que o amido de mandioca é altamente suscetível à ação de alfa-amilase bacteriana, principalmente quando está intumescido, enquanto que o amido de milho é bastante resistente.

A importância da alfa-amilase na panificação ou confeitaria é bastante conhecida, e sua aplicação é amplamente explorada (30, 36). Ao adicionar a amilase à massa, uma parte do amido é degradada a açúcares fermentescíveis, e seqüencialmente pela ação de levedura ou fermento biológico, há formação de gás carbônico que contribui para a expansão do produto.

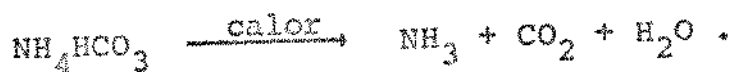
Amido $\xrightarrow{\text{amilase}}$ açúcares fermentescíveis (hexoses)



A aplicação de amilase fúngica produzida por *Aspergillus niger* foi testada por PARK et alii (62), em um estudo de elaboração de pães mistos utilizando além da farinha de trigo, farinhas de milho e de mandioca. Observaram que o teor recomendável de alfa-amilase para se chegar a máximo de crescimento do pão misto está entre 40 e 50 mg para 80 g de farinha.

GRISWOLD (30) cita vários compostos químicos que podem ser utilizados na panificação para produzir dióxido de carbono.

no necessário para aumento de volume do produto. O bicarbonato de amônio fornece o gás carbônico por decomposição pelo calor, e o bicarbonato de sódio se decompõe diante da ação de um ácido. O fermento químico em pó "Royal" tem como seu constituinte ácido o cremor de tártaro e ácido tartárico.



Além do dióxido de carbono, o vapor de água e o ar incorporado na massa participam ativamente na expansão do produto. Ainda segundo GRISWOLD (30), que realizou um teste com bolo, os três fatores responsáveis pela expansão podem ser colocados em uma escala, de ordem decrescente: dióxido de carbono, vapor de água e ar incorporado.

De acordo com WILSON & DONELSON (85), o teor de água na massa tem um efeito crítico sobre o grau de gelatinização do amido durante o assamento do bolo, efeito esse que pode ser determinado pelo volume, pela estrutura do miolo e pelo aspecto da crosta. A quantidade de líquido requerida pela massa depende de dois fatores: absorção pela substância amilácea, e absorção pela formulação específica. O segundo por sua vez varia consideravelmente com a qualidade e proporção dos ingredientes usados. A interação ingredientes-aditivos também é bastante complexa. Existe uma faixa de teor de líquido na massa onde há obtenção de maior volume de bolo e melhor textura.

O papel dos lipídeos naturais da farinha tem sido apresentado com muita controvérsia. Mas, segundo uma pesquisa de-

envolvida por MacRITCHIE & GRAS (47), geralmente existe um certo teor de lipídeos onde se tem menor volume aparente de pão, e à medida que se afasta dessa concentração, o pão fica com volume aparente maior.

Na opinião de TANAKA et alii (78), o desempenho do ácido orgânico produzido durante a fermentação da massa não pode ser desprezado no estudo da panificação, principalmente sob o aspecto da reologia básica da massa. Seu efeito deve ser considerado por três fatores: hidrogênio iônico, resíduo aniônico dissociado e moléculas de ácido não dissociadas. A consistência da massa foi determinada por farinograma e a extensibilidade através de extensogramas. Os ácidos orgânicos parecem exercer maior influência que os ácidos inorgânicos, sobre a consistência, enquanto que, a extensibilidade é diminuída pela ação de ácidos orgânicos, e aumentada por ácidos inorgânicos.

D'APPOLONIA (20) estudou o efeito causado por cada um dos ingredientes mais comuns do pão sobre a gelatinização do amido, através de amilógrafo, e observou que a sacarose até certa concentração eleva a viscosidade da massa, mas acima da qual tem efeito contrário, acentuado. O cloreto de sódio, nas concentrações usuais em receitas, concorre para elevar a viscosidade. O leite desnatado desidratado parece não ter efeitos consideráveis sobre a gelatinização, mas diminui consideravelmente a estabilidade da pasta a temperaturas próximas do ambiente. O "shortening" atua pouco sobre as propriedades viscoelásticas da pasta. Os agentes oxidantes não tem todos o mesmo comportamento: o brometo e o iodeto tendem a elevar a viscosidade máxima, ao passo que o ácido ascórbico a diminuir. Já a retrogradação, é diminuída na presença

de brometo e ácido ascórbico, e é praticamente mantida por iodeto. Pela adição de agente redutor como bissulfito de sódio, há elevação na viscosidade durante a gelatinização, porém o grau de retrogradação não é alterado. O propionato de sódio que se usa para inibir o crescimento de fungos influi muito pouco na viscosidade, com considerável perda de poder de retrogradação.

Como pudemos observar nesta revisão bibliográfica, - este é um assunto de enorme complexidade e controvérsia, não nos permitindo tratar, de todos os aspectos apontados, com a necessária profundidade.

Assim sendo, optamos por aqueles anteriormente mencionados, reservando para futuras oportunidades, o estudo de outros aspectos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. AMOSTRAS

Foram utilizadas amostras de polvilhos doces e azedos de várias procedências.

2.1.1. PROCEDÊNCIA E DENOMINAÇÃO

Amostra A - Polvilho doce, de fabricação CARIBÉ.

Amostra B - Polvilho doce, extraído no laboratório - de Bioquímica da Faculdade de Tecnologia de Alimentos, de matéria-prima usada na fábrica CARIBÉ para produção de seus polvilhos.

Amostra C - Polvilho azedo, de fabricação CARIBÉ

Amostra D - Polvilho doce proveniente de uma fábrica de Tambaú (SP).

Amostra E - Polvilho doce (variedade Branca de Santa Catarina) fornecido pelo Instituto Agromômico de Campinas (Seção de Raízes e - Tubérculos)

Amostra F - Polvilho azedo, de marca PALADAR

Amostra G - Polvilho azedo, de marca KITANO

Amostra H - Polvilho azedo produzido por fermentação em indústria e secagem ao sol na Faculdade.

Féculas de batata e araruta, de produção KITANO.

2.1.2. OBTENÇÃO DA AMOSTRA B.

Esta amostra foi obtida por meio de um método simples de extração: os tubérculos trazidos da fábrica CARIBÉ foram lavados, descascados e ralados, e o material obtido foi lavado com água destilada e filtrado através de malha fina para separar o bagaço da suspensão amilácea. Após a decantação, a água foi eliminada, e a secagem da fécula se fez ao sol.

2.2. REAGENTES E EQUIPAMENTOS

Os reagentes usados foram do tipo analítico, de várias marcas: Baker, Carlo Erba, Ecibra, Merck, Sigma, Teagen.

As soluções foram preparadas pelos métodos usuais.

Foram utilizados equipamentos e material de vidro rotineiros de laboratório, e além destes, alguns aparelhos não comuns como viscógrafo de Brabender e Agitador-incubador Psychrotherm. Viscôgrafo ou Amilôgrafo Brabender: velocidade única a 75 RPM e dispositivo de medida para 700 cmgf.

Psychrotherm da New Brunswick: agitador incubador, com câmara de temperatura controlada (o a $60 \pm 0,5$)° C.

2.3. MEIOS DE CULTURA

Apresentamos em seguida os meios de cultura utilizados:

MEIO 1 - AGAR NUTRIENTE

componentes	g/l de solução aquosa
extrato de carne	1
extrato de levedura	2
peptona	5
cloreto de sódio	5
agar	15
pH 7,4	

MEIO 2 - AGAR CASEINA

componentes	g/200 ml de solução aquosa
caseína	4
cloreto de cálcio	0,11
agar	4
pH 6,4	

MEIO 3 - AGAR NUTRIENTE AMIDO

componentes	g/l de solução aquosa
extrato de carne	1
extrato de levedura	2
peptona	5
cloreto de sódio	5
amido	2
agar	15
pH 7,4	

MEIO 4 - NUTRIENTE AMIDO

componentes	g/l de solução aquosa
extrato de carne	1
extrato de levedura	2
peptona	5
cloreto de sódio	5
amido	20
pH 6,5	

2.4. DETERMINAÇÃO DE UNIDADE

O teor de unidade nas féculas foi determinado pelo método descrito no AOAC (7), e esses resultados serviram como dados auxiliares para outras determinações.

2.5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNA

Foi utilizado o método de Kjeldahl, segundo AOAC (7). Para a conversão do valor de nitrogênio total para valor de concentração de proteína bruta foi usado o fator 6,25.

2.6. ENSAIOS DE FERMENTAÇÃO

Foram feitos vários ensaios de fermentação em laboratório, baseando-se em informações colhidas durante as visitas feitas às fábricas localizadas no Estado de São Paulo e em suges-

tões apresentadas em literatura. O polvilho a ser fermentado foi colocado em recipientes de boca larga, adicionando-se água até ficar com cerca de 10 centímetros de líquido sobrenadante. Os ensaios foram realizados em condições diversificadas.

A água utilizada foi de torneira ou destilada, mas não sofreu nenhum tratamento químico especial, mesmo porque nas "casas de farinha" usa-se água de poços ou rios, com tratamentos rudimentares.

Em alguns ensaios foi feita a renovação periódica de água, mas a maioria se fez sem a renovação, apenas adicionando água quando se observava a queda de nível.

Muitos ensaios foram feitos em recipientes abertos; em alguns o recipiente foi mantido fechado com uma tela de malha fina para evitar a entrada de material estranho.

Em nenhum ensaio se fez inoculação de culturas puras; assim sendo, supõe-se que a microflora que participou da fermentação tenha sido proveniente do próprio polvilho, da água e do ambiente. Apenas em um dos ensaios, foi colocado no início da fermentação, na camada inferior, uma pequena quantidade (~5% em massa) de polvilho azedo preparado em indústria. Essa adição tem como objetivo, acelerar a fermentação.

Todos os ensaios conduzidos no laboratório da Faculdade foram a temperatura ambiente, que apresentou uma grande oscilação durante o período ensaiado.

O tempo de fermentação variou muito de um ensaio para outro. Isto porque os ensaios foram considerados concluídos observando-se a formação de espuma na superfície do sobrenadante, a formação de orifícios na massa e desprendimento de odor caracterís

tico.

A secagem foi feita ao sol, como é recomendada; mas também foi experimentada a secagem em estufa, a várias temperaturas.

Além dos ensaios em laboratório, acompanhou-se uma fermentação industrial, do começo ao fim, coletando as amostras na medida do necessário. No final, uma pequena porção da massa fermentada foi trazida à Faculdade, sendo feita a secagem por dois métodos: ao sol (amostra H), e em estufa após secagem prévia ao sol.

2.7. MICROBIOLOGIA DA FERMENTAÇÃO

O estudo microbiológico e enzimático foi feito nos primeiros ensaios de fermentação em laboratório, e no processo industrial.

2.7.1. ISOLAMENTO, CONTAGEM E MORFOLOGIA DOS MICRORGANISMOS PRESENTES.

A coleta das amostras foi feita periodicamente, em paralelo à determinação da variação de pH do sobrenadante da fermentação. As amostras, após diluições adequadas, foram inoculadas em placas de Petri contendo meio 1, e incubadas a 37°C, por 24 h a 48 horas.

O meio 1 é comumente usado quando não se sabe a exigência alimentar do microrganismo em questão (59). Neste trabalho foi usado para isolamento, contagem, estudo morfológico e também para manutenção de microrganismos encontrados.

Assim, após a incubação, fez-se uma breve análise morfológica de cada um dos microrganismos desenvolvidos na placa, e em seguida uma contagem percentual das colônias, conservando as culturas isoladas em tubo inclinado.

2.7.2. TESTES DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA DOS MICROORGANISMOS

As mesmas amostras inoculadas no meio 1 foram inoculadas em placas contendo meio 2 e meio 3, sendo incubadas a 30°C por 48 a 72 horas.

Aplicou-se o meio 2 para testar se há produção de enzima proteolítica pelos microrganismos, baseando-se no fato de que quando a caseína se coagula ou se hidroliza sob o efeito da protease, o meio de cultura, em torno da colônia que produz a enzima, torna-se mais opaco ou mais transparente.

Para o teste de enzimas amilolíticas, usou-se o meio 3. Após o crescimento dos microrganismos, cobre-se a placa com solução de iodo. O amido contido no meio reage com o iodo, tornando o meio azul, cor característica do complexo amido-iodo. A ausência dessa cor em volta dessa colônia indica que ela produz enzima amilolítica (75).

O meio 4 foi utilizado também para testar a atividade amilolítica dos microrganismos, porém esse teste foi aplicado só para as culturas isoladas da fermentação industrial. É um meio líquido, próprio para ser usado em incubadores com agitação. O meio foi colocado em frascos Erlenmeyer, esterilizado, inoculado e incubado a 30°C sob agitação de 200 RPM, durante 50 horas. Após a

incubação, foi testada a atividade amilolítica da suspensão microbiana, pelo método normalizado por PARK (60). Neste método, o substrato é suspensão de amido 5 % em água, contendo 30 ml de tampão acetato pH 5,0 por 500 ml de suspensão. A 10 ml de substrato adicionou-se 2 ml da suspensão microbiana obtida na incubação acima referida. A mistura foi deixada no banho a 40°C por meia hora, e neutralizada com NaOH2N. Após completar o volume a 50 ml, foram tomadas porções de 10 ml para se fazer a dosagem de açúcares redutores por um método de licor de Fehling: colocar a amostra em frasco de Erlenmeyer, adicionar 15 ml de H₂O, 10 ml de Fehling I e 10 ml de Fehling II, e aquecer à fervura durante 3 min. Após resfriar, adicionar 10 ml de KI 30 % e 10 ml de H₂SO₄ 25%; e titular com tiossulfato de sódio 0,1N.

2.8. ENSAIOS DE PRODUÇÃO DE BISCOITOS

Conforme já foi comentado no capítulo anterior, não existe nenhum critério ou padrão para, através de análises químicas, testar se o polvilho azedo sofreu devidamente a fermentação. O problema é maior quando o quer aplicar na confecção de biscoito de polvilho azedo, onde se deseja a maior expansão possível durante a fornagem. Nas outras aplicações como na confecção de "bolo puba" e "ovinhos de amendoim", as necessidades são mais do ponto de vista de sabor e odor característicos, e portanto requerem período de fermentação bem mais curto.

Assim sendo, um meio mais conveniente para testar a "eficiência de fermentação", dentro do nosso objetivo, pareceu ser o "teste do biscoito"; e ao fazê-lo, foi observado o aspecto, o sa

bor e principalmente o crescimento do produto.

Foi empregada a seguinte formulação básica:

Polvilho azedo	100 g
Gordura	30 g
Sal	3 g
Gema de ovo	1/3
Leite	80 ml

O teste foi comparativo, tomando como padrão o biscoito de polvilho comercial encontrado à venda em padarias. Inicialmente, a formulação básica foi testada usando polvilho azedo comercial de algumas marcas diferentes, obtendo-se ótimo resultado: o crescimento, o gosto, o aspecto externo e a textura muito semelhantes ao biscoito comercial.

Além de testar todos os polvilhos fermentados no laboratório e na indústria, introduzimos em alguns ensaios, pequenas modificações, substituindo o polvilho azedo pelo doce e adicionando alfa-amilase, fermento químico, fermento biológico e vinagre. Verificamos ainda o efeito de uma lavagem persistente do polvilho com água ou com éter de petróleo, após terminada a fermentação. A lavagem foi feita com o objetivo de extrair a maior parte das substâncias solúveis, ou em solução aquosa, ou no éter de petróleo. Essa extração se fez repetindo por 4 vezes as operações de agitar magneticamente a suspensão de polvilho no solvente durante 1 hora a temperatura ambiente, decantar e eliminar o sobrenadante. Por fim, uma secagem ao sol.

2.9. ESTUDO ANILOGRAFICO

A variação de viscosidade da pasta de polvilho, com a temperatura, foi estudada pelo método de MAZURS e colaboradores (48), usando o viscógrafo Brabender. A concentração da suspensão amilácea foi de 8 % em base seca, sendo aquecida conforme o método de funcionamento do aparelho, isto é, a velocidade de aquecimento foi de $1,5^{\circ}\text{C}$ por minuto. Atingindo os 92°C , manteve-se a temperatura durante aproximadamente uma hora, resfriou-se até 40°C , a mesma velocidade de aquecimento, novamente mantendo a temperatura por 30 a 60 minutos.

Foi feita a análise amilográfica de alguns polvilhos fermentados e não fermentados, féculas de batata fermentadas e não fermentadas. Observou-se também o efeito da extração de substâncias solúveis em éter de petróleo, do tratamento com ácido orgânico e da adição de alfa-amilase bacteriana, sobre o comportamento da pasta durante a análise.

O tratamento com ácido orgânico consistiu no seguinte: preparou-se uma mistura de ácido acético, ascórbico, cítrico, láctico e oxálico, a qual foi adicionada a 2 suspensões concentradas de polvilho doce (amostra B). A uma suspensão X, a adição de mistura ácida foi maior que em Y. Após deixar em repouso durante 1 dia, fez-se a secagem como nas outras amostras, estendendo-se ao sol. O polvilho X ficou com pH 3,8 e acidez titulável 2,4 ml de NaOH 1N por 100 g; e o polvilho Y ficou com pH 5,0 e acidez titulável 2,0 ml de NaOH 1N / 100 g.

2.10. DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE E PODER DE INTUMESCIMENTO EM ÁGUA.

Foi feita seguindo-se o método de LEACH e colaboradores (41, 83), com pequenas modificações.

O peso das amostras variou entre 2 a 3 g em base seca.

Fez-se suspensão aquosa da amostra em 180 ml de H_2O destilada, em frasco tarado de centrífuga.

A agitação mecânica da suspensão foi feita no agitador-incubador a 200RPM durante 1 hora, ao invés de um agitador magnético como está indicado no método.

Após a agitação, aqueceu-se a suspensão em banho-maria a temperatura desejada por 30 minutos, sob pequena agitação, completando o seu peso, até 200 g, com água.

Centrifugou-se a 2200 RPM por 15 minutos, e uma alíquota de 20 ml do sobrenadante é retirada em cápsula de porcelana, para determinar o peso do solúvel nesta porção depois de evaporar no banho-maria e secar na estufa a $120^{\circ}C$ por 4 horas.

O resto do sobrenadante é retirado por sucção, pesando-se o amido intumescido sedimentado.

Os cálculos foram feitos de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ solúveis} = S = \frac{a \times 10 \times 100}{c}$$

$$\text{poder de intumescimento} = \frac{b \times 100}{c \times (100 - S)}$$

onde: a é o peso em gramas do solúvel determinado - na alíquota de 20 ml.

b é o peso em gramas da massa sedimentada na centrifugação.

c é o peso da amostra em gramas, em base seca.

Além de estudar a variação desses valores com a temperatura, foi dado ênfase também ao efeito da variação de pH, fixando-se a temperatura de solubilização a 75°C.

2.11. SOLUBILIDADE EM SULFÓXIDO DE DIMETILA (DMSO)

Sua determinação foi feita de acordo com o método de LEACH & SCHOCH (43). Nesta análise também se introduziu uma pequena modificação no tocante a agitação. Em vez de agitador de movimento recíproco, foi usado o agitador de movimento rotatório, a 200 RPM. A temperatura durante a digestão foi mantida a 24°C.

2.12. SUSCETIBILIDADE ENZIMÁTICA

Inicialmente seguiu-se o método de LEACH & SCHOCH - (42), mas como se encontrou certa dificuldade na fase de filtração, a fase final do método foi modificada.

Assim, preparou-se 125 ml de suspensão de polvilho a 25 %, em base seca. Ajustou-se pH a 6,5 e adicionou-se 0,5 %, em relação a polvilho, de alfa amilase bacteriana. Prosseguiu-se a digestão em agitador a 180 RPM, em duas temperaturas: a 50°C e a temperatura ambiente (~25°C). Após 45 horas de digestão, completou-se até 150 g com água destilada, homogeneizou-se e submeteu-se à centrifugação de 2200 RPM por 5 minutos.

Tomando-se 30 ml do sobrenadante, evaporou-se, secou-se em estufa a 110°C e determinou-se o peso do amido solubili-

zado.

2.13. OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA DOS GRÂNULOS DE AMIDO

Féculas de diversas origens, com tratamentos diversos, e em vários estágios de tratamento foram observadas através de microscópio a vários aumentos, colocando-se uma pequena porção de suspensão sobre lâmina e cobrindo-a com lamínula.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FERMENTAÇÃO

3.1.1. CONTAGEM E MORFOLOGIA DOS MICROORGANISMOS

Apresentados nos quadros 1, 2, 3 e 4, nas páginas 45, 46, 47, 48, estão os resultados obtidos pelo estudo microbiológico, conforme o método apresentado no item 2.4.1., de alguns ensaios de fermentação, cuja descrição foi feita no item 2.3. Em todos esses quadros, os números indicam a proporção de microrganismos presentes, conforme a contagem feita em placas de Agar- Nutriente.

Comparando nossos resultados com aqueles obtidos por CEREDA (14), nota-se uma concordância parcial. Sendo muito pequeno o número de ensaios de fermentação submetidos por nós ao estudo microbiológico, não é possível discutir, a partir desses resultados, a predominância de espécies microbianas na fermentação. Somente podemos ressaltar as que se apresentaram com maior frequência: *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., e leveduras; e menos frequentemente: Coliformes, *Leuconostoc* sp. e alguns fungos.

As espécies apontadas por CEREDA (14) como predominantes nos seus ensaios são: *Bacillus subtilis* e *Leuconostoc citrovorum*.

Como toda fermentação natural, onde não se introduz

fator de controle ou seleção de determinado grupo de microrganismos, não foi observada uniformidade na frequência dos microrganismos encontrados, isto é, a qualidade, a quantidade e a sequência de linhagens foram muito divergentes de um ensaio para outro. Este fato dificulta tremendamente a identificação daqueles que exercem papel importante nesta fermentação.

3.1.2. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DOS MICRORGANISMOS

Em todos os ensaios de fermentação encontrou-se grande decréscimo de pH, desprendimento de odor típico, formação de espuma na superfície e orifícios no interior da massa fermentada. Isto indica que, durante a fermentação, há formação de ácidos orgânicos, gases e certos voláteis, provavelmente pela ação de microrganismos, os quais são provenientes da matéria empregada, da água, e do meio ambiente onde se processaram os ensaios.

Além de gases e compostos orgânicos mencionados, é muito comum a produção de enzimas pelos microrganismos, durante seu metabolismo.

A atividade amilolítica e proteolítica que constam nos quadros 1, 2, 3 e 4, nas páginas 45, 46, 47 e 48, são resultados das determinações feitas em placas de Agar Nutriente Amido e Agar Caseína, respectivamente, segundo o método 2.4.2. O sinal (+) indica a atividade enzimática positiva; o sinal (-), a atividade enzimática negativa, e o sinal (+), a atividade fraca.

O teste de atividade amilolítica usando o meio 4, Nutriente Amido, apresentado no item 2.4.2., foi aplicado apenas para os microrganismos isolados durante o estudo da fermentação in-

dustrial, isto é, no total de 33 linhagens. Foram encontrados teores relativamente baixos de açúcares redutores nas misturas substrato-enzima testadas. O máximo encontrado foi de 0,25 mg/ml, e em muitas misturas de substrato-enzima não houve formação de redutores.

Uma observação feita por CEREDA (14) é que o teor de açúcares redutores é baixo no início da fermentação e eleva-se em um período intermediário para decrescer na fase final. Confrontando essa observação e os nossos resultados, parece haver realmente algumas linhagens que produzem enzima amilolítica que degrada o amido fornecendo açúcares redutores. Provavelmente esses açúcares redutores são consumidos pelos próprios microrganismos, para seu crescimento, ou transformação em outras substâncias orgânicas de menor peso molecular.

3.2. UMIDADE E PROTEÍNA

Foi determinada a umidade em todas as amostras usadas nas análises. Em polvilho doce o teor de umidade oscilou entre 12 e 13 %, e em polvilho azedo, foi ao redor de 13,5 % (g/100g de polvilho em base úmida).

A proteína bruta foi determinada, na amostra B sem fermentação e com fermentação. O teor protéico sem fermentação foi de $(0,18 \pm 0,03)$ %, ao passo que com fermentação, este valor subiu para $(0,55 \pm 0,08)$ %. Determinações foram feitas com três repetições.

Esse pequeno aumento no teor protéico pode ser causado pelo crescimento dos microrganismos e também pela produção de

substâncias protéicas, como enzimas, pelos mesmos.

3.3. "TESTE DO BISCOITO"

Na foto 1, na página 51, apresentamos alguns biscoitos, para mostrar a diferença entre um biscoito "bom" produzido com polvilho azedo comercial e alguns daqueles que não preencheram as especificações de qualidade do produto.

No quadro 5, pág. 49,50, faz-se a descrição e classificação de todos os biscoitos preparados no laboratório, não adotando a terminologia técnica, e sim os termos cotidianos, somente para serem comparados, quanto as características em observação, isto é, se aproximam ou não do padrão (do biscoito comercial).

Como já se comentou, o polvilho azedo tem aplicações culinárias diversas. Para alimentos, cujos principais requisitos são sabor e odor característicos, verificamos que todas as fermentações em laboratório foram eficientes. Para a preparação de biscoito com a formulação adotada, mostrou-se satisfatória a fermentação em laboratório em que se adicionou polvilho fermentado industrialmente (semente), no início do processo.

Observamos que, nas indústrias, é procedimento comum efetuar essa adição de polvilho fermentado, sendo normalmente requerido um tempo de fermentação de 20 a 25 dias, às vezes, 30 dias.

Os nossos ensaios sem semente foram conduzidos em tempos variados, de 18 a 35 dias, não se obtendo polvilho apto a apresentar a expansão desejada para a preparação de biscoito.

Se a obtenção de polvilho azedo, com propriedades satisfatórias para a expansão do biscoito, depende da atuação de

microrganismos, supõe-se que as principais linhagens que contribuem efetivamente para essa finalidade sejam capazes de esporular; enquanto o polvilho azedo está seco, os esporos se mantêm, e quando novamente colocados em tanques de fermentação, com condições favoráveis a sua germinação e crescimento, passam a participar ativamente da nova fermentação. Quando essas linhagens provêm de outras fontes, provavelmente há necessidade de tempo maior para sua adaptação as novas condições.

Ainda pelo quadro 5, notamos que o tratamento térmico rápido após a secagem e a lavagem do polvilho azedo, com água ou com éter de petróleo, não modificam as características finais do biscoito.

Assim sendo, parece que os responsáveis pela expansão do biscoito não estão presentes no polvilho azedo como uma substância sensível ao calor ou capaz de se solubilizar facilmente em água ou em éter. Então, esses responsáveis atuam sobre o amido durante a fermentação.

De acordo com as características apresentadas pelos biscoito n^{os} 5, 9, 10, 11, 12, 13 e 14 do quadro 5, a operação de secagem pode ser mecanizada, desde que feita adequadamente, tornando o processo mais rápido, e talvez mais econômico(82).

Tentamos também substituir a fermentação pela adição à receita de alguns agentes, no ato da preparação de biscoito, poupando assim, o tempo "perdido" pela fermentação. Essa tentativa não foi bem sucedida, pelo menos da maneira como foi efetuada.

As féculas de batata e araruta, mesmo fermentadas, parecem não serem capazes de substituir o polvilho azedo. Isto pode ser explicado pela diferença de estrutura original dos grânulos

de amido, quando extraídos de diferentes plantas (30, 36, 84).

3.4. ESTUDO AMILOGRÁFICO

Os amilogramas estão mostrados nas figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, nas páginas 57, 58, 59, 60, 61, 62 e 63.

Apresentamos o gráfico modelo de MAZURS (48) onde

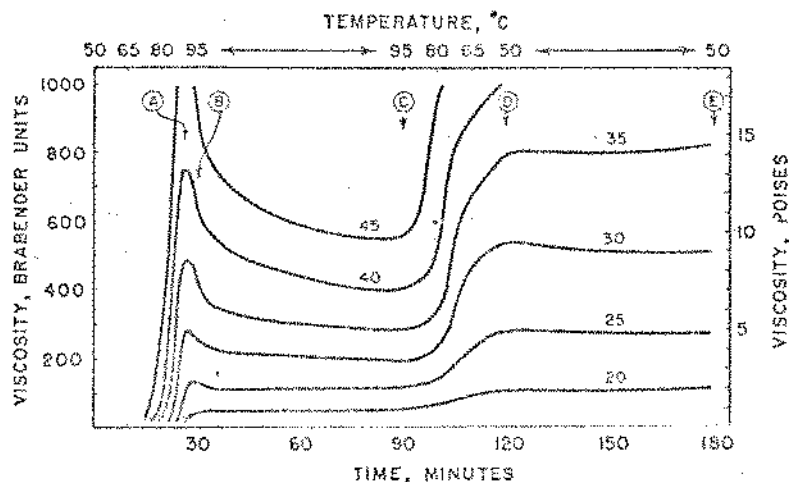


Fig. 1. Brabender curves of thick-boiling corn starch. Letter keys indicate viscosity reference points. Numerals indicate starch concentration, in g. per 100 ml.

ele define alguns pontos teóricos de referência:

A - É a viscosidade máxima, e o seu valor é uma função da concentração.

B - É a viscosidade, quando a pasta atinge 95°C. A relação entre seu valor e o valor de máxima viscosidade reflete a facilidade de cocção do amido.

C - Viscosidade da pasta após permanecer 1 hora a 95°C. Indica a estabilidade ou o colapso da pasta durante o cozimento.

D - Viscosidade da pasta quando ela é resfriada até 50°C, e mede o grau de retrogradação.

E - Viscosidade final da pasta após permanecer 1 ho-

ra a 50°C. Indica a estabilidade da pasta à agitação.

A variação de viscosidade da suspensão de amido com a temperatura é um assunto ainda não elucidado inteiramente. Alguns autores (19, 36, 50, 84) acreditam que, inicialmente, ao aquecer a suspensão, acontece a gelatinização devido ao intumescimento dos grânulos, e conseqüentemente, rápida elevação de viscosidade. Gradativamente, há a perda de birrefringência e exsudação, e queda de viscosidade. Após a exsudação, a viscosidade sobe novamente pelo mecanismo de gelificação. Com o resfriamento também ocorre a retrogradação.

Na figura 1, foram comparados os amilogramas de alguns polvilhos doces e azedos escolhidos aleatoriamente, e foi observado o seguinte: a viscosidade máxima do polvilho azedo é mais baixa do que a do polvilho doce. Durante todo o processo, a pasta de polvilho azedo se mantém menos viscosa que a de polvilho doce, apresentando menor estabilidade à agitação e menor capacidade de retrogradação ou gelificação.

Na figura 2 vemos o efeito da fermentação, isto é, temos a curva de fécula de mandioca (amostra B), em comparação com a curva da mesma fécula devidamente fermentada (amostra H). Podemos constatar as mesmas diferenças apontadas na figura 1.

Na figura 3, a observação é a mesma.

Através da figura 4, observamos que a fermentação causa o mesmo efeito sobre as propriedades viscoelásticas em menor escala quando se tratam de féculas de batata e araruta. Isto é, a viscosidade máxima e a capacidade de retrogradação são pouco afetadas, ocorrendo pequena diminuição.

A extração de possíveis substâncias solúveis em

éter de petróleo parece não modificar em nada as propriedades viscoelásticas das pastas (fig. 5).

Nas figuras 6 e 7 tentamos mostrar o efeito da alfa amilase e de ácidos orgânicos. Com a adição de alfa-amilase, há grande queda no valor de viscosidade máxima, fenômeno já descrito por TAWFIK (80), usando alfa-amilase de *Bacillus subtilis* em farinha de arroz. Mas existe uma faixa de concentração adequada em que o comportamento da pasta é similar a do polvilho fermentado. A acidificação do polvilho pela adição adequada de certos ácidos orgânicos também causa modificação nas propriedades do polvilho, assemelhando-o ao fermentado.

Comparando-se as curvas b e c da figura 7, observa-se que quase não há diferença entre uma e outra. Provavelmente isto se deve ao fato de que, a amostra x sendo bastante acidificada, pH 3,8, ocasionou condições adversas à atuação de alfa-amilase adicionada, o que concorda com a teoria de REED (65).

3.5. SOLUBILIDADE E INTUMESCIMENTO EM ÁGUA

Além de estudar a variação das características viscoelásticas, consideramos de grande importância o estudo da variação do poder de solubilização e intumescimento em água, uma vez que, o fator água exerce importante papel na panificação (30, 85), principalmente a água absorvida pelo amido.

Os resultados obtidos pela análise, conforme descrita no item 2.9., estão representados nas figuras 8, 9, 10, 11 e 12, nas páginas 64, 65, 66, 67 e 68.

Pela figura 8, constata-se que a fermentação dá ao

polvilho maior capacidade de se solubilizar e intumescer em água. A mesma influência é observada nas figuras 9, 10 e 11.

Na figura 12, nota-se que a adição de ácidos orgânicos ao polvilho doce até atingir pH usual do polvilho azedo comercial praticamente não exerce efeito sobre sua solubilidade e intumescimento. Por outro lado quando se adiciona 0,0002 % de alfa-amilase, o polvilho se torna um pouco mais solúvel, sem considerável alteração no poder de intumescimento. Porém, quando a amilase é colocada em maior quantidade, 0,0005 %, há desintegração completa dos grânulos de amido ao se aquecer, acontecendo sua total solubilização. Isto sugere que uma adição conveniente de alfa-amilase pode resultar em valores de solubilidade e intumescimento próximos aos do polvilho azedo.

Um fato interessante foi observado por GRISWOLD(30): o arrebentar do milho-pipoca depende da expansão do vapor de água no grão, durante o aquecimento, e um conteúdo correto de umidade constitui um dos fatores importantes para se obter maior volume do grão estourado (pipoca). A umidade recomendada para referido produto é de 11 % a 15 %.

Mencionados também pelo mesmo autor, estão os "popovers" que são como conchas quase ocas e quebradiças, cujo agente de crescimento é o vapor d'água que se forma a partir do alto teor de líquido introduzido na receita. Neste produto, como na maioria dos confeitados, a firmeza da casca para reter o vapor ou gás deve-se às proteínas do ovo.

Analisando os nossos resultados e os do autor, chega-se a seguinte observação: como o polvilho azedo se solubiliza e intumesce facilmente em água, provavelmente possui grande afinida

de com o líquido introduzido na receita, resultando em maior retenção de vapor d'água pela massa, acarretando sua expansão durante a fornagem. Como a retenção de vapor pela massa a altas temperaturas depende muito da formação de crosta, é provável ainda que o polvilho quando fermentado, sofra uma alteração na sua estrutura interna, e então, interaja de uma maneira diferente com os ingredientes, principalmente com as proteínas, contribuindo assim para uma expansão especial.

3.6. SOLUBILIDADE EM SULFÓXIDO DE DIMETILA

A determinação foi feita de acordo com o método descrito no item 2.10. , e o resultado está mostrado na fig. 13, página 69.

O amido é muito pouco solúvel em água, a frio, mas pode ser solubilizado em alguns solventes, um dos quais é o sulfóxido de dimetila. A facilidade de solubilização do amido neste solvente varia de acordo com a planta da qual é extraído. Segundo LEACH (43), essa diferença reflete aquela existente nas ligações moleculares internas dos grânulos, de uma espécie para outra. Se o grânulo se solubiliza facilmente, pode ser um indicativo para sugerir que é rapidamente fragmentável, e que possui uma estrutura - porosa e heterogênea; enquanto que quando essa fragmentação é mais demorada, supõe-se que a estrutura é mais homogênea e menos permeável. E as ligações cruzadas dificultam esta solubilização.

Essa taxa de solubilização pode variar muito, não são

com a espécie, mas também de acordo com a variedade e grau de maturidade (40).

Observamos um fato muito interessante: o polvilho azedo que é muito mais solúvel em água sob aquecimento, do que polvilho doce, apresentou-se menos solúvel em sulfóxido de dimetila anidro.

Poderia tentar explicar isto como sendo causado por uma alteração no interior dos grânulos de amido, durante a fermentação, talvez, devido a mudança ou aparecimento de ligações secundárias entre polímeros.

3.7. SUSCETIBILIDADE ENZIMÁTICA

Por definição, é a facilidade de digestão do amido pela enzima, dependendo principalmente da planta que lhe deu origem (39). Segundo alguns autores (43, 67, 84), parece haver uma certa relação de ordem direta entre a suscetibilidade enzimática e a solubilidade em sulfóxido de dimetila.

As porcentagens de amido solubilizado pela alfa-amilase 0,5 %, em 45 horas de agitação contínua foram maiores para polvilho azedo, tanto à temperatura ambiente como a 50°C., concordando com os resultados do item 3.6.

3.8. OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA DOS GRÂNULOS DE AMIDO

Nos estudos comparativos para observar o efeito da fermentação, tomamos sempre as amostras B e H (polvilhos doce e azedo).

Inicialmente foi observada a morfologia microscópica, quando suspensas em água, a temperatura ambiente. Como se pode ver na foto 2, página 52, as duas amostras são muito parecidas. Ambas apresentaram morfologia típica de amido de mandioca, e fotografias similares já foram apresentadas por muitos autores (36, 61, 67, 83).

São muitas as formas com que os grânulos de amido de mandioca podem se apresentar: cupuliforme, mitriforme, sacciforme, convexo-bicôncavo, hexagonal arredondado, pentagonal arredondado, trigonal arredondado, e simplesmente arredondado. Essas formas se permutam em todas as variedades, mas a predominância ou a proporção delas varia muito de uma para outra variedade. É interessante observar que os grânulos de amido de mandioca apresentam frequentemente pontos centrais ou excêntricos que podem terminar ou não em fissuras, porém, quase não se nota a estratificação.

O efeito da fermentação é notado com o aquecimento.

Aquecendo-se concomitantemente as suspensões de polvilho doce e azedo, até 65°C, e observando sua morfologia microscópica a cada 5 ou 6°C, notamos o seguinte: o polvilho doce se incha mais rapidamente absorvendo a água, mas apresenta maior resistência à fragmentação. Isto é, quando se aquece a amostra até tem

peraturas no intervalo de 55 a 65°C, e deixamos algumas horas a temperatura ambiente, alguns grânulos de polvilho azedo começam a se dissociar, mas o mesmo não acontece com o polvilho doce: os grânulos incham bastante e podem se romper em algum ponto, mas se conservam íntegros. Mostramos essa diferença nas fotos 3e4, p.53,54.

Se observarmos os grânulos de polvilho recém-fermentados antes da secagem, eles são muito sensíveis à pressão mecânica, apresentando-se com fissuras centrais muito profundas e fendilhamentos periféricos. A mesma facilidade de fissuração foi encontrada nas féculas de batata e araruta fermentadas, em contraste com a dificuldade de fragmentação das mesmas, por pressão, quando não fermentadas.

A morfologia dos grânulos quando submetidos à digestão em sulfóxido de dimetila parece ser a mesma, tanto no polvilho doce como azedo: os grânulos ficam como que enrugados na periferia, apresentando um ponto central escuro.

Mesmo quando tratados com alfa-amilase a temperatura ambiente, não se observa diferença morfológica entre os dois tipos de polvilho. Mostra-se nas fotos 5 e 6, o aspecto dos grânulos quando o efeito da amilase se faz presente (pg. 55 e 56).

Essa atuação de enzima é efetiva no polvilho azedo quando o pH da suspensão é corrigido para aproximadamente 6,0. Sua atividade é muito lenta para o polvilho com pH não corrigido, devido à inibição pela condição adversa.

Quando se aquece a suspensão de polvilho doce, adicionada de alfa amilase, os grânulos começam a se romper em pequenos glóbulos, a aproximadamente 55°C, tomando um aspecto semelhante daquele quando se trata com ácido forte. Esse rompimento se

acentua com o aquecimento, e a 65°C, todos os grânulos ficam completamente abertos e partidos.

Outras fotografias de grânulos de amido de milho tratados com amilase ou ácido podem ser vistas em muitos trabalhos - (27, 36, 52), confirmando nossos resultados.

QUADRO 1

FERMENTAÇÃO EM LABORATÓRIO - AMOSTRA D + ÁGUA DESTILADA, COM RENOVAÇÃO PERIÓDICA DE ÁGUA
EM RECIPIENTE PROTEGIDO

dias de fermentação	0	2	4	6	8*	10	14*	18
pH do sobrenadante	5,8	5,6	4,4	4,1	4,1-4,35	3,85	3,75	3,6
microorganismos								
bastonetes gram +, sem esporulação		90	35	80	15	50	30	
bastonetes gram +, com esporulação		10		10	5	25	20	
colônias espalhadas, baston. gram -					50			
colônias isoladas, baston.gram -			35		30	25	50	
levedura			30					
cocos gram +				10				
atividade amilolítica		+	±	+	-	-	-	
atividade proteolítica		-	-	-	+	+	±	

* Renovação de água

Microrganismos com atividade amilolítica: bastonetes gram +, com esporulação e sem esporulação.

Microrganismos com atividade proteolítica: colônias amareladas isoladas, bastonetes gram +.

QUADRO 2

FERMENTAÇÃO EM LABORATÓRIO - AMOSTRA B COM PRÓPRIA ÁGUA DE EXTRAÇÃO EM RECIPIENTE PROTEGIDO.

dias de fermentação	0	2	9	16	23	30	35
pH do sobrenadante	5,1	4,6	3,9	4,8	4,4	4,2	4,0
microorganismos							
bastonetes gram +, sem esporulação		50			10		
colônias espalhadas, baston. gram -			20				
colônias isoladas, baston. gram -		50	80	60	70		100
levedura					20	100	
bastonetes curtos gram -				40			
atividade amilolítica		-	+	-	-	-	+
atividade proteolítica		-	-	+	+	-	-

Outros microorganismos presentes: Actinomycetos

Microorganismos com atividade amilolítica: colônias isoladas, bastonetes curtos gram - ;
fungo cinzento com coroa branca.

Microorganismos com atividade proteolítica: colônias isoladas, bastonetes gram - ; co-
lônias amarelas isoladas, baston. gram - ;
fungo branco.

QUADRO 3

FERMENTAÇÃO EM LABORATORIO - AMOSTRA A + ÁGUA DESTILADA, SEM RENOVAÇÃO DE ÁGUA, EM RECIPIENTE PROTEGIDO.

dias de fermentação	0	2	9	16	23	30	35
pH do sobrenadante	5,6	4,7	3,8	3,8	3,8	3,8	3,5
microorganismos							
baston.gram +, sem esporulação		40					
colônias espalhadas, baston. gram -		50	20				
colônias isoladas, baston. gram -			65	45	100	80	
levedura				55		20	100
bastonetes curtos, gram -		10	15				
atividade amilolítica		-	±	±	-	-	+
atividade proteolítica		+	+	-	-	-	-

Outros microorganismos presentes esporadicamente: Penicillium e Diplococcus gram +

Microorganismos com atividade amilolítica: bastonetes gram +, com esporulação; fungo branco cottonoso.

Microorganismos com atividade proteolítica: colônias isoladas, bastonetes gram -; colônias isoladas amareladas, baston.gram +

QUADRO 4

FERMENTAÇÃO INDUSTRIAL

dias de fermentação	2	9	16	23	30
pH do sobrenadante	4,3	3,8	4,45	3,8	3,45
microorganismos					
bastonetes gram +, sem esporulação	20			60	
bastonetes gram +, com esporulação					85
colônias isoladas, baston. gram -		50	50	30	
levedura	40			10	15
cocos gram +	40				
bastonetes curtos gram -		50	50		
atividade amilolítica	+	+	+	±	+
atividade proteolítica	+	-	-	-	-

Outros microorganismos presentes: Fungos e Actinomycetos

Microorganismos com atividade amilolítica: bastonetes curtos gram - ; bastonetes gram +, sem esporulação.

Microorganismos com atividade proteolítica: colônias isoladas, baston. gram - .

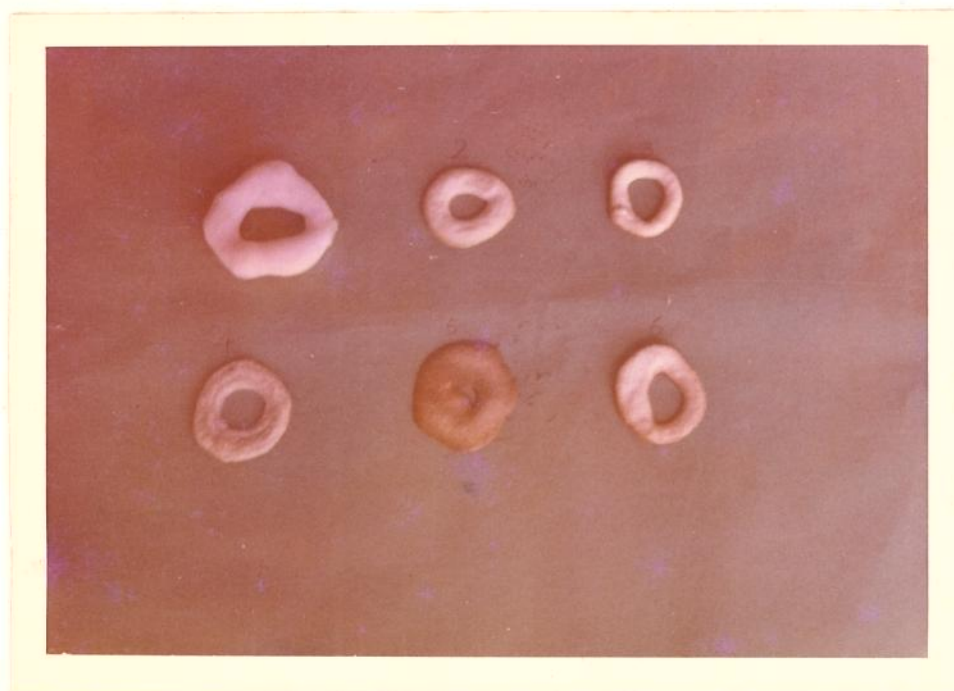
QUADRO 5

BISCOITO DE POLVILHO

Nº	Especificação do polvilho	Notas sobre fermentação e secagem	Tratamento especial do polvilho ou adição a formulação básica	Características do biscoito		
				expansão ou crescimento	resistencia a quebra por penetração de dentes.	sabor
	padrão = biscoito de polvilho comercial			grande	pequena	bom
1	polvilho azedo comercial	industrial	-	grande	pequena	bom
2	amostra D fermentada	em laboratório, 18 dias recipiente fechado com renovação de água	-	muito pequeno	grande	regular
3	amostra B fermentada	em laboratório, 35 dias recipiente fechado	-	pequeno	média	bom para regular
4	amostra A fermentada	em laboratório, 35 dias recipiente fechado	-	pequeno	média	bom para regular
5	amostra A fermentada	em laboratório, 30 dias recipiente aberto	-	regular	média	bom
6	amostra A fermentada c/adicação de 5% de polv. azedo comercial	em laboratório, 30 dias recipiente aberto	-	grande	pequena	bom
7	polvilho azedo (amostra C)	industrial	lavagem com água	grande	pequena	bom
8	polvilho azedo (amostra C)	industrial	lavagem com eter petroleo		pequena	bom
9	polvilho azedo (amostra C)	industrial	aquecido na estufa a 100°C durante 2 1/2 horas	grande	pequena	bom
10	polvilho azedo (amostra H)	industrial 25 dias com secagem ao sol na Faculdade.	-	grande	pequena	bom
11	polvilho azedo	industrial 25 dias com secagem prévia ao sol e secagem final na estufa a 85°C durante 1 hora	-	grande	pequena	bom

cont..

Nº	Especificação do polvilho	Notas sobre fermentação e secagem	Tratamento especial do polvilho ou adição a formulação básica	Características do biscoito		
				expansão ou crescimento	resistência a quebra por penetração de dentes.	sabor
12	Amostra A fermentada	em laboratório, 30 dias recip. aberto, secagem na estufa a 28°C	-	regular	média	bom
13	Idem	idem, secagem na estufa a 37°C	-	regular	média	bom
14	Idem	idem, secagem na estufa a 65°C	-	não foi possível fazer a massa, devido a falta de miscibilidade entre o líquido e o amido		
15	polvilho doce (amostra A)	-	Com adição de 0,1% de α -amilase, 4 dias em maceração	pequeno	média	bom paladar regular
16	Idem	-	-	muito pequeno.	grande	regular
17	Idem	-	0,01% de alfa-amilase fúngica	muito pequeno	grande	regular
18	Idem	-	0,01% de alfa-amilase bacteriana	muito pequeno	grande	regular
19	Idem	-	3% de fermento biológico	muito pequeno	grande	abaixo de regular
20	Idem	-	0,01% de α amilase fung. e 3% de fermento biológico	muito pequeno	grande	abaixo de regular
21	Idem	-	3% de fermento químico	pequeno	grande	regular
22	Idem	-	5 ml de vinagre	pequeno	grande	regular
23	fêcula de araruta fermentada	em laboratório, 30 dias	-	muito pequeno	grande	regular
24	fêcula de batata fermentada	em laboratório, 30 dias	-	muito pequeno	grande	regular



a. frontal

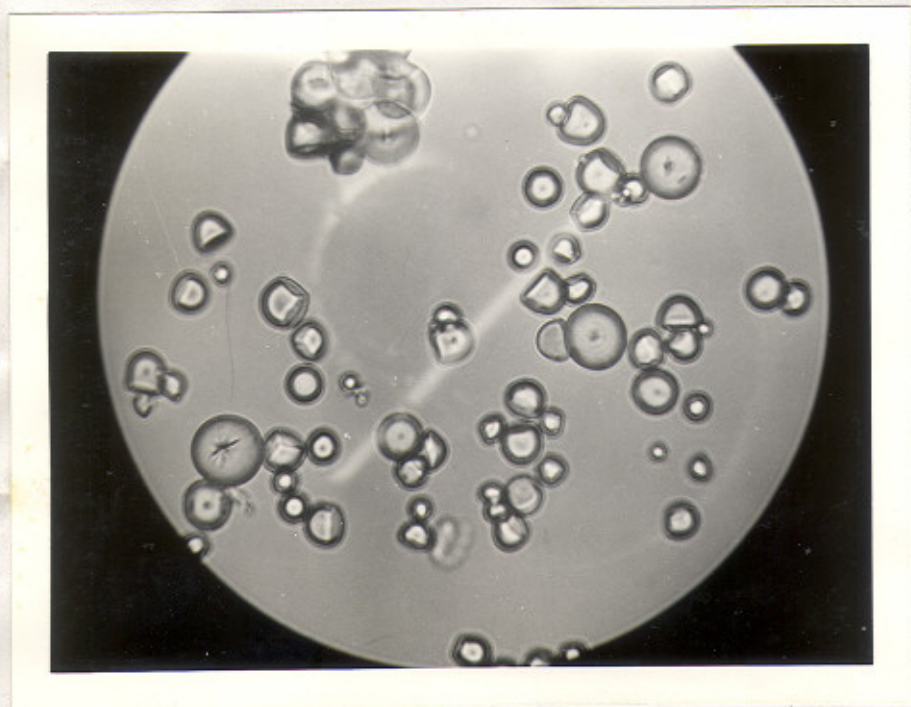
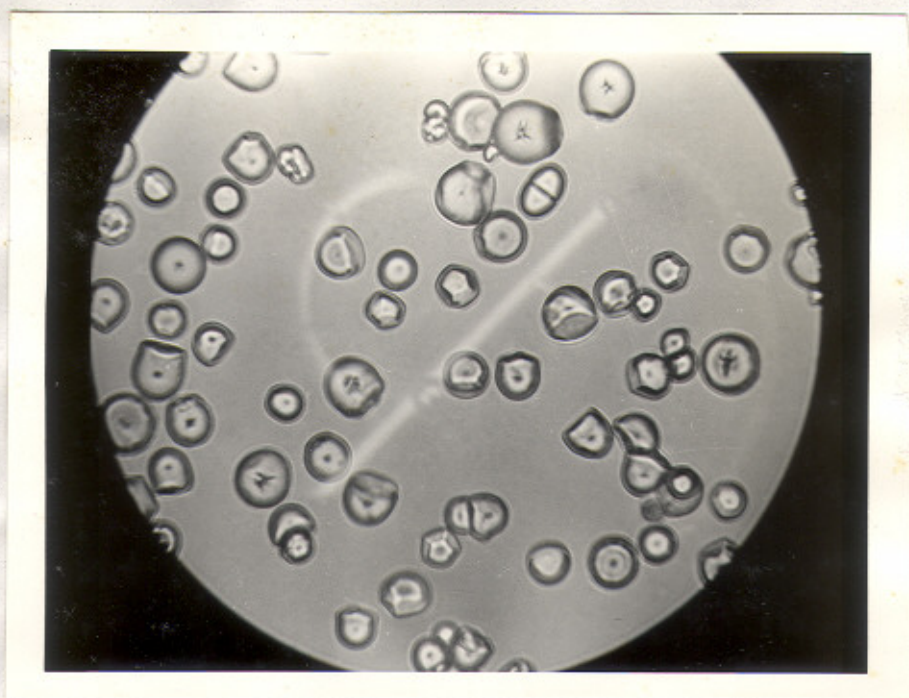


b. perfil

- 1 - Polvilho azedo comercial;
- 2 - Amostra A ;
- 3 - Amostra A com adição de alfa amilase;
- 4 - Amostra A fermentada em laboratório, em recipiente fechado;
- 5 - Amostra A com adição de fermento biológico;
- 6 - Amostra A com adição de alfa amilase e fermento biológico.

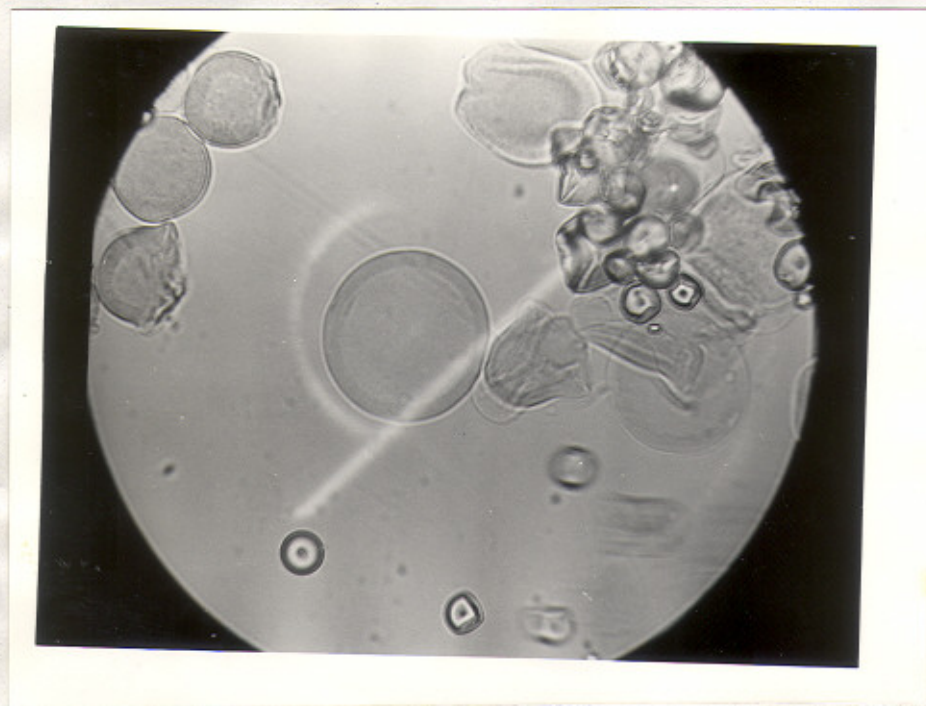
FOTO 2 Micrografia dos grânulos de mandioca em
suspensão aquosa. Aumento de 400 vezes.

a. não
fermentado

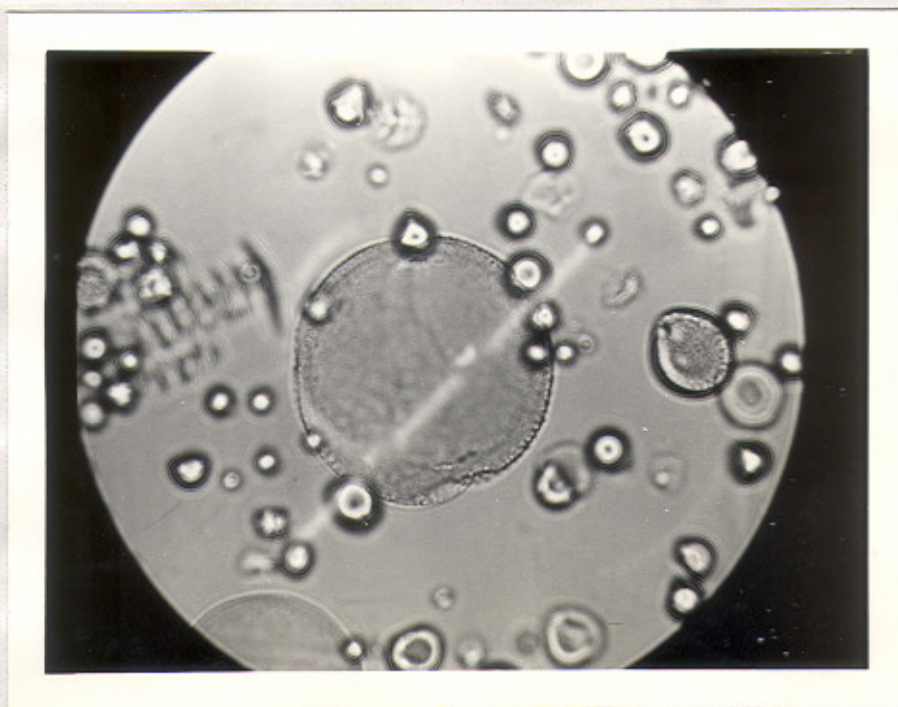


b. fermentado

FOTO 3. Micrografia dos grânulos de amido de mandioca em suspensão aquosa, aquecida até 56°C e esfriada até 40°C . Aumento de 400 vezes.



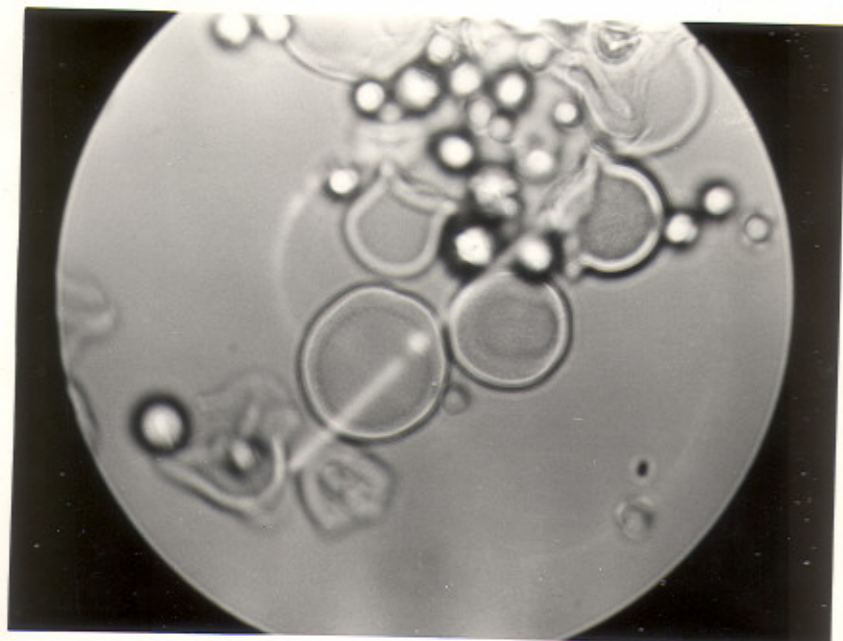
a. não
fermentada



b. fermentado

FOTO 4. Micrografia dos grânulos de amido de mandioca em suspensão aquosa, aquecida até 56°C, esfriada até 40°C e deixada em repouso a temperatura ambiente durante 45 min. Aumento de 400 vezes.

a. não
fermentado



b. fermentado

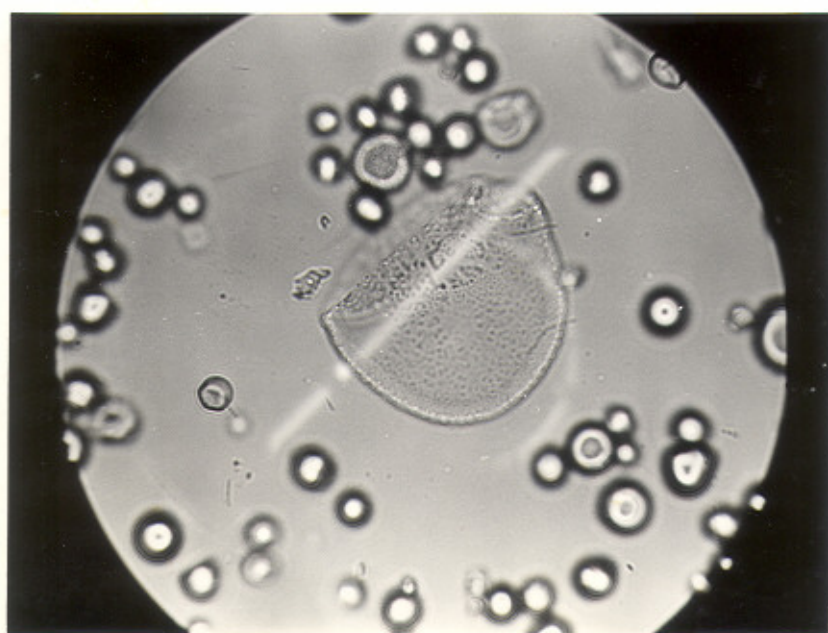
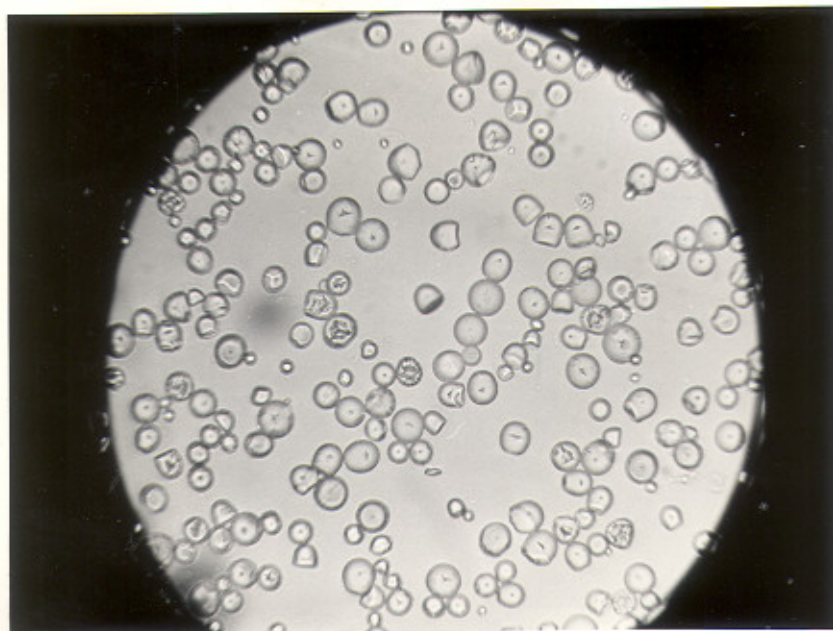
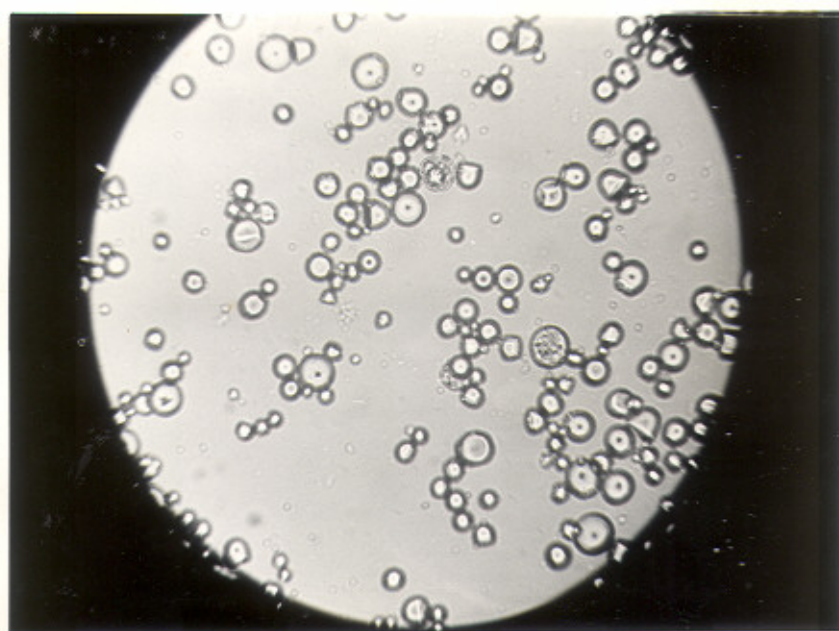


FOTO 5 Micrografia dos grânulos de amido de mandioca em suspensão aquosa, após 90 horas de digestão enzimática (amilase 0,2%) a temperatura ambiente. Aumento de 400 vezes.



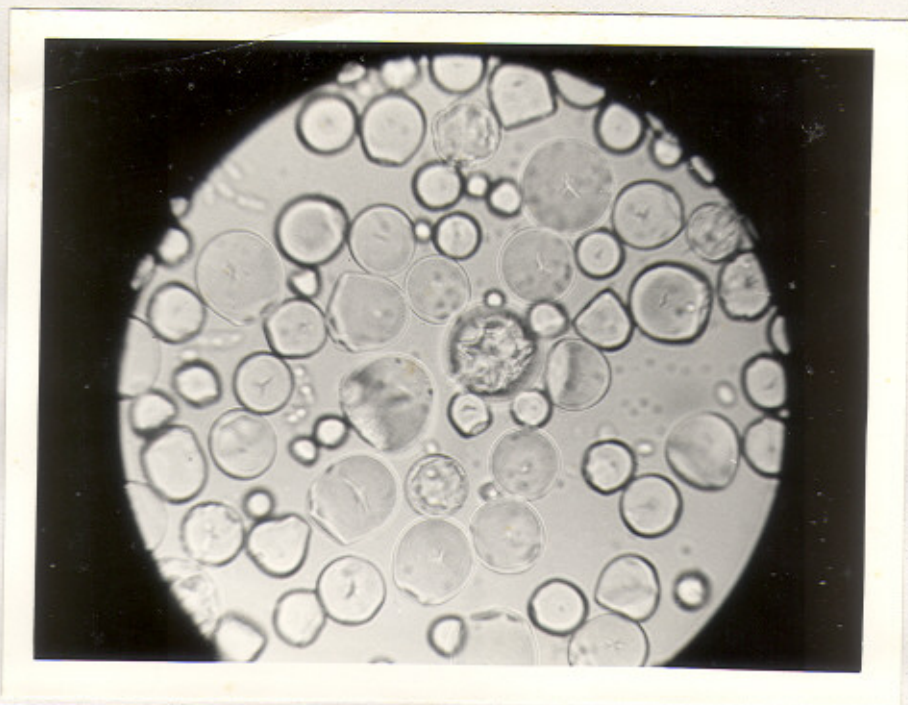
a. não
fermentado



b. fermentado

FOTO 6 . Fotomicrografia de grânulos de amido de mandioca em suspensão aquosa, após 70 horas de digestão enzimática (amilase 0,2%), a temperatura ambiente. Aumento de 900 vezes.

a. não
fermentado



b. fermentado

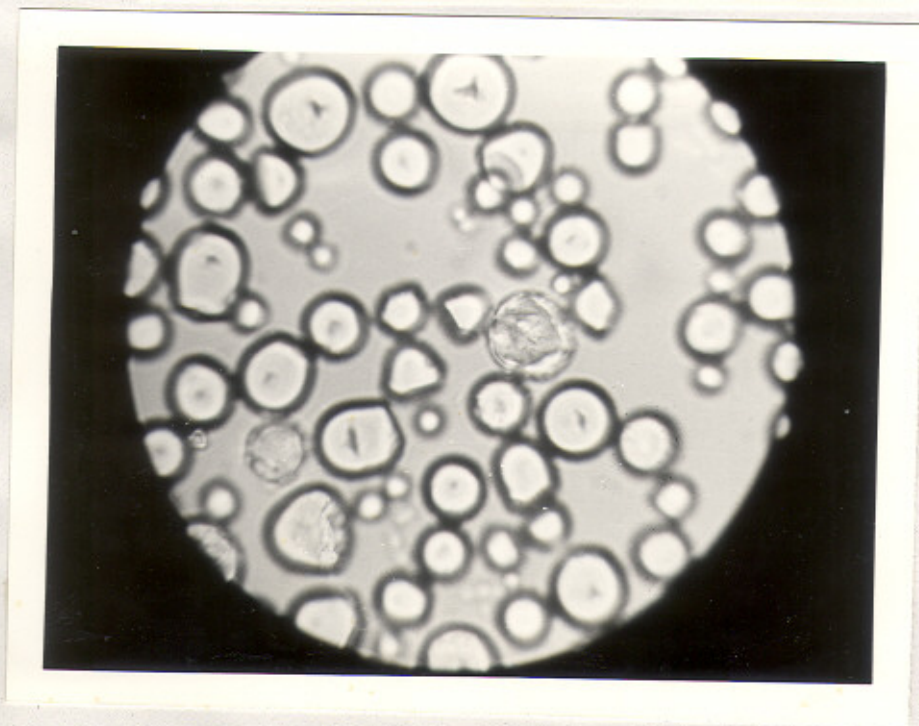
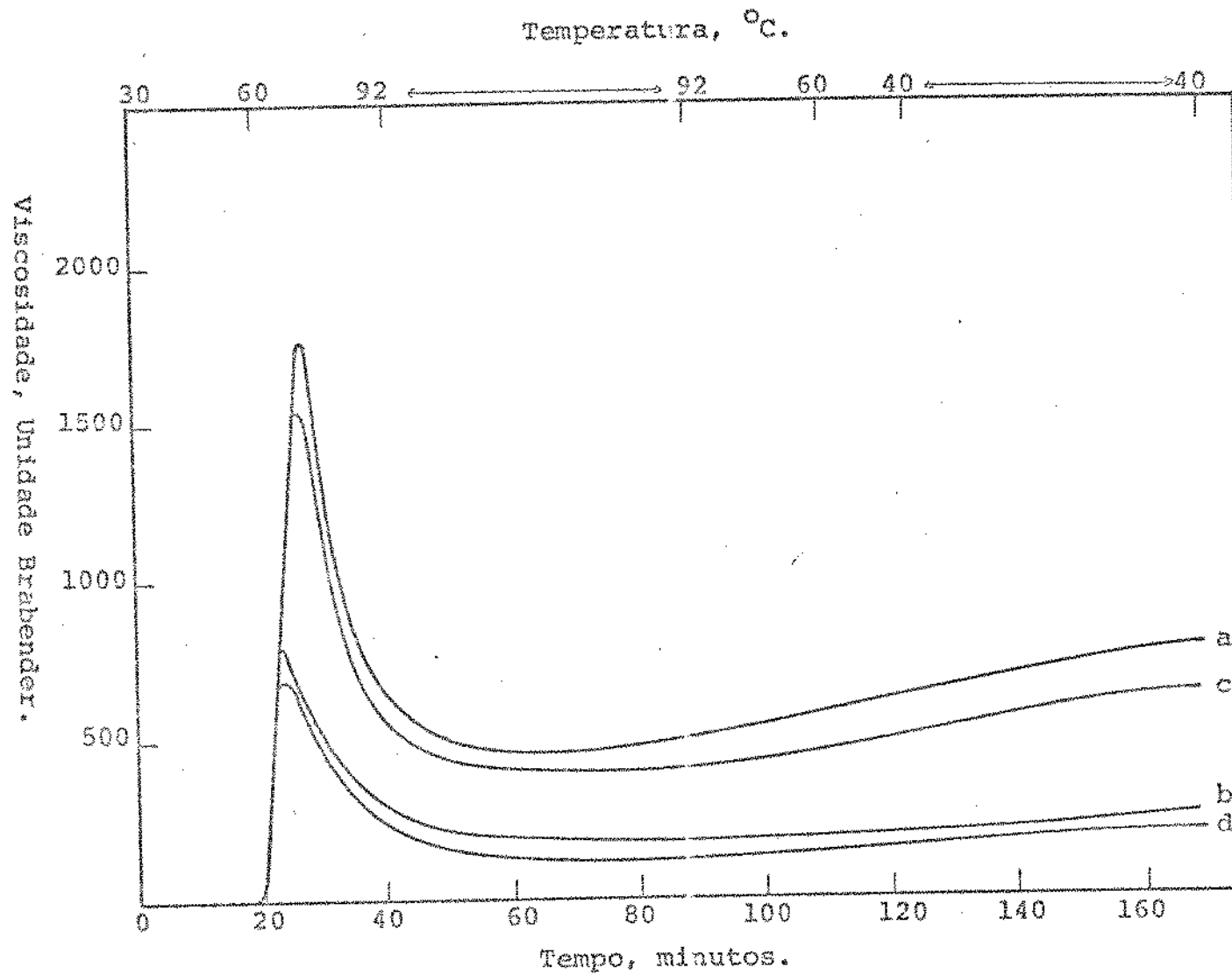
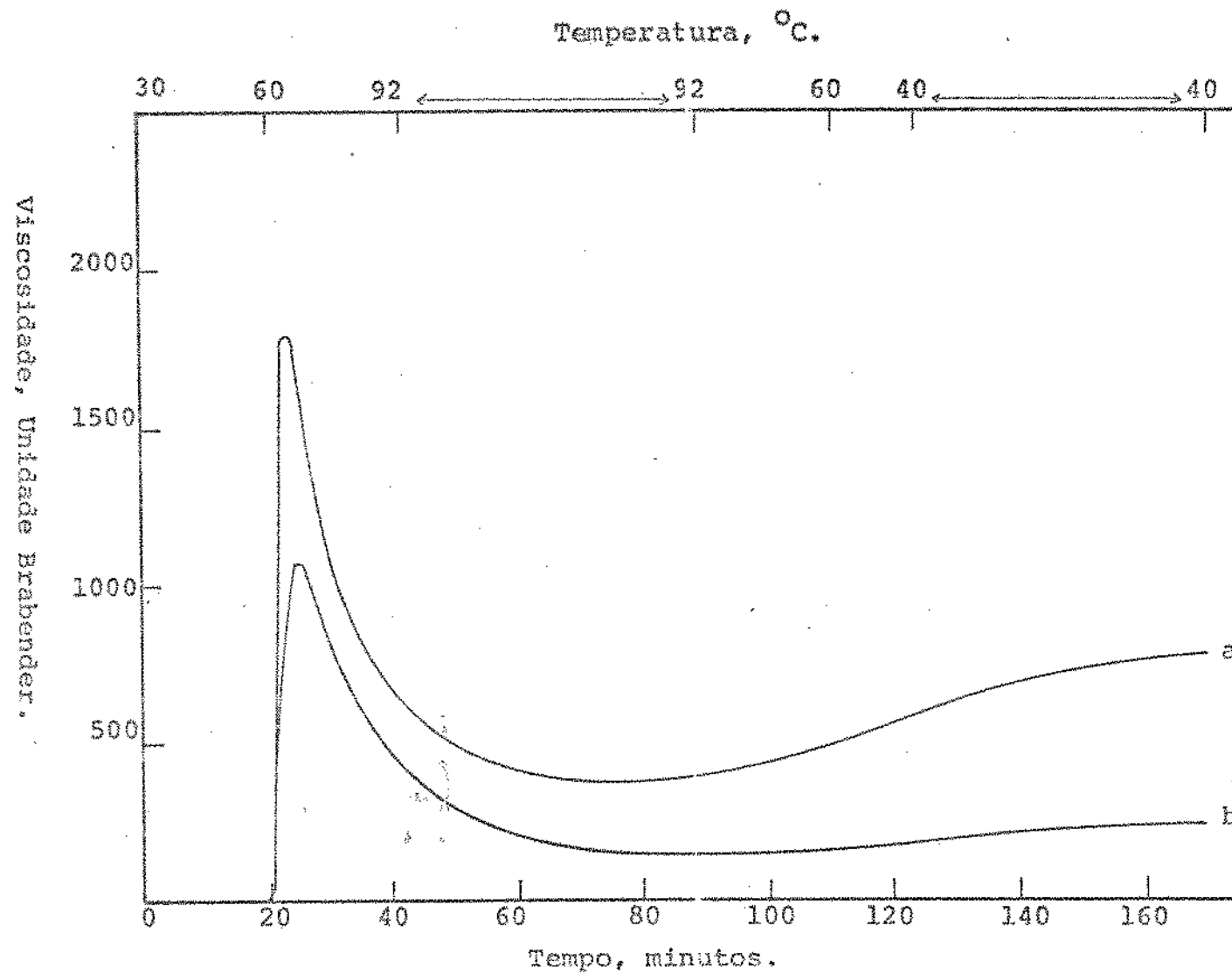


FIGURA 1. Amilograma



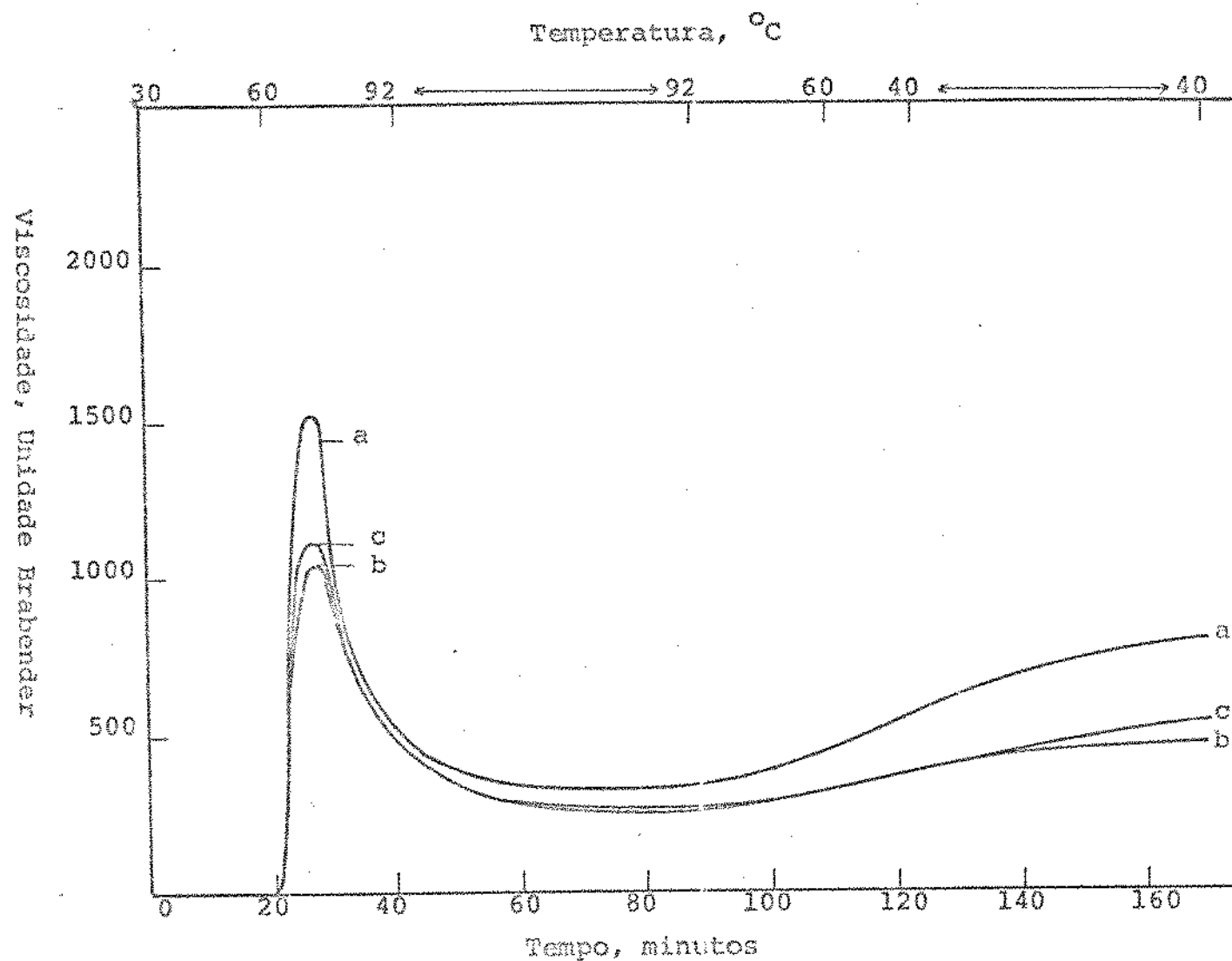
a- amostra E (polv. doce); b- amostra F (polv. azedo); c- amostra D (polv. doce); d- amostra G (polv. azedo).

FIGURA 2. Amilograma



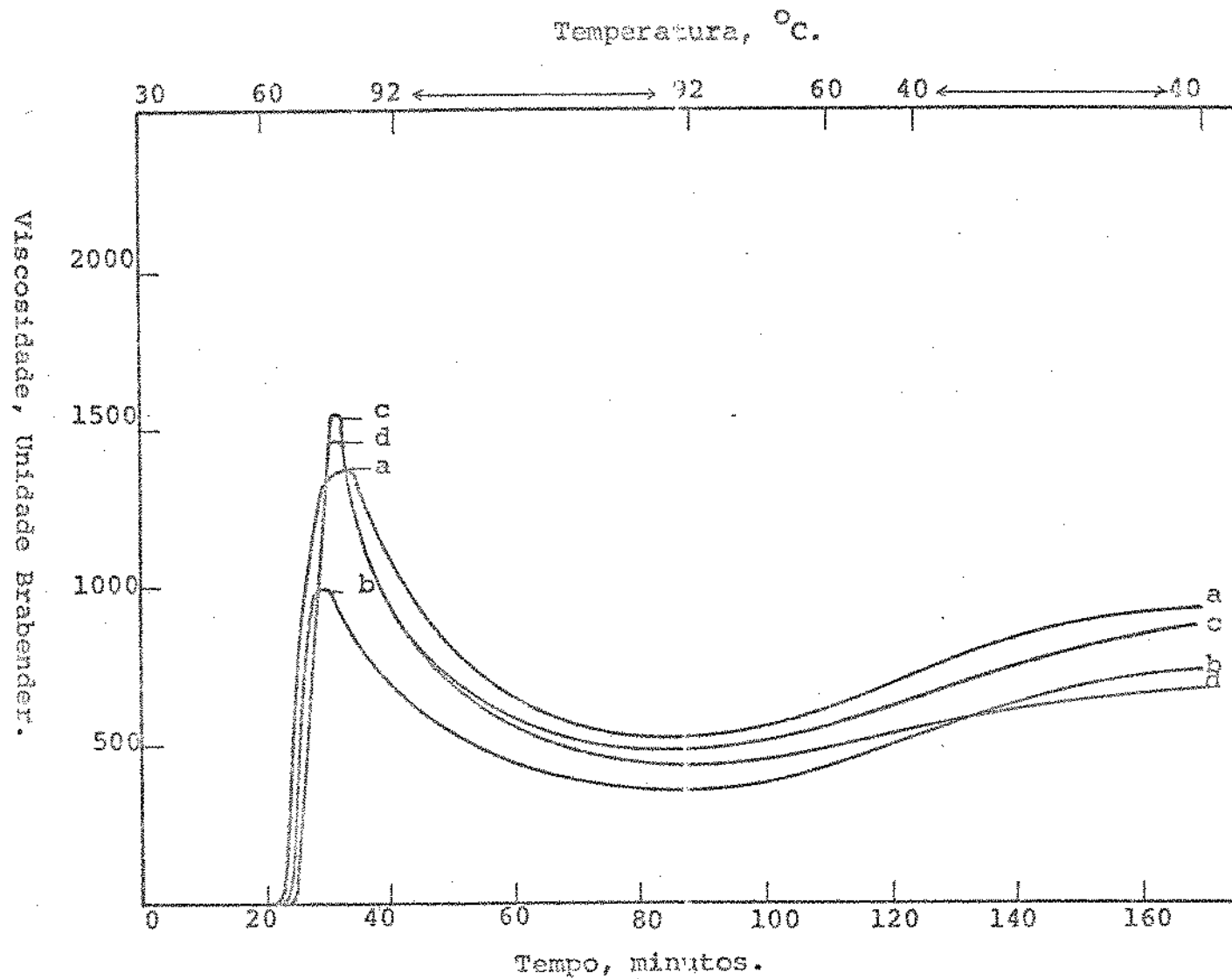
a- amostra B (polv. doce); b- amostra H (polv. azedo)

FIGURA 3. Amilograma



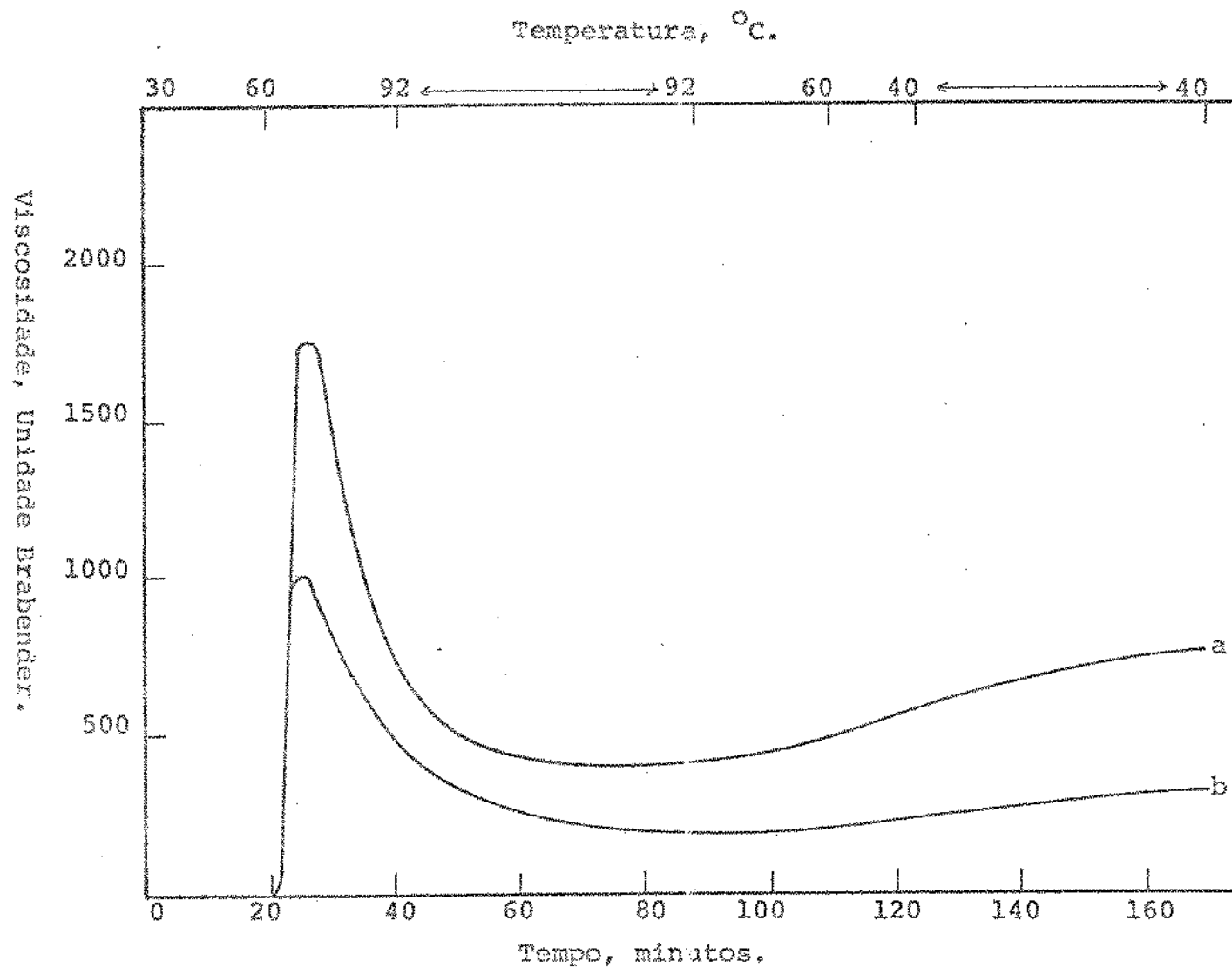
a- amostra A (polv. doce); b- amostra A fermentada em laboratório;
c- amostra A, adicionada de polvilho azedo comercial, fermentada em laboratório.

FIGURA 4. Amilograma



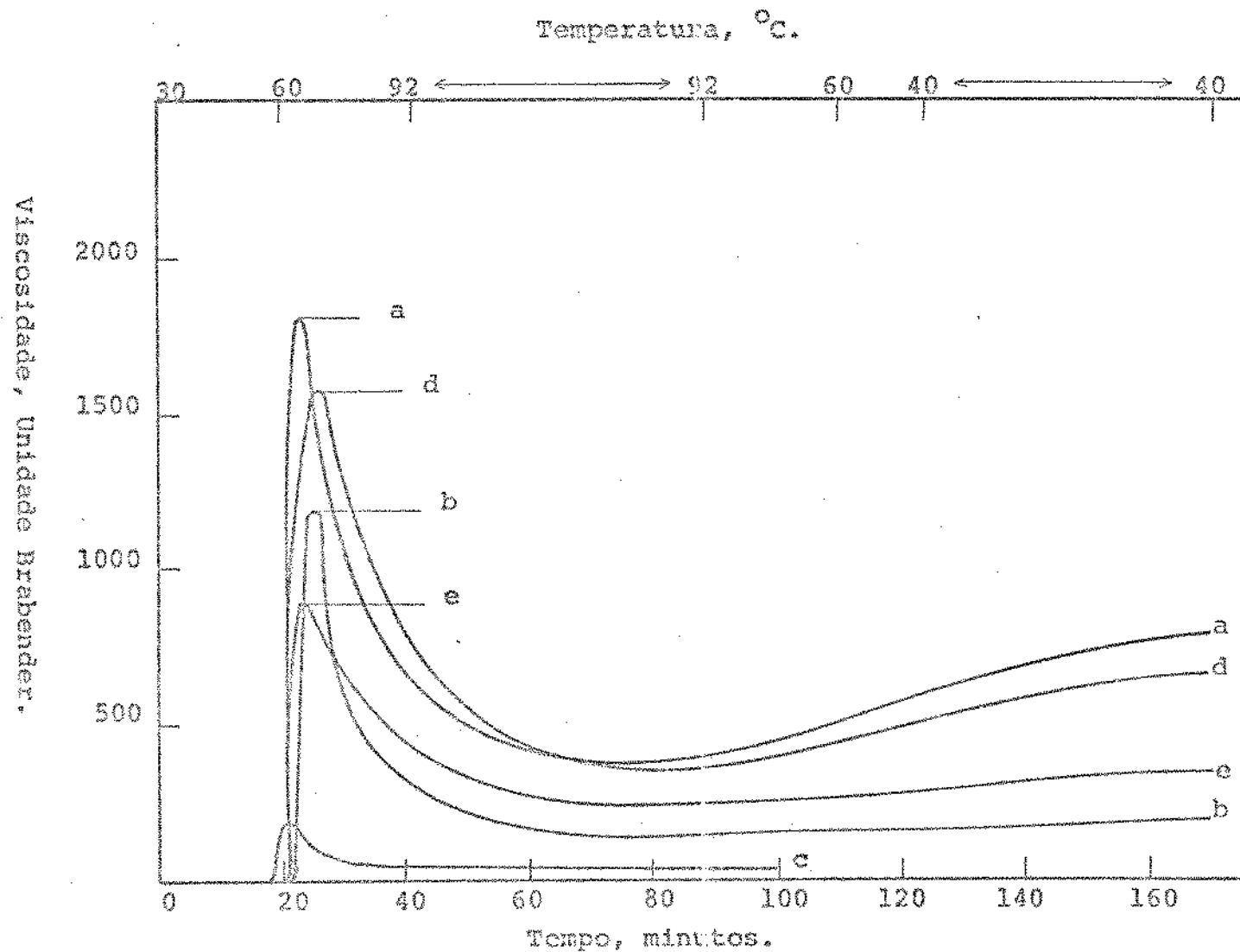
a- fêcula de batata; b- fêcula de batata fermentada; c- fêcula de araruta; d- fêcula de araruta fermentada.

FIGURA 5. Amilograma



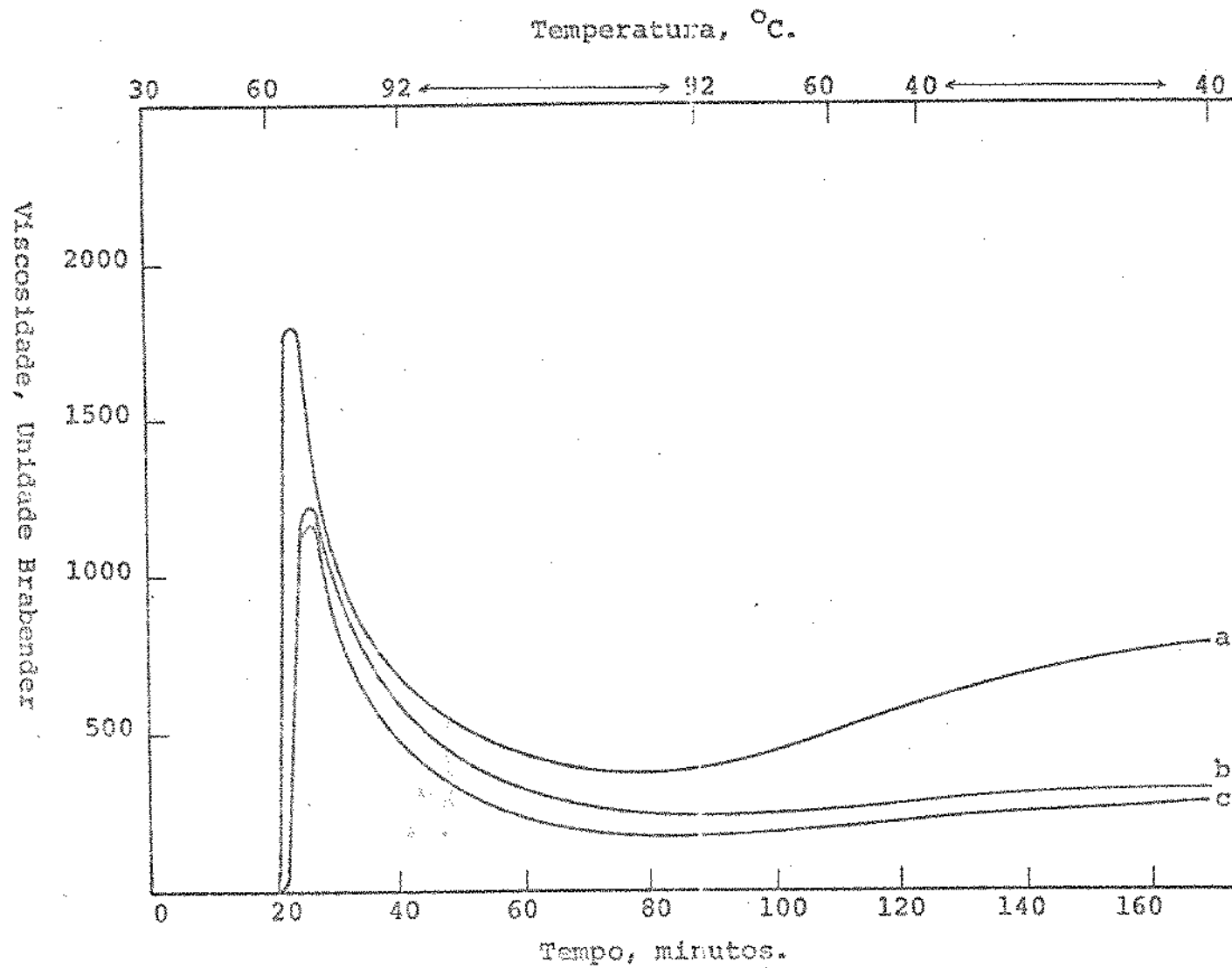
a- amostra B (polv. doce); b- amostra H (polv. azedo), ambas após a extração de material solúvel em éter de petróleo.

FIGURA 6. Amilograma



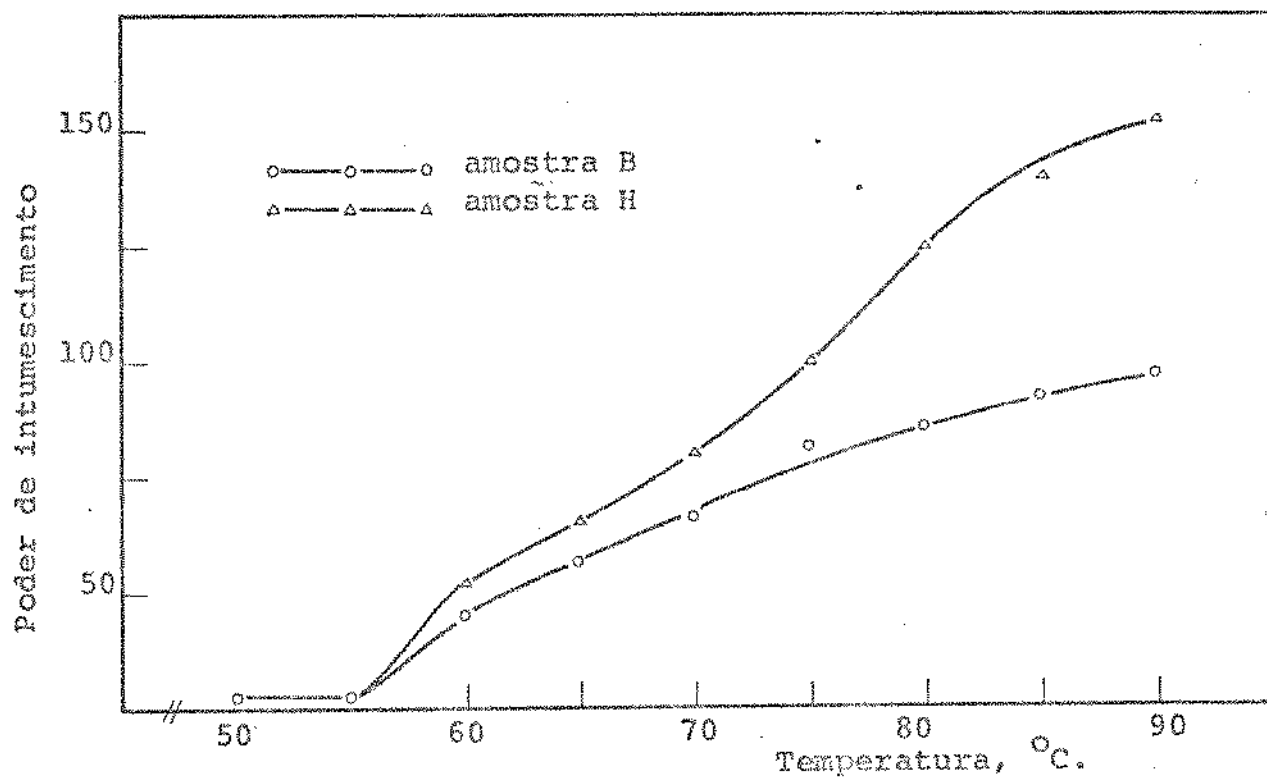
a- amostra B (polv. doce); b- amostra B + 0,0001g de alfa amilase bacteriana; c- amostra b + 0,0005g de alfa amilase bacteriana; d- polvilho Y; e- polvilho Y + 0,0001g de alfa amilase bacteriana.

FIGURA 7. Amilograma



a- amostra B (polv. doce); b- polvilho X; c- polvilho X + 0,0001g de alfa amilase bacteriana.

FIGURA 8. Solubilidade e Poder de Intumescimento em Água.



amostra B - fécula não fermentada

amostra H - fécula fermentada

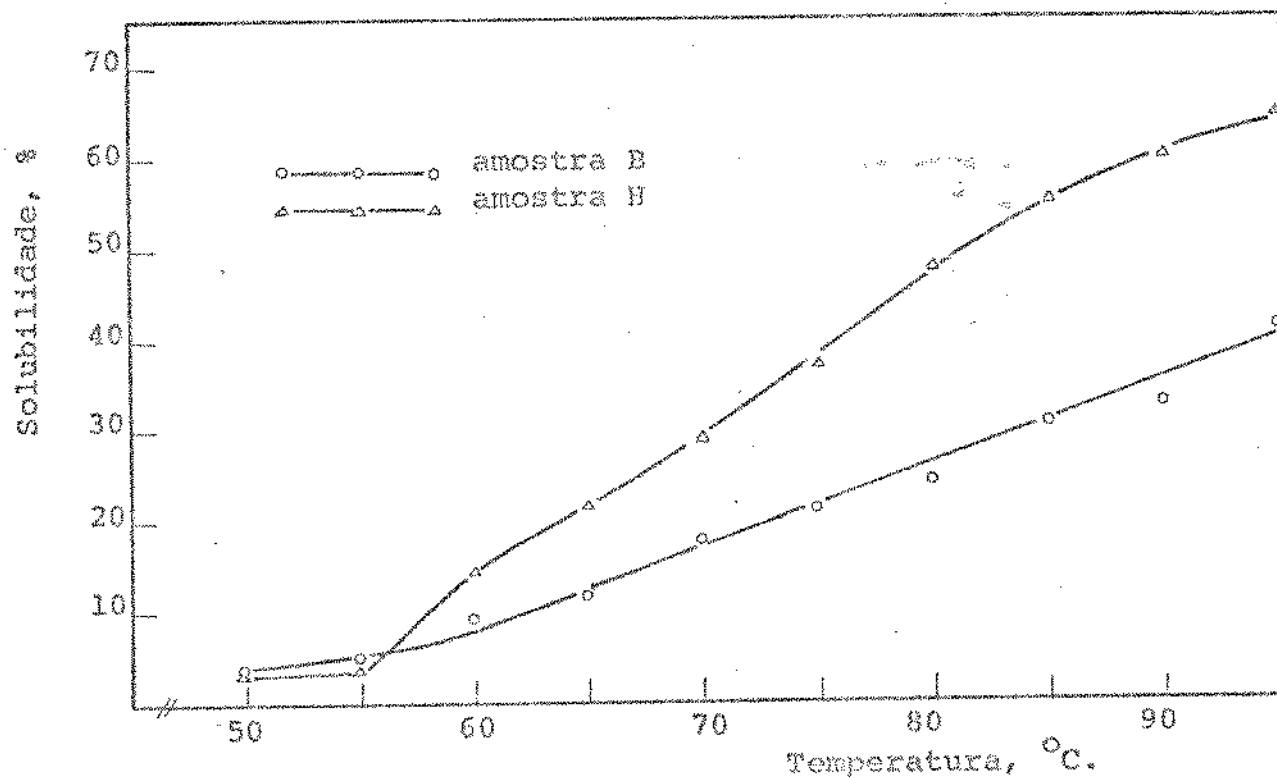
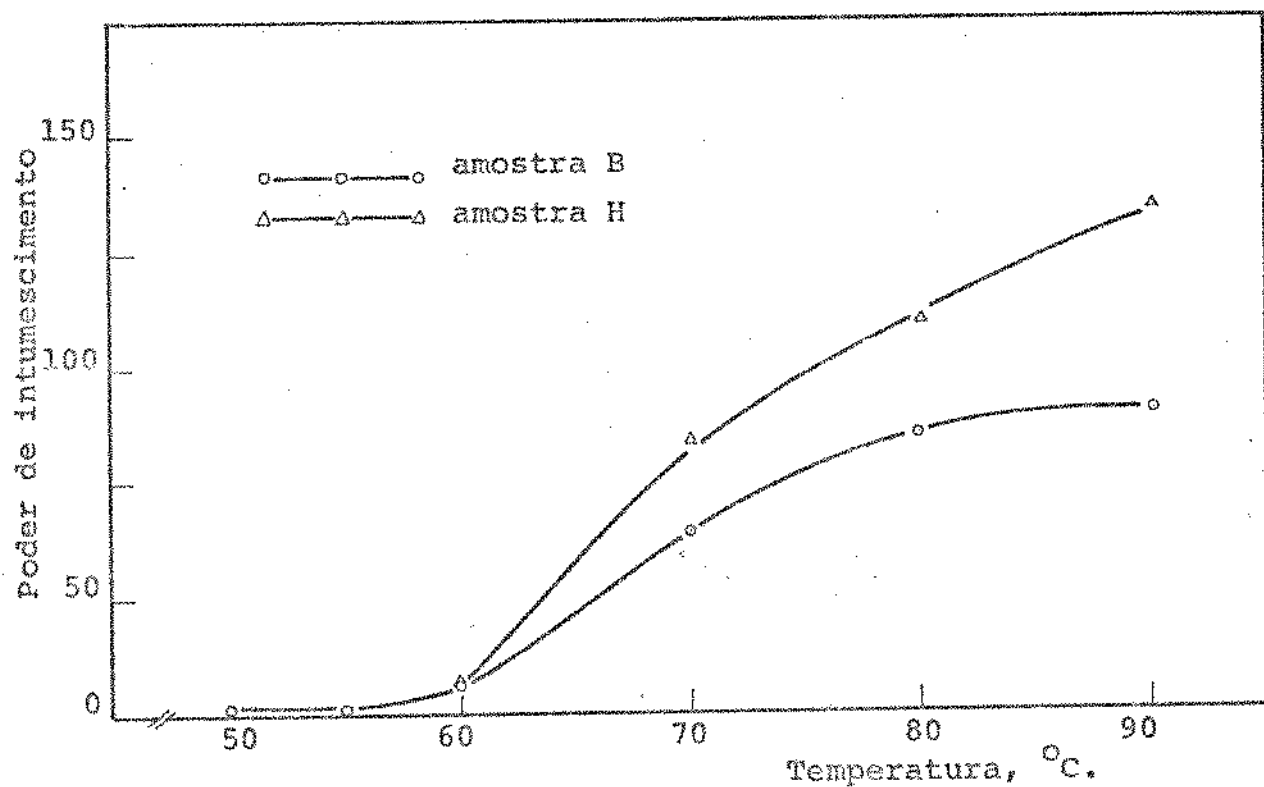


FIGURA 9. Solubilidade e Poder de Intumescimento em Água.



Efeito da extração de material solúvel em éter de petróleo.

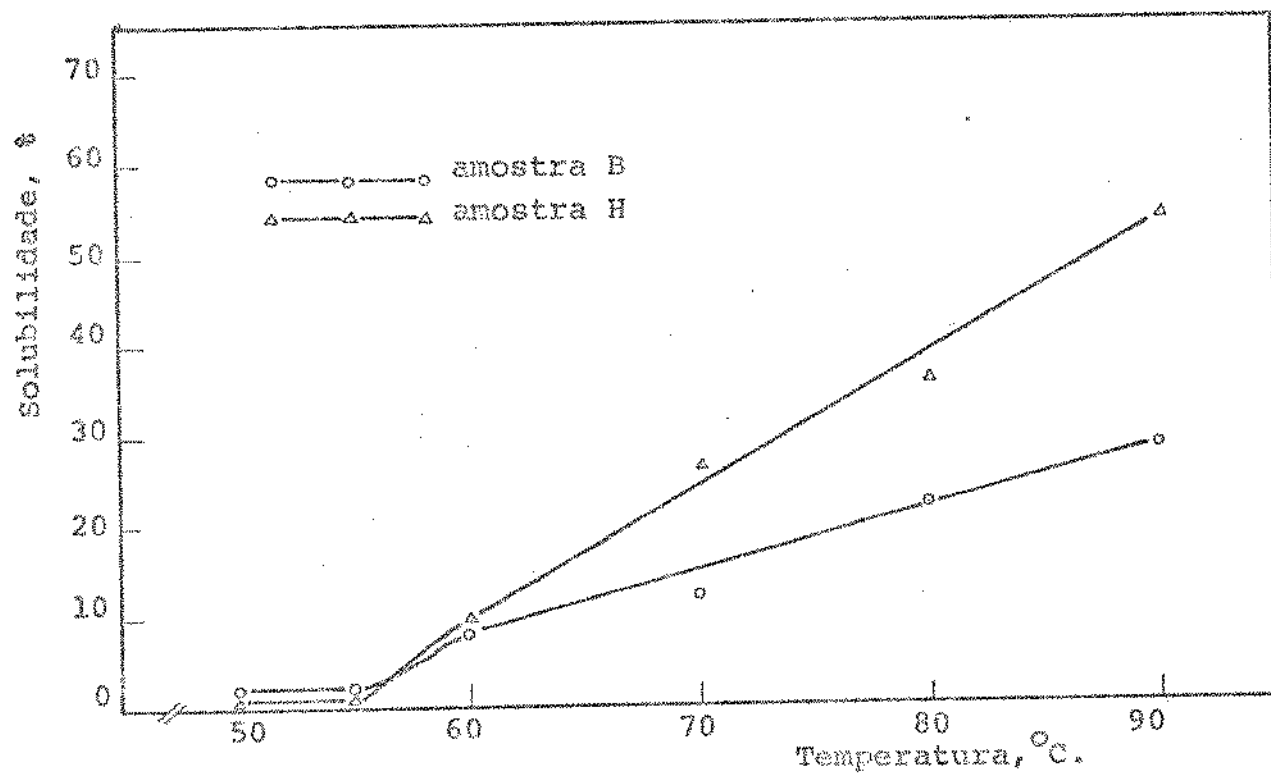
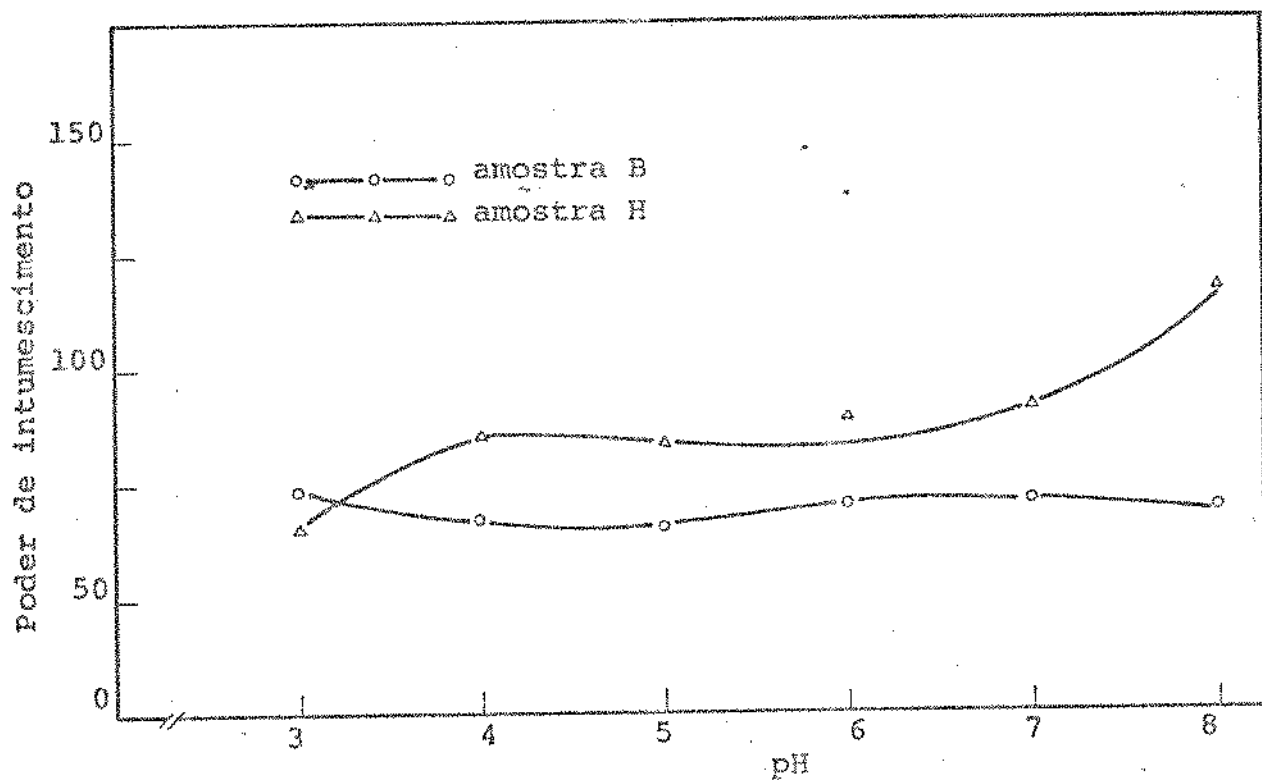


FIGURA 10. Solubilidade e Poder de Intumescimento em Água.



Efeito da variação de pH quando se fixa a temperatura a 75°C.

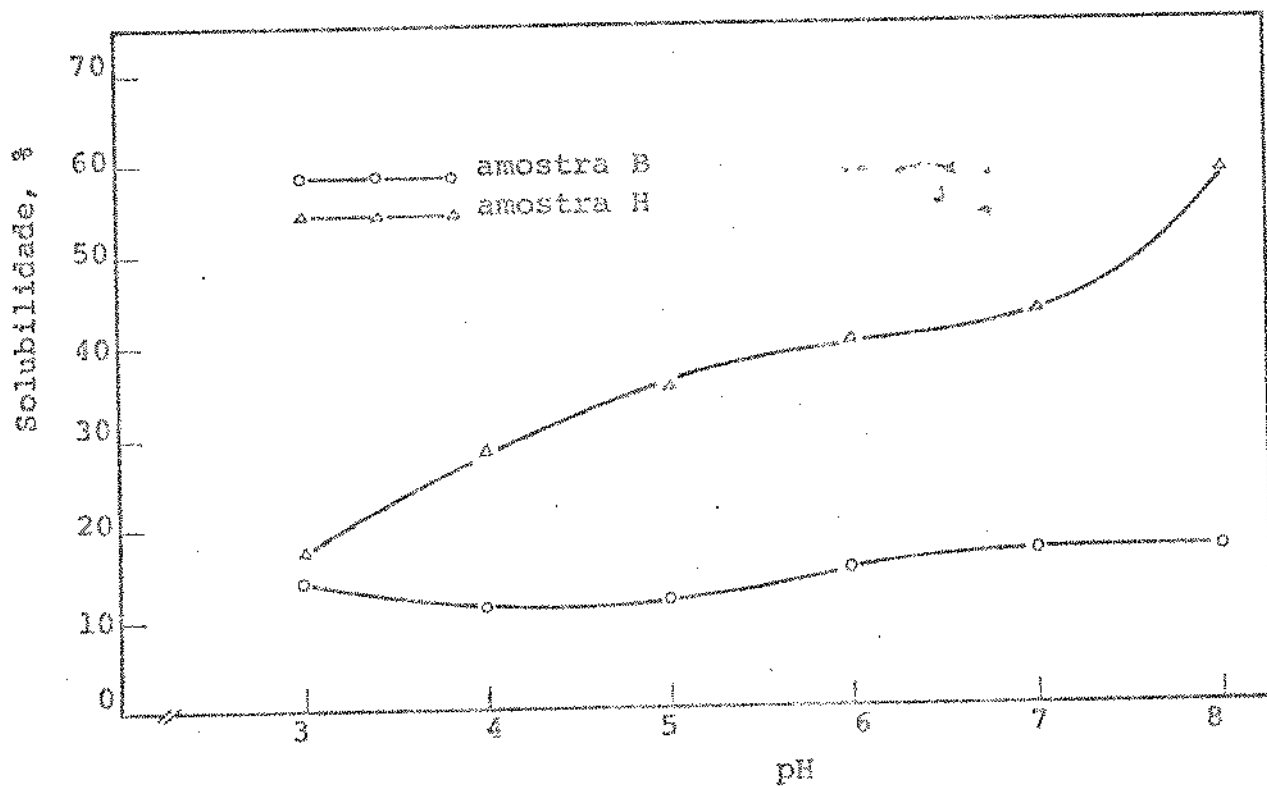
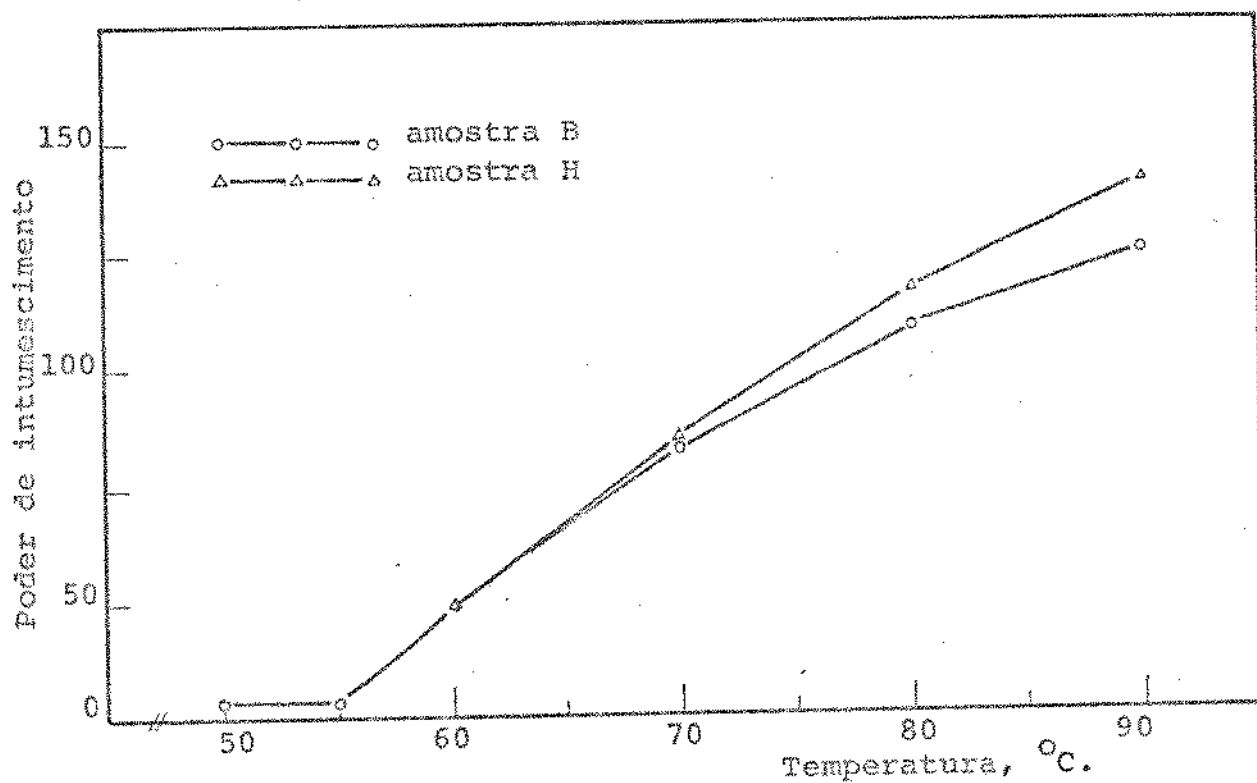


FIGURA 11. Solubilidade e Poder de Intumescimento em Água.



Efeito da correção do polvilho azedo (amostra H) até próximo a pH do polvilho doce (~ 6,5)

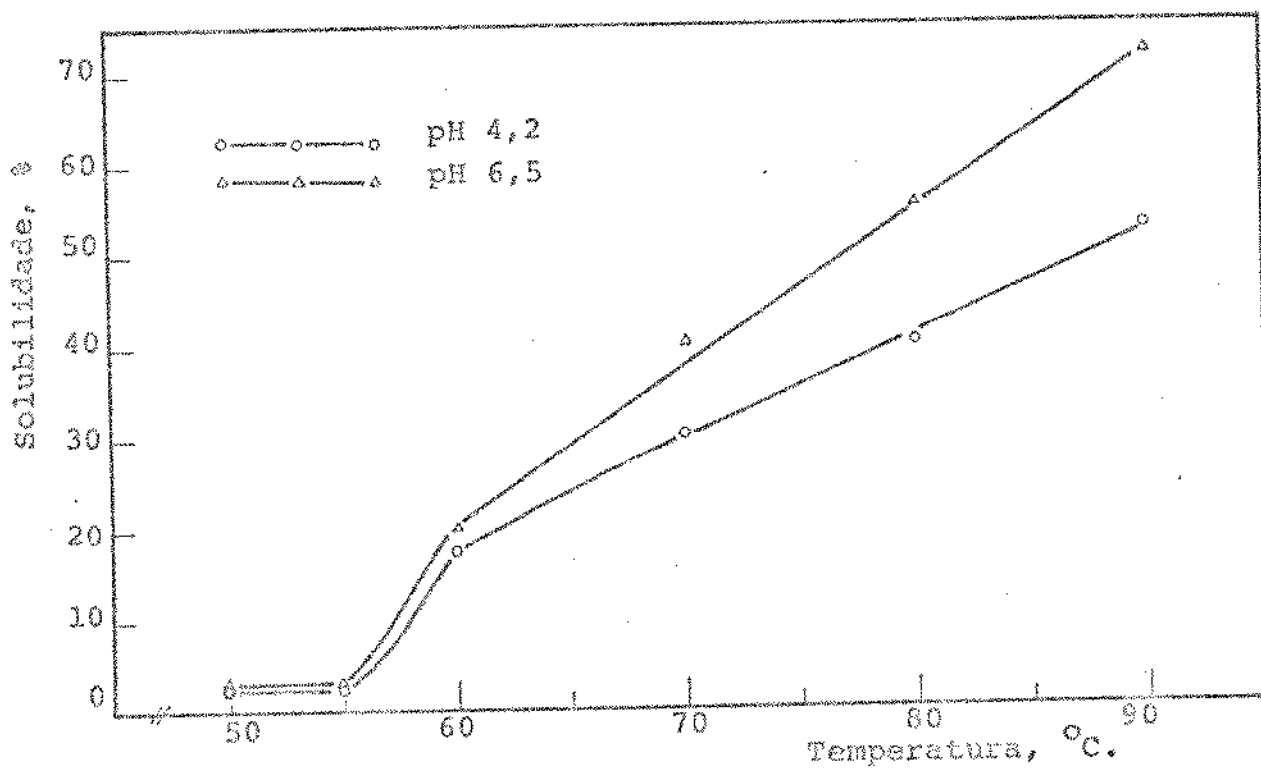
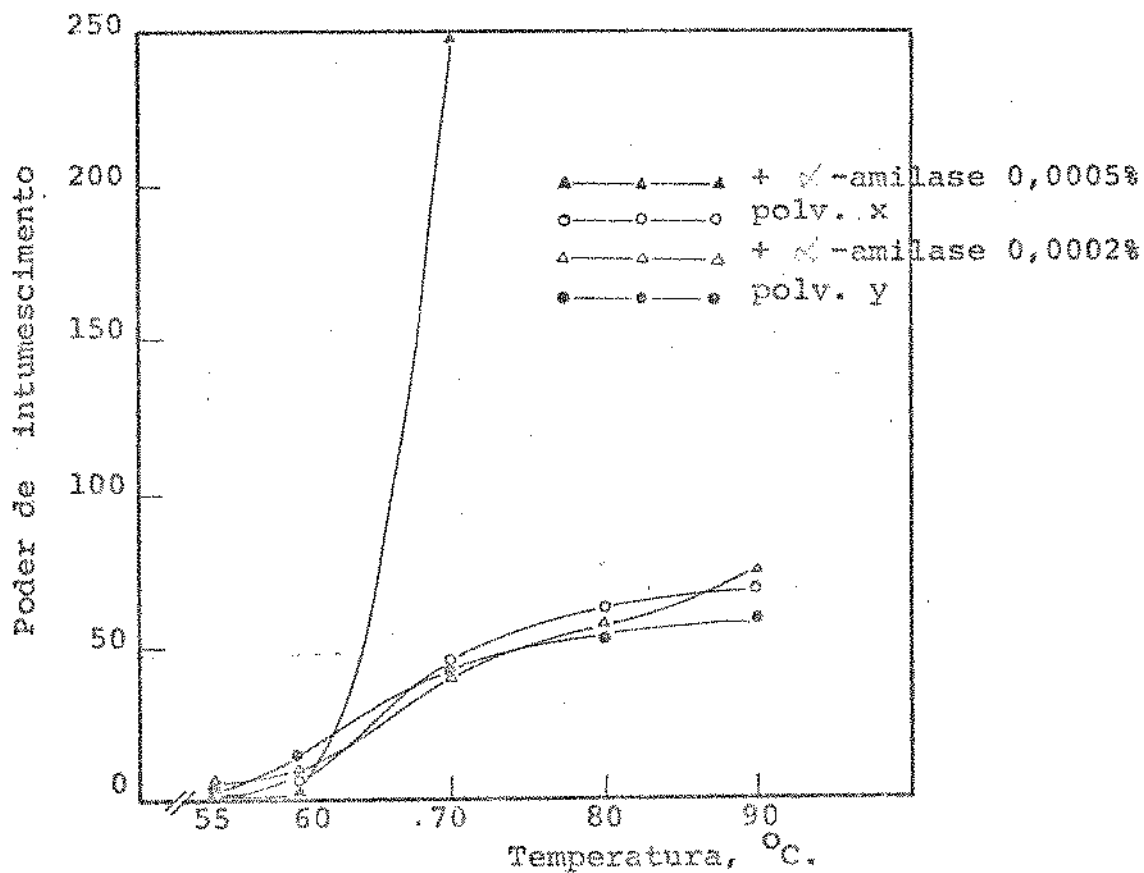
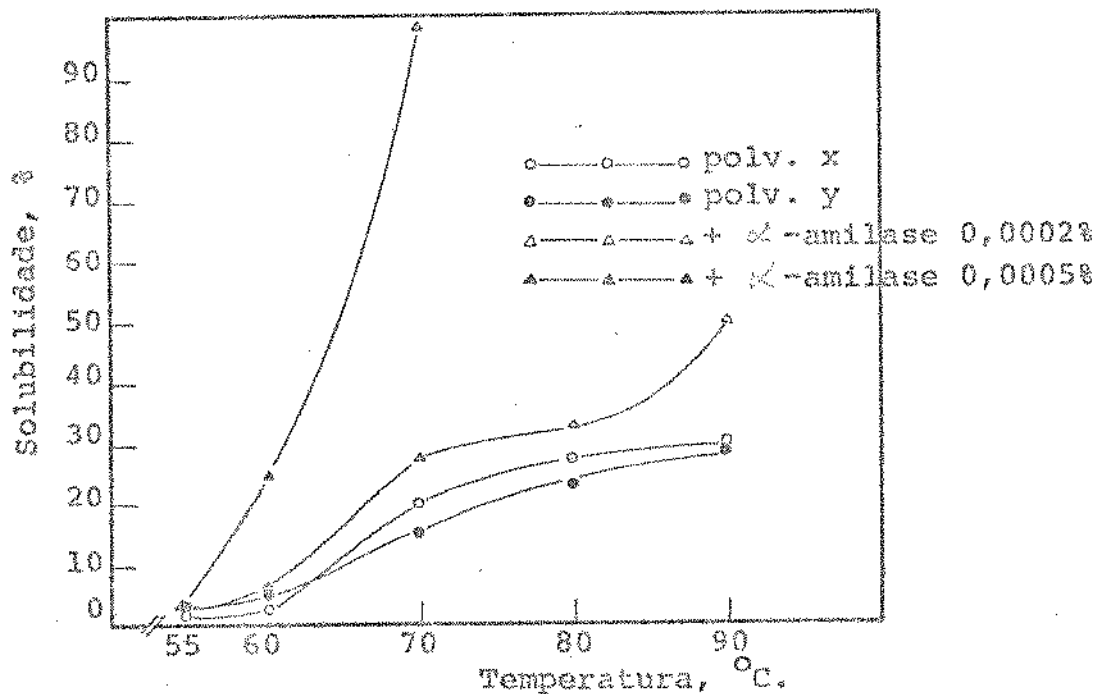


FIGURA 12. Solubilidade e Poder de Intumescimento em Água.



Efeito da acidificação (ácidos orgânicos) e adição de alfa-amilase bacteriana:



4. CONCLUSÕES

1. A fermentação de fécula de mandioca, para preparar o polvilho azedo apresenta variação de tempo conforme o grau de acidificação desejado, sua aplicação, o tratamento tecnológico dispensado e as condições ambientais.

2. Existem muitos microrganismos que se desenvolvem nesta fermentação, e tem encontrado freqüentemente *Bacillus* sp, *Lactobacillus* sp, leveduras, coliformes, *Leuconostoc* sp, e fungos.

3. A microflora varia muito, de um ensaio para outro e com o decorrer da fermentação, o que é natural, porque as condições no interior do tanque de fermentação variam, devido aos efeitos dos próprios microrganismos, favorecendo ou não a adaptação e atuação de cada um.

4. A contribuição dos microrganismos durante a fermentação é muito grande, havendo produção de ácidos orgânicos, gases, certos voláteis odoríferos e enzimas.

5. O polvilho, quando fermentado, solubiliza-se e intumescce mais facilmente em água do que o polvilho doce.

6. As pastas que se formam, no Viscôgrafo Brabender, pelo aquecimento de suspensão de polvilho azedo são bem menos viscosas que as de polvilho doce.

7. A adição de uma quantidade adequada de α amilase e/ou ácidos orgânicos pode fazer com que o polvilho doce adquira comportamento similar ao do polvilho azedo, quanto a características amilográficas, solubilidade e intumescimento em água.

8 . A expansão do biscoito, no nível desejado, não se consegue por simples adição à receita dos fatores supra referidos ou outro agente de crescimento testado.

9 . Os grânulos de polvilho fermentado conservam a morfologia dos grânulos de fécula de mandioca, quando suspensos em água, sulfóxido de dimetila e sob tratamento enzimático, a frio. Somente aparecem pequenas alterações morfológicas, quando são aquecidos até a temperatura próxima a de gelatinização.

10 . Na obtenção de biscoito, o polvilho azedo não pode ser substituído por féculas de batata e araruta fermentadas, provavelmente devido à estrutura dos seus grânulos.

5. BIBLIOGRAFIA

1. AKINRELE, I. A.; COOK, A. S. & HOLGATE, R. A. The manufacture of gari from cassava. Nigeria, Federal Institute of Industrial Research, 1962. 8p. (Report nº 12).
2. _____ et alii. Gari pilot plant (1 ton a day); results of 3 month trial run. Nigeria, Federal Institute of Industrial Research, 1962. 4p. (Report nº 13)
3. _____ et alii. Further studies on the fermentation of cassava. Nigeria, Federal Institute of Industrial Research. 1963. 13p. (Report nº 20).
4. ALBUQUERQUE, M. de. A mandioca na Amazônia. Belém, Pa, Superintendência do Desenvolvimento da Amazonia. Ministério do Interior. 1969. 277p.
5. _____. Estado atual das pesquisas com mandioca no IPEAN (Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Norte). Anais da 5. Reunião da Comissão Nacional da mandioca, Sete Lagoas, Minas Gerais, 12-16, 1971.
6. ANÔNIMO. A tiquira, aguardente de mandioca. Chãcaras e Quintais 85: 738-740, 1952.
7. A.O.A.C. Official methods of analysis of Association of Official Agriculture Chemists. Washington, D.C., 10th.ed.1965.
8. AYRES, J. C. Manioc, the potential exists for increased use of this tropical plant and its products. Food Technol. 26 (4): 128-138, 1972.
9. BEESCH, S. C. A microbiological process report; acetone-butanol fermentation of starches. Appl. Microbiol. 1: 85-95, 1953.

10. BRANCO, S. M. A dinâmica de populações microbianas na estabilização aeróbica de resíduos orgânicos de fecularias de mandioca. Rev. Saúde Publ., São Paulo, 1 (2): 126-140, 1967.
11. BROMELIUS. Mandioca "for ever": carimã e polvilho azedo. Chácaras e Quintais 62: 440-441, 1940.
12. CARPENTER, P. L. Microbiology. 2.ed. Philadelphia, W. B. Saunders. 1967. 476p.
13. CENTRO LATINO-AMERICANO DA MANDIOCA (CLAM). Proposição apresentada pela Reunião Latino-americana de farinhas e panificação, pelo CECTAL, no Inst. Tecnol. Agrícola e Alimentar, Rio de Janeiro, 10-14 de março de 1969. 5p.
14. CEREDA, M. P. Alguns aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca. Botucatu, 1973. 89p. Tese (Doutoramento). Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas.
15. COLLARD, P. & LEVI, S. A two-stage fermentation of cassava. Nature 183: 620-621, 1959.
16. _____. A species of *Corynebacterium* isolated from fermenting cassava roots. J.appl.Bacteriol. 26 (2): 115-116, 1963.
17. CORREA, H. Mandioca: do indígena à mecanização. Livro anual da agricultura. Brasília. p. 107-119. 1968.
18. CRISTALDO, J. C. La industria de la mandioca. Paraguay, Serviço Técnico Inter-americano de Cooperación Agrícola. Ministerio de Agricultura y Ganaderia. 1955. (Boletim 160).
19. CROSSLAND, L. B. & FAVOR, H. H. Starch gelatinization studies. II. A method for showing the stages in swelling of starch during heating in the amylograph. Cereal Chem. 25: 213-220, 1948.
20. D'APPOLONIA, B. L. Effect of bread ingredients on starch-gel-

atinization properties as measured by the amylograph. -

Cereal Chem. 49: 532-543, 1972.

21. DECRETO nº 12.278 de 22 de abril de 1943 - Aprova as especificações e tabelas para a classificação e fiscalização da exportação de produtos amiláceos - amidos ou féculas, tapioca, raspa e farinha de raspa - visando a sua padronização. Rio de Janeiro, Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura. 1944.
22. DIAS, C. A. C. & PINHEIRO, A. A. Situação atual da agroindústria da mandioca. 6p. mimeogr. 1969. s.l.p.
23. DIAZ, R. O. World cassava production and yield trends, 1960-1968. Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1972. (Bulletin RB-1)
24. EDWARDS, D. The industrial manufacture of cassava products: an economic study. London, Tropical Products Institute. 1974. 43p. (Report G88).
25. FIGUEIREDO, A. P. Sobre a indústria da mandioca (amido, goma ou polvilho). Chácaras e Quintais 53: 103, 1936.
26. FURUKI, M. et alii. Studies on the biological treatment of cyanide-containing waste (I). Cultivation of cyanide-resistant bacteria in a medium containing cyanide as the nitrogen source. J. Ferment. Technol. 50 (5): 298-304, 1972.
27. GALLANT, D.; MERCIER, C. & GUILBOT, A. Electron microscopy of starch granules modified by bacterial α -amilases. Cereal Chem. 49: 354-365, 1972.
28. GODOY, J. M. Fecularia e amidonaria. 2.ed. São Paulo, Secretaria de Agricultura, 1940. 288p.
29. GREENWOOD, C. T. Structure, properties and amylolytic degra-

- dition of starch. Food Technol. 18 (5): 138-142, 1964.
30. GRISWOLD, R. M. Estudo experimental dos alimentos; tradução de Avany Corrêa Santos. São Paulo, Ed. Edgard Blücher. 1972. 469p.
31. HARRIS, R. V. Effect of *Rhizopus* fermentation on the lipid composition of cassava flour. J.Sci. Food Agric. 21 (12): 626-627, 1970.
32. HAYASHIDA, M. et alii. Studies on the organic acids in sake brewing. J. Ferment. Technol. 48 (4): 243-248, 1970.
33. HELMUT, K. B. & SCHOLZ, W. Aspectos industriais da mandioca no Nordeste. Fortaleza, Ceará, Divisão de Agricultura, Banco do Nordeste do Brasil, Ministério do Interior. 1971. 203p.
34. HOLLEMAN, L. W. J. & ATEN, A. Elaboración de la yuca y sus productos en las industrias rurales. Cuaderno de Fomento - Agropecuario. Roma. 1956. 122p. (Colección FAO nº 54).
35. INGRAM, J. S. Cassava processing: commercially available machinery. London, Tropical Products Institute. 1972. 8p. (Report G 75)
36. KERR, R. W. Chemistry and industry of starch. 2.ed. New York, Academic Press. 1950. 719p.
37. KETIKU, A. O. & OYENUGA, V. A. Changes in the carbohydrate constituents of cassava root-tuber (*Manihot utilissima* Pohl) during growth. J. Sci. Food Agric. 23: 1451-1456, 1972.
38. KINOSHITA, S.; OKADA, H. & TERUI, G. Kinetic studies on enzyme production by microbes (II). Process kinetics of α -amylase production by *Bacillus subtilis*. J. of Ferment.

39. KOMAKI, T. Studies on enzymatic liquefaction and saccharification of starch. IV. Preparation and properties of insoluble starch particle remained in saccharified liquid of starch after treatment with bacterial alpha-amylase and glucoamylase. Agr. Biol. Chem. 32 (2): 123-129, 1968.
40. KURTZMAN, R. H. Jr.; JONES, F. T. & BAILEY, G. F. Dissolution of starches in dimethyl sulfoxide and variations in starches of several species, varieties and maturities. Cereal Chem. 50: 312-322, 1973.
41. LEACH, H. W.; MCCOWEN, L. D. & SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chem. 36: 534-544, 1959.
42. _____ & SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. II. Action of various amylases on granular starches. Cereal Chem. 38: 34-41, 1961.
43. _____ & _____. Structure of the starch granule. III. Solubilities of granular starches in dimethyl sulfoxide. Cereal Chem. 39: 318-327, 1962.
44. LEME Jr., J. Industrialização da mandioca. Piracicaba, ESALC 1965. 28p. mimeogr.
45. LEME Jr., J. Amideria e fecularia. Enciclopedia Delta-Larousse. 2.ed. 1967. v.14, p.7652-7656.
46. LIMA, O. G. Identificação e estudo dos mofos sacarificantes do amido na elaboração da aguardente tiquira, uma bebida regional do Maranhão. Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco. 4 (1) , 1943, 30p.
47. MACRITCHIE, F. & GRAS, P. W. The role of flour lipids in

- baking. Cereal Chem. 50: 292-302, 1973.
48. MAZURS, E. G.; SCHOCH, T. J. & KITE, F. E. Graphical analysis of the Brabender viscosity curves of various starches. Cereal Chem. 34 141-152, 1957.
49. MENDES, L. G. Aspectos econômicos da mandioca na Bahia. Instituto de Pesquisas Agropecuarias do Leste (IPEAL). Salvador Bahia. 1972. 15p. (série pesquisa nº 2).
50. MILLER, B. S.; DERBY, R.I. & TRIMBO, H. B. A pictorial explanation for the increase in viscosity of a heated wheat starch-water suspension. Cereal Chem. 50: 271-280, 1973.
51. MURATA, K.; IKEHATA, H. & MIYAMOTO, T. Studies on the nutritional value of tempeh. J. Food Sci. 32: 580-586, 1967.
52. MUSSULMAN, W. C. & WAGONER, J. A. Electron microscopy of unmodified and acid-modified corn starches. Cereal Chem. 45: 162-171, 1968.
53. MYERS, G. E. Paraformaldehyde-resistant starch-fermenting bacteria in "starch-base" drilling mud. Appl. Microbiol. 10: 418-421, 1962.
54. NOBRE, A. & MENEZES, D. M. A zona mandioqueira e as indústrias de farinha de mandioca do norte fluminense. Boletim Técnico do Centro de Tecnol. Agríc. Alim. Rio de Janeiro , nº 5, 31-39, 1973.
55. _____ & _____. Região de produção, cultura e industrialização da mandioca no Estado do Espírito Santo. Boletim Técnico do Centro de Tecnol. Agric. Alim., Rio de Janeiro, nº 9, 27- 37, 1973.
56. NORMAS TÉCNICAS ESPECIAIS RELATIVAS A ALIMENTOS E BEBIDAS; aprovadas pelo Decreto nº 52 504 de 26 de julho de 1970. Diário

do Executivo do Governo do Estado, São Paulo, 28 de julho de 1970.

57. NORMANHA, E. S. Produtos de mandioca: comumente fabricados no Brasil, e pouco ou nada fabricado no Brasil. Campinas. Instituto Agronomico. s.d. 1p.
58. OKE, O. L. Chemical studies on some Nigerian foodstuffs-"gari". Nature, 212: 1055-1056, 1966.
59. OXOID MANUAL OF CULTURA MEDIA, including ingredients and other laboratory services. 2.ed. London, 1962. 311p.
60. PARK, Y. K. Normalização dos métodos para determinação da atividade de algumas enzimas industriais. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1969. (Instruções técnicas, nº 2).
61. _____; PAPINI, R. S. & BÄR, W. H. Relação entre intumescimento, gelatinização e suscetibilidade dos amidos de mandioca. Rev. Brasil. de Tecnol. 2 (2): 95-100, 1971.
62. _____ et alii. Produção de amilase fúngica por fermentação submersa, por cultura em meio semi-sólido e seu uso em panificação. Rev. Brasil. de Tecnol. 2 (4): 187-192, 1971.
63. PEPPLER, H. J. Microbial technology. New York, Reinhold. 1967. 454p.
64. RAINBOW, C. & ROSE, A. H. Biochemistry of industrial microorganisms. London, Academic Press, 1963. 708p.
65. REED, G. Enzymes in food processing. New York, Academic Press, 1966. 483p.
66. ROSEMBERG, J. A. Pesquisa do conteúdo microbiológico da farinha de mandioca. Ciencia e Cultura, S.P., 11: 69-74, - 1959.

67. ROSENTHAL, F. R. T. et alii. Industrialização do amido de mandioca. 1. Variedades do Estado de Minas Gerais. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Tecnologia, Ministério da Indústria e do Comércio. 1973. 54p.
68. _____, et alii. Industrialização do amido de mandioca. 2. Estado do Pará. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Tecnologia, Ministério da Indústria e do Comércio. 1973. 115p.
69. _____ & LIMA, J. A. Perspectivas para o amido de mandioca. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Tecnologia, Ministério da Indústria e do Comércio. Julho de 1974. 138p.
70. _____ et alii. Structure of starch granules. Part 3. Some considerations on Leguminosae and Tuberosae. Die Stärke 26 (2): 50-56, 1974.
71. SCHMIDT, C. B. A mandioca; contribuição para o conhecimento de sua origem. Boletim de Agricultura da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. 25: 77-128, 1951.
72. SCHOLZ, H. & CATÃO, D. D. Mandioca; aspectos da cultura e da indústria. Fortaleza, Ceará, Banco do Nordeste do Brasil 1967. 289p.
73. SEKIGUCHI, J. & OKADA, H. Characterization of α -amilase produced by *Bacillus subtilis* Marburg strain. J. Ferment. Technol. 50(12): 910-913, 1973.
74. SPIEGEL, M. R. Estatística. Trad. de Pedro Cosentino. 2.ed. Rio de Janeiro, Mc Graw-Hill do Brasil. 1970. 580p. (Coleção SCHÄUM)
75. SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS. Manual of microbiological methods. New York, Mc Graw-Hill, 1957. cap. 3.
76. STANTON, W. R. & WALLBRIDGE, A. Fermented food process. -

77. STEINKRAUS, K. H.; VEEN, A. G. van & THIEBEAU, D. B. Studies on idli- an Indian fermented black gram-rice food. Food Technol. 21(6): 110-113, 1967.
78. TANAKA, K.; FURUKAWA, K. & MATSUMOTO, H. The effects of organic and inorganic acids on the physical properties of dough. J. Ferment. Technol. 45: 566-569, 1967.
79. TAVARES, M. Exportação de mandioca; atualidades e perspectivas. Anais da 5. Reunião da Comissão Nacional da Mandioca Sete Lagoas, Minas Gerais. p.63-68, 1971.
80. TAWFIK, M. E. H. & ATTIA, R. M. Action of bacterial α amylase on gelatinization characteristics of waxy-rice flour. Cereal Chem. 49: 343-346, 1972.
81. TEIXEIRA, C. G. Produção de álcool de mandioca. O Agrônomo 15 (11/12): 5, 1963.
82. TOSELLO, A. & VEIGA, A.A. A secagem do amido por ar quente. Bragantia 10 (12): 357-363, 1950.
83. WHISTLER, R. L. Methods in carbohydrate chemistry. New York Academic Press. 1964. v.4 331p.
84. _____ & PASCHALL, E. F. Starch; chemistry and technology. New York, Academic Press. 1965. v.1. 597p.
85. WILSON, J. T. & DONELSON, D. H. Studies on the dynamics of cake-baking. I. The role of water in formation of layer cake structure. Cereal Chem. 40: 465-481, 1963.

AGRADECIMENTO

Ao Professor Doutor YONG KUN PARK pela dedicação e compreensão como orientador.

Ao Doutor ANDRÊ TOSELLO, D. D. Diretor da Faculdade de Tecnologia de Alimentos desta Universidade, pelo apoio obtido.

Ao pessoal da Seção de Raízes e Tubérculos do Instituto Agronômico de Campinas, pelo valioso auxílio prestado.

Ao Senhor BENEDITO RIBEIRA CARVALHO e funcionários da Fábrica de Polvilho Azedo CARIBÊ, pela boa vontade e amostras concedidas.

Ao pessoal do Departamento de Engenharia desta Faculdade, pelo apoio, incentivo e amizade.

A TODOS que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho.