



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA DESCONTAMINAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA COM OZÔNIO

Emanuele Oliveira Cerqueira Amorim

Engenheira de Alimentos

Prof. Dr. Marcelo Cristianini

Orientador

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

CAMPINAS / SP

2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP**

Am65a Amorim, Emanuele Oliveira Cerqueira
Avaliação da eficiência da descontaminação de amido de mandioca
com ozônio / Emanuele Oliveira Cerqueira Amorim. -- Campinas, SP:
[s.n], 2011.

Orientador: Marcelo Cristianini
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Ozonização. 2. Amido de mandioca. 3. *Escherichia coli*. 4.
Bacillus subtilis. I. Cristianini, Marcelo. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

cars/bibfea

Título em inglês: Evaluation of the efficiency of the decontamination of cassava
starch with ozone

Palavras-chave em inglês (Keywords): Ozonation, Cassava starch, *Escherichia coli*,
Bacillus subtilis

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Marcelo Cristianini

Caroline Joy Steel

Elizabeth Harumi Nabeshima

Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos

Este exemplar corresponde à redação final da dissertação defendida por Emanuele Oliveira Cerqueira Amorim, aprovado pela Comissão Julgadora em ____ de _____ de 2011.

Prof. Dr. Marcelo Cristianini
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Caroline Joy Steel
(Membro)

Dr^a. Elizabeth Harumi Nabeshima
(Membro)

Prof. Dr. Arnaldo Yoshitero Kuaye
(Membro)

Dr. Mark Alexandrow Franchi
(Membro)

Dedico ao meu amor, Rodrigo, que foi o maior incentivador para a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela dádiva da vida e pela oportunidade concedida.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo fomento da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado concedida.

À empresa Corn Products Brasil, pela doação do amido de mandioca.

Ao Prof. Marcelo Cristianini, pela orientação e apoio durante a realização deste trabalho.

Aos membros da banca, pelas valiosas correções e sugestões.

Aos meus pais, pelo imenso amor, que foi indispensável para superar a dor da distância e da saudade.

Aos meus familiares, pelo carinho e apoio incondicional.

Ao meu esposo, por todo o apoio, paciência e compreensão, e principalmente pelo amor, que me deu a força necessária para continuar e chegar até o fim.

A Eliene e Clívia, pela amizade e pelos momentos compartilhados, que tornaram mais amena a imensa saudade de casa.

Aos colegas de laboratório, Alline e Pedro, pelas idéias compartilhadas e preciosa ajuda.

A Nanci e Vanessa, pelo auxílio na realização das análises.

Ao pessoal do Laboratório de Carnes e Processos, em especial Zé Roberto e Vanessa, pelo auxílio, pela disposição e paciência nas horas em que precisei.

A Ana Lourdes Gândara, pelo esclarecimento de dúvidas e pela atenção dispensada.

Aos técnicos do Departamento de Tecnologia de Alimentos, em especial Diana, Renata, Alessandra, Dirce e Alice, pelo apoio técnico e pela disponibilização dos equipamentos, e a Priscila Hoffman, do Departamento de Ciência de Alimentos, pela disponibilização do equipamento para centrifugação da suspensão de esporos.

Aos provadores que participaram dos testes sensoriais.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1. Produção brasileira de amido de mandioca de 1990 a 2009.....	12
Figura 1.2. Distribuição da produção brasileira de amido de mandioca por Estado, em 2009.....	12
Figura 1.3. Segmentação do mercado consumidor brasileiro de amido de mandioca em 2009.....	13
Figura 1.4. Geração do ozônio.....	27
Figura 2.1. Misturador de pó.....	57
Figura 2.2. Efeitos comparativos dos tratamentos controle e com ozônio (40 e 113 ppm) na inativação de <i>E. coli</i> em amido de mandioca com 18% de umidade.....	64
Figura 2.3. Influência da umidade do amido na eficiência da inativação de <i>E. coli</i> por ozônio.....	67
Figura 2.4. Efeito do ozônio na inativação de esporos de <i>B. subtilis</i> em amido de mandioca com 30% de umidade.....	70
Figura 3.1. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de cor.....	104
Figura 3.2. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de odor.....	106
Figura 4.1. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de cor.....	144
Figura 4.2. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de odor.....	146

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Composição da raiz de mandioca.....	7
Tabela 1.2. Estimativa do consumo de amido de milho e mandioca, por tipo de produto, em 2001.....	14
Tabela 1.3. Teor de amilose e lipídios de alguns amidos.....	15
Tabela 1.4. Padrão da ABAM para amido de mandioca.....	16
Tabela 1.5. Características físico-químicas de amido de mandioca.....	17
Tabela 2.1. Efeito do ozônio na população de <i>E. coli</i> em amido de mandioca com 18% de umidade.....	63
Tabela 2.2. Efeito do ozônio na população de <i>E. coli</i> em amido de mandioca com 30% de umidade.....	66
Tabela 2.3. Número de reduções decimais em esporos de <i>B. subtilis</i> em amido de mandioca com 18% de umidade.....	68
Tabela 2.4. Efeito do ozônio em esporos de <i>B. subtilis</i> em amido de mandioca com 30% de umidade.....	69
Tabela 3.1. Valores de pH das amostras.....	93
Tabela 3.2. Parâmetros de cor das amostras ozonizadas, controle e padrão.....	94
Tabela 3.3. Diferença total de cor (ΔE) das amostras ozonizadas com relação à padrão.....	95
Tabela 3.4. Conteúdos de carboxila e carbonila das amostras tratadas e sem tratamento.....	96
Tabela 3.5. Propriedades de pasta das amostras tratadas e sem tratamento.....	99
Tabela 3.6. Propriedades de pasta de amidos de mandioca nativos comerciais	99
Tabela 4.1. Umidade (%) das amostras ozonizada e padrão.....	131
Tabela 4.2. Valores de pH das amostras.....	133
Tabela 4.3. Parâmetros de cor das amostras.....	134
Tabela 4.4. Diferença total de cor (ΔE) das amostras.....	135
Tabela 4.5. Conteúdos de carboxila e carbonila das amostras.....	136
Tabela 4.6. Propriedades de pasta das amostras.....	139
Tabela 4.7. Características microbiológicas das amostras.....	142

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABAM	Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
CEPEA	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
CMC	Carboximetilcelulose
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
DNA	Ácido desoxirribonucléico
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EMBRARAD	Empresa Brasileira de Radiações
et al.	<i>et alii</i> - "e outros"
etc.	et cetera - "e outras coisas mais"
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
g	Grama
GRAS	<i>Generally Recognized As Safe</i>
h	Hora
hab	Habitante
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kg	Quilograma
kGy	Quilogray
kW	Quilowatt
L	Litro
m	Metro

mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
Mrad	Megarad (rad - radiation absorbed dose)
NaCl	Cloreto de sódio
nm	Nanômetro
NMP	Número Mais Provável
NRD	Número de Reduções Decimais
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppm	Parte por milhão
PVC	Cloreto de polivinila (ou Policloreto de vinila)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
rpm	Rotação por minuto
RVA	<i>Rapid Visco Analyser</i>
RVU	<i>Rapid Visco Units</i>
SUFRAMA	Superintendência da Zona Franca de Manaus
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV	Ultravioleta
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
N	Concentração normal de uma solução
N_0	Contagem inicial de microrganismos
N	Contagem final de microrganismos
γ	Gama
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius (ou Centígrado)
Log_{10}	Logaritmo de base 10
μm	Micrômetro
%	Porcentagem
ΔE	Variação de cor

RESUMO GERAL

O ozônio é considerado um sanitizante seguro para uso em produtos alimentícios pela sua propriedade de auto-decomposição em oxigênio, não deixando resíduos nos alimentos. O amido, por sua vez, é um produto de ampla aplicação na indústria de alimentos, especialmente pela sua propriedade de retenção de água e capacidade de formar géis. Neste estudo, avaliou-se a eficiência do ozônio como um método de descontaminação do amido de mandioca e a influência da umidade do produto na eficácia do tratamento. Além disso, verificou-se o efeito do tratamento nas características físico-químicas, sensoriais e nas propriedades de pasta do amido e, posteriormente, estudou-se o comportamento do produto tratado com ozônio, durante dois meses de estocagem. Em amido de mandioca com 18% de umidade, foram empregadas concentrações de ozônio no ar de 40 e 113 ppm para avaliar a inativação de *E. coli*, e uma concentração de 118 ppm, para avaliação da inativação de esporos de *B. subtilis*. Os tempos de exposição ao ozônio empregados foram de 30, 60, 90 e 120 minutos. O tratamento durante 120 minutos, nas duas concentrações estudadas, promoveu uma redução de aproximadamente 2 ciclos logarítmicos na população de *E. coli* inoculada no amido. Para os esporos de *B. subtilis*, por sua vez, os tratamentos não resultaram em inativação significativa (< 1 ciclo log). Em amido com 30% de umidade, foram estudadas as concentrações de 40 e 118 ppm de ozônio para avaliar a inativação de *E. coli* e esporos de *B. subtilis*. Na menor concentração e maior tempo de exposição empregados (40 ppm/120 minutos), foi obtida uma redução de 3,6 ciclos logarítmicos na população de esporos de *B. subtilis*. E na concentração de 118 ppm, aos 90 e 120 minutos de tratamento, foram obtidas reduções superiores a 5 ciclos logarítmicos. Para a população de *E. coli*, por sua vez, os tratamentos a 40 ppm durante 60 minutos e 118 ppm por 30 minutos foram responsáveis pela obtenção de reduções superiores a 6 ciclos logarítmicos na concentração do microrganismo inoculado. Para avaliação do efeito do ozônio nas características físico-químicas (pH, cor e oxidação), sensoriais (cor e odor) e nas propriedades de pasta do amido de mandioca, o produto com 30% de umidade foi submetido aos tratamentos com ozônio gasoso nas concentrações de 40 e 118 ppm por 30, 60, 90 e 120 minutos para a menor, e por 30 e 60 minutos para a maior concentração. O pH das amostras ozonizadas foi significativamente inferior ($p < 0,05$) ao pH da amostra não tratada. No entanto, a cor e o conteúdo de carboxila e carbonila do amido de mandioca não foram significativamente alterados pelo ozônio. Por sua vez, as propriedades de pasta do amido ozonizado foram parcialmente alteradas, sendo que o efeito do ozônio foi mais evidente nos parâmetros de pico de viscosidade e *breakdown*, proporcionando a obtenção de pastas de amido com maior poder de intumescimento e com menor estabilidade de pasta durante o cozimento sob agitação. Na avaliação sensorial, o efeito do ozônio foi mais evidente no atributo de odor do que no atributo de cor, sendo que metade das amostras ozonizadas sofreu o efeito do ozônio nas suas características sensoriais. Para avaliação das características físico-químicas, sensoriais, microbiológicas e das propriedades de pasta do amido de mandioca tratado com ozônio, durante dois meses de estocagem, o produto com 30% de umidade foi submetido a 118

ppm de ozônio durante 90 minutos. Com exceção do pH, as características físico-químicas (umidade, cor e oxidação) do amido de mandioca não foram significativamente alteradas pelo ozônio. Nas propriedades de pasta, o efeito do ozônio foi mais evidente nos parâmetros de pico de viscosidade, *breakdown* e *setback*, proporcionando a obtenção de pastas de amido com maior poder de intumescimento, menor estabilidade de pasta durante o cozimento sob agitação e menor tendência à retrogradação. O tratamento com ozônio provocou alterações significativas nas características sensoriais de cor e odor do amido, sendo seu efeito mais notável no segundo atributo. Os resultados obtidos no estudo das características do amido, ao longo do período de estocagem, indicaram uma maior estabilidade do produto quando o tratamento de ozonização foi empregado, evidenciada principalmente pelas variáveis físico-químicas. Quanto às características microbiológicas, as amostras estudadas estavam de acordo com a legislação vigente e a ozonização proporcionou a redução da concentração de *B. cereus* do produto. Além disso, a carga microbiana das amostras permaneceu inalterada ao longo do período de estocagem.

Palavras-chave: Ozonização. Amido de mandioca. *Escherichia coli*. *Bacillus subtilis*.

SUMMARY

Ozone is considered a safe sanitizer to use in foods, due to its property of self-decomposition into oxygen, leaving no residue in food. Starch, on the other hand, is widely used in food industries due to its high water-holding capacity and ability to form gels. In this study, the effectiveness of ozone as a method of decontamination of cassava starch and the influence of the moisture content of the product on ozone efficiency were studied. Furthermore, the effect of the ozone on the physicochemical and sensory characteristics and pasting properties of cassava starch was determined. Also, the behavior of the starch treated with ozone was studied during two months of storage. In starch with a final moisture content of approximately 18%, ozone concentrations of 40 and 113 ppm were employed to evaluate the inactivation of *E. coli* and a concentration of 118 ppm, to evaluate the inactivation of *B. subtilis* spores. The exposure times used were 30, 60, 90 and 120 minutes. The treatments of 120 minutes, in the concentrations of 40 and 113 ppm, promoted a decrease of about 2 logarithmic cycles on the population of *E. coli*. For the spores of *B. subtilis*, the treatments with ozone did not result in a significant inactivation (<1 decimal reduction). In starch with a final moisture content of approximately 30%, ozone concentrations of 40 and 118 ppm were employed to evaluate the inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* spores. In the lower concentration and a higher exposure time employed (40 ppm/120 minutes), a reduction of 3.6 logarithmic cycles was obtained in the population of *B. subtilis* spores. At 118 ppm of ozone, for 90 and 120 minutes of treatment, the concentration of those microorganisms suffered decreases of above 5 logarithmic cycles. For the population of *E. coli*, on the other hand, the treatments at 40 ppm/60 minutes and 118 ppm/30 minutes were necessary to obtain decreases of above 6 logarithmic cycles in the concentration of the inoculated microorganism. In order to evaluate the effect of ozone on the physicochemical and sensory characteristics and pasting properties of cassava starch, the product with 30% of moisture was exposed to gaseous ozone at approximate concentrations of 40 ppm for 30, 60, 90 and 120 minutes and 118 ppm for 30 and 60 minutes. The pH of the ozonized samples was significantly lower ($p < 0.05$) than the pH of the standard sample. However, the color and the carboxyl and carbonyl contents of the cassava starch were not altered significantly by ozone. On the other hand, the pasting properties of ozonized starch were partially altered and the effect of ozone was more evident on the peak viscosity and breakdown. The ozonized samples presented higher peak viscosities and lower cooking stability under agitation than the untreated and control samples. In the sensory evaluation, the effect of ozone on the odor attribute was more pronounced than on the color, with half of the ozonized samples having suffered the effect of ozone on their sensory characteristics. To evaluate, during two months of storage, the physicochemical, sensory, rheological and microbiological characteristics of the cassava starch treated with ozone, the product with 30% of moisture was exposed to gaseous ozone at a concentration of 118 ppm for 90 minutes. Except for the pH, the physicochemical characteristics (moisture, color and oxidation) of cassava starch were not altered significantly by ozone. On the pasting properties, the effect of ozone was more evident on the peak viscosity,

breakdown and setback. The ozonized samples presented higher peak viscosities, lower cooking stability under agitation and lower retrogradation than the untreated sample. The sensory characteristics of cassava starch were significantly altered by ozone and the odor was the most affected attribute. The results obtained indicated that, during the storage period, the ozonized sample was more stable than the untreated sample, especially as regards to physicochemical characteristics. For the microbiological characteristics, the samples studied were in accordance with current legislation and the ozonation treatment reduced the population of *B. cereus* in cassava starch. Furthermore, during the storage period, the microbial load of the samples remained unchanged.

Keywords: Ozonation. Cassava starch. *Escherichia coli*. *Bacillus subtilis*.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS	xv
RESUMO GERAL.....	xvii
SUMMARY	xix
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
1 MANDIOCA.....	7
2 AMIDO	9
2.1 AMIDO DE MANDIOCA.....	11
2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO AMIDO	14
2.3 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO AMIDO	18
2.4 IMPORTÂNCIA DO AMIDO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS.....	20
2.5 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO AMIDO	21
3 OZÔNIO.....	25
3.1 ASPECTOS HISTÓRICOS	25
3.2 GERAÇÃO DO OZÔNIO	26
3.3 PROPRIEDADES DO OZÔNIO	28
3.4 MECANISMO DE AÇÃO.....	29
3.5 APLICAÇÃO DO OZÔNIO EM GRÃOS E PRODUTOS SECOS	30
3.6 EFEITO DO OZÔNIO EM HIDROCOLÓIDES	35
REFERÊNCIAS	37
CAPÍTULO 2. AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO OZÔNIO NA INATIVAÇÃO DE <i>E. coli</i> E ESPOROS DE <i>B. subtilis</i> EM AMIDO DE MANDIOCA.....	47
RESUMO.....	49
ABSTRACT	51
1 INTRODUÇÃO	53
2 MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1 MATERIAL	55
2.1.1 Matéria-prima	55

2.1.2	Microrganismos de inoculação.....	55
2.1.3	Sistema de geração de ozônio.....	55
2.1.4	Analisador de ozônio.....	56
2.1.5	Misturador de pó.....	56
2.2	MÉTODOS.....	57
2.2.1	Preparo da suspensão de <i>E. coli</i>	57
2.2.2	Preparo da suspensão de esporos de <i>B. subtilis</i>	58
2.2.3	Determinação do binômio temperatura/tempo de ativação dos esporos de <i>B. subtilis</i>	59
2.2.4	Inoculação.....	59
2.2.5	Tratamento com ozônio.....	60
2.2.6	Análises microbiológicas.....	61
2.2.7	Análise estatística.....	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
3.1	AVALIAÇÃO DA INATIVAÇÃO DE <i>Escherichia coli</i>	63
3.1.1	Amido com 18% de umidade.....	63
3.1.2	Amido com 30% de umidade.....	65
3.2	AVALIAÇÃO DA INATIVAÇÃO DE ESPOROS DE <i>Bacillus subtilis</i>	68
3.2.1	Amido com 18% de umidade.....	68
3.2.2	Amido com 30% de umidade.....	69
4	CONCLUSÕES.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72
	CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DO EFEITO DO OZÔNIO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E PROPRIEDADES DE PASTA DO AMIDO DE MANDIOCA.....	77
	RESUMO.....	79
	ABSTRACT.....	81
1	INTRODUÇÃO.....	83
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	85
2.1	MATERIAL.....	85
2.1.1	Matéria-prima.....	85
2.1.2	Sistema de geração de ozônio.....	85
2.1.3	Analisador de ozônio.....	85
2.1.4	Misturador de pó.....	86
2.2	MÉTODOS.....	87
2.2.1	Tratamento com ozônio.....	87
2.2.2	Análises físico-químicas.....	88
2.2.2.1	Determinação de pH.....	88

2.2.2.2	Análise de cor	89
2.2.2.3	Determinação do conteúdo de carboxila e carbonila	89
2.2.3	Propriedades de pasta	91
2.2.4	Análise sensorial	92
2.2.5	Análise estatística	92
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
3.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	93
3.1.1	Análise de pH	93
3.1.2	Análise de Cor	94
3.1.3	Conteúdo de carboxila e carbonila	96
3.2	PROPRIEDADES DE PASTA	98
3.3	ANÁLISE SENSORIAL	103
3.3.1	Cor	104
3.3.2	Odor	105
4	CONCLUSÕES	108
	REFERÊNCIAS	110
	CAPÍTULO 4. AMIDO DE MANDIOCA TRATADO COM OZÔNIO: AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS, REOLÓGICAS E MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO DURANTE SUA ESTOCAGEM	113
	RESUMO	115
	ABSTRACT	117
1	INTRODUÇÃO	119
2	MATERIAL E MÉTODOS	121
2.1	MATERIAL	121
2.1.1	Matéria-prima	121
2.1.2	Sistema de geração de ozônio	121
2.1.3	Analisador de ozônio	121
2.1.4	Misturador de pó	122
2.2	MÉTODOS	123
2.2.1	Tratamento com ozônio	123
2.2.2	Análises físico-químicas	124
2.2.2.1	Determinação de umidade	124
2.2.2.2	Determinação de pH	124
2.2.2.3	Análise de cor	125
2.2.2.4	Determinação do conteúdo de carboxila e carbonila	126
2.2.3	Propriedades de pasta	127
2.2.4	Análises microbiológicas	128
2.2.5	Análise sensorial	129

2.2.6	Análise estatística	130
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	131
3.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	131
3.1.1	Análise de umidade	131
3.1.2	Análise de pH	132
3.1.3	Análise de Cor	133
3.1.4	Conteúdo de carboxila e carbonila	136
3.2	PROPRIEDADES DE PASTA	138
3.3	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	142
3.4	ANÁLISE SENSORIAL	144
3.4.1	Cor	144
3.4.2	Odor	145
4	CONCLUSÕES	148
	REFERÊNCIAS	149
	APÊNDICE A – Propriedades de pasta das amostras de amido avaliadas em <i>Rapid Visco Analyser (RVA)</i>	153
	APÊNDICE B – Ficha de avaliação sensorial	157
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	159

INTRODUÇÃO GERAL

Enfermidades relacionadas a microrganismos, tais como *Listeria* e cepas virulentas de *Escherichia coli*, vêm despertando o interesse por novos desinfetantes para uso nos processos de obtenção de alimentos (RICHARDSON et al., 1998). Além disso, o acúmulo de produtos químicos no ambiente tem aumentado o foco no uso seguro de sanitizantes, agentes de branqueamento, pesticidas e outros produtos empregados no processamento de alimentos (GRAHAM, 1997).

Nesse contexto, o aumento da necessidade por sanitizantes mais eficazes no controle de infecções e doenças concorre com a necessidade de redução do acúmulo de resíduos químicos, para manter a segurança do ar, da água e do próprio alimento (GRAHAM, 1997).

Dessa forma, a indústria tem buscado desinfetantes que sejam efetivos contra patógenos comuns e emergentes e, ao mesmo tempo, seguros para uso em muitas aplicações específicas do processamento de alimentos (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

O ozônio apresenta certas características que o tornam atrativo para uso como sanitizante no processamento de alimentos. É um forte agente antimicrobiano, com alta reatividade e decomposição espontânea em produtos não tóxicos (oxigênio) (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Como se decompõe rapidamente formando oxigênio, seu uso é seguro, sem preocupações quanto ao consumo de ozônio residual em produtos alimentícios (GRAHAM, 1997; SHARMA; DEMIRCI, 2003). O ozônio tem apresentado resultados satisfatórios na inativação da microflora de carnes, ovos, aves, peixes, frutas, vegetais e produtos secos (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

Os amidos e derivados são amplamente utilizados nas indústrias agroalimentares, podendo ser empregados como ingredientes, componentes básicos ou aditivos adicionados em baixas quantidades, para melhorar a fabricação, apresentação ou conservação dos produtos. As indústrias empregam o amido para diversos fins, tais como espessante em sopas, caldos e molhos de

carne, superfície anti-absorção em frituras, ligante em embutidos, formador de gel em balas e pudins, estabilizante em molhos de salada, entre outros. Além do consumo em alimentos, grande quantidade de amido é destinada a empresas não alimentares, tais como indústrias papeleiras, têxteis, farmacêuticas, indústrias de cosméticos e produtos de higiene (CEREDA et al., 2001).

O amido de mandioca é o segundo mais importante amido extraído no Brasil, sendo o amido de milho seu principal concorrente (CEREDA; VILPOUX, 2005). Em 2001, o consumo de amido de milho e mandioca no Brasil foi de 1,6 milhões de toneladas, dos quais 36% provinham da mandioca (VILPOUX, 2005b).

O amido de mandioca pode apresentar uma elevada carga microbiana, com grande percentual de bactérias esporuladas, provavelmente pela origem da matéria-prima, que é uma raiz. Para reduzir a carga microbiana, as fecularias têm usado o hipoclorito de sódio ou o peróxido de hidrogênio, ambos agentes oxidantes também utilizados para a produção de amidos quimicamente modificados. A utilização incorreta ou dosagens inadequadas podem dar origem a modificações nas propriedades funcionais dos amidos (CEREDA; VILPOUX, 2005).

De acordo com Cereda e Vilpoux (2005), o amido é um material de difícil esterilização, em razão das suas propriedades, e no caso do amido de mandioca esse fato é agravado pela baixa temperatura de gelatinização. O amido de mandioca é muito utilizado na indústria de derivados cárneos, e grande parte dele é empregado na fabricação de produtos (embutidos, por exemplo) que não passam por processo de esterilização, o que pode levar à sobrevivência de microrganismos ocasionalmente presentes no amido adicionado.

Segundo a WHO/FAO (2004), a adição de amido em fórmulas infantis em pó pode apresentar um risco de contaminação do produto por *Enterobacter sakazakii* - patógeno emergente e preocupante do ponto de vista de saúde pública, que pode causar graves seqüelas e até mesmo a morte de lactentes. A ampla utilização do amido como ingrediente alimentício requer a incorporação de programas efetivos de controle de perigos, onde se destaca o plano APPCC

(Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) pelo seu importante papel no controle de perigos microbiológicos, físicos e químicos.

Estudos relacionados à aplicação da irradiação em amidos e outros hidrocolóides relatam alterações decorrentes do referido tratamento, sendo as alterações na estrutura dos grânulos de amido, redução do peso molecular, mudanças na cor e diminuição da viscosidade as mais freqüentemente mencionadas (DOGAN; KAYACIER; IC, 2007; YU; WANG, 2007; ZAIED et al., 2007).

Diversas aplicações do ozônio em alimentos têm sido estudadas, destacando-se o processamento de sucos de frutas (TIWARI et al., 2008b; 2009a; 2009b); higienização de frutas e vegetais (ACHEN; YOUSEF, 2001; BIALKA; DEMIRCI, 2007; KIM; YOUSEF; CHISM, 1999; NAJAFI; KHODAPARAST, 2009); descontaminação de pimenta e pistache (AKBAS; OZDEMIR, 2006; 2008b; EMER; AKBAS; OZDEMIR, 2008; KETTERINGHAM et al., 2006; ZHAO; CRANSTON, 1995), entre outros. Por outro lado, informações sobre o uso de ozônio em cereais e produtos à base de cereais são ainda limitadas (IBANOGLU, 2001; WU; DOAN; CUENCA, 2006).

Tendo em vista as dificuldades de esterilização do amido e as alterações indesejáveis provenientes da irradiação e, considerando as propriedades atrativas do ozônio como sanitizante, este pode ser uma alternativa para a descontaminação do produto. Além disso, do ponto de vista tecnológico, o conhecimento dos efeitos do ozônio sobre as características do amido pode ser útil, bem como o conhecimento mais aprofundado dessa tecnologia pode viabilizar sua aplicação em outros produtos em pó, como por exemplo, outros hidrocolóides extraídos de plantas e sementes (goma guar, acácia, etc.) e especiarias.

A RDC 12 (BRASIL, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos, referencia para amido os limites máximos de *Bacillus cereus*, coliformes a 45°C e *Salmonella*. Para avaliação da descontaminação do amido de mandioca por ozônio utilizou-se a *E. coli*, como representante do grupo dos coliformes a 45°C, e o *B. subtilis*, em função da inviabilidade de inoculação de *B. cereus*, pela sua patogenicidade, e também por ser o *B. subtilis*, na sua forma esporulada, o

microrganismo-teste comumente utilizado para avaliação da eficiência de sanitizantes químicos. Além da não patogenicidade, o uso de esporos de *B. subtilis* em testes de inativação é vantajoso devido à facilidade de cultivá-los, segundo Driedger et al. (2001).

A partir do que foi exposto, os objetivos deste estudo foram:

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de ozônio e tempos de exposição na inativação de *Escherichia coli* e esporos de *Bacillus subtilis* inoculados em amido de mandioca, e verificar a influência da umidade do produto na eficiência do tratamento;

- Avaliar o efeito do processamento com ozônio nas características físico-químicas (pH, cor e oxidação), sensoriais (cor e odor) e nas propriedades de pasta do amido;

- Estudar o comportamento do amido tratado com ozônio, durante dois meses de estocagem, através da avaliação das características físico-químicas, sensoriais, propriedades de pasta e das características microbiológicas (contagem de *B. cereus*, coliformes a 45°C e *Salmonella* - conforme a RDC 12/2001) do produto.

CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 MANDIOCA

A mandioca é uma planta arbustiva, perene, pertencente à família Euforbiáceas. É de fácil propagação, possui ampla adaptação às mais diversas condições de clima e solo, apresenta potencial resistência a pragas e doenças e tolerância à seca (CEREDA; VILPOUX, 2003; CEREDA; VILPOUX; TAKAHASHI, 2003).

A cultura da mandioca possui várias utilidades, desde o consumo da raiz, produção de farinha, fécula, chips, amidos modificados e, mais recentemente, o uso para a produção de álcool (MANDIOCA BRASILEIRA, 2009). A parte mais utilizada da planta é a raiz, rica em amido, sendo usada na alimentação humana e de animais ou como matéria-prima para diversas indústrias (CEREDA; VILPOUX; TAKAHASHI, 2003), existindo mais de 600 tipos de produtos possíveis de se obter a partir da raiz de mandioca (MANDIOCA BRASILEIRA, 2009).

As raízes de mandioca apresentam em média 62% de umidade, 1,3% de fibras, 34% de carboidratos e 1,1% de cinzas (LEONEL; JACKEY; CEREDA, 1998). Acumulam amido como principal componente, o qual corresponde a aproximadamente 80% da massa seca, como observado na Tabela 1.1.

Tabela 1.1. Composição da raiz de mandioca

Componente	% massa seca
Amido	82,5
Açúcares redutores	0,20
Fibras	2,70
Proteínas	2,60
Matéria graxa	0,30
Cinzas	2,40

Massa seca (%): 40,6; Amido (% Massa úmida): 33,5.
Fonte: Adaptado de Cereda, Vilpoux e Takahashi (2003).

Em 2008, o Brasil se destacou como o terceiro maior produtor mundial de mandioca, com uma participação de 11,1% do total produzido, ficando atrás apenas da Nigéria (19,1%) e da Tailândia (11,8%) (FELIPE; ALVES; CAMARGO, 2010). De acordo com dados do IBGE (2008), a produção brasileira de mandioca nos anos de 2007 e 2008 foi de aproximadamente 26,9 e 26,6 milhões de

toneladas, respectivamente. A expectativa para 2010 é que a produção seja em torno de 27,5 milhões de toneladas (ABAM, 2010). A maioria da produção brasileira de mandioca destina-se à fabricação de farinha, e o restante divide-se entre alimentação humana e animal e processamento para obtenção de amido (CEREDA et al., 2001; CEREDA; VILPOUX; TAKAHASHI, 2003).

No Brasil, importante característica dessa cultura é o fato de ser produzida em todas as unidades da Federação. Em 2007, dentre os principais estados produtores destacaram-se o Pará, com 18,8% da safra nacional, a Bahia com 16,1%, seguida pelo Paraná, com 13,7%, destacando-se ainda outras unidades federativas como Maranhão (6,4%), Rio Grande do Sul (4,9%) e São Paulo (4,1%), que em conjunto foram responsáveis por 64% da produção do país (IBGE, 2008).

As Regiões Norte e Nordeste destacam-se como principais produtoras e consumidoras, sendo a produção essencialmente utilizada na dieta alimentar, na forma de farinha. Nas Regiões Sul e Sudeste, a maior parte da produção é orientada para a indústria, principalmente nos Estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais (EMBRAPA, 2003); na região de Cândido Mota, considerada o maior pólo produtivo de mandioca no estado de São Paulo, 95% do total produzido é destinado à indústria (MANDIOCA BRASILEIRA, 2009).

O consumo *per capita* mundial de mandioca e derivados, em 1996, foi de 17,40 kg/hab/ano, enquanto que o Brasil apresentou um valor de 50,60 kg/hab/ano (EMBRAPA, 2003).

Embora seja um dos principais alimentos amiláceos em nível mundial, a mandioca disputa com os cereais sua posição de matéria-prima para processos industriais (CEREDA; VILPOUX; TAKAHASHI, 2003). O milho, por ser um grão, tem condições de ficar armazenado, e abastecer o mercado de amido ao longo do ano. Já a raiz de mandioca, que é perecível, precisa ser industrializada para depois ser armazenada. As características do milho permitem, no entanto, um mercado mais estável, enquanto a fécula de mandioca, ainda carece de uma estrutura da indústria e de logística para competitividade (MANDIOCA BRASILEIRA, 2009).

2 AMIDO

Amido é o produto amiláceo extraído de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes e rizomas (APLEVICZ; DEMIATE, 2007), e constitui a mais importante reserva de nutrição das plantas superiores (BOBBIO; BOBBIO, 2003). É extraído dos vegetais sob a forma de pequenos grânulos, que podem apresentar formas e tamanhos variados dependendo da fonte botânica (WURZBURG, 1989).

O amido é um polímero natural de elevado peso molecular, formado de moléculas de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas (CEREDA; VILPOUX; DEMIATE, 2003). É composto pelos polissacarídeos amilose e amilopectina, cujas proporções variam de acordo com as diferentes espécies vegetais, e mesmo entre amidos provenientes de uma mesma espécie, dependendo do grau de maturação das plantas (BOBBIO; BOBBIO, 2003). A amilose é formada por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4 que lhe dão configuração retilínea, enquanto a amilopectina é um polímero ramificado, de maior peso molecular, com ligações α -1,4 e α -1,6 (CEREDA; VILPOUX; DEMIATE, 2003).

A Resolução CNNPA nº 12, de 1978 (BRASIL, 1978), já revogada, classificava os produtos amiláceos em amidos e féculas, sendo os primeiros definidos como o produto amiláceo extraído das partes aéreas comestíveis dos vegetais (cereais, sementes etc.), e fécula como o produto amiláceo extraído das partes subterrâneas comestíveis dos vegetais (raízes, tubérculos e rizomas). A RDC 263, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), em vigor, define amido como sendo o produto amiláceo extraído de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes ou rizomas, podendo ser designado de fécula quando proveniente das três últimas fontes citadas.

Pelo fato de ser facilmente hidrolisado e digerido, o amido é um dos elementos mais importantes da alimentação humana, representando uma grande fonte de carboidratos e fornecendo de 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem (BOBBIO; BOBBIO, 2003; CEREDA et al., 2001; LEONEL; CEREDA, 2002).

O amido é utilizado em todos os países e seu consumo aumenta com o grau de desenvolvimento (CEREDA et al., 2001). A média de consumo de amidos (nativos e modificados) por habitante, em 2000, foi da ordem de 10 kg nos principais países industrializados, contra cerca de 1 kg nos países em desenvolvimento (VILPOUX, 2005a).

A produção mundial de amido em 2005 foi de aproximadamente 60 milhões de toneladas e a estimativa do consumo mundial indica um forte crescimento para os anos seguintes, com a passagem da produção para 70 milhões de toneladas em 2010 (VILPOUX, 2005a).

O mercado mundial de amido está dividido em cinco matérias-primas (milho, trigo, mandioca, batata e batata-doce), quatro delas de origem tropical (VILPOUX, 2005a). Os cereais são a principal fonte de amidos comerciais na maioria dos países desenvolvidos (MOORTHY, 2002), e dentre eles, o milho é a fonte mais significativa, com 75% da produção mundial de amido, sendo a principal fonte de amido nos Estados Unidos (99% da produção), na Europa (46%), na Ásia e no Brasil. Apenas a Tailândia e alguns poucos países da Ásia possuem outras matérias-primas como principal fonte para obtenção de amido (VILPOUX, 2005a).

No Brasil, a produção anual de amido é em torno de um milhão de toneladas, e o setor de produção de amido de milho é muito concentrado, com duas empresas de origem americana responsáveis por 70% da produção total de amido (milho mais mandioca) ou quase 100% da produção de amido de milho. Já o setor de amido de mandioca é muito disperso, apresentando mais de 60 empresas que são responsáveis por apenas 30% da produção total de amido no Brasil (CEREDA et al., 2001).

Nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, o consumo de amido se destina basicamente ao uso alimentar direto, na forma de alimentos cozidos ou processados em forma de farinha, ou outros produtos de elaboração simples, muitas vezes artesanal. Já nos países desenvolvidos, as indústrias são as principais consumidoras de amido (CEREDA et al., 2001).

Nas indústrias de alimentos, o amido é utilizado para diversos fins, tais como espessante em sopas, caldos e molhos de carne; superfície anti absorção em frituras; ligante em embutidos; formador de gel em balas e pudins; estabilizante em molhos de saladas, etc. Nas indústrias de papel, o amido é usado como adesivo das fibras de celulose e, nas têxteis, a goma de amido é empregada para produzir fios mais resistentes. O amido tem sido utilizado também na elaboração de compostos farmacêuticos, na produção de resinas naturais e na elaboração de materiais termoplásticos biodegradáveis (CEREDA et al., 2001).

2.1 AMIDO DE MANDIOCA

A produção mundial de amido de mandioca supera 4 milhões de toneladas, sendo possível estimar que o amido de mandioca seja a segunda fonte de amido no mundo, perdendo apenas para o milho, mas à frente do trigo e da batata (VILPOUX, 2003).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de amido de mandioca, apesar de apresentar pouca participação no mercado internacional (FELIPE; ALVES; CAMARGO, 2010). A Figura 1.1 mostra a evolução da produção de amido de mandioca no Brasil no período de 1990 a 2009.

A produção brasileira de amido de mandioca em 2008 foi 12% superior ao ano de 2007. O consumo no mercado de amido de mandioca também cresceu em 2008, sendo o setor alimentício responsável por boa parte do consumo do amido de mandioca comercializado (ABAM, 2009).

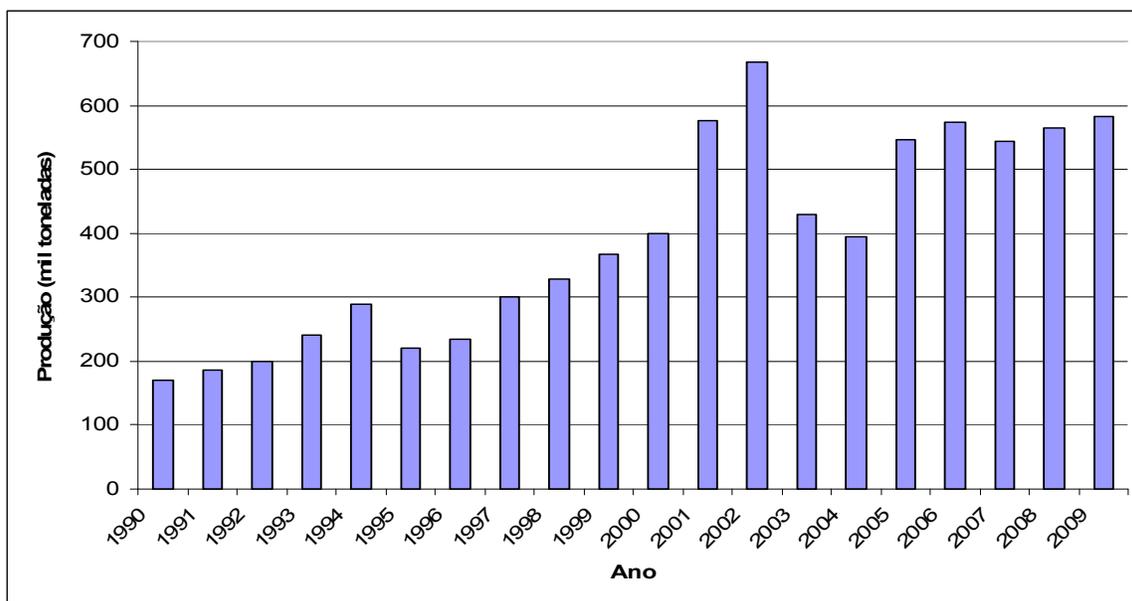


Figura 1.1. Produção brasileira de amido de mandioca de 1990 a 2009
 Fonte: Adaptado de CEPEA/ABAM (2010).

Em 2009, a produção brasileira de amido de mandioca atingiu 583,8 mil toneladas, sendo a segunda maior desde o início da série histórica (ABAM, 2010). No referido ano, o Paraná foi o principal produtor de amido de mandioca no Brasil, com 71% do total nacional, seguido pelo Mato Grosso do Sul (14%), São Paulo (13%), Santa Catarina (1%) e Goiás (1%), como mostra a Figura 1.2.

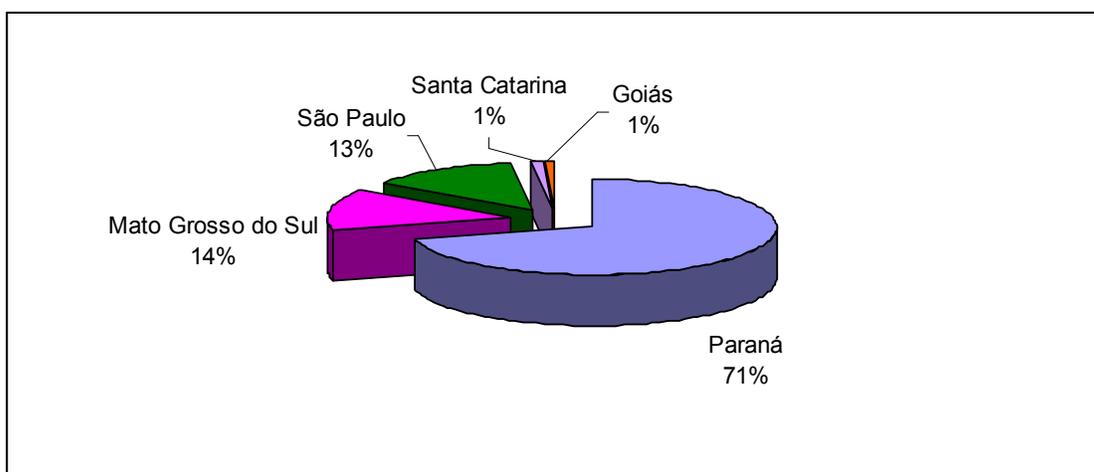


Figura 1.2. Distribuição da produção brasileira de amido de mandioca por Estado, em 2009
 Fonte: Adaptado de CEPEA/ABAM (2010).

Entre os principais estados consumidores de amido de mandioca, destaca-se a participação de São Paulo, com consumo de 42%, seguido por Paraná (15%), Minas Gerais (13%), Santa Catarina (8%), Distrito Federal (6%), Goiás (6%) e Rio Grande do Sul (3%). Os demais 7% são distribuídos entre os outros estados. Em 2005, do total de amido de mandioca consumido, 54% foram de amido natural (amido não fermentado ou polvilho doce), 42% de amido modificado e 4% de polvilho azedo (CEPEA, 2005).

Entre os principais segmentos industriais compradores de amido de mandioca, em 2009, destacaram-se os setores de papel e papelão e de atacadistas, com 23,8% e 19,8%, respectivamente, do total de amido vendido. Na seqüência, estiveram o setor de massa, biscoito e panificação (18,7%) e os frigoríficos (16,3%), entre outros (Figura 1.3) (ABAM, 2010).

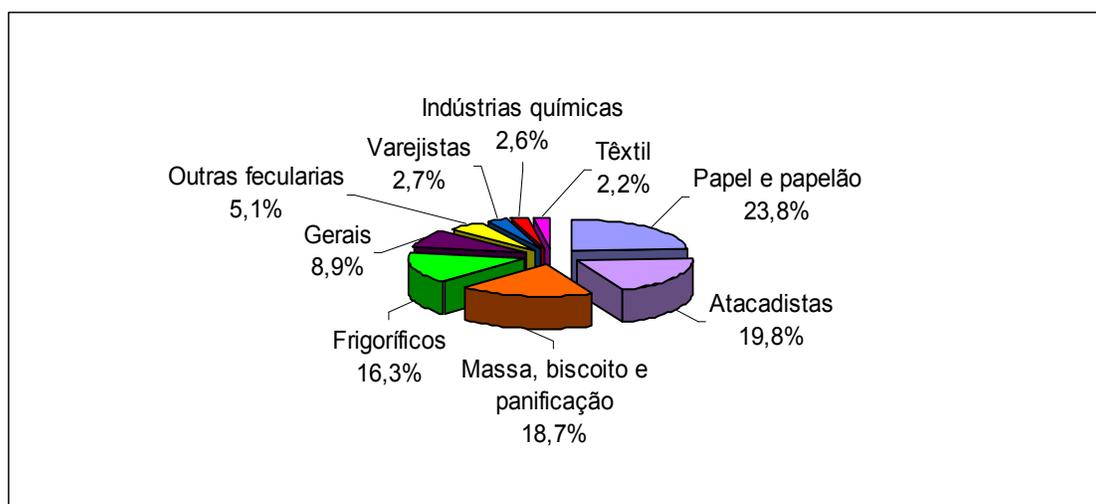


Figura 1.3. Segmentação do mercado consumidor brasileiro de amido de mandioca em 2009

Fonte: Adaptado de ABAM (2010).

Em São Paulo, maior consumidor de amido de mandioca, aproximadamente 80% do consumo cabe aos frigoríficos e panificadoras, e o restante às indústrias químicas, farmacêuticas, têxteis e outras (SUFRAMA, 2003).

A grande maioria dos amidos modificados disponíveis comercialmente para uso em produtos acidificados, congelados e enlatados provém dos amidos de milho ceroso e mandioca (DEMIATE et al., 2003). Segundo Cereda et al. (2001),

na Europa e nos Estados Unidos, a fabricação de amidos modificados é feita preferencialmente a partir de amido de mandioca, seguido pelo de batata. No Brasil, a transformação de amido em xaropes de glicose, maltose e dextrinas a partir de mandioca é ainda incipiente, sendo a maior parte destes derivados de maior valor agregado produzida a partir de amido de milho.

A Tabela 1.2 mostra uma estimativa da distribuição do amido, entre milho e mandioca, consumido no Brasil no ano de 2001.

Tabela 1.2. Estimativa do consumo de amido de milho e mandioca, por tipo de produto, em 2001

Tipo de produto	Milho (ton.)	Mandioca (ton.)	Total (ton.)
Glicose/Maltose/Maltodextrina	595.000	65.000	660.000
Amido nativo	288.000	312.000	600.000
Amido modificado	60.000	120.000	180.000
Polvilho azedo	-	50.000	50.000
Outros	77.000	31.000	108.000
Total	1.020.000	578.000	1.598.000

Fonte: Vilpoux (2005b).

De acordo com Vilpoux (2005b), o maior mercado de amidos e derivados no Brasil é ocupado pelos hidrolisados, principalmente a glicose e a maltose. Apenas 180.000 toneladas, ou seja, 11% do total de amido consumido no Brasil em 2001, foram na forma de amido modificado. A maior parte desse amido foi destinada a usos industriais, principalmente papel. Em 2002, o mercado de amido modificado destinado às indústrias de alimentos atingiu aproximadamente 20.000 toneladas (com exclusão do mercado de polvilho azedo), o que corresponde a 10% do total de amido modificado usado no país e 1,5% do mercado nacional de amido.

2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO AMIDO

As características físico-químicas dos amidos estão relacionadas às suas fontes botânicas (PERONI; ROCHA; FRANCO, 2006), podendo também ser influenciadas por fatores como condições ambientais e idade da planta (MOORTHY, 2002). O conteúdo de amilose e amilopectina também é responsável

por influenciar algumas características dos amidos e sua susceptibilidade enzimática (PERONI; ROCHA; FRANCO, 2006).

A maioria dos amidos contém cerca de 20-30% de amilose, dependendo de sua origem botânica (PERONI; ROCHA; FRANCO, 2006). Os amidos de cereais apresentam cerca de 30% de amilose; entre eles, o arroz é o que pode apresentar maior variação natural de amilose, entre 8 e 30% (Tabela 1.3). Por sua vez, os amidos de raízes e tubérculos apresentam naturalmente grandes variações (CEREDA et al., 2001).

O amido de mandioca apresenta cerca de 18% de amilose, enquanto o amido de milho apresenta teores mais elevados, ao redor de 25% (CEREDA, 1996). Hoover (2001) descreve valores variando de 18,6 a 25,6% de amilose para amido de mandioca, dependendo da variedade da planta. Segundo Rickard, Asaoka e Blanshard (1991), o conteúdo de amilose em amido de mandioca, avaliado por diferentes métodos de análise, variou de 13,6 a 23,8%.

Tabela 1.3. Teor de amilose e lipídios de alguns amidos

Fonte botânica	% de amilose	% de lipídios
CEREAIS		
Milho	30	0,60
Arroz	8 a 30	0,50
TUBEROSAS		
Mandioca	20 a 25	0,10
Batata	18 a 20	0,05 a 0,10

Fonte: Adaptado de Cereda et al. (2001).

Além dos componentes macromoleculares do amido, a amilose e a amilopectina, o amido pode conter outros constituintes menores, como lipídios, proteínas, fibras e sais minerais. Alguns desses materiais conferem características desejáveis ao amido, enquanto outros afetam sua qualidade, podendo influenciar as propriedades que determinam suas aplicações industriais (CEREDA et al., 2001; MOORTHY, 2002).

De acordo com Cereda et al. (2001), os cereais apresentam elevados teores de lipídios (Tabela 1.3), os quais não podem ser retirados com muita facilidade na extração, de forma que parte deles permanece nos amidos, sendo

responsáveis pela fixação de cor, desenvolvimento de aromas e complexações. Já nos amidos de raízes e tubérculos, os teores de lipídios são naturalmente baixos, o que faz destes amidos mais neutros e menos sujeitos a complexações. Neles, as proteínas também aparecem em menores teores e não influenciam nas suas propriedades funcionais.

O amido de mandioca, por exemplo, é facilmente extraído, pois as raízes contêm pequenas quantidades de proteínas, gorduras e outros componentes. O baixo conteúdo de lipídios presente no amido de mandioca (<0,1%) faz com que ele não apresente sabor e aroma próprios de amido de cereais, o que é desejável para muitos produtos alimentícios, principalmente no setor frigorífico, onde é um importante substituto para o amido de milho (DEMIATE et al., 2005).

Com relação às demais características físico-químicas, a Legislação Brasileira que regulamenta os produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos, a RDC nº 263 de 2005, fixa o padrão de umidade para o amido de mandioca em um valor limite de 18%. A Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca (ABAM), por sua vez, estabelece as características físico-químicas para o amido de mandioca conforme apresentado na Tabela 1.4.

Tabela 1.4. Padrão da ABAM para amido de mandioca

Parâmetro	Especificação
Substância amilácea	mín. 84 %
Umidade	Max. 14 %
pH	4,5 a 6,5
Cinzas	máx. 0,12 %

Fonte: Adaptado da ABAM (2009).

A Tabela 1.5 mostra algumas características físico-químicas de amido de mandioca obtidas nos trabalhos de Leonel, Garcia e Reis (2004), através da caracterização físico-química e microscópica de alguns amidos; de Peroni, Rocha e Franco (2006), ao avaliarem as características estruturais e físico-químicas de amidos extraídos de algumas raízes e tubérculos; e de Henrique, Cereda e Sarmiento (2008), ao determinarem as características físico-químicas de amido de mandioca utilizado como matéria-prima para elaboração de filmes biodegradáveis.

Tabela 1.5. Características físico-químicas de amido de mandioca

Análises	Referência		
	LEONEL; GARCIA; REIS (2004)*	PERONI; ROCHA; FRANCO (2006)*	HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO (2008)**
Umidade (%)	12,94	-*-	14,9
Amido (%)	81,79	-*-	87,6
Fibras (%)	0,74	-*-	0,5
Matéria graxa (%)	0,16	0,15	0,2
Açúcares totais (%)	0,31	-*-	0,2
Cinzas (%)	0,17	0,21	0,2
Proteínas (%)	0,23	0,2	0,2
Fósforo (%)	-*-	0,007	-*-
Amilose (%)	16,33	19,8	-*-
pH	6,44	-*-	5,6

-*- parâmetro não determinado; * amido extraído em laboratório; ** amido comercial.

Shirai et al. (2007), ao avaliarem as características físico-químicas de alguns amidos, encontraram pH de 6,2 para amido de mandioca, valor próximo do relatado por Demiate et al. (2005), que foi de 6,0, ambos acima do reportado por Henrique, Cereda e Sarmiento (2008), correspondente a 5,6.

Os trabalhos disponíveis indicam uma variação nas propriedades físico-químicas do amido de mandioca. Contudo, a partir das informações disponíveis, não é possível determinar se essas variações se devem a fatores ambientais, genéticos ou aos procedimentos usados, já que diversos fatores podem influenciar nos resultados obtidos, tais como, o método de extração do amido e o procedimento de análise empregado. Além disso, tem-se a falta de informação sobre a idade das tuberosas e o tempo transcorrido entre a colheita e o processamento. Por isso, é difícil tecer comparações diretas entre os resultados encontrados pelos diferentes pesquisadores.

O tamanho e a forma dos grânulos também são características muito variáveis entre os amidos provenientes de raízes e tubérculos. Segundo Rickard, Asaoka e Blanshard (1991), o pico de distribuição do tamanho dos grânulos de amido de mandioca, obtido de quatro estudos, foi similar e estava dentro da faixa de 5-20 μm . Peroni, Rocha e Franco (2006) encontraram um tamanho médio dos grânulos de 15,9 μm em amido de mandioca. Leonel, Garcia e Reis (2004),

através da análise microscópica de amido de mandioca, observaram que os grânulos apresentavam tamanhos predominantes entre 15 e 20 μm .

A cor é um importante critério para a qualidade do amido, devendo a pasta ser clara para melhor aceitabilidade. A alta claridade da pasta de amido tem muita relevância nas aplicações têxteis e industriais e depende das ligações associativas entre as moléculas de amido nos grânulos. Em função de suas forças associativas mais fracas, pastas de amido de mandioca têm melhor claridade que as de amidos de cereais (MOORTHY, 2002).

2.3 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO AMIDO

As aplicações industriais do amido são determinadas não apenas pelas suas características físico-químicas, mas principalmente pelas suas propriedades funcionais tecnológicas.

O uso do amido nas indústrias têxteis, de papel, de adesivo e de alimentos depende, principalmente, da viscosidade da pasta obtida (MOORTHY, 2002). O comportamento das pastas é determinado principalmente pelas mudanças que ocorrem nos grânulos de amido durante a gelatinização e retrogradação (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008). Dessa forma, as propriedades de pasta têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido, usando-se equipamentos como o Viscoamilógrafo Brabender e, mais recentemente, o *Rapid Visco Analyser* (RVA) (MOORTHY, 2002; HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008).

O amido de mandioca apresenta propriedades tecnológicas que o tornam de grande interesse para aplicação industrial, destacando-se entre elas o grande inchamento durante o cozimento e a menor temperatura de gelatinização, fatores de grande interesse para a indústria alimentícia (PEREIRA, 2008).

Outra importante característica do amido de mandioca é que este proporciona uma maior viscosidade que o amido de milho, por exemplo, o que significa que menor quantidade de amido é necessária para reter a umidade do produto ao qual é incorporado (DEMIATE et al., 2003). A alta viscosidade do

amido de mandioca o torna muito útil em muitas aplicações, especialmente onde alto poder espessante é requerido (MOORTHY, 2002).

As características de pasta do amido de mandioca mostram que, atingindo a temperatura de gelatinização, os grânulos de amido sofrem relativamente um alto grau de intumescimento, resultando em um elevado pico de viscosidade, o qual é seguido de uma rápida quebra da pasta (*breakdown*) (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991). O *breakdown*, além do pico de viscosidade, é outro critério importante para decidir a aplicabilidade do amido. Nesse aspecto, o amido de mandioca é considerado inferior ao amido de milho, pois sua viscosidade é rapidamente diminuída no aquecimento sob cisalhamento, resultando numa pasta com textura coesiva, o que não é desejável em muitas aplicações têxteis e alimentícias (MOORTHY, 2002).

No resfriamento, a consistência da pasta de amido de mandioca aumenta muito pouco, indicando um baixo potencial de formar gel. O aumento na viscosidade durante o resfriamento de uma pasta quente é governado pela tendência do amido à retrogradação. A baixa tendência à retrogradação do amido de mandioca pode estar relacionada ao maior peso molecular médio da fração de amilose (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991), o que resulta em alta estabilidade de pasta (MOORTHY, 2002). Assim, a fécula de mandioca, de maneira similar à de batata, dá origem a pastas de textura menos rígida e mais cremosa, quando comparada com o amido de milho nativo. Além disso, as féculas têm menos amilose do que o amido de milho e, por isso, não ocorre sinérese tão intensa (DEMIATE et al., 2003).

O sabor neutro, característico do amido de mandioca, o torna ideal para aplicação em embutidos. Além disso, sua baixa temperatura de gelatinização, em torno de 60 a 65°C, torna-se muito significativa na fabricação desses produtos, pois a temperatura de cozimento é suficiente para causar a gelatinização do amido (DEMIATE et al., 2003). A fácil gelatinização do amido de mandioca o torna adequado também para manufatura de produtos hidrolisados derivados do amido (MOORTHY, 2002).

Uma característica de importância tecnológica é a propriedade de expansão de massas feitas com amido de mandioca, especialmente quando se utiliza o polvilho azedo. A expansão do amido de mandioca é muito valorizada para a produção de *snacks* extrusados (DEMIATE et al., 2005).

2.4 IMPORTÂNCIA DO AMIDO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

O amido é bastante valorizado enquanto ingrediente para alimentos, em função de suas propriedades de aplicação, em especial pelas suas características gelificantes e espessantes (CEREDA, 2005; PIETRANERA; NARVAIZ, 2001). No Brasil, o setor alimentar representa 69,0% do consumo de amido, à frente do setor papelheiro com 16,7%, e do setor têxtil com 5,0%. Os derivados de amido mais utilizados são os açúcares, com 47,2%, um pouco inferior em relação aos 55% da Europa (açúcares em xaropes, sólidos e polióis). Os amidos nativos, com 42,8%, ocupam a segunda posição, muito à frente dos modificados, que representam 9,4% (CEREDA et al., 2001).

O amido tem sido muito utilizado como substituto de gordura, sendo as principais aplicações em margarina, maionese, molhos para salada, produtos à base de leite (incluindo sobremesas geladas) e produtos de panificação (ALEXANDER, 1995). Além disso, o amido é um dos biopolímeros mais utilizados para obtenção de filmes biodegradáveis (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008).

Outra aplicação do amido é na produção de pratos prontos e produtos congelados, onde se destaca o emprego de amidos modificados. Apesar de o amido ser adequado para a produção desses tipos de alimentos, outros hidrocolóides como as gomas guar, carragena, caroba e xantana podem apresentar as mesmas propriedades, constituindo-se em mercados concorrentes (CEREDA et al., 2001). Contudo, muitos tipos de gomas estabilizantes e espessantes vêm sendo substituídos por amidos, os quais proporcionam as mesmas características no produto final, além de serem mais baratos e

disponíveis, possibilitando considerável redução de custo do produto final (DEMIATE et al., 2003).

Os produtos de hidrólise do amido (xaropes de glucose ou de maltose, ciclodextrinas, maltodextrinas) e de isomerização (frutose) são utilizados nas indústrias de balas, confeitos, doces, chocolate, bolos, assim como nas indústrias de geléias e de sobremesas, devido à capacidade de atuarem como anti-cristalizantes, adoçantes ou de alterar a higroscopicidade do produto (DEMIATE et al., 2003).

Segundo Leonel e Cereda (2002), em função do interesse por amidos naturais devido às restrições a amidos modificados impostas principalmente pelas indústrias alimentícias, as pesquisas em torno de novas matérias-primas amiláceas têm se intensificado nos últimos anos. Neste ponto, os países em regiões tropicais, como o Brasil, apresentam grande vantagem em relação aos principais produtores de amido no mundo, que estão localizados em regiões temperadas, devido à variedade de culturas tropicais amiláceas.

Dentre as amiláceas tropicais, além da mandioca merecem destaque a araruta (*Maranta arundinacea*), a mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) e a batata-doce (*Ipomoea batatas*), visto o interesse do mercado consumidor, principalmente para uso desses amidos em panificação e “baby foods” (LEONEL; CEREDA, 2002).

De acordo com Alexander (1996), nos últimos anos, muitos amidos foram desenvolvidos e/ou introduzidos para aplicações em alimentos. Esses amidos são provenientes de grãos que já estavam no mercado, mas não eram utilizados em alimentos, ou são originários de plantas híbridas. Na primeira categoria encontram-se os amidos de arroz, trigo e amaranto, e na segunda estão os amidos *waxy* (cerosos) e os de alto teor de amilose.

2.5 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO AMIDO

Em função da sua origem natural e método de produção, os amidos usualmente veiculam microrganismos capazes de causar deterioração dos

produtos aos quais são incorporados (PIETRANERA; NARVAIZ, 2001). A presença de esporos termofílicos é o problema mais importante na microbiologia do amido (SMITTLE; KRYSINSKI; RICHTER, 1992).

O amido utilizado industrialmente provém, em sua maioria, de culturas que crescem em contato com o solo. Sendo assim, é comum encontrar várias espécies de *Bacillus* originárias do solo no produto final. Em adição à presença de microrganismos, a presença de amilases estáveis ao calor, que podem permanecer depois que as células forem destruídas, pode também causar deterioração de produtos feitos com amidos contaminados (SMITTLE; KRYSINSKI; RICHTER, 1992).

O patógeno gram-positivo *Bacillus cereus* e outros aeróbios formadores de esporos podem estar presentes em amidos utilizados como ingredientes alimentícios. Estes organismos têm o potencial de crescer em alguns produtos, como pudins, preparados a uma elevada atividade de água com ingredientes contaminados (KRAMER; GILBERT, 1989 apud SMITTLE; KRYSINSKI; RICHTER, 1992).

Pelo fato da raiz de mandioca ter contato direto com o solo, é natural encontrar maior carga microbiana do que no amido de milho. Alguns usos dos amidos não exigem aquecimento, o que pode permitir a sobrevivência dos microrganismos presentes.

O amido, por suas características de baixo teor de umidade, má condutibilidade térmica e presença de uma microflora na qual predominam formas esporogênicas, é um material muito difícil de ser esterilizado. Além disso, acima de 30% de umidade, o amido pode gelificar-se quando a temperatura eleva-se além de 60°C (CEREDA, 1984). Cereda e Vilpoux (2005) afirmam que, para reduzir a carga microbiana do amido, é necessário buscar processos à temperatura ambiente, citando-se as fumigações e o uso de radiações germicidas, sendo que as primeiras só poderiam ser feitas em amido seco, e para amido em suspensão poderiam ser empregadas as radiações gama e ultravioleta.

Cereda (1984) avaliou os efeitos dos seguintes processos de esterilização sobre o polvilho doce: tinalização com vapor úmido por 30 minutos, seguidos de

resfriamento, repetida por três dias consecutivos; calor seco, 160°C por 2 horas; brometo de metila (0,03%) sob vácuo; radiação gama nas doses de 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 Mrad; e microondas nas doses de 1,0, 1,5 e 2,0 kW. Com relação às características de cor, textura e indícios macroscópicos de gelatinização e dextrinização, foi observado que os únicos tratamentos que não alteraram o amido foram os com brometo de metila e radiação gama. Os tratamentos de ação térmica alteraram a aparência do amido, causando gelatinização (microondas), dextrinização (calor seco) ou alteração da textura (calor úmido). O tratamento mais efetivo na redução de microrganismos (aeróbios e anaeróbios mesófilos, esporos de aeróbios termófilos e bolores e leveduras) foi com brometo de metila (obteve-se esterilização do amido), seguido do tratamento por radiação gama, nas doses de 4,0 e 8,0 Mrad. Para a autora, um dos problemas da esterilização de materiais em forma de pó é a sua difícil penetração por agentes esterilizantes que não gases, justificando assim os resultados obtidos.

Um dos métodos mais estudados para a descontaminação de amido é a radiação ionizante, sendo sua mais importante desvantagem a indução de alterações nas propriedades estruturais e sensoriais do produto.

Pietranera e Narvaiz (2001) trataram amidos de mandioca e milho com radiação gama com doses de 0,8, 1,5, 2,2 e 3,7 kGy, e avaliaram a viscosidade de suspensões aquosas e pudins preparados com os amidos tratados. Os resultados revelaram que a radiação gama causou uma redução significativa da viscosidade das suspensões e dos pudins feitos com os amidos irradiados.

Yu e Wang (2007) estudaram o efeito da irradiação, aplicada antes da secagem, nas propriedades estruturais, térmicas e reológicas do amido de arroz. Foram aplicadas doses de 2, 5, 8 e 10 kGy, e foram determinados o conteúdo de amilose aparente, consistência do gel, temperatura de gelatinização e viscosidade. Foram observadas mudanças no tamanho dos grânulos de amido, sendo que a fratura dos grânulos foi mais intensa em doses de irradiação mais elevadas. O conteúdo de amilose foi reduzido pelo tratamento, sendo este efeito associado à alteração da estrutura do amido. A irradiação provocou o aumento da temperatura de gelatinização, a qual aumentou com o aumento da dose aplicada. Com relação

à viscosidade, esta foi consideravelmente reduzida com o aumento da dose, o que foi atribuído também à diminuição do tamanho dos grânulos de amido.

3 OZÔNIO

O ozônio é uma molécula de oxigênio triatômica (O_3) altamente instável, formada pela adição de um átomo de oxigênio ao oxigênio molecular diatômico (O_2) (GÜZEL-SEYDIM; BEVER JR.; GREENE, 2004).

3.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

Segundo Guzel-Seydim, Greene e Seydim (2004), o ozônio foi descoberto pelo pesquisador europeu C. F Schonbein em 1839.

Em 1888, foi publicada por Fewson uma patente americana de um sistema de ozonização para desodorizar gases de esgoto. E em 1902, Siemens e Halske construíram a primeira planta geradora de ozônio para tratamento de água na Alemanha (KOZHINOV, 1968 apud GRAHAM, 1997).

Em 1906, foi adotada em Nice, na França, a desinfecção de água de abastecimento com ozônio (GRAHAM, 1997). Em 1953, foi descoberto que ar contendo ozônio sob baixa pressão era mais efetivo que dióxido de enxofre para esterilizar contêineres vazios para alimentos, sendo adotado para garrafas de vidro na Suíça em 1956 (TORRICELLI, 1959 apud GRAHAM, 1997).

Segundo Guzel-Seydim, Greene e Seydim (2004), em 1982, a FDA (*Food and Drug Administration*) reconheceu o uso do ozônio como seguro - GRAS (*Generally Recognized As Safe*) em inglês, no tratamento de água engarrafada. E em 1997, o uso do ozônio foi aprovado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos para tratamento de água de *chiller* reciclada.

Depois de um ano de avaliação de dados publicados relacionados ao uso do ozônio, um painel técnico, em 1997, classificou-o como uma substância GRAS para uso como sanitizante para alimentos quando usado de acordo com as boas práticas de fabricação (GRAHAM, 1997; GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004).

E, em 2001, o ozônio foi aprovado pela FDA para uso como um agente antimicrobiano para o tratamento, estocagem e processamento de alimentos,

podendo ser usado tanto na fase aquosa como gasosa (FDA, 2001; KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001). Isso despertou o interesse pela utilização de ozônio na indústria de alimentos, e processadores de sucos comerciais da Europa e Estados Unidos começaram a empregar o ozônio para pasteurização do produto (TIWARI et al., 2009b), o que resultou na publicação, por parte da FDA, em 2004, de um guia de recomendações às indústrias que processam sucos com a utilização de ozônio (FDA, 2004).

A partir de sua descoberta e, considerando suas características altamente oxidantes, o ozônio despertou grande interesse, sendo atualmente empregado para as mais diversas finalidades (KUNZ et al., 1999).

3.2 GERAÇÃO DO OZÔNIO

O ozônio pode ser gerado pela excitação do oxigênio molecular a oxigênio atômico, em um ambiente energizado que permite a recombinação dos átomos (CARDOSO et al., 2003).

O ozônio é formado na atmosfera terrestre pela ação da luz ou da alta energia dos raios ultravioleta, como também através de reações fotoquímicas envolvendo hidrocarbonetos, oxigênio e nitrogênio (GRAHAM, 1997).

Comercialmente, o ozônio é gerado pela passagem de moléculas de oxigênio através de uma descarga elétrica. Assim, o oxigênio molecular é dividido em dois átomos de oxigênio altamente reativos que, quando encontram oxigênio molecular (O_2), combinam-se para formar a molécula de ozônio (O_3) altamente instável (Figura 1.4). Em função de sua instabilidade, o ozônio é degradado rapidamente voltando a oxigênio molecular (O_2) com a liberação de átomo de oxigênio livre (O^*), que se combina com outro átomo de oxigênio livre para formar oxigênio molecular ou se combina com outras moléculas químicas para causar oxidação. Em consequência da liberação do terceiro átomo de oxigênio, o ozônio age como um forte agente oxidante (GÜZEL-SEYDIM; BEVER JR.; GREENE, 2004).

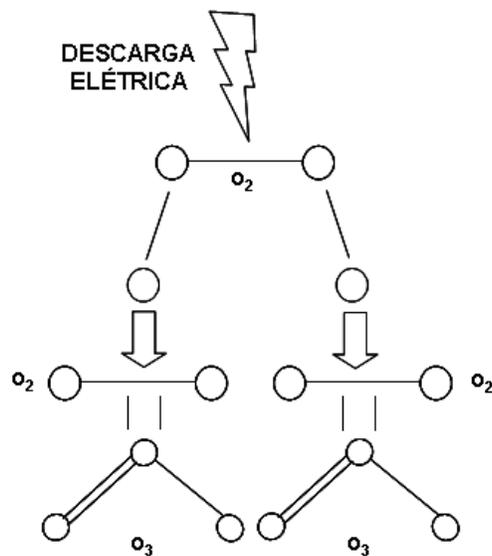


Figura 1.4. Geração do ozônio

Quando usado em indústrias, o ozônio é usualmente gerado no ponto de aplicação em sistemas fechados (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Lâmpadas UV (188 nm) podem ser usadas para gerar ozônio (GRAHAM, 1997), mas para obter maiores concentrações, a técnica de descarga elétrica por efeito corona é comumente empregada. Esta técnica consiste em posicionar duas placas planas (dois eletrodos, sendo um de alta tensão e o outro de baixa tensão) separadas por um material dielétrico (vidro ou cerâmica, por exemplo) e um estreito intervalo entre elas. Quando uma corrente alternada de alta voltagem é aplicada através do intervalo de descarga, por onde passa o ar seco, ocorre excitação dos elétrons e a conseqüente ruptura das moléculas de oxigênio. Os átomos de oxigênio combinam-se com outras moléculas de oxigênio para formar ozônio (GRAHAM, 1997; GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

O gás ozônio é gerado do ar ou do oxigênio puro usando-se geradores de ozônio. Ele pode ser aplicado a produtos alimentícios na forma de gás ou em sistemas de sanitização por lavagem em água ozonizada (BENATO; SIGRIST; ROCHA, 2005; IBANOGLU, 2001).

3.3 PROPRIEDADES DO OZÔNIO

À temperatura ambiente, o ozônio é um gás de coloração azulada, mas nas concentrações utilizadas para propósitos de desinfecção torna-se incolor (RICE, 1986 apud CARDOSO et al., 2003).

O ozônio é um potente agente oxidante, com potencial de oxidação de -2,07V (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). De acordo com Guzel-Seydim, Greene e Seydim (2004), entre os agentes oxidantes mais comuns, o ozônio é o segundo mais poderoso, ficando atrás apenas do flúor.

Segundo Graham (1997), o ozônio é parcialmente solúvel em água e apresenta uma propriedade única de auto-decomposição, produzindo numerosas espécies de radical livre, sendo a mais importante o radical hidroxila (OH^\cdot), cuja produção aumenta com a elevação da temperatura e do pH. O ozônio é relativamente instável em soluções aquosas decompondo-se continuamente em oxigênio (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001). O excesso de ozônio entra rapidamente em auto-decomposição, não deixando, portanto, resíduos nos alimentos (BOTT, 1991; KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

Ibanoglu (2002), durante a lavagem de grãos de trigo com água ozonizada (1,5 mg/L), observou que o ozônio desapareceu completamente da água depois de 40 minutos. Cavalcante (2007), ao tratar alface americana com água ozonizada (1 mg/L), observou que não houve diminuição da concentração de ozônio na água (sem renovação do sanitizante) até 20 minutos, sendo o mesmo parcialmente consumido pela matéria orgânica após 60 minutos de exposição.

Embora a sensibilidade ao ozônio varie entre os microrganismos, o estágio de crescimento microbiano e fatores ambientais afetam o grau de inativação destes microrganismos. A susceptibilidade dos microrganismos ao ozônio varia de acordo com o pH do meio, temperatura, umidade e presença de matéria orgânica (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

Uma diminuição na temperatura do meio aquoso resulta em aumento da solubilidade do ozônio. Do mesmo modo, a decomposição do ozônio é acelerada com o aumento da temperatura (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). De acordo com

Khadre, Yousef e Kim (2001), quando a temperatura aumenta, o ozônio torna-se menos solúvel e menos estável, mas sua taxa de reação com o substrato aumenta.

Achen e Yousef (2001) trataram maçãs contaminadas com *E. coli* utilizando ozônio a 4, 22 e 45°C e observaram que a concentração residual de ozônio foi maior à temperatura mais baixa (4°C) e diminuiu com o aumento da temperatura.

A estabilidade do ozônio em água aumenta com a diminuição do pH. A rápida decomposição do ozônio em soluções aquosas com pH alto é atribuída por alguns pesquisadores à atividade catalítica do íon hidroxila (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

O ozônio, tendo um alto potencial oxidante, reage com os microrganismos rapidamente, o que resulta em alta letalidade. Contudo, o ozônio também reage com outros compostos quando em ambientes ricos em matéria orgânica (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Assim, a pureza da água afeta grandemente a taxa de solubilização do ozônio. Quanto maior a pureza da água, maior a solubilidade do ozônio. Água usada em processamento de alimentos usualmente contém substâncias orgânicas e inorgânicas oxidáveis, as quais podem reagir rapidamente com o ozônio diminuindo consideravelmente sua meia vida (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001). A efetividade do ozônio depende mais da concentração residual do que da quantidade de ozônio aplicada (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Subprodutos não desejáveis da reação do ozônio com compostos orgânicos podem diminuir a vida de prateleira, mudar a qualidade organoléptica ou prejudicar a segurança do produto final (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

3.4 MECANISMO DE AÇÃO

O ozônio é um agente antimicrobiano de espectro longo, sendo ativo contra bactéria, fungo, vírus, protozoário e esporos de bactérias e fungos. Esse sanitizante é ativo contra todas as formas de microrganismos a relativamente baixas concentrações (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

Os efeitos bactericidas do ozônio têm sido documentados para uma ampla variedade de microrganismos, incluindo tanto bactérias gram-positivas como gram-negativas, como também esporos e células vegetativas. É sua potente capacidade de oxidação que torna o ozônio muito efetivo na destruição de microrganismos (GÜZEL-SEYDIM; BEVER JR.; GREENE, 2004).

De acordo com Khadre, Yousef e Kim (2001), a inativação de bactérias por ozônio é um processo complexo porque ele ataca numerosos constituintes celulares incluindo proteínas, lipídios insaturados e enzimas respiratórias nas membranas celulares; peptidoglicanos nos envelopes celulares; enzimas e ácidos nucléicos no citoplasma; e proteínas e peptidoglicanos nas coberturas dos esporos e cápsulas virais.

Alguns autores consideram que o ozônio molecular é o principal agente de inativação dos microrganismos, enquanto outros enfatizam a atividade antimicrobiana dos subprodutos reativos resultantes da decomposição do ozônio na água, tais como $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2^-$ e $\text{HO}_3\cdot$ (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

A oxidação de grupos sulfidrilas, que são abundantes em enzimas microbianas, pode explicar a rápida inativação de microrganismos por ozônio. A ação oxidativa do ozônio pode levar à saída de componentes celulares e eventualmente causar lise; à interrupção da atividade normal da célula incluindo permeabilidade seletiva, seguida de morte rápida da célula; inativação enzimática; e diminuição da atividade de transcrição do DNA (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

De acordo com Torres et al. (1996), é possível a redução da concentração microbiológica de vários alimentos através da ozonização, embora a esterilização dos mesmos não seja possível.

3.5 APLICAÇÃO DO OZÔNIO EM GRÃOS E PRODUTOS SECOS

Ibanoglu (2001) avaliou o efeito da maceração de grãos de trigo com água ozonizada nas concentrações de 1,5 e 11,5 mg/L, a 20°C durante 30 minutos, na moagem e nas propriedades das farinhas obtidas. Os resultados mostraram que o tratamento com ozônio não provocou alterações significativas no que se refere à

eficiência da moagem, atividade da α -amilase, oxidação dos pigmentos e às características farinográficas e extensográficas da farinha. As análises microbiológicas indicaram que a água ozonizada promoveu redução das contagens de bactéria total e de bolores e leveduras, sendo os melhores resultados obtidos com a concentração de 11,5 mg/L, os quais foram de 2,1 e 1,5 reduções da contagem total para os trigos mole e duro, respectivamente; e de 1,1 e 1,0 reduções de bolores e leveduras para os trigos mole e duro, respectivamente.

Ibanoglu (2002) estudou o efeito da lavagem de grãos de trigo com água ozonizada (1,5 mg/L a 20°C), durante 30 minutos, nas propriedades das farinhas obtidas. Os resultados mostraram que não houve alteração nas propriedades físico-químicas, atividade da α -amilase e características farinográficas das farinhas, exceto a redução das propriedades extensográficas da farinha obtida do trigo mole, enquanto a obtida do trigo duro não foi afetada. Isso foi atribuído à barreira conferida pela dureza do grão, dificultando a penetração da água ozonizada para o interior do endosperma.

Desvignes et al. (2008) avaliaram as propriedades mecânicas de grãos de trigo de três cultivares diferentes tratados com ozônio durante a maceração. O tempo de tratamento foi o suficiente para que o consumo de ozônio fosse correspondente a 5 ou 10 g/kg da massa de grãos. Uma significativa redução da energia requerida para quebra e moagem dos grãos foi observada para todas as amostras, sendo maior (10-20%) para a maior quantidade de ozônio aplicada (10 g/kg). Os resultados mostraram que o conteúdo de cinzas e de ácido fítico da farinha de redução produzida não foi significativamente afetado pelo tratamento com ozônio, e uma redução no conteúdo de amido danificado foi observada. Além disso, o conteúdo total de proteína não foi afetado, sendo que ocorreu aumento da fração insolúvel da glutenina balanceado pela diminuição da fração solúvel. O tratamento afetou o comportamento mecânico da camada de aleurona, com a conseqüente redução da sua extensibilidade e aumento da sua rigidez.

Wu, Doan e Cuenca (2006) avaliaram a eficácia do ozônio gasoso na inativação de fungos em trigo usando cinco doses (0,016; 0,065; 0,16; 0,33 e 0,98

mg/g de trigo/min). À medida que a dose aumentou, a inativação de esporos de fungos também aumentou, sendo que uma dose de 0,33 mg/g de trigo/min (durante 5 min) foi suficiente para inativar 96,9% dos esporos, e com o aumento da dose acima deste ponto nenhuma inativação adicional foi observada.

Somboonchai, Nopharatana e Songkasiri (2008), avaliaram a oxidação de cianeto por ozônio em soluções de amido de mandioca. O tratamento consistiu no borbulhamento de ozônio em 2L de soluções de amido com diferentes concentrações de cianeto (10, 20, 30 e 40 mg/L) durante 10 minutos. Foram utilizadas taxas de geração de 7,4, 15,0, 22,6 e 30 g de ozônio/h. Foi observado que a concentração de cianeto diminuiu acentuadamente nos primeiros 30 segundos de reação, reduzindo lentamente depois desse tempo.

Byun, Yook e Kwon (1997) estudaram os efeitos do tratamento com ozônio (18 ppm por 8 horas a uma taxa de 5 L/min) e da irradiação gama (2,5; 5,0; 7,5 e 10 kGy) em pós de *aloe* (*Aloe arborescence* e *Aloe vera*). A irradiação foi mais efetiva que o ozônio na redução da carga microbiana das amostras, pois a dose de 10 kGy promoveu a redução de todos os microrganismos (bactérias aeróbias totais, bolores, leveduras e coliformes) a um nível inferior aos limites de detecção. O conteúdo de aminoácidos e minerais não foi alterado significativamente pelos tratamentos. No entanto, a composição de ácidos graxos, índice de TBA e os pigmentos clorofila e carotenóides dos pós de *aloe* foram significativamente afetados pelo tratamento com ozônio; os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE) das amostras de *Aloe arborescence* tratadas com ozônio também sofreram alterações.

Resultados similares foram encontrados por Byun et al. (1998) ao compararem os efeitos da irradiação gama (2,5; 5,0; 7,5 e 10 kGy) e do tratamento com ar ozonizado (18 ppm por 4 e 8 horas a uma taxa de 5 L/min) na qualidade microbiológica e físico-química de pó de *ginseng* vermelho. Não foram observadas alterações significantes no pH, acidez, índice de TBA e cor das amostras irradiadas comparadas às amostras controle. Por outro lado, as mudanças provocadas pelo tratamento com ozônio foram mais evidentes. Além disso, a composição de ácidos graxos não foi significativamente alterada pela irradiação, enquanto que o ozônio causou diminuição do conteúdo de ácidos graxos

insaturados e elevação do conteúdo de saturados, o que foi atribuído à destruição das ligações duplas dos ácidos graxos insaturados. Com relação à descontaminação do produto, a irradiação gama foi mais efetiva que o tratamento com ozônio, sendo que as doses esterilizantes para coliformes, bolores e leveduras, e bactérias aeróbias totais foram 2,5, 5,0 e 7,5 kGy, respectivamente.

Zhao e Cranston (1995) avaliaram a descontaminação de pimenta preta com ozônio a uma concentração de 6,7 mg/L e fluxo de ar de 6 L/min. Pimentas inteiras foram imersas em água e aspergidas com ar ozonizado durante 10 minutos, obtendo-se reduções de 3 a 4 ciclos logarítmicos na população microbiana (bactéria aeróbia total, bactéria anaeróbia total e aeróbios formadores de esporos). Pimenta moída, por sua vez, foi tratada com ar ozonizado por até 6 horas, obtendo-se reduções de 3 a 6 ciclos logarítmicos na população microbiana mencionada, dependendo do conteúdo de umidade do tempero, sendo que maior conteúdo de umidade levou a uma maior redução da carga microbiana. A redução da população microbiana foi mais acentuada nas duas horas iniciais do tratamento. O tratamento com ozônio não provocou alterações significativas nos componentes voláteis da pimenta inteira, embora tenha provocado a oxidação desses compostos na pimenta moída.

Os efeitos de diferentes tratamentos com ozônio (0,1, 0,5 e 1,0 ppm) na descontaminação de *pistache* inoculado com *E. coli* e *B. cereus* foram estudados por Akbas e Ozdemir (2006). Numa concentração de 1,0 ppm durante 360 minutos, as contagens de *E. coli* e *B. cereus* em *pistache* inteiro sofreram reduções de 3,5 e 3 ciclos logarítmicos, respectivamente. Em *pistache* moído, as populações de ambos os microrganismos foram reduzidas em 2 ciclos. Para os autores, a área superficial do *pistache* foi um fator crítico para a eficiência do tratamento, de forma que, no *pistache* moído, a bactéria inoculada ficou protegida do contato com o ozônio. A reduzida penetração e a interação do ozônio com componentes orgânicos presentes no produto, tais como lipídios e carboidratos, diminuíram o poder oxidante do gás.

Os mesmos autores avaliaram o efeito da ozonização em pimenta vermelha contaminada com *E. coli*, *B. cereus* e esporos de *B. cereus*. Para as amostras

inoculadas com células vegetativas, foram utilizadas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 ppm e, para as inoculadas com esporos, concentrações de 1,0, 5,0, 7,0 e 9,0 ppm foram aplicadas. A 1,0 ppm de ozônio por 360 minutos, a população de *E. coli* foi reduzida em 2 ciclos logarítmicos e a de *B. cereus*, em 1,5. Para todas as concentrações de ozônio, independente do tempo de exposição, a redução da contagem de *E. coli* foi maior que a de *B. cereus*. A população de esporos foi reduzida em 1 ciclo logarítmico quando a concentração de 5,0 ppm foi empregada, e em 1,5 ciclos nas concentrações de 7,0 e 9,0 ppm, todos em 360 minutos de ozonização. O tratamento com ozônio foi menos efetivo contra esporos e maiores concentrações do gás (5,0 ppm) foram requeridas para a redução da carga desses microrganismos. As amostras ozonizadas entre 5,0 e 9,0 ppm sofreram leves alterações no aroma e na aparência (AKBAS; OZDEMIR, 2008b).

Emer, Akbas e Ozdemir (2008) avaliaram a inativação de *E. coli* em pimenta preta inteira e moída submetidas a diferentes concentrações de ozônio (0,1, 0,5 e 1,0 ppm) por período de até 360 minutos. Uma redução de 7 ciclos logarítmicos na população de *E. coli* em pimenta inteira foi alcançada a 0,1, 0,5 e 1,0 ppm de ozônio aos 360, 240 e 120 minutos de tratamento, respectivamente; o mesmo nível de inativação microbiana em pimenta moída foi atingida a 0,1 e 0,5 ppm por 360 minutos e a 1,0 ppm aos 240 minutos de processo. A 1,0 ppm de ozônio, o tempo requerido para alcançar uma redução de 7 log na população de *E. coli* em pimenta moída foi o dobro do necessário para atingir o mesmo grau de descontaminação em pimenta inteira. Isso mostrou que a área superficial foi um fator crítico para a eficiência do tratamento com ozônio.

Akbas e Ozdemir (2008a) avaliaram o efeito da ozonização na redução de *E. coli*, *B. cereus* e esporos de *B. cereus* em figos secos. Concentrações de ozônio de 0,1, 0,5 e 1,0 ppm durante 360 minutos foram testadas em amostras inoculadas com *E. coli* e *B. cereus*, e concentrações de 1,0, 5,0 7,0 e 9,0 ppm foram usadas para inativar esporos de *B. cereus*. Concentrações de 0,1 e 0,5 ppm por 360 minutos resultaram em 0,9 e 1,4 reduções na população de *E. coli* e 2,7 e 2,9 reduções na população de *B. cereus*, respectivamente. A 1,0 ppm por 360 minutos, 3,5 reduções foram obtidas para ambas as bactérias. As reduções na

contagem de esporos de *B. cereus* nas concentrações de 1,0 e 5,0 ppm durante 360 minutos foram, respectivamente, 1 e 1,5, e a 7,0 e 9,0 ppm a redução foi de 2 ciclos logarítmicos. Não foram observadas mudanças significativas nas propriedades físico-químicas (cor, pH e umidade) e na qualidade sensorial (doçura, rancidez, aroma e aparência) dos figos secos tratados com ozônio, quando comparados com as amostras não tratadas.

3.6 EFEITO DO OZÔNIO EM HIDROCOLÓIDES

Tiwari et al. (2008a) estudaram o efeito do ozônio na cor e nas características reológicas de dispersões de goma guar (1%), carboximetilcelulose (1%) e pectina (2%). Foram empregadas concentrações de ozônio de 2,4%, 4,0%, 5,6% e 7,8% por 3, 5, 7 e 10 minutos de tratamento. Foram observadas reduções de 95,5%, 81,6% e 31,7% na viscosidade aparente das dispersões de goma guar, CMC e pectina, respectivamente, na maior concentração de ozônio empregada (7,8%) e no tempo de processamento mais longo (10 min.). Os autores atribuíram a redução na viscosidade à despolimerização das macromoléculas. Foram observadas alterações na cor das dispersões dos hidrocolóides ozonizados, sendo que o efeito foi mais pronunciado nas dispersões de pectina e goma guar, sendo insignificante na de CMC.

An e King (2009) estudaram o efeito do ozônio nas propriedades de pasta do amido de arroz. Suspensões de amidos comercial e isolado foram tratadas com ozônio a uma concentração de 20% durante 15 e 30 minutos. Os resultados mostraram que a ozonização promoveu aumento do pico de viscosidade e do *breakdown* e redução da viscosidade final e do *setback* das pastas de amido, quando comparadas às amostras não tratadas e às amostras tratadas com oxigênio puro. Ou seja, o tratamento com ozônio proporcionou a obtenção de pastas de amido com maior intumescimento durante o cozimento, menor viscosidade após o resfriamento (gel de menor rigidez) e menor tendência à retrogradação, mas com menor estabilidade durante o cozimento. O amido

ozonizado apresentou propriedades de pasta similares às de amido levemente oxidado com agentes químicos em baixas concentrações.

Chan, Bhat e Karim (2009) avaliaram o efeito do ozônio nas características físico-químicas e funcionais de amidos de milho, sagu e tapioca. Os amidos, na forma de pó, foram expostos ao ozônio durante 10 minutos sob diferentes tempos de geração (1, 3, 5 e 10 minutos). Foi observado um aumento dos conteúdos de carbonila e carboxila de todos os amidos com o incremento do tempo de geração do ozônio. O ozônio gasoso proporcionou a oxidação dos amidos e, sob condições idênticas, o grau de oxidação variou entre os diferentes tipos de amido. Para os amidos estudados, as características funcionais e propriedades de pasta seguiram diferentes tendências com o aumento do tempo de geração de ozônio.

REFERÊNCIAS

ACHEN, M.; YOUSEF, A. E. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. **Journal of Food Science**, Chicago, v.66, n.9, p. 1380-1384, 2001.

AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. **Food Microbiology**, London, v.25, n.2, p. 386-391, 2008a.

AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Effectiveness of ozone for inactivation of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* in pistachios. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.41, n.5, p. 513-519, 2006.

AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Effect of gaseous ozone on microbial inactivation and sensory of flaked red peppers. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.43, n.9, p. 1657-1662, 2008b.

ALEXANDER, R. J. Fat replacers based on starch. **Cereal Foods World**, Saint Paul, v.40, n.5, p. 366-368, 1995.

ALEXANDER, R. J. New starches for food applications. **Cereal Foods World**, Saint Paul, v.41, n.10, p. 796-798, 1996.

AN, H. J.; KING, J. M. Using ozonation and amino acids to change pasting properties of rice starch. **Journal of Food Science**, Chicago, v.74, n.3, p. 278-283, 2009.

APLEVICZ, K. S.; DEMIATE, I. M. Caracterização de amidos de mandioca nativos e modificados e utilização em produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p. 478-484, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA (ABAM). 2009. Disponível em: <<http://www.abam.com.br>>. Acesso em: 09 fev. 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA (ABAM). 2010. Disponível em: <<http://www.abam.com.br>>. Acesso em: 28 mar. 2010.

BENATO, E. A.; SIGRIST, J. M. M.; ROCHA, P. Manuseio, aspectos fitossanitários e logística de caqui pós-colheita. (Boletim técnico científico). **Toda Fruta**, São Paulo, 2005. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/portal/icNoticiaAberta.asp?idNoticia=9524>>. Acesso em: 19 abr. 2008.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A. Utilization of gaseous ozone for the decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on raspberries and strawberries. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 5, p. 1093-1098, 2007.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003.

BOTT, T. R. Ozone as a disinfectant in process plant. **Food Control**, Oxford, v.2, n.1, p. 44-49, 1991.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução CNNPA nº 12, de 1978**. Aprova as Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. Publicada no Diário Oficial da União de 24/07/1978. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 05 jan. 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Publicada no Diário Oficial da União de 10/01/2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 31 ago. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. Publicada no Diário Oficial da União de 23/09/2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 12 maio 2008.

BYUN, M.-W. et al. Comparative effects of gamma irradiation and ozone treatment on hygienic quality of Korean red ginseng powder. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.52, n.1-6, p. 95-99, 1998.

BYUN, M.-W.; YOON, H.-S.; KWON, O.-J. Comparative effects of gamma irradiation and ozone treatment on hygienic quality of aloe powders. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.32, n.3, p. 221-227, 1997.

CARDOSO, C. C. et al. Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.1, p. 59-61, 2003.

CAVALCANTE, D. A. **Avaliação do tratamento com água ozonizada para higienização de alface (*Lactuca sativa*)**. 2007. 91 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA (CEPEA). **Produção de fécula cresce 38%, mas receita cai 25,8% em 2005**. Disponível em: <http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/producao_fecula_2005.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2009.

CEREDA, M. P. Amidos modificados. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p. 31-36, 1996.

CEREDA, M. P. Esterilização de amido de mandioca (*Manihot utilissima*, POHL). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.4, n.2, p. 139-157, 1984.

CEREDA, M. P. Fécula de mandioca como ingrediente para alimentos: novos processos para modificação. **Revista ABAM**, Paranavaí, ano III, n.11, 2005.

CEREDA, M. P. et al. (Ed). **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. 224p. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.1).

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. Conservação de raízes. In: CEREDA, M. P. et al. (Ed). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. cap. 1, p. 13-29. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.3).

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. **Uso de lâmpada ultravioleta Germetec para redução de conteúdo microbiano de amido comercial de mandioca**. (Nota

prévia). Centro de Tecnologias para o Agro-negócio. Universidade Católica Dom Bosco. 2005.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I. M. Amidos modificados. In: CEREDA, M. P. et al. (Ed). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. cap. 12, p. 246-332. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.3).

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.; TAKAHASHI, M. Balança hidrostática como forma de avaliação do teor de massa seca e amido. In: CEREDA, M. P. et al. (Ed). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. cap. 2, p. 30-46. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.3).

CHAN, H. T.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Physicochemical and functional properties of ozone-oxidized starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.57, n.13, p. 5965-5970, 2009.

DEMIATE, I. M. et al. Amidos nativos e modificados: propriedades e aplicações em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.37 (supl.), p. 101-106, 2003.

DEMIATE, I. M. et al. Viscographic characteristics of chemically modified cassava starches assessed by RVA. **Publítő UEPG - Ciências exatas e da terra, ciências agrárias e engenharias**, Ponta Grossa, v.11, n.1, p. 7-17, 2005.

DESVIGNES, C. et al. Changes in common wheat grain milling behavior and tissue mechanical properties following ozone treatment. **Journal of Cereal Science**, London, v.47, n.2, p. 245-251, 2008.

DOGAN, M.; KAYACIER, A.; IC, E. Rheological characteristics of some food hydrocolloids processed with gamma irradiation. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.21, n.3, p. 392-396, 2007.

DRIEDGER, A. et al. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores and formation of bromate during ozonation. **Water Research**, Oxford, v.35, n.12, p. 2950-2960, 2001.

EMER, Z.; AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Bactericidal activity of ozone against *Escherichia coli* in whole and ground black peppers. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 71, n. 5, p. 914-917, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Cultivo de Mandioca para o Estado do Pará. **Sistemas de Produção**, v.13, 2003.

Disponível

em:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_para/importancia.htm>. Acesso em: 27 jan. 2009.

FELIPE, F. I.; ALVES, L. R. A.; CAMARGO, S. G. C. Panorama e perspectivas para a indústria de fécula de mandioca no Brasil. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v.6, p. 134-146, 2010.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Guidance to Industry**. Recommendations to Processors of Apple Juice or Cider on the Use of Ozone for Pathogen Reduction Purposes. 2004.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Ozone Final Rule**. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption. 2001. Disponível em: <http://www.ozonesafefood.com/ozone_final_rule.htm>. Acesso em: 18 out. 2009.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, Chicago, v.51, n.6, p. 72-75, 1997.

GÜZEL-SEYDİM, Z.; BEVER JR., P. I.; GREENE, A. K. Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. **Food Microbiology**, London, v.21, n.4, p. 475-479, 2004.

GUZEL-SEYDİM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDİM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT - Food Science and Technology**, London, v.37, n.4, p. 453-460, 2004.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p. 231-240, 2008.

HOOVER, R. Composition, molecular structure and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v.45, n.3, p. 253-267, 2001.

IBANOGLU, S. Influence of tempering with ozonated water on the selected properties of wheat flour. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.48, n.4, p. 345-350, 2001.

IBANOGLU, S. Wheat washing with ozonated water: effects on selected flour properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.37, n.5, p. 579-584, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_200812_5.shtm>. Acesso em: 28 jan. 2009.

KETTERINGHAM, L. et al. Application of aqueous ozone for treating pre-cut green peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.76, n.1, p. 104-111, 2006.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J.-G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, Chicago, v.66, n.9, p. 1242-1252, 2001.

KIM, J.-G.; YOUSEF, A. E.; CHISM, G. W. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. **Journal of Food Safety**, Malden, v.19, p. 17-34, 1999.

KIM, J.-G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.62, n.9, p. 1071-1087, 1999.

KUNZ, A. et al. Construção e otimização de um sistema para produção e aplicação de ozônio em escala de laboratório. Nota Técnica. **Química Nova**, São Paulo, v.22, n.3, p. 425-428, 1999.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.1, p. 65-69, 2002.

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

LEONEL, M.; JACKEY, S.; CEREDA, M. P. Processamento industrial de fécula de mandioca e batata doce - um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.3, p. 343-345, 1998.

MANDIOCA BRASILEIRA. Disponível em: <<http://www.mandioca.agr.br>>. Acesso em: 14 ago. 2009.

MOORTHY, S. N. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: a review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.54, n.12, p. 559-592, 2002.

NAJAFI, M. B. H.; KHODAPARAST, M. H. H. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. **Food Control**, Oxford, v.20, n.1, p. 27-30, 2009.

PEREIRA, L. H. G. **Obtenção e estudo das propriedades físico-químicas de amidos de mandioca (*Manihot esculenta*) oxidados e ácidos-modificados**. 2008. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

PERONI, F. H. G.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology International**, London, v.12, n.6, p. 505-513, 2006.

PIETRANERA, M. S. A.; NARVAIZ, P. Examination of some protective conditions on technological properties of irradiated food grade polysaccharides. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.60, n.3, p. 195-201, 2001.

RICHARDSON, S. D. et al. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Food Technology**, Chicago, v.52, n.4, p. 58-61, 1998.

RICKARD, J. E.; ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V. The physico-chemical properties of cassava starch. **Tropical Science**, London, v.31, p.189-207, 1991.

SHARMA, R. R.; DEMIRCI, A. Application of ozone for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa sprouts. **Journal of Food Processing and Preservation**, Malden, v.27, n.1, p. 51-64, 2003.

SHIRAI, M. A. et al. Características físico-químicas e utilização em alimentos de amidos modificados por tratamento oxidativo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p. 239-247, 2007.

SMITTLE, R. B.; KRYSINSKI, E. P.; RICHTER, E. R. Sweeteners and starches. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3rd ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA), 1992. p. 985-993.

SOMBOONCHAI, W.; NOPHARATANA, M.; SONGKASIRI, W. Kinetics of cyanide oxidation by ozone in cassava starch production process. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.84, n.4, p. 563-568, 2008.

SUPERINTENDÊNCIA DA ZONA FRANCA DE MANAUS (SUFRAMA). Potencialidades regionais - Estudo de viabilidade econômica. **Amido de mandioca**. Manaus: ISAE/FGV, 2003.

TIWARI, B. K. et al. Anthocyanin and colour degradation in ozone treated blackberry juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Oxford, v.10, n.1, p. 70-75, 2009a.

TIWARI, B. K. et al. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. **Food Chemistry**, Oxford, v.113, n.4, p. 1119-1126, 2009b.

TIWARI, B. K. et al. Effect of ozonization on the rheological and colour characteristics of hydrocolloid dispersions. **Food Research International**, Amsterdam, v.41, n.10, p. 1035-1043, 2008a.

TIWARI, B. K. et al. Modelling colour degradation of orange juice by ozone treatment using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.88, n.4, p. 553-560, 2008b.

TORRES, E. A. F. S. et al. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.10, n.42, p. 18-23, 1996.

VILPOUX, O. O mercado de amido no mundo. **Revista ABAM**, Paranaíba, ano II, n.9, jan./ mar. 2005a.

VILPOUX, O. O mercado de amidos em alimentos: estudo comparativo França-Brasil. **Revista ABAM**, Paranaíba, ano III, n.12, out./dez. 2005b.

VILPOUX, O. Processos de produção de fécula de mandioca: comparação Brasil, Tailândia e China. In: CEREDA, M. P. et al. (Ed). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. cap. 7, p. 143-175. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.3).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Enterobacter sakazakii and other microorganisms in powdered infant formula**. Microbiological Risk Assessment Series, n. 6. Genebra: WHO, 2004. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/es.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2008.

WU, J.; DOAN, H.; CUENCA, M. A. Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, West Sussex, v.81, n.7, p. 1288-1293, 2006.

WURZBURG, O. B. **Modified starches: properties and uses**. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1989.

YU, Y.; WANG, J. Effect of γ -ray irradiation on starch granule structure and physicochemical properties of rice. **Food Research International**, Amsterdam, v.40, n.2, p. 297-303, 2007.

ZAIED, S. F. et al. Decontamination of gum arabic with γ -rays or electron beams and effects of these treatments on the material. **Applied Radiation and Isotopes**, Oxford, v.65, n.1, p. 26-31, 2007.

ZHAO, J.; CRANSTON, P. M. Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, West Sussex, v.68, n.1, p. 11-18, 1995.

**CAPÍTULO 2. AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO OZÔNIO NA INATIVAÇÃO DE
E. coli E ESPOROS DE *B. subtilis* EM AMIDO DE MANDIOCA**

RESUMO

O amido, produto de ampla aplicação na indústria de alimentos, pode veicular microrganismos aos produtos aos quais é incorporado, em função de sua origem e por consistir num material de difícil esterilização. O ozônio é um dos agentes oxidantes que têm potenciais aplicações na indústria de alimentos. Além de seguro, o ozônio é um poderoso agente antimicrobiano, apresentando um longo espectro de atuação, podendo ser uma alternativa para a descontaminação do amido. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do ozônio gasoso na inativação de *E. coli* e esporos de *B. subtilis* intencionalmente inoculados em amido de mandioca e verificar o efeito da umidade do produto na eficiência do tratamento. Para o estudo com amido com 18% de umidade, foram utilizadas concentrações de ozônio de 40 e 113 ppm, para avaliar a inativação de *E. coli*, e uma concentração de 118 ppm, para avaliação da inativação de esporos de *B. subtilis*. Os tempos de exposição ao ozônio empregados foram de 30, 60, 90 e 120 minutos. O tratamento durante 120 minutos, nas duas concentrações estudadas, promoveu uma redução de aproximadamente 2 ciclos logarítmicos na população de *E. coli*, mostrando que uma menor concentração de ozônio e um tempo de exposição relativamente longo (2 horas) podem ser empregados para reduzir *E. coli* em amido. Para os esporos de *B. subtilis*, por sua vez, os tratamentos com ozônio não resultaram em inativação significativa (< 1 ciclo log). Para o estudo com amido com 30% de umidade, as concentrações de ozônio empregadas foram de 40 e 118 ppm. Para avaliar a inativação de *E. coli*, os tempos de exposição ao ozônio empregados foram de 30, 60, 90 e 120 minutos para a menor concentração estudada e de 15, 30, 45 e 60 minutos para a maior concentração. Para avaliação da inativação de esporos de *B. subtilis*, as concentrações mencionadas foram empregadas nos tempos de exposição de 30, 60, 90 e 120 minutos. Na menor concentração e maior tempo de exposição empregados (40 ppm/120 minutos), foi obtida uma redução de 3,6 ciclos logarítmicos na população de esporos de *B. subtilis*. A 118 ppm de ozônio, aos 90 e 120 minutos de tratamento, a concentração desses microrganismos sofreu reduções superiores a 5 ciclos logarítmicos. Para a população de *E. coli*, por sua vez, foram obtidas reduções superiores a 7 ciclos logarítmicos a partir dos 60 minutos de tratamento quando a concentração de 40 ppm foi empregada. Já na concentração de 118 ppm, metade do tempo (30 minutos) foi necessário para obter reduções superiores a 6 ciclos logarítmicos. Os resultados mostraram que o aumento do conteúdo de umidade do amido influenciou positivamente a eficiência do tratamento com ozônio, proporcionando maior inativação da população de *E. coli* e redução do número de esporos de *B. subtilis*, cuja inativação não foi observada no amido com menor conteúdo de umidade. Para reduções iguais ou superiores a 5 ciclos logarítmicos nas populações de *E. coli* e esporos de *B. subtilis* inoculados em amido de mandioca, com conteúdo de umidade de cerca de 30%, podem ser empregados os tratamentos com ar ozonizado a 40 ppm de ozônio durante 60 minutos ou 118 ppm por 30 minutos, para o primeiro, e 118 ppm por 90 minutos, para o segundo microrganismo.

Palavras-chave: Amido. Descontaminação. Inativação. Microrganismo. Ozônio. Umidificação.

ABSTRACT

Starch has diverse applications in the food industry. Due to its natural origin and because starch is a material difficult to be sterilized, it usually transports microorganisms to products to which it is incorporated. Ozone is one of the oxidizing agents that have potential applications in the food industry. Besides being safe, ozone is a powerful antimicrobial agent with broad-spectrum activity and it could be an alternative for the decontamination of starch. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of gaseous ozone on the inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* spores intentionally inoculated in cassava starch and determine the effect of the moisture content of the product on ozone efficiency. For the study with starch with a final moisture content of approximately 18%, ozone concentrations of 40 and 113 ppm were employed to evaluate the inactivation of *E. coli* and a concentration of 118 ppm, for the inactivation of *B. subtilis* spores. The exposure times used were 30, 60, 90 and 120 minutes. The treatments for 120 minutes, in the concentrations of 40 and 113 ppm, promoted a decrease of about 2 logarithmic cycles in the population of *E. coli*, showing that a lower concentration of ozone and a relatively long exposure time (2 hours) may be employed to decrease *E. coli* in starch. For the spores of *B. subtilis*, the treatments with ozone did not result in a significant inactivation (<1 decimal reduction). For the study with starch with a final moisture content of approximately 30%, ozone concentrations of 40 and 118 ppm were employed. To evaluate the inactivation of *E. coli*, the exposure times used were 30, 60, 90 and 120 minutes for the lowest concentration studied, and 15, 30, 45 and 60 minutes for the highest concentration. To evaluate the inactivation of *B. subtilis* spores, the concentrations described above were employed at exposure times of 30, 60, 90 and 120 minutes. At the lowest concentration and highest exposure time employed (40 ppm/120 minutes), a reduction of 3.6 logarithmic cycles was obtained in the population of spores of *B. subtilis*. At 118 ppm of ozone, for 90 and 120 minutes of treatment, the concentration of those microorganisms underwent decreases above 5 logarithmic cycles. For the population of *E. coli*, on the other hand, decreases above 7 logarithmic cycles were obtained from 60 minutes of treatment when the concentration of 40 ppm was employed. In the concentration of 118 ppm, half of the time (30 minutes) was necessary in order to obtain decreases above 6 logarithmic cycles. The results showed that the increase of the moisture content of the starch positively influenced the efficacy of the treatment with ozone, providing a greater inactivation of the population of *E. coli* and a decrease of the number of spores of *B. subtilis*, whose inactivation was not observed in the starch with lower moisture content. For decreases equal or above 5 logarithmic cycles in the populations of *E. coli* and *B. subtilis* spores inoculated in humidified cassava starch, the treatments with ozonized air at 40 ppm ozone for 60 minutes or 118 ppm for 30 minutes, for the first, and 118 ppm for 90 minutes, for the second microorganism may be employed.

Keywords: Decontamination. Humidification. Inactivation. Microorganism. Ozone. Starch.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com Guzel-Seydim, Greene e Seydim (2004), a indústria de alimentos está buscando constantemente métodos mais eficazes para manter a segurança dos alimentos. Os autores afirmam que o ozônio é uma alternativa efetiva em função de suas propriedades antimicrobianas e ausência de substâncias residuais. Além disso, tecnologias não térmicas tem-se destacado atualmente como uma forma de garantir a segurança dos alimentos sem comprometer sua qualidade, e o uso de ozônio gasoso é um possível método para a eliminação de patógenos, sem prejudicar a qualidade do alimento tratado (KLOCKOW; KEENER, 2009).

O ozônio é um dos agentes oxidantes mais fortes e um dos sanitizantes mais potentes e tem sido usado como substituto dos compostos químicos a base de cloro (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001). O amplo espectro antimicrobiano do ozônio, combinado com seu alto potencial de oxidação, fazem dele uma opção atrativa de processamento para a indústria de alimentos. Quantidades relativamente pequenas de ozônio e curtos tempos de contato são suficientes para alcançar o efeito antimicrobiano desejável e ele se decompõe rapidamente em oxigênio, não deixando resíduos tóxicos nos produtos (MUTHUKUMARAPPAN; HALAWEISH; NAIDU, 2000 apud TIWARI et al., 2008a).

Estudos relatam diversas aplicações do ozônio na indústria de alimentos, incluindo a redução de populações microbianas em embalagens e superfícies de aço inoxidável (KHADRE; YOUSEF, 2001); tratamento e reciclagem de água de *chiller* (GÜZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004; KHADRE; YOUSEF, 2001); desinfecção de equipamentos; tratamento de água (PASTORIZA et al., 2008); extensão da vida de prateleira de peixe (PASTORIZA et al., 2008); processamento de vários sucos de frutas (TIWARI et al., 2008b; 2009a; 2009b); descontaminação de carcaça de frango; higienização de frutas e vegetais (ACHEN; YOUSEF, 2001; BIALKA; DEMIRCI, 2007; KIM; YOUSEF; CHISM, 1999; KOSEKI; ISOBE, 2006; NAJAFI; KHODAPARAST, 2009); descontaminação de produtos secos tais como cereais, grãos, pimenta e pistache (AKBAS; OZDEMIR, 2006; EMER; AKBAS;

OZDEMIR, 2008; IBANOGLU, 2001; 2002; KETTERINGHAM et al., 2006; ZHAO; CRANSTON, 1995), entre outros.

O amido de mandioca apresenta propriedades tecnológicas que o tornam matéria-prima de grande interesse à indústria de alimentos. A ausência de “odor de cereal”, típico do amido de milho, assim como seu padrão viscoamilográfico durante o cozimento, são algumas das características de interesse para sua aplicação na indústria alimentícia (DEMIATE et al., 2005). Baixa temperatura de pasta e menor susceptibilidade à sinérese, quando comparado com amidos regulares de cereais, são também propriedades que diferenciam o amido de mandioca para aplicações industriais (DEMIATE et al., 2003).

Em função da origem da matéria-prima, que é uma raiz, o amido de mandioca pode apresentar uma elevada carga microbiana, com grande percentual de bactérias esporuladas, fato que, aliado às propriedades do amido, em especial a sua baixa temperatura de gelatinização, o caracteriza como um material de difícil esterilização (CEREDA; VILPOUX, 2005).

Com base nas propriedades do ozônio como sanitizante e nas dificuldades de esterilização do amido, este estudo teve como objetivo avaliar a efetividade do tratamento com ozônio, em diferentes concentrações e tempos de exposição, na inativação de *E. coli* e esporos de *B. subtilis* intencionalmente inoculados em amido de mandioca e avaliar o efeito da umidade do produto na eficiência do ozônio.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Matéria-prima

O amido de mandioca utilizado neste estudo foi doado pela empresa Corn Products Brasil (Conchal, Brasil).

2.1.2 Microrganismos de inoculação

Cepas liofilizadas de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 e *Escherichia coli* ATCC 8739 foram adquiridas da Coleção de Culturas Tropical da Fundação de Pesquisa e Tecnologia André Tosello (Campinas, Brasil). As culturas foram reativadas em caldo nutriente e repicadas em ágar nutriente. As culturas estoque foram mantidas em ágar nutriente inclinado, sob refrigeração.

2.1.3 Sistema de geração de ozônio

O sistema utilizado para a geração de ozônio era constituído por um gerador de ozônio Interozone Linha DEVOC[®], Modelo SGOZ-123 (Grupo Interozone Brasil, Jundiaí, Brasil), com capacidade de produção de 5 g/h, e um concentrador de oxigênio Modelo NewLife Elite (AirSep Corporation, Nova York, Estados Unidos), com fluxo de 5 L/min.

O gerador de ozônio tem como princípio de geração do gás o método de descarga por efeito corona, e o ar atmosférico foi utilizado para alimentação do sistema. Antes de entrar na célula geradora de ozônio, o ar passava pelo concentrador de oxigênio, o qual era responsável pela sua concentração em 95% de oxigênio. Em seguida, o ar concentrado fluía entre dois eletrodos submetidos a

uma elevada diferença de potencial, sendo transformado em ozônio. O fluxo de ar ozonizado no sistema era de 14 m³/h.

2.1.4 Analisador de ozônio

A concentração de ozônio no ar ozonizado foi determinada por um Analisador de Ozônio, Modelo UV-100 (Eco Sensors, Inc., Santa Fe, EUA). A faixa de medição do equipamento é de 0-900 ppm, e seu princípio de funcionamento baseia-se na absorção de luz UV (emitida por uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão) por moléculas de ozônio.

2.1.5 Misturador de pó

O ar ozonizado, após sair do gerador, era direcionado ao misturador de pó (Figura 2.1a), equipamento construído pela empresa Cardoso Comércio de Equipamentos Ind. Ltda. (Sumaré, Brasil) especificamente para uso no sistema de ozonização utilizado. O corpo do misturador era construído em aço inoxidável e a tampa em policarbonato. O misturador apresentava sistema basculante e velocidades de agitação variáveis. A tampa em policarbonato possibilitava avaliar visualmente a capacidade de mistura do equipamento, sendo utilizada uma velocidade que proporcionava um bom contato do amido com o ar injetado no sistema e que não resultava em grande perda de produto pelas mangueiras de saída do gás durante o tratamento.

As pás eram removíveis e construídas em teflon (Figura 2.1b); a distância das pás em relação à parede do misturador, bem como a sua disposição sobre o eixo do equipamento, eram ajustáveis. O volume total do misturador era de 25 litros.

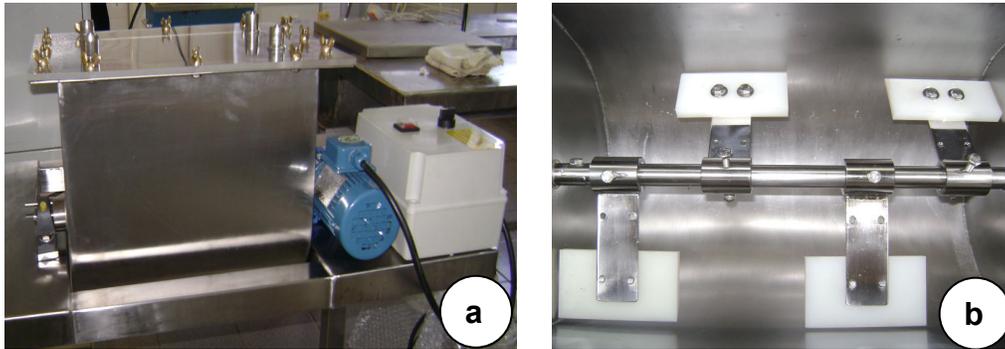


Figura 2.1. Misturador de pó
a) Parte externa; b) Parte interna.

O ar ozonizado era injetado no misturador através da parte superior do equipamento por meio de duas entradas localizadas na tampa. O excesso de ozônio saía do misturador através de dois orifícios também localizados na tampa, do lado oposto à entrada do gás. As mangueiras utilizadas no sistema para entrada e saída do gás do misturador eram compostas de PVC, material inerte ao ataque químico do ozônio.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Preparo da suspensão de *E. coli*

Após sua ativação, a pureza da cultura foi verificada por métodos convencionais, através da coloração de Gram, teste de utilização do citrato e testes VM-VP, de acordo com metodologia descrita em Silva, Junqueira e Silveira (1997).

Para cada replicata dos experimentos realizados, a cultura foi ativada em caldo nutriente, seguida de incubação a 37°C por 24 h, e inoculada em placas de Petri. A suspensão foi obtida pela lavagem das placas após 24 h de incubação.

2.2.2 Preparo da suspensão de esporos de *B. subtilis*

Após a ativação da cultura liofilizada, foram realizados alguns testes para a confirmação da cultura de *B. subtilis*, sendo eles: coloração de Gram, catalase, utilização do citrato, crescimento a 40°C, crescimento em 7% de NaCl e crescimento em anaerobiose (GALLO, 1989; STEVENSON; SEGNER, 1992).

A suspensão de esporos de *B. subtilis* foi preparada utilizando-se adaptação da metodologia usada por Abreu (2001), conforme descrição a seguir.

Alíquotas de 0,1 mL da cultura de *B. subtilis* ativada em caldo nutriente foram distribuídas em placas de Petri contendo ágar nutriente e incubadas a 30°C por 48 h. A partir da cultura crescida nas placas, foi obtida uma suspensão de células vegetativas através da lavagem da superfície das placas com água destilada estéril. Antes da inoculação no meio de esporulação, a suspensão foi avaliada quanto à possibilidade de contaminação, através do método de coloração de Gram. Em seguida, alíquotas de 0,5 mL da suspensão foram inoculadas em garrafas de Roux contendo 200 mL de ágar nutriente suplementado com 20 mg/L de sulfato de manganês. O sulfato de manganês foi utilizado para induzir a esporulação. As garrafas foram incubadas a 30°C por 14 dias, quando havia cerca de 80% de esporos nos campos microscópicos observados em lâminas.

A coleta dos esporos produzidos foi efetuada recolhendo-se o crescimento superficial com água destilada e bagueta estéreis, utilizando-se para cada garrafa cerca de 15 mL de água.

A suspensão obtida foi centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos a 10°C para remoção de células vegetativas e resíduos de meio de cultura. A operação de centrifugação foi repetida três vezes, ressuspensando-se o precipitado em água destilada estéril, após a eliminação do sobrenadante de cada etapa. Após a última centrifugação, o material foi ressuspenso em água destilada estéril e a suspensão foi, então, armazenada a 4°C até o momento de sua utilização.

Para determinação da concentração de esporos na suspensão, um choque térmico a 70°C por 20 minutos foi dado na diluição inicial para ativação dos esporos, e as diluições subseqüentes foram realizadas posteriormente. As

diluições foram plaqueadas na superfície de ágar nutriente, seguida de incubação a 30°C por 48 h.

Para a quantificação da suspensão, as condições de tempo e temperatura empregadas foram determinadas previamente, como descrito a seguir.

2.2.3 Determinação do binômio temperatura/tempo de ativação dos esporos de *B. subtilis*

Para determinação do binômio temperatura/tempo de ativação, uma alíquota de 1 mL da suspensão de esporos de *B. subtilis* foi transferida, assepticamente, para 9 mL de água destilada estéril. Esta diluição foi distribuída, em alíquotas de 1 mL, em tubos contendo 9 mL de água destilada estéril. A seguir, cada três desses tubos foram submetidos a uma determinada temperatura, permanecendo cada um deles em um tempo distinto. As temperaturas e tempos testados foram 70 e 80°C e 10, 20 e 30 minutos. Completado o tempo de aquecimento, os tubos foram submetidos ao resfriamento imediato em banho de gelo por 2 minutos. Em seguida, procedeu-se às diluições decimais até 10^{-10} , e alíquotas de 0,1 mL das cinco últimas diluições foram plaqueadas, em duplicata, em ágar nutriente e incubadas a 30°C durante 48 h.

2.2.4 Inoculação

O amido utilizado foi previamente esterilizado por radiação gama, numa dose de 10 kGy, pela Empresa Brasileira de Radiações (EMBRARAD - Cotia, Brasil). A dose empregada foi definida com base em dados de estudos com produtos em pó (BYUN et al., 1998; BYUN; YOOK; KWON, 1997), com contagem microbiana similar à do amido utilizado, nos quais esta dose foi suficiente para esterilização dos produtos estudados.

Para o estudo com amido com menor conteúdo de umidade, 1 kg de produto, com umidade inicial de 11%, foi inoculado com 100 mL de suspensão

microbiana, obtendo um conteúdo de umidade final de aproximadamente 18%. A suspensão foi aspergida gradualmente no produto com o auxílio de um pulverizador de junta esmerilhada, com homogeneizações intercaladas para garantir uma distribuição uniforme do inóculo. Antes de dar início ao tratamento com ozônio, o amido inoculado foi mantido em descanso por cerca de 1 h, para permitir a aderência do inóculo ao produto. Em seguida, foi coletada amostra de amido para determinação da contagem microbiana inicial. Nas replicatas dos processos, a concentração inicial de microrganismos no amido inoculado foi da ordem de 10^7 UFC/g, para o *B. subtilis*, e entre 10^6 e 10^8 UFC/g, para a *E. coli*.

Para avaliar o efeito da umidade do amido na eficiência do ozônio, fez-se a umidificação e inoculação do amido de mandioca de forma a obter um conteúdo de umidade final de aproximadamente 30%. A umidificação do amido a valores superiores a 30% de umidade foi limitada pela aparente formação de grumos, os quais poderiam dificultar o contato do ozônio com os microrganismos. Um quilo de amido foi previamente umidificado e posteriormente inoculado com 100 mL de suspensão microbiana. Antes de dar início ao tratamento com ozônio, o amido inoculado foi mantido em descanso por cerca de 1 h, para permitir a aderência do inóculo ao produto. Em seguida, foi coletada amostra de amido para determinação da contagem microbiana inicial. Nas replicatas dos processos, a concentração inicial de microrganismos no amido inoculado foi da ordem de 10^7 UFC/g, para o *B. subtilis*, e entre 10^7 e 10^8 UFC/g, para a *E. coli*.

2.2.5 Tratamento com ozônio

O processo consistiu na aplicação de ozônio gasoso ao amido em pó, intencionalmente inoculado, injetando-se o ar ozonizado no misturador. Foi utilizado aproximadamente 1 kg do produto em cada batelada. As mangueiras de entrada de ar ozonizado no misturador foram posicionadas contrariamente à movimentação das pás e utilizou-se filtros, alocados em uma carcaça de aço inoxidável, no final das duas mangueiras de saída do ar, o que permitiu a retenção

do amido inoculado arrastado pelo fluxo de ar. As medidas da concentração do ar ozonizado eram realizadas na saída do gerador.

Para os testes com amido com 18% de umidade, o amido inoculado foi submetido ao tratamento com ar ozonizado e amostras foram coletadas a cada 30 minutos durante 2 horas. As concentrações de ozônio empregadas foram de 40 e 113 ppm, no estudo de inativação de *E. coli*, e de 118 ppm, na avaliação da inativação de esporos de *B. subtilis*. Os tratamentos foram realizados em triplicata.

Para os testes com amido com 30% de umidade, o produto foi submetido ao tratamento com ar ozonizado a 40 e 118 ppm de ozônio. As amostras foram coletadas a cada 30 minutos durante 2 horas nos experimentos realizados com *B. subtilis*, nas duas concentrações estudadas, e com *E. coli*, na concentração de 40 ppm. Para o estudo da inativação de *E. coli* na concentração de 118 ppm, as amostras foram coletadas a cada 15 minutos durante 1 hora de tratamento. Os tratamentos foram realizados em duplicata.

Para fins de comparação dos resultados obtidos, fez-se um tratamento controle com o amido inoculado utilizando-se ar não ozonizado, coletando-se amostras aos 30, 60, 90 e 120 minutos de tratamento.

Após cada grupo de tratamento, o amido residual contido no misturador foi removido e descontaminado em autoclave para posterior descarte, e o misturador foi inundado com solução de ácido peracético (0,1%) durante 30 minutos. Em seguida, o misturador foi lavado e, antes de ser usado, o equipamento foi sanitizado utilizando-se solução de ácido peracético nas mesmas condições de tempo e concentração mencionadas.

2.2.6 Análises microbiológicas

A enumeração de *B. subtilis* no amido inoculado, antes e depois dos tratamentos com ozônio, foi realizada por plaqueamento em superfície com ágar nutriente.

A amostra de amido diluída em água peptonada 0,1% foi submetida a choque térmico (70°C/20 min.) para promover a ativação dos esporos. A aplicação

do choque térmico foi realizada na diluição 10^{-2} , pois a diluição inicial (10^{-1}), quando submetida ao aquecimento na temperatura mencionada, ocorria a gelatinização do amido, dificultando a realização das subseqüentes diluições seriais. As diluições plaqueadas, em duplicata, foram incubadas a 30°C por 48 h. Para os testes com amido com maior conteúdo de umidade, o plaqueamento da diluição 10^{-2} foi realizado em três placas com alíquotas de 0,3 mL e uma de 0,1 mL.

A contagem de *E. coli* foi realizada por plaqueamento em superfície com ágar nutriente. As diluições plaqueadas, em duplicata, foram incubadas a 37°C por 24 h. Para os testes com amido com maior conteúdo de umidade, o plaqueamento da diluição 10^{-1} foi realizado em três placas com alíquotas de 0,3 mL e uma de 0,1 mL.

Todos os dados obtidos a partir da contagem das placas foram transformados em \log_{10} , e o número de reduções decimais (NRD) na população microbiana foi calculado com base na Equação 2.1.

$$\gamma = \log_{10} \left(\frac{N_0}{N} \right) \quad (2.1)$$

Onde,

γ é o número de reduções decimais obtidas;

N_0 é a contagem inicial de microrganismos (UFC/g); e

N é a contagem final de microrganismos (UFC/g).

2.2.7 Análise estatística

Os resultados obtidos a partir da Equação 2.1 foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e o teste de Tukey foi utilizado para determinar diferenças entre os tratamentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AVALIAÇÃO DA INATIVAÇÃO DE *Escherichia coli*

3.1.1 Amido com 18% de umidade

O número de reduções decimais obtido para a população de *E. coli*, nas concentrações de 40 e 113 ppm de ozônio, é mostrado na Tabela 2.1. Na concentração de 40 ppm, o ozônio proporcionou reduções inferiores a 1 ciclo logarítmico, durante os tempos de 30 e 60 minutos de exposição. Nessa concentração, o aumento do tempo de ozonização de 30 para 90 minutos não proporcionou redução significativa na população de *E. coli*, a 5% de significância, obtendo-se uma redução de 1,1 ciclos logarítmicos. Por outro lado, o aumento do tempo de exposição para 120 minutos influenciou positivamente na inativação do microrganismo (1,9 reduções decimais).

Tabela 2.1. Efeito do ozônio na população de *E. coli* em amido de mandioca com 18% de umidade

Tempo (min.)	NRD		
	40 ppm	113 ppm	Controle
30	0,72 ± 0,07 ^{aA}	1,11 ± 0,48 ^{aA}	0,40
60	0,97 ± 0,21 ^{aA}	1,15 ± 0,12 ^{aA}	0,46
90	1,12 ± 0,21 ^{aA}	1,43 ± 0,42 ^{aA}	0,47
120	1,88 ± 0,32 ^{bA}	1,87 ± 0,35 ^{aA}	0,48

NRD: Número de Reduções Decimais. Os resultados representam as médias de três processos. Valores com letras minúsculas iguais numa mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). Valores com letras maiúsculas iguais numa mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$).

Quando a concentração de 113 ppm de ozônio foi empregada, foram obtidas reduções de 1,1; 1,2; 1,4 e 1,9 ciclos logarítmicos na população de *E. coli*, para os tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos de tratamento, respectivamente. Nessa concentração, o efeito do tempo de exposição não foi observado, não

havendo diferença significativa entre as reduções decimais obtidas, a um nível de 5% de significância.

A Figura 2.2 mostra os efeitos comparativos do tratamento controle e dos tratamentos com ozônio sobre a carga microbiana inoculada no amido de mandioca. As curvas do número de reduções decimais obtidas para as concentrações de 40 e 113 ppm cruzam-se no maior tempo de exposição empregado (120 minutos). E, para cada um dos tempos de exposição aplicados, o aumento da concentração não proporcionou o aumento significativo do número de reduções decimais obtidas.

No tratamento controle, foram obtidas reduções inferiores a 0,5 ciclos log na população de *E. coli* inoculada em amido de mandioca, para os diferentes tempos de processo (30, 60, 90 e 120 minutos). Embora a redução obtida no tratamento controle seja baixa, ela se mostra significativa quando comparada aos baixos valores de reduções decimais obtidas nos tratamentos de ozonização. Por outro lado, acredita-se que ela pode ser desconsiderada, tendo em vista sua proximidade com os valores de desvio padrão obtidos nas análises microbiológicas das amostras ozonizadas.

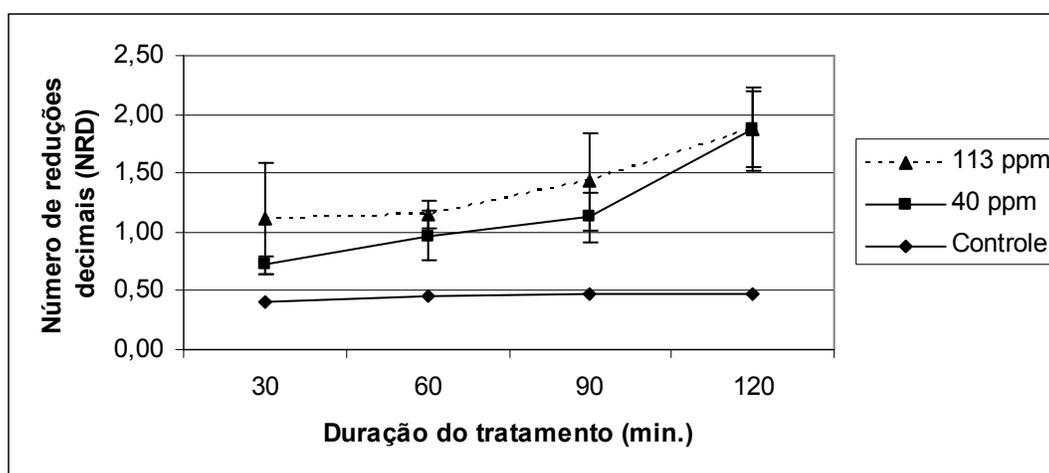


Figura 2.2. Efeitos comparativos dos tratamentos controle e com ozônio (40 e 113 ppm) na inativação de *E. coli* em amido de mandioca com 18% de umidade

Akbas e Ozdemir (2006) avaliaram o efeito do ozônio na inativação de *E. coli* em pistache moído e obtiveram reduções de 1,5 ciclos logarítmicos quando

foram utilizadas concentrações de 0,1 e 0,5 ppm por 360 minutos, e redução de 2 log a uma concentração de 1,0 ppm durante o mesmo período de exposição.

Em estudo realizado por Akbas e Ozdemir (2008b), o uso de ozônio durante 360 minutos para tratamento de pimenta vermelha promoveu uma redução inferior a 1 log na população de *E. coli*, numa concentração de 0,1 ppm e reduções de 1,7 e 2 log, nas concentrações de 0,5 e 1,0 ppm, respectivamente.

Em trabalhos conduzidos por Emer, Akbas e Ozdemir (2008) foram alcançadas reduções de 0,9 e 3 ciclos logarítmicos na população de *E. coli* em pimenta preta moída após 120 minutos de tratamento a 0,1 e 0,5 ppm de ozônio, respectivamente.

No entanto, é difícil tecer comparações diretas entre os resultados mencionados e os encontrados neste trabalho, pois o efeito letal do ozônio está relacionado não apenas à sua concentração, ao tempo de exposição e ao produto tratado, mas também ao fluxo de ar ozonizado e à quantidade de produto utilizada no experimento, os quais interferem na quantidade de ozônio disponível e, conseqüentemente, na relação massa de ozônio/massa de produto.

3.1.2 Amido com 30% de umidade

Os resultados obtidos nos testes de inativação de *E. coli* em amido de mandioca previamente umidificado são mostrados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Efeito do ozônio na população de *E. coli* em amido de mandioca com 30% de umidade

Tempo (min.)	NRD		
	40 ppm	118 ppm	Controle
15	-	3,57 ± 0,00	-
30	3,72 ± 0,32	> 6	1,26
45	-	> 7	-
60	> 7	> 7	1,45
90	> 7	-	1,51
120	> 7	-	1,64

NRD: Número de Reduções Decimais. Os resultados representam as médias de dois processos.

Na menor concentração de ozônio estudada (40 ppm), a exposição por 30 minutos foi suficiente para promover 3,7 reduções decimais na população de *E. coli* e, a partir dos 60 minutos de tratamento, a população foi totalmente inativada. Diante desses resultados, para os experimentos com a concentração de 118 ppm de ozônio, as amostras de amido inoculado foram coletadas aos 15, 30, 45 e 60 minutos de tratamento. Nesta concentração, aos 15 minutos de exposição, a população de *E. coli* sofreu 3,6 reduções decimais e, a partir dos 30 minutos de tratamento, a concentração da população sofreu reduções superiores a 6 ciclos logarítmicos.

Neste estudo, pode-se observar que o aumento da concentração de ozônio de 40 para 118 ppm contribuiu para o aumento da inativação de *E. coli*, de modo que metade do tempo de tratamento foi necessário para proporcionar uma mesma redução da população inoculada quando a maior concentração foi empregada.

No tratamento controle, foram obtidas reduções entre 1,3 e 1,6 ciclos log na população de *E. coli* inoculada em amido de mandioca, nos tempos de processo estudados (30, 60, 90 e 120 minutos). Essas reduções podem ter sido decorrentes do processo, como também podem estar relacionadas à eficiência da recuperação.

Os resultados deste estudo, quando comparados àqueles obtidos no estudo de inativação de *E. coli* em amido com 18% de umidade, mostraram que a

efetividade do ozônio na redução dos microrganismos foi fortemente influenciada pelo conteúdo de umidade do produto, como pode ser observado na Figura 2.3. Estes resultados estão de acordo com os relatados por Zhao e Cranston (1995), que observaram uma maior redução na carga microbiana (aeróbios totais, anaeróbios totais e aeróbios formadores de esporos) de pimenta preta com o aumento da umidade do tempero. Segundo os autores, a influência do conteúdo de umidade na redução das bactérias aeróbias e anaeróbias totais em pimenta preta tornou-se evidente somente depois de 2 horas de tratamento com ozônio. Neste estudo, no entanto, o efeito da umidade sobre a efetividade do ozônio na redução da população de *E. coli* em amido de mandioca foi notadamente observado nos primeiros minutos de exposição.

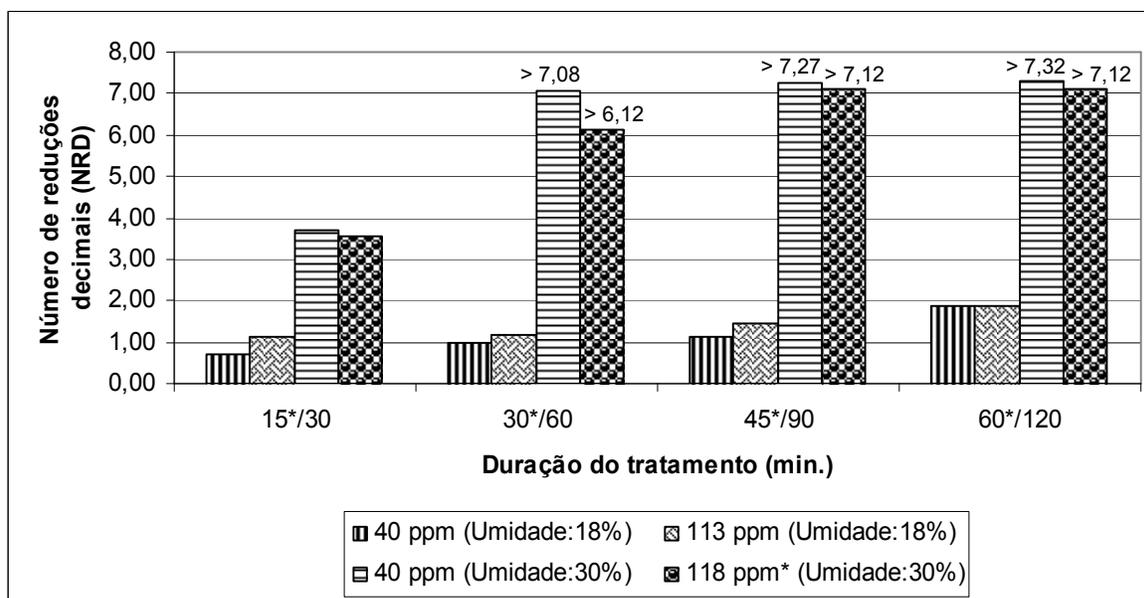


Figura 2.3. Influência da umidade do amido na eficiência da inativação de *E. coli* por ozônio

Não se pode definir com precisão o mecanismo de ação do ozônio frente às diferentes condições de umidade do produto. Possivelmente, a presença de água pode ter contribuído para a ação do ozônio por ter facilitado o contato do gás com o produto, ou até mesmo, por ter proporcionado a formação de radicais livres, fenômeno característico do ozônio quando em meio aquoso, os quais podem

também atuar na inativação microbiana, como relatam os autores Khadre, Yousef e Kim (2001).

3.2 AVALIAÇÃO DA INATIVAÇÃO DE ESPOROS DE *Bacillus subtilis*

3.2.1 Amido com 18% de umidade

Os testes com esporos de *B. subtilis* foram iniciados empregando-se a maior concentração de ozônio em estudo, tendo em vista os baixos valores de reduções obtidos no estudo de inativação de *E. coli*, microrganismo com resistência esperada inferior aos esporos de *B. subtilis*.

A aplicação de ozônio na concentração estudada (118 ppm) não proporcionou redução significativa na população de esporos de *B. subtilis* inoculado em amido de mandioca com 18% de umidade, como mostrado na Tabela 2.3. E, diante desses resultados, os testes com a menor concentração não foram realizados.

Tabela 2.3. Número de reduções decimais em esporos de *B. subtilis* em amido de mandioca com 18% de umidade

Tempo (min.)	118 ppm
30	0,05 ± 0,06 ^a
60	0,10 ± 0,06 ^a
90	0,12 ± 0,06 ^a
120	0,14 ± 0,04 ^a

Os resultados representam as médias de três processos. Valores com letras iguais não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$).

Através dos resultados obtidos nos estudos de inativação de *E. coli* e esporos de *B. subtilis* inoculados em amido de mandioca com 18% de umidade, pode-se observar que o grau de inativação microbiana pelo ozônio variou entre os diferentes tipos de microrganismos estudados. Quando comparados com as

células vegetativas de *E. coli*, os esporos de *B. subtilis* apresentaram maior resistência aos tratamentos com ozônio.

Estes resultados estão de acordo com os reportados por Akbas e Ozdemir (2008a; 2008b), em que esporos de *B. cereus* foram mais resistentes ao ozônio quando comparados com células vegetativas do mesmo microrganismo e com células de *E. coli*.

3.2.2 Amido com 30% de umidade

O número de reduções decimais obtido para a população de esporos de *B. subtilis*, nas concentrações de 40 e 118 ppm de ozônio, é mostrado na Tabela 2.4.

Tabela 2.4. Efeito do ozônio em esporos de *B. subtilis* em amido de mandioca com 30% de umidade

Tempo (min.)	NRD		
	40 ppm	118 ppm	Controle
30	1,40 ± 0,04 ^{bB}	2,38 ± 0,06 ^{bA}	0,02
60	2,70 ± 0,28 ^{aB}	3,77 ± 0,08 ^{aA}	0,02
90	3,34 ± 0,11 ^a	> 5	0,06
120	3,63 ± 0,37 ^a	> 5	0,16

NRD: Número de Reduções Decimais. Os resultados representam as médias de dois processos. Letras minúsculas diferentes numa mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes numa mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

O tratamento a 40 ppm de ozônio proporcionou reduções de aproximadamente 1,4; 2,7; 3,3 e 3,6 ciclos logarítmicos na população de esporos de *B. subtilis*, aos tempos de tratamento de 30, 60, 90 e 120 minutos, respectivamente, sendo que as reduções obtidas a partir dos 60 minutos de exposição não diferiram significativamente entre si, ao nível de 5% de significância. Quando a concentração de ozônio foi aumentada para 118 ppm, a população de esporos foi significativamente reduzida ($p < 0,05$). Aos 30 e 60 minutos de exposição, a população de esporos foi reduzida em 2,4 e 3,8 ciclos

logarítmicos, respectivamente. E a partir dos 90 minutos de exposição, a concentração de esporos sofreu reduções superiores a 5 ciclos logarítmicos.

A Figura 2.4 ilustra o efeito dos tratamentos a 40 e 118 ppm de ozônio na inativação de esporos de *B. subtilis* inoculado em amido de mandioca previamente umidificado.

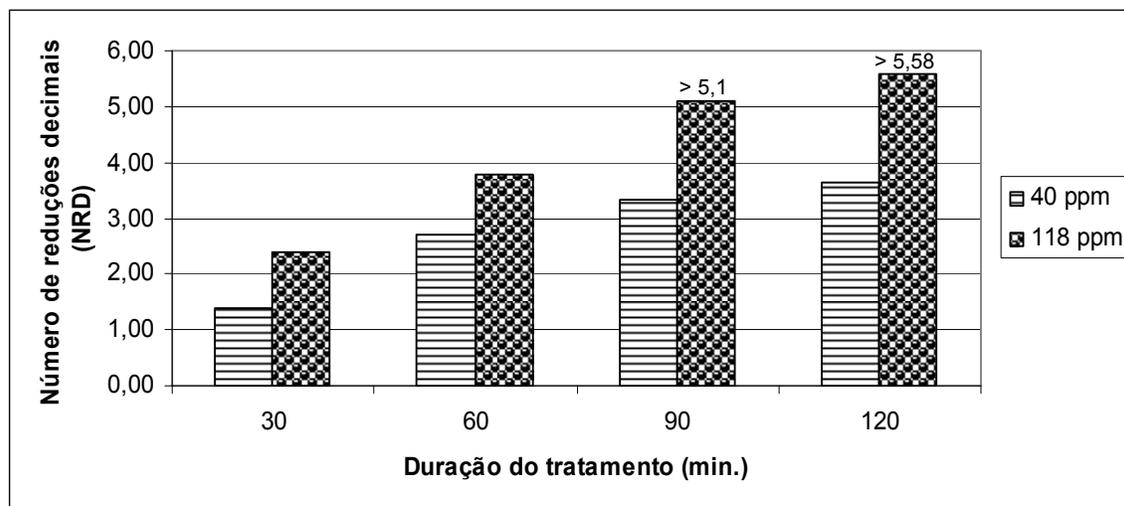


Figura 2.4. Efeito do ozônio na inativação de esporos de *B. subtilis* em amido de mandioca com 30% de umidade

Comparando-se os efeitos das duas concentrações de ozônio estudadas, pode-se observar que a eficiência do ozônio foi aumentada com o incremento da concentração. Basicamente, ao aumentar-se a concentração de 40 para 118 ppm de ozônio, o tempo necessário para obter-se reduções similares foi reduzido pela metade quando a maior concentração foi empregada. E, no caso do teste com 118 ppm de ozônio, a eficiência do tratamento foi aumentada com o aumento do tempo de exposição.

Diferentemente do observado com a *E. coli*, no tratamento controle não foi observada nenhuma redução no número de esporos de *B. subtilis* inoculado em amido de mandioca. Assim sendo, as reduções da população de esporos obtidas nos tratamentos a 40 e 118 ppm de ozônio podem ser atribuídas exclusivamente ao efeito antimicrobiano do ozônio.

4 CONCLUSÕES

A partir dos testes com amido de mandioca inoculado sem prévia umidificação, pode-se inferir que:

- Para a inativação de *E.coli*, os efeitos das concentrações utilizadas (40 e 113 ppm) não foram significativamente diferentes, e a influência do tempo de exposição foi observada apenas quando a concentração de 40 ppm foi empregada.

- O tempo requerido para alcançar uma redução aproximada de 2 ciclos logarítmicos na população de *E. coli*, numa concentração de 40 ppm de ozônio, foi o mesmo requerido a 113 ppm, mostrando que uma menor concentração de ozônio e um tempo de exposição relativamente longo (2 horas) podem ser empregados para reduzir *E. coli* em amido de mandioca.

- Para a inativação de esporos de *B. subtilis*, o tratamento com ozônio não foi efetivo nas condições de tratamento utilizadas.

E a partir dos testes com amido de mandioca umidificado, pode-se inferir que:

- *E. coli* e esporos de *B. subtilis*, inoculados em amido de mandioca, podem ser efetivamente inativados com ozônio gasoso. O aumento do conteúdo de umidade do amido influenciou positivamente a eficiência do tratamento com ozônio, proporcionando maior inativação da população de *E. coli* e redução do número de esporos de *B. subtilis*, cuja inativação não foi observada em amido com menor conteúdo de umidade.

- A efetividade do ozônio aumentou com o incremento da concentração e do tempo de exposição. Para reduções iguais ou superiores a 5 ciclos logarítmicos nas populações de *E. coli* e esporos de *B. subtilis* em amido de mandioca com 30% de umidade, podem ser empregados os tratamentos com ar ozonizado a 40 ppm de ozônio durante 60 minutos ou 118 ppm por 30 minutos, para o primeiro, e 118 ppm por 90 minutos, para o segundo microrganismo.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. F. **Avaliação de processo de sanificação química de garrafas plásticas para sistemas assépticos**. 2001. 117 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

ACHEN, M.; YOUSEF, A. E. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. **Journal of Food Science**, Chicago, v.66, n.9, p. 1380-1384, 2001.

AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. **Food Microbiology**, London, v.25, n.2, p. 386-391, 2008a.

AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Effectiveness of ozone for inactivation of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* in pistachios. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.41, n.5, p. 513-519, 2006.

AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Effect of gaseous ozone on microbial inactivation and sensory of flaked red peppers. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.43, n.9, p. 1657-1662, 2008b.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A. Utilization of gaseous ozone for the decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on raspberries and strawberries. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 5, p. 1093-1098, 2007.

BYUN, M.-W. et al. Comparative effects of gamma irradiation and ozone treatment on hygienic quality of Korean red ginseng powder. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.52, n.1-6, p. 95-99, 1998.

BYUN, M.-W.; YOON, H.-S.; KWON, O.-J. Comparative effects of gamma irradiation and ozone treatment on hygienic quality of aloe powders. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.32, n.3, p. 221-227, 1997.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. **Uso de lâmpada ultravioleta Germetec para redução de conteúdo microbiano de amido comercial de mandioca**. (Nota prévia). Centro de Tecnologias para o Agro-negócio. Universidade Católica Dom Bosco. 2005.

DEMIATE, I. M. et al. Amidos nativos e modificados: propriedades e aplicações em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.37 (supl.), p. 101-106, 2003.

DEMIATE, I. M. et al. Viscographic characteristics of chemically modified cassava starches assessed by RVA. **Publicio UEPG** - Ciências exatas e da terra, ciências agrárias e engenharias, Ponta Grossa, v.11, n.1, p. 7-17, 2005.

EMER, Z.; AKBAS, M. Y.; OZDEMIR, M. Bactericidal activity of ozone against *Escherichia coli* in whole and ground black peppers. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 71, n. 5, p. 914-917, 2008.

GALLO, C. R. **Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas de fermentação alcoólica**. 1989. 388 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Campinas, 1989.

GUZEL-SEYDİM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDİM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT - Food Science and Technology**, London, v.37, n.4, p. 453-460, 2004.

IBANOGLU, S. Influence of tempering with ozonated water on the selected properties of wheat flour. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.48, n.4, p. 345-350, 2001.

IBANOGLU, S. Wheat washing with ozonated water: effects on selected flour properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.37, n.5, p. 579-584, 2002.

KETTERINGHAM, L. et al. Application of aqueous ozone for treating pre-cut green peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.76, n.1, p. 104-111, 2006.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E. Decontamination of a multilaminated aseptic food packaging material and stainless steel by ozone. **Journal of Food Safety**, Malden, v.21, p. 1-13, 2001.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J.-G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, Chicago, v.66, n.9, p. 1242-1252, 2001.

KIM, J.-G.; YOUSEF, A. E.; CHISM, G. W. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. **Journal of Food Safety**, Malden, v.19, p. 17-34, 1999.

KLOCKOW, P. A.; KEENER, K. M. Safety and quality assessment of packaged spinach treated with a novel ozone-generation system. **LWT - Food Science and Technology**, London, v.42, n.6, p. 1047-1053, 2009.

KOSEKI, S.; ISOBE, S. Effect of ozonated water treatment on microbial control and on browning of Iceberg Lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 69, n. 1, p. 154-160, 2006.

NAJAFI, M. B. H.; KHODAPARAST, M. H. H. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. **Food Control**, Oxford, v.20, n.1, p. 27-30, 2009.

PASTORIZA, L. et al. Use of sterile and ozonized water as a strategy to stabilize the quality of stored refrigerated fresh fish. **Food Control**, Oxford, v.19, n.8, p. 772-780, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

STEVENSON, K. E.; SEGNER, W. P. Mesophilic aerobic sporeformers. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3rd ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA), 1992. p. 985-993.

TIWARI, B. K. et al. Anthocyanin and colour degradation in ozone treated blackberry juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Oxford, v.10, n.1, p. 70-75, 2009a.

TIWARI, B. K. et al. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. **Food Chemistry**, Oxford, v.113, n.4, p. 1119-1126, 2009b.

TIWARI, B. K. et al. Effect of ozonization on the rheological and colour characteristics of hydrocolloid dispersions. **Food Research International**, Amsterdam, v.41, n.10, p. 1035-1043, 2008a.

TIWARI, B. K. et al. Modelling colour degradation of orange juice by ozone treatment using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.88, n.4, p. 553-560, 2008b.

ZHAO, J.; CRANSTON, P. M. Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, West Sussex, v.68, n.1, p. 11-18, 1995.

**CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DO EFEITO DO OZÔNIO NAS CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E PROPRIEDADES DE PASTA DO AMIDO
DE MANDIOCA**

RESUMO

O ozônio é um forte oxidante e um potente agente desinfetante e tem potenciais aplicações na indústria de alimentos. O excesso de ozônio decompõe-se rapidamente em oxigênio, não deixando, portanto, resíduos nos alimentos. O amido, polissacarídeo mais abundante na natureza, tem diversas aplicações nas indústrias alimentícias e não alimentícias, sendo as primeiras as maiores consumidoras desse polímero. O amido de mandioca é o segundo mais importante amido extraído no Brasil e suas aplicações industriais são determinadas principalmente pelas suas características físico-químicas e seu padrão viscoamilográfico. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento com ozônio nas características físico-químicas, sensoriais e nas propriedades de pasta do amido de mandioca. O amido, previamente umidificado para um conteúdo de umidade de cerca de 30%, foi submetido aos tratamentos com ozônio gasoso nas concentrações de 40 e 118 ppm por 30, 60, 90 e 120 minutos para a menor, e por 30 e 60 minutos para a maior concentração. As amostras foram avaliadas quanto ao pH, cor instrumental (L^* , a^* , b^*), análise de oxidação por determinação dos conteúdos de carbonila e carboxila, estudo das propriedades de pasta e avaliação sensorial de cor e odor. Os valores médios do pH das amostras ozonizadas variaram de 4,5 a 5,2 e foram significativamente inferiores ($p < 0,05$) ao pH da amostra padrão (amido tal como comercialmente disponível), que foi de 5,9. Os conteúdos de carboxila e carbonila das amostras ozonizadas variaram de 0,059 a 0,072% e 1,633 a 1,750%, respectivamente, e não diferiram significativamente dos valores encontrados para as amostras controle (amido tratado com ar não ozonizado) e padrão. Com relação aos parâmetros de cor, os valores de L^* das amostras ozonizadas não diferiram significativamente dos valores das amostras controle e padrão. Já os valores de a^* das amostras ozonizadas foram significativamente inferiores aos das amostras padrão e controle. Para os valores de b^* , houve diferença significativa entre as amostras ozonizadas por 30 e 60 minutos e as amostras padrão e controle, tendo as amostras tratadas valores de b^* superiores. A análise conjunta dos parâmetros de cor, indicada pela diferença total de cor (ΔE), revelou que a diferença de cor entre as amostras ozonizadas e a padrão não foi significativa. Nas propriedades de pasta, o efeito do ozônio foi mais evidente nos parâmetros de pico de viscosidade e *breakdown*, proporcionando a obtenção de pastas de amido com maior poder de intumescimento e menor estabilidade de pasta durante o cozimento sob agitação. E as amostras em que o efeito do ozônio foi observado num maior número de parâmetros foram as submetidas a 40 ppm por 90 minutos e 118 ppm por 60 minutos. Na avaliação sensorial, o efeito do ozônio foi mais evidente no atributo de odor do que no atributo de cor, sendo que as amostras ozonizadas a 40 e 118 ppm por 30 minutos foram indicadas como diferentes da padrão quanto aos dois atributos avaliados, e a tratada a 40 ppm por 90 minutos foi apontada como diferente apenas quanto ao atributo de odor. Pode-se concluir que, de um modo geral, as características físico-químicas do amido de mandioca não foram significativamente alteradas pelo ozônio. As propriedades de pasta, por

sua vez, foram parcialmente alteradas, e metade das amostras ozonizadas sofreu o efeito do ozônio nas suas características sensoriais de cor e odor.

Palavras-chave: Características físico-químicas. Características sensoriais. Cor. Oxidação. pH. Propriedades de pasta.

ABSTRACT

Ozone is a strong oxidant and a potent disinfecting agent and has potential applications in the food industry. Excess ozone auto-decomposes rapidly to produce oxygen, and thus it leaves no residues in food. Starch, nature's most abundant polysaccharide, has diverse applications both in food and non-food industries, being the first the largest consumer of this polymer. Cassava starch is the second most important starch used in Brazil and its industrial applications are mainly determined by its physicochemical characteristics and viscoamylographic pattern. The objective of this study was to determine the effect of different ozone treatments on the physicochemical and sensory characteristics and pasting properties of cassava starch. Cassava starch (11% moisture) was humidified to obtain a final moisture content of approximately 30%. The product was exposed to gaseous ozone at approximate concentrations of 40 ppm for 30, 60, 90 and 120 minutes and 118 ppm for 30 and 60 minutes. The samples were analyzed for pH, instrumental color (L^* , a^* , b^*), oxidation (carbonyl and carboxyl contents) and evaluation of their sensory characteristics and pasting properties. The pH values for ozonized samples ranged between 4.5 and 5.2 and they were significantly lower ($p < 0.05$) than the pH of the standard sample (cassava starch as commercially available), which was 5.9. The carboxyl and carbonyl contents of the ozonized samples ranged between 0.059 and 0.072% and 1.633 and 1.750%, respectively, and did not differ significantly from the values found for the standard and control (starch treated with non-ozonized air) samples. The L^* values of the ozonized samples did not differ significantly from the values of the standard and control samples. However, significant differences were observed in a^* and b^* values of the samples. The ozonized samples showed lower a^* values compared to control and standard samples. On the other hand, b^* values of the samples treated for 30 and 60 minutes were significantly higher than those of the untreated samples. Total color difference (ΔE), which indicates the magnitude of the color difference between ozonized and standard samples, showed that the effect of ozone treatments on the color of the starch was not significant. On the pasting properties, the effect of ozone was evident on the peak viscosity and breakdown. The ozonized samples presented higher peak viscosities and lower cooking stability under agitation than the untreated and control samples. The treatments that affected the greatest number of viscoamylographic characteristics were at 40 ppm/90 min and 118 ppm/60 min. On the sensory characteristics, the results indicated that there was no significant difference among ozonized and control samples regarding the color, with the exception of the samples treated at 40 and 118 ppm during 30 minutes that were scored as higher (brighter) than the untreated sample. The effect of ozone on the odor attribute was more pronounced than on the color, and the samples treated at 40 ppm for 30 and 90 minutes and 118 ppm for 30 minutes were scored as different from the untreated sample regarding the odor. It can be concluded that the physicochemical characteristics of cassava starch were not altered significantly by ozone. However, ozone treatment partially changed the pasting properties and sensory characteristics of the product.

Keywords: Color. Oxidation. Pasting properties. pH. Physicochemical characteristics. Sensory characteristics.

1 INTRODUÇÃO

O amido é a principal reserva de polissacarídeos no reino vegetal, sendo a maior fonte de carboidratos na dieta humana. Ele ocorre na natureza como grânulos cristalinos, compostos por uma mistura de dois polissacarídeos: a amilose e a amilopectina (BOBBIO; BOBBIO, 2003). Embora todas as plantas acumulem amido, as passíveis de extração economicamente viáveis e predominantemente usadas no mercado para essa finalidade são os cereais e as raízes, com destaque para o milho, trigo, batata e mandioca (SILVA; ASSUMPÇÃO; VEGRO, 2000).

Os grânulos de amido variam, em função da fonte, em diversos aspectos, tais como tamanho, forma e estrutura das ligações, os quais lhes conferem diferentes propriedades que são exploradas funcional e comercialmente. Cerca de mil produtos, entre amidos e derivados, são demandados por indústrias alimentícias e não alimentícias (SILVA; ASSUMPÇÃO; VEGRO, 2000).

As aplicações industriais do amido são determinadas principalmente pelas suas características físico-químicas (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991). As propriedades reológicas de pastas de amido também determinam seu melhor uso em processos industriais e dependem da espécie botânica (CRAIG et al., 1989).

O amido se destaca como importante ingrediente nos alimentos, principalmente por possuir características tecnológicas desejáveis (DEMIATE et al., 2003). O amido de mandioca, além de ser usado para a obtenção de amidos derivados e fabricação de produtos alimentícios, é também empregado em indústrias têxteis e de papel, e na manufatura de adesivos e álcool (RICKARD; ASAOKA; BLANSHARD, 1991).

A indústria de alimentos está buscando constantemente um melhor método para garantir a segurança dos produtos (GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004). Em função de sua alta reatividade, penetrabilidade e decomposição espontânea em produtos não tóxicos, o ozônio é considerado um sanitizante

viável para garantir a segurança microbiológica de produtos alimentícios (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

O ozônio é um agente oxidante muito poderoso quando comparado a outros agentes oxidantes, como por exemplo, o H_2O_2 , o que lhe permite reagir com uma numerosa classe de compostos (KUNZ et al., 1999).

Informações sobre o uso de ozônio em amido e outros hidrocolóides são ainda limitadas. Tiwari et al. (2008) estudaram o efeito da ozonização na cor e nas características reológicas de dispersões de pectina, goma guar e carboximetilcelulose. Chan, Bhat e Karim (2009) estudaram o efeito do ozônio nas propriedades físico-químicas e funcionais dos amidos de milho, tapioca e sagu. E An e King (2009) estudaram o efeito da ozonização nas propriedades de pasta de amido de arroz.

Por ser um poderoso agente oxidante, não deixar resíduo no produto alimentício e ser uma boa alternativa para a desinfecção de amido, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do ozônio nas propriedades de pasta e nas características físico-químicas e sensoriais de amido de mandioca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Matéria-prima

O amido de mandioca utilizado neste estudo foi doado pela empresa Corn Products Brasil (Conchal, Brasil).

2.1.2 Sistema de geração de ozônio

O sistema utilizado para a geração de ozônio era constituído por um gerador de ozônio Interzone Linha DEVOC[®], Modelo SGOZ-123 (Grupo Interzone Brasil, Jundiaí, Brasil), com capacidade de produção de 5 g/h, e um concentrador de oxigênio Modelo NewLife Elite (AirSep Corporation, Nova York, Estados Unidos), com fluxo de 5 L/min.

O gerador de ozônio tem como princípio de geração do gás o método de descarga por efeito corona, e o ar atmosférico foi utilizado para alimentação do sistema. Antes de entrar na célula geradora de ozônio, o ar passava pelo concentrador de oxigênio, o qual era responsável pela sua concentração em 95% de oxigênio. Em seguida, o ar concentrado fluía entre dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial, sendo transformado em ozônio. O fluxo de ar ozonizado no sistema era de 14 m³/h.

2.1.3 Analisador de ozônio

A concentração de ozônio no ar ozonizado foi determinada por um Analisador de Ozônio, Modelo UV-100 (Eco Sensors, Inc., Santa Fe, EUA). A faixa de medição do equipamento é de 0-900 ppm, e seu princípio de funcionamento

baseia-se na absorção de luz UV (emitida por uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão) por moléculas de ozônio.

2.1.4 Misturador de pó

O ar ozonizado, após sair do gerador, era direcionado ao misturador de pó, equipamento construído pela empresa Cardoso Comércio de Equipamentos Ind. Ltda. (Sumaré, Brasil) especificamente para uso no sistema de ozonização utilizado. O corpo do misturador era construído em aço inoxidável e a tampa em policarbonato. O misturador apresentava sistema basculante e velocidades de agitação variáveis. A tampa em policarbonato possibilitava avaliar visualmente a capacidade de mistura do equipamento, sendo utilizada uma velocidade que proporcionava um bom contato do amido com o ar injetado no sistema e que não resultava em grande perda de produto pelas mangueiras de saída do gás durante o tratamento.

As pás eram removíveis e construídas em teflon; a distância das pás em relação à parede do misturador, bem como a sua disposição sobre o eixo do equipamento, eram ajustáveis. O volume total do misturador era de 25 litros.

O ar ozonizado era injetado no misturador através da parte superior do equipamento por meio de duas entradas localizadas na tampa. O excesso de ozônio saía do misturador através de dois orifícios também localizados na tampa, do lado oposto à entrada do gás. As mangueiras utilizadas no sistema para entrada e saída do gás do misturador eram compostas de PVC, material inerte ao ataque químico do ozônio.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Tratamento com ozônio

Para avaliar o efeito do ozônio nas características físico-químicas, sensoriais e nas propriedades de pasta do amido de mandioca, fez-se a umidificação prévia do produto, com o auxílio de um pulverizador de junta esmerilhada, de forma a obter um conteúdo de umidade final de aproximadamente 30%. Essa condição foi utilizada com base nos estudos relatados no Capítulo 2, em que o ozônio foi mais efetivo na inativação dos microrganismos intencionalmente inoculados no amido de mandioca quanto maior foi o conteúdo de umidade do produto. Para cada processo, 1 kg de amido foi umidificado e submetido ao tratamento de ozonização.

O tratamento com ozônio consistiu na aplicação de ozônio gasoso ao amido previamente umidificado, injetando-se o ar ozonizado no misturador. As mangueiras de entrada de ar ozonizado no misturador foram posicionadas no sentido contrário ao da rotação do equipamento e foram utilizados filtros, alocados em uma carcaça de aço inoxidável, no final das duas mangueiras de saída do ar. As medidas da concentração do ar ozonizado eram realizadas na saída do gerador.

O amido foi submetido ao tratamento com ar ozonizado nas concentrações de 40 e 118 ppm de ozônio. Para a menor concentração empregada, as amostras foram coletadas a cada 30 minutos durante 2 horas, e para a maior concentração estudada, as amostras foram coletadas a cada 30 minutos durante 1 hora de tratamento. Os tratamentos foram realizados em duplicata.

A fim de avaliar a influência do processamento sob agitação nas características do produto, bem como para fins de comparação dos resultados obtidos, fez-se um tratamento controle com o amido umidificado utilizando-se ar não ozonizado e coletando-se amostras aos 30, 60, 90 e 120 minutos de tratamento.

Ao final do processo, as amostras de amido foram levadas à estufa a 45°C e mantidas por 24 h, sendo posteriormente embaladas a vácuo e armazenadas ao abrigo da luz até a conclusão das análises de suas características físico-químicas, viscoamilográficas e sensoriais, conforme descrito nos itens 2.2.2, 2.2.3 e 2.2.4. A secagem em estufa teve por finalidade evitar a deterioração microbiana do amido, evitar que a avaliação instrumental e sensorial da cor fosse influenciada pela maior quantidade de água presente, e adequar a umidade do produto a valores dentro da faixa de leitura do analisador de viscosidade, bem como à faixa adequada para a comercialização do amido.

Amido de mandioca não umidificado nem submetido aos tratamentos controle e com ozônio, aqui denominado de amostra padrão, foi também analisado quanto às suas características físico-químicas, viscoamilográficas e sensoriais.

2.2.2 Análises físico-químicas

Para avaliar as características físico-químicas do amido de mandioca ozonizado, submetido ao tratamento controle e da amostra padrão foram determinados os parâmetros de cor, pH e oxidação, conforme descrito nos itens 2.2.2.1, 2.2.2.2 e 2.2.2.3.

2.2.2.1 Determinação de pH

O pH foi determinado utilizando-se pHmetro modelo MP120, marca Mettler Toledo, previamente calibrado. Para a determinação do pH, 10 g de amido foram suspensos em 100 mL de água destilada, agitando-se a suspensão durante 10 minutos (AACC, 1995; IAL, 2008; SMITH, 1967). As determinações foram realizadas em triplicata, com agitações intercaladas entre as leituras a fim de ressuspender a amostra.

2.2.2.2 Análise de cor

A cor das amostras foi determinada usando-se o Colorímetro HunterLab, modelo ColorQUEST II. Utilizou-se o sistema de cor CIEL*a*b*, com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. As amostras foram analisadas realizando-se leituras em quadruplicata.

Para as medidas de cor, foram determinados os seguintes parâmetros:

L* - luminosidade, que varia de 0 (preto) a 100 (branco);

a* - cromaticidade, que varia de +a* (vermelho) a -a* (verde);

b* - cromaticidade, que varia de +b* (amarelo) a -b* (azul).

A diferença total de cor entre a amostra ozonizada e a padrão foi calculada usando-se a Equação 3.1 (MINOLTA, 1994), que indica a magnitude da mudança de cor após o tratamento.

$$\Delta E = ((L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2)^{1/2} \quad (3.1)$$

Onde, L_0^* , a_0^* e b_0^* são os valores de cor da amostra padrão de amido de mandioca, e L^* , a^* e b^* são os parâmetros de cor da amostra ozonizada.

2.2.2.3 Determinação do conteúdo de carboxila e carbonila

A análise do grau de oxidação foi realizada pela determinação dos conteúdos de carbonila e carboxila. O conteúdo de carbonila foi determinado de acordo com o procedimento de Smith (1967), e o conteúdo de carboxila foi determinado de acordo com o procedimento de Mattisson e Legendre (1952). As determinações foram realizadas em duplicata.

Para determinação do conteúdo de carboxila, 5 g de amostra foram suspensos em 25 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 N, com agitação por 30 minutos, a fim de acidificar todas as carboxilas presentes. Em seguida, a amostra foi recuperada por filtração a vácuo e lavada com água destilada para eliminação de íons cloreto; o pH da água de lavagem foi medido para assegurar que

estivesse neutro. A torta de amido obtida foi transferida cuidadosamente para um béquer, foi adicionada de 300 mL de água destilada e aquecida em banho de água fervente por cerca de 10 minutos até a completa gelatinização do amido. Após esse período, a pasta ainda quente foi titulada com hidróxido de sódio 0,025 N, empregando-se fenolftaleína como indicador. O cálculo da porcentagem de carboxilas no amido foi feito pelo emprego da Equação 3.2.

$$\% \text{COOH} = V \times F \times 0,045 \times 100 \times (\text{peso da amostra})^{-1} \quad (3.2)$$

Onde,

V é o volume (em mL) de NaOH gasto na titulação;

F é a normalidade da base.

Para determinação do conteúdo de carbonila, 2 g de amostra (b.s.) foram suspensos em 100 mL de água destilada, seguido de aquecimento em banho de água fervente por aproximadamente 15 minutos até a completa gelatinização do amido. A amostra gelatinizada, após atingir a temperatura de 40°C, teve seu pH ajustado para 3,2 (com ácido sulfúrico 1 N), seguido da adição de 15 mL de solução de cloridrato de hidroxilamina. Em seguida, a amostra foi coberta com folha de alumínio e foi mantida em banho a 40°C durante 4 horas. Após esse período, procedeu-se à titulação com ácido clorídrico 0,1 N até pH 3,2. O cálculo da porcentagem de carbonilas no amido foi feito pelo emprego da Equação 3.3.

$$\% \text{COH} = V \times F \times 0,028 \times 100 \times (\text{peso da amostra})^{-1} \quad (3.3)$$

Onde,

V é o volume (em mL) de HCl gasto na titulação;

F é a normalidade do ácido.

2.2.3 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta das amostras foram determinadas usando-se um analisador rápido de viscosidade (*Rapid Visco Analyser - RVA*), modelo RVA-3D+ (Newport Scientific Pty. Ltd., Sidney, Austrália) provido do *software Thermocline for Windows*.

Uma vez conhecida a umidade do amido, as amostras foram pesadas e adicionadas de água destilada, de forma a se obter a correção para a base de 14% de umidade. Foi utilizado o programa Padrão 1 do RVA. A viscosidade foi expressa na unidade do aparelho, ou seja, em RVU (*Rapid Visco Units*) e as análises foram realizadas em duplicata.

Dos perfis viscoamilográficos obtidos, foram avaliados os parâmetros: temperatura de pasta, pico de viscosidade, tempo de pico, viscosidade mínima, quebra de viscosidade (*breakdown*), viscosidade final e tendência à retrogradação (*setback*).

- Temperatura de pasta (°C): temperatura em que ocorre o primeiro aumento da viscosidade (pelo menos 2 RVU) em um período de 20 segundos;
- Pico de viscosidade (RVU): viscosidade máxima obtida durante o aquecimento (pico da curva);
- Tempo de pico (min.): tempo decorrido até que a viscosidade máxima seja alcançada;
- Viscosidade mínima (RVU): valor mínimo de viscosidade obtido durante a manutenção da temperatura a 95°C;
- *Breakdown* (RVU): diferença entre a viscosidade máxima e mínima;
- Viscosidade final (RVU): viscosidade obtida ao final do teste durante o resfriamento a 50°C;
- *Setback* (RVU): viscosidade final subtraída da viscosidade mínima.

2.2.4 Análise sensorial

O método utilizado para a avaliação sensorial das amostras foi baseado no Teste de Comparação Múltipla (ou Diferença do Controle). Os testes consistiram na avaliação das amostras ozonizadas e das amostras controle referentes a um mesmo tempo de tratamento (30, 60, 90 ou 120 minutos), solicitando-se aos provadores que avaliassem cada amostra em comparação com a amostra padrão segundo os atributos de cor e odor. Em cada análise sensorial, uma amostra padrão codificada foi também introduzida entre as amostras-teste. A escala pré-estabelecida para avaliar a existência e a magnitude de diferença entre as amostras tratadas e a padrão foi a seguinte: 0 = nenhuma diferença, 1 = ligeiramente diferente, 2 = moderadamente diferente, 3 = muito diferente e 4 = extremamente diferente. Cada avaliação sensorial foi realizada por um grupo de 30 provadores.

Os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), e a comparação das médias das amostras-teste com a média da amostra padrão codificada foi realizada pelo teste de Dunnett, segundo as orientações de Meilgaard e Civille (1999) e do Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.5 Análise estatística

Os resultados das análises físico-químicas e das propriedades de pasta foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), e o teste de Tukey foi realizado para determinar diferenças entre os tratamentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

A seguir são descritos e discutidos os resultados das análises de pH, cor e oxidação das amostras estudadas.

3.1.1 Análise de pH

A Tabela 3.1 apresenta os valores de pH obtidos para as amostras ozonizadas, controle e padrão.

Tabela 3.1. Valores de pH das amostras

Tempo de exposição (minutos)	Tratamento			Padrão
	40 ppm	118 ppm	Controle	
30	5,2 ± 0,0 ^{bA}	4,9 ± 0,0 ^{cA}	6,1 ± 0,0 ^{aA}	5,9 ± 0,0
60	4,8 ± 0,1 ^{bAB}	4,8 ± 0,3 ^{bA}	6,1 ± 0,0 ^{aA}	
90	4,6 ± 0,1 ^{bB}	-	6,0 ± 0,0 ^{aB}	
120	4,5 ± 0,2 ^{bB}	-	6,0 ± 0,0 ^{aB}	

Os resultados representam as médias de dois processos e três determinações. Letras minúsculas diferentes numa mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes numa mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

O valor de pH encontrado para a amostra padrão (5,9) está de acordo com os valores de pH para amido de mandioca encontrados na literatura. Shirai et al. (2007) relataram valor de pH em torno de 6,2 e Henrique, Cereda e Sarmiento (2008) e Silva et al. (2006) encontraram pH de 5,6 em amido de mandioca nativo. Verificou-se que as amostras ozonizadas apresentaram valores de pH significativamente inferiores aos obtidos para as amostras controle e padrão e não houve diferença significativa entre os valores de pH dessas duas últimas amostras.

3.1.2 Análise de Cor

Os parâmetros obtidos na análise de cor instrumental são apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Parâmetros de cor das amostras ozonizadas, controle e padrão

Parâmetro	Tempo de exposição (minutos)	Tratamento			Padrão
		40 ppm	118 ppm	Controle	
L*	30	95,47±0,25 ^{aA}	95,50±0,01 ^{aA}	94,10±0,35 ^{bB}	95,08±0,12
	60	95,82±0,42 ^{aA}	95,72±0,13 ^{aA}	95,70±0,04 ^{aAB}	
	90	96,22±0,99 ^{aA}	-	96,20±0,48 ^{aA}	
	120	96,25±0,94 ^{aA}	-	95,50±0,59 ^{aAB}	
a*	30	-0,12±0,01 ^{bA}	-0,20±0,00 ^{cA}	0,08±0,01 ^{aA}	-0,06±0,00
	60	-0,21±0,01 ^{bB}	-0,24±0,00 ^{bB}	0,01±0,03 ^{aAB}	
	90	-0,23±0,01 ^{bB}	-	-0,01±0,02 ^{aB}	
	120	-0,23±0,03 ^{bB}	-	-0,03±0,00 ^{aB}	
b*	30	3,18±0,08 ^{aA}	3,06±0,02 ^{aA}	2,84±0,01 ^{bA}	2,33±0,01
	60	2,87±0,10 ^{aA}	2,93±0,18 ^{aA}	2,29±0,01 ^{bB}	
	90	2,64±0,23 ^{aA}	-	2,11±0,16 ^{aB}	
	120	2,63±0,18 ^{aA}	-	2,27±0,03 ^{aB}	

Os resultados representam a média de dois processos e quatro determinações. Letras minúsculas diferentes numa mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes numa mesma coluna, para um mesmo parâmetro, indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Os valores de L* das amostras submetidas aos tratamentos de ozonização nas condições estudadas não diferiram significativamente dos valores das amostras controle e padrão. Por outro lado, o valor de L* da amostra controle, no tempo de 30 minutos, diferiu dos valores das demais amostras, apresentando-se, portanto, um pouco mais escura. O efeito do tempo de exposição não foi observado quando o amido foi tratado nas concentrações de ozônio empregadas.

Diferentemente do comportamento observado para o parâmetro de luminosidade, os valores de a* das amostras ozonizadas, nos diferentes tempos de tratamento, diferiram significativamente dos valores das amostras padrão e controle. As amostras submetidas à ozonização apresentaram valores de a* inferiores aos das amostras padrão e controle e não foi observada diferença significativa entre os valores deste parâmetro das duas últimas amostras. Para o tratamento a 40 ppm, o valor de a*, no tempo de 30 minutos, diferiu dos valores

nos demais tempos de exposição. Para o tratamento a 118 ppm, o valor de a^* também variou com o tempo de exposição.

Com relação aos valores de b^* , houve diferença significativa entre as amostras ozonizadas, por 30 e 60 minutos, e as amostras padrão e controle, tendo as amostras tratadas valores de b^* superiores aos das amostras controle e padrão. Para os tempos de 90 e 120 minutos de tratamento, por sua vez, não foi observada diferença significativa entre os valores de b^* das amostras avaliadas. O efeito do tempo de exposição não foi observado quando o amido foi tratado nas concentrações de ozônio estudadas.

A Tabela 3.3 mostra os valores de ΔE , que indicam a diferença total de cor, expressa pela diferença de cor entre as amostras ozonizadas e a padrão. A diferença total de cor foi calculada usando-se a média dos valores de L^* , a^* e b^* obtidos para cada uma das amostras analisadas.

Tabela 3.3. Diferença total de cor (ΔE) das amostras ozonizadas com relação à padrão

Tempo de exposição (minutos)	Tratamento	
	40 ppm	118 ppm
30	0,94	0,86
60	0,93	0,89
90	1,19	-
120	1,21	-

Diferenças perceptíveis na cor foram analiticamente classificadas, por Tiwari et al. (2008), em muito distintas, distintas e pouco distintas quando o valor de ΔE foi superior a 3,0, entre 1,5 e 3,0, e inferior a 1,5, respectivamente. Assim, com base nos valores de ΔE , pode-se afirmar que as amostras ozonizadas não apresentaram variação de cor significativa em relação à amostra padrão.

Vale ressaltar a importância da análise de variação da cor através do cálculo de ΔE , pois envolve uma análise conjunta de todos os parâmetros de cor, inclusive daqueles que não sofreram variação significativa de acordo com a Análise de Variância e cuja magnitude de diferença em relação à amostra padrão é levada em consideração.

Os valores de ΔE permitem concluir que os tratamentos com ozônio nas concentrações de 40 e 118 ppm por até 120 e 60 minutos, respectivamente, não proporcionaram alteração significativa na cor do amido de mandioca.

3.1.3 Conteúdo de carboxila e carbonila

A Tabela 3.4 mostra os conteúdos de carboxila e carbonila do amido de mandioca ozonizado, submetido ao tratamento controle e da amostra padrão. A amostra padrão apresentou conteúdo médio de carboxila de 0,063%, valor superior ao encontrado por Shirai et al. (2007) em amido de mandioca nativo comercial, que foi correspondente a 0,047%, e inferior aos encontrados por Silva et al. (2006), que foram equivalentes a 0,16 e 0,3%, em amidos de mandioca nativos comerciais oriundos de diferentes produtores.

Tabela 3.4. Conteúdos de carboxila e carbonila das amostras tratadas e sem tratamento

Parâmetro	Tempo de exposição (minutos)	Tratamento			Padrão
		40 ppm	118 ppm	Controle	
Carboxila (%)	30	0,065±0,007 ^{aA}	0,059±0,005 ^{aA}	0,068±0,001 ^{aB}	0,063±0,004
	60	0,069±0,001 ^{aA}	0,063±0,003 ^{aA}	0,072±0,001 ^{aAB}	
	90	0,072±0,001 ^{aA}	-	0,072±0,001 ^{aAB}	
	120	0,071±0,001 ^{aA}	-	0,077±0,001 ^{aA}	
Carbonila (%)	30	1,665±0,057 ^{aA}	1,750±0,014 ^{aA}	1,610±0,028 ^{aA}	1,550±0,042
	60	1,660±0,057 ^{aA}	1,663±0,124 ^{aA}	1,490±0,028 ^{aA}	
	90	1,633±0,081 ^{aA}	-	1,480±0,028 ^{aA}	
	120	1,635±0,071 ^{aA}	-	1,630±0,057 ^{aA}	

Os resultados representam a média de dois processos e duas determinações. Valores com letras minúsculas iguais numa mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). Valores com letras maiúsculas iguais numa mesma coluna, para um mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$).

O conteúdo de carboxila dos amidos tratados com ozônio sob as condições experimentais variou de 0,059 a 0,072%. Estes valores são mais altos que os reportados por Chan, Bhat e Karim (2009), que encontraram conteúdo de carboxila em amidos de milho, tapioca e sagu oxidados com ozônio variando de 0,006 a 0,063%, 0,001 a 0,058% e 0,002 a 0,048%, respectivamente.

Por tratamento oxidativo de amido de mandioca com peróxido de hidrogênio, Shirai et al. (2007) obtiveram amido modificado com 0,16% de carboxila. Silva et al. (2008), ao tratarem amido de mandioca com permanganato de potássio ou hipoclorito de sódio, obtiveram amido modificado com teor de carboxila de 0,15 e 0,12%, respectivamente. Pode-se observar que o conteúdo de carboxila das amostras de amido submetido às condições de ozonização estudadas foi inferior ao teor de carboxilas de amidos modificados por tratamentos oxidativos convencionais.

Nas condições de tratamento utilizadas, não houve diferença significativa entre os conteúdos de carboxila das amostras ozonizadas em relação às amostras controle e padrão. Por outro lado, o teor de carboxila da amostra controle, no tempo de 120 minutos, diferiu do da amostra padrão, sendo o valor do parâmetro mais elevado para a primeira amostra. O efeito do tempo de exposição não foi observado quando o amido foi tratado nas concentrações de ozônio estudadas, sendo observado, no entanto, para as amostras submetidas ao tratamento controle.

A presença de grupos carboxílicos em amido oxidado pode levar ao aumento da acidez do produto (PEREIRA, 2008; SILVA et al., 2008) e, conseqüentemente, uma dissociação parcial desses grupos pode reduzir o pH do amido (PEREIRA, 2008). Neste trabalho, não foi observada uma alteração significativa do conteúdo de carboxila nas amostras ozonizadas, embora tenha ocorrido um ligeiro aumento do valor médio do referido parâmetro com o aumento do tempo de exposição ao ozônio. Por sua vez, o pH das amostras ozonizadas foi significativamente inferior ao da amostra padrão, e essa redução foi proporcional ao aumento do tempo de tratamento (Tabela 3.1).

Com relação ao conteúdo de carbonila, a amostra padrão apresentou um teor de 1,550%. Dias et al. (2007) encontraram em amido de mandioca comercial um valor de 0,141% de conteúdo total de carboxila e carbonila. Assim, o conteúdo de carbonila obtido neste estudo foi, por si só, superior à soma de carboxilas e carbonilas reportada no estudo mencionado. Trabalhos com análise do teor de carbonilas em amidos são escassos, sendo mais comuns estudos envolvendo

determinações do conteúdo de carboxilas, o que dificultou a comparação dos resultados obtidos.

O conteúdo de carbonila dos amidos tratados com ozônio variou de 1,633 a 1,750%. Estes valores são mais altos que os reportados por Chan, Bhat e Karim (2009), que encontraram conteúdo de carbonila variando de 0,025 a 0,061%, 0,121 a 0,250% e 0,066 a 0,085%, respectivamente, em amidos de milho, tapioca e sagu oxidados por ozônio.

Nas condições de tratamento utilizadas, não houve diferença significativa entre os conteúdos de carbonila das amostras ozonizadas em relação às amostras controle e padrão, com exceção da amostra ozonizada a 118 ppm de ozônio durante 30 minutos, cujo teor de carbonila foi ligeiramente maior que o da amostra padrão. O efeito do tempo de exposição não foi observado quando o amido foi tratado nas concentrações de ozônio estudadas.

Os resultados mostraram, portanto, que os tratamentos de ozonização estudados não promoveram a alteração significativa dos conteúdos de carboxila e carbonila do amido de mandioca.

3.2 PROPRIEDADES DE PASTA

A análise da viscosidade de pasta de amidos expressa em grande parte as modificações ocorridas em suas propriedades reológicas, já que a curva de viscosidade representa o comportamento dos grânulos de amido durante o aquecimento, permitindo avaliar as características da pasta formada, e também o comportamento durante o resfriamento, possibilitando a avaliação da tendência da pasta à retrogradação. Na Tabela 3.5, são apresentadas as propriedades de pasta dos amidos de mandioca submetidos aos tratamentos (com ozônio e controle) e sem tratamento (amostra padrão). A Tabela 3.6, por sua vez, mostra o comportamento de pastas de amidos de mandioca nativos estudado por diferentes pesquisadores.

Tabela 3.5. Propriedades de pasta das amostras tratadas e sem tratamento

Parâmetro	Tempo de exposição (minutos)	Tratamento			Padrão
		40 ppm	118 ppm	Controle	
Viscosidade máxima (RVU)	30	360,9±6,1 ^{abB}	382,3±11,5 ^{aA}	338,3±3,1 ^{bA}	332,9±5,4
	60	376,4±2,8 ^{aAB}	385,3±8,8 ^{aA}	335,0±0,1 ^{bA}	
	90	377,5±2,1 ^{aAB}	-	344,8±2,5 ^{bA}	
	120	382,5±7,3 ^{aA}	-	343,0±11,4 ^{bA}	
Viscosidade mínima (RVU)	30	143,1±4,3 ^{aA}	128,8±10,1 ^{aA}	125,2±4,0 ^{aA}	117,4±1,9
	60	137,9±0,4 ^{aA}	123,8±17,1 ^{aA}	120,7±3,8 ^{aA}	
	90	136,5±0,2 ^{aA}	-	123,8±2,8 ^{bA}	
	120	144,0±0,8 ^{aA}	-	122,1±1,5 ^{bA}	
Breakdown (RVU)	30	217,8±1,8 ^{bB}	253,5±1,5 ^{aA}	213,2±0,9 ^{bA}	215,5±3,5
	60	238,5±2,4 ^{bA}	261,5±8,3 ^{aA}	214,3±3,8 ^{cA}	
	90	241,0±2,3 ^{aA}	-	221,0±0,3 ^{bA}	
	120	238,4±6,5 ^{aA}	-	221,0±9,8 ^{aA}	
Viscosidade final (RVU)	30	200,9±5,9 ^{aA}	188,1±7,4 ^{aA}	187,3±7,5 ^{aA}	178,1±1,9
	60	201,3±2,4 ^{aA}	148,8±17,6 ^{bA}	182,8±1,1 ^{abA}	
	90	198,0±5,9 ^{aA}	-	188,3±1,1 ^{aA}	
	120	195,4±5,4 ^{aA}	-	180,0±4,6 ^{aA}	
Setback (RVU)	30	57,8±10,2 ^{aA}	59,3±2,7 ^{aA}	62,1±3,5 ^{aA}	60,7±0,0
	60	63,5±1,9 ^{aA}	24,9±0,6 ^{bB}	62,0±2,8 ^{aA}	
	90	61,6±5,6 ^{aA}	-	64,5±3,9 ^{aA}	
	120	51,4±4,6 ^{aA}	-	57,9±6,1 ^{aA}	
Temperatura de pasta (°C)	30	67,8±0,9 ^{aA}	68,6±2,1 ^{aA}	68,3±0,6 ^{aA}	67,1±0,1
	60	67,1±0,0 ^{aA}	67,3±0,9 ^{aA}	68,2±0,5 ^{aA}	
	90	67,8±0,1 ^{bA}	-	68,7±0,0 ^{aA}	
	120	67,2±0,3 ^{aA}	-	68,4±0,7 ^{aA}	
Tempo do pico (minutos)	30	3,5±0,2 ^{aA}	3,6±0,1 ^{aA}	3,5±0,1 ^{aA}	3,6±0,0
	60	3,4±0,0 ^{aA}	3,3±0,2 ^{aA}	3,5±0,0 ^{aA}	
	90	3,5±0,1 ^{aA}	-	3,6±0,0 ^{aA}	
	120	3,5±0,0 ^{aA}	-	3,5±0,0 ^{aA}	

Os resultados representam a média de dois processos e duas determinações. Para cada parâmetro, valores com letras minúsculas iguais numa mesma linha e valores com letras maiúsculas iguais numa mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$).

Tabela 3.6. Propriedades de pasta de amidos de mandioca nativos comerciais

Propriedades de pasta	Referência			
	SHIRAI et al. (2007)	HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO (2008)	SILVA et al. (2006)	
Pico de viscosidade (RVU)	303	263	436,8	387,8
Viscosidade mínima (RVU)	95	-*	117,7	137,3
Breakdown (RVU)	208	152	319,1	250,5
Viscosidade final (RVU)	210	168	191,3	200,3
Setback (RVU)	115	58	-*	-*
Temperatura de pasta (° C)	66,7	66,9	63,2	64,5
Tempo do pico (min.)	5,8	-*	-*	-*

Propriedades determinadas por RVA. -* Parâmetros não especificados.

Comparando-se as propriedades de pasta da amostra padrão (Tabela 3.5) com as dos amidos nativos reportados na literatura (Tabela 3.6), pode-se observar que o amido de mandioca utilizado neste estudo apresentou perfil de viscosidade característico para amido desta fonte vegetal, com pico de viscosidade alto e quebra acentuada.

A temperatura de pasta e o tempo de pico do amido em estudo estão condizentes com o esperado. Silva, Assumpção e Vegro (2000) afirmam que os amidos de raízes e tubérculos cozinham rapidamente, tornando-se os grânulos inchados e frágeis, que quebram com facilidade e se dispersam durante a agitação, ao contrário dos amidos de cereais, que cozinham mais devagar, incham menos e possuem uma resistência maior ao cisalhamento.

Segundo Craig et al. (1989), em geral, os amidos de raízes e tubérculos apresentam forças intragranulares inferiores, o que faz com que eles gelatinizem em temperaturas relativamente baixas, com inchamento rápido e uniforme dos grânulos, exibindo uma viscosidade alta comparada aos amidos de cereais. As diferenças observadas em amidos de variadas fontes vegetais estão relacionadas, principalmente, às diferentes características da amilose e da amilopectina, em termos de proporção de cada uma delas no grânulo, peso molecular, comprimento da cadeia, conformação e grau de ramificação.

O pico de viscosidade das amostras ozonizadas, com exceção da amostra tratada a 40 ppm por 30 minutos, diferiu significativamente do das amostras controle e padrão, não havendo diferença significativa entre estas duas últimas amostras, podendo-se afirmar que os tratamentos com ozônio contribuíram para o aumento do pico de viscosidade da pasta de amido de mandioca. Com relação ao aumento do tempo de exposição para as amostras submetidas a uma mesma concentração, seu efeito foi observado apenas quando a concentração de 40 ppm foi utilizada, havendo diferença significativa entre os valores de viscosidade máxima obtidos nos tempos de exposição de 30 e 120 minutos.

Ao tratarem suspensões de amido de arroz com aproximadamente 20% de ozônio, durante 15 e 30 minutos, An e King (2009) também observaram um aumento no pico de viscosidade das amostras tratadas com ozônio, quando

comparadas às amostras sem tratamento e às tratadas com oxigênio puro. O aumento do pico de viscosidade foi atribuído pelos autores ao fato dos grupos carboxila formados durante a oxidação manterem as moléculas de amido mais afastadas, permitindo uma maior absorção de água pelos grânulos durante o aquecimento.

Chan, Bhat e Karim (2009), ao estudarem o efeito do ozônio nas características físico-químicas e funcionais de amidos de milho, sagu e tapioca, observaram que os parâmetros analisados seguiram diferentes tendências com o aumento do tempo de geração de ozônio e com o tipo de amido estudado. O aumento do pico de viscosidade, observado em algumas amostras, foi atribuído à formação de grupos carboxilas, em amido de sagu altamente oxidado, ou ao efeito *cross-linking*, em amido de tapioca levemente oxidado.

Para a viscosidade mínima, as amostras ozonizadas nos tempos de 90 e 120 minutos de tratamento diferiram significativamente das amostras controle e padrão. Não houve diferença significativa entre as amostras controle e padrão e, para uma mesma concentração, não houve diferença entre as amostras com o aumento do tempo de exposição. De um modo geral, a viscosidade mínima das amostras ozonizadas foi ligeiramente superior à das amostras sem tratamento.

A estabilidade da pasta durante o cozimento sob agitação (avaliada pelo parâmetro *breakdown*) das amostras tratadas a 118 ppm de ozônio diferiu significativamente das amostras controle e padrão. Para as amostras tratadas a 40 ppm de ozônio, a diferença com relação às amostras padrão e controle foi observada apenas quando a duração do tratamento foi de 60 e 90 minutos. Para o tratamento a 118 ppm, não houve variação do parâmetro com o tempo de exposição. Para o tratamento a 40 ppm, contudo, o valor de *breakdown* no tempo de 30 minutos diferiu dos valores nos demais tempos de exposição. De modo geral, os valores de *breakdown* das amostras tratadas com ozônio foram superiores aos das amostras controle e padrão, estando esse resultado de acordo com o obtido por An e King (2009), que também observaram um aumento do *breakdown* nas amostras de amido de arroz submetidas a tratamento com ozônio.

Chan, Bhat e Karim (2009) observaram um aumento do *breakdown* em amido de sagu oxidado com ozônio, o que foi atribuído ao enfraquecimento da estrutura dos grânulos depois do tratamento, levando ao rompimento da estrutura durante o cozimento sob agitação.

Para a viscosidade final, houve diferença significativa apenas entre a amostra ozonizada por 90 minutos e a amostra padrão. O efeito do tempo de exposição não foi observado quando as amostras foram submetidas aos tratamentos estudados. Para o *setback*, houve diferença significativa apenas entre a amostra tratada a 118 ppm de ozônio por 60 minutos e as amostras padrão e controle. E, quando o tratamento a 118 ppm de ozônio foi empregado, o *setback* variou com o tempo de exposição, embora nos demais tratamentos o efeito do aumento do tempo de exposição não tenha sido observado. Pode-se afirmar, portanto, que o tratamento de ozonização mais intenso (118 ppm/60 min.) proporcionou alteração no comportamento do amido de mandioca com relação ao *setback*, reduzindo significativamente sua tendência à retrogradação.

A temperatura de pasta das amostras ozonizada, controle, ambas no tempo de 90 minutos, e padrão diferiram significativamente entre si, tendo as amostras tratadas valores ligeiramente superiores. Nos demais tempos de exposição não houve diferença significativa entre as amostras avaliadas, como também não foi observado o efeito do aumento do tempo de exposição para cada concentração de ozônio estudada.

Chan, Bhat e Karim (2009) observaram uma leve diminuição da temperatura de pasta de amidos de milho e sagu oxidados por ozônio. Por outro lado, um aumento no referido parâmetro foi observado em amido de tapioca tratado no maior tempo de geração de ozônio. Ao tratarem suspensões de amido de arroz com ozônio, An e King (2009), por sua vez, também observaram um leve aumento da temperatura de pasta do amido.

O tempo para atingir o pico de viscosidade não variou com os diferentes tratamentos empregados, bem como para uma mesma concentração, não houve diferença entre as amostras com o aumento do tempo de exposição.

As amostras em que o efeito do ozônio foi observado num maior número de parâmetros foram as submetidas a 40 ppm por 90 minutos e 118 ppm por 60 minutos. Por outro lado, a amostra tratada a 40 ppm de ozônio por 30 minutos não teve nenhum dos parâmetros de pasta significativamente alterados.

Na literatura, as alterações nas propriedades de pasta de amidos submetidos à modificação química por oxidação são, em geral, discutidas com base na formação de grupos carboxila e carbonila e/ou na despolimerização das cadeias de amido decorrentes do processo oxidativo. Neste trabalho, como não foram observadas alterações significativas nos conteúdos de carboxila e carbonila das amostras ozonizadas, quando comparadas com a amostra padrão, não foi possível correlacionar as propriedades de pasta das amostras estudadas com os resultados das análises do grau de oxidação.

3.3 ANÁLISE SENSORIAL

O teste utilizado (Método de Comparação Múltipla) permitiu fazer a discriminação entre as amostras-teste (controle e ozonizadas) e a amostra padrão, bem como estimar a magnitude da diferença percebida. Nesse teste, todas as amostras são avaliadas quanto às diferenças em relação à amostra padrão, não sendo comparadas entre si.

Os resultados relativos à pontuação atribuída às amostras, segundo a escala de diferença pré-estabelecida, foram avaliados com base em Análise de Variância (ANOVA) e no teste de Dunnett, para comparação das médias das amostras-teste com a média da amostra padrão codificada.

A seguir são apresentados os resultados da análise sensorial para os atributos de cor e odor do amido de mandioca submetido às diferentes condições de tratamento.

3.3.1 Cor

A Figura 3.1 apresenta as notas médias atribuídas às amostras avaliadas. Pode-se observar que alguns julgadores não identificaram a amostra padrão codificada entre as amostras-teste, obtendo a mesma média próxima a 0,6.

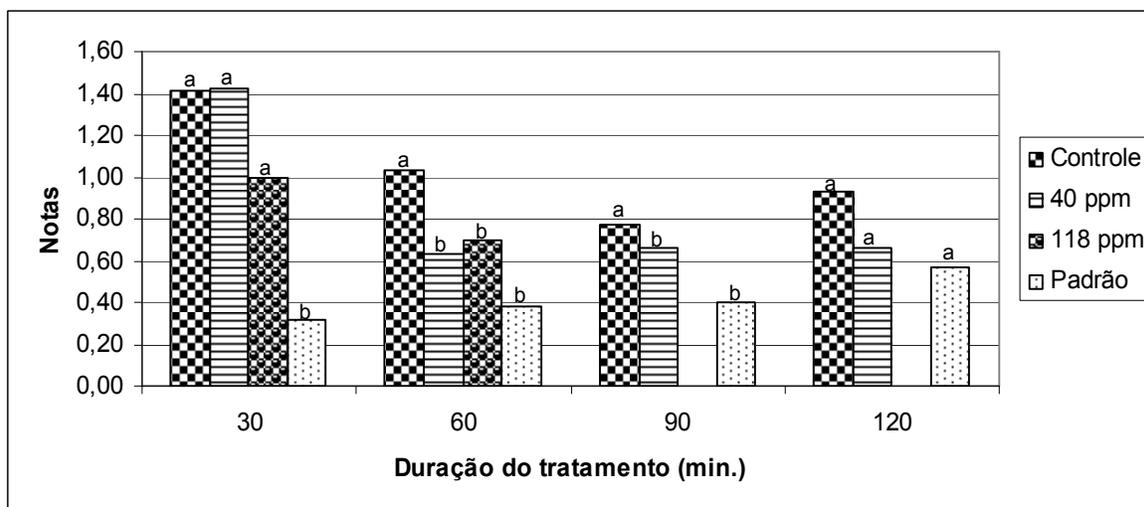


Figura 3.1. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de cor. Amostras tratadas (ozonizadas e controle) codificadas com letras diferentes da amostra padrão diferiram significativamente da mesma.

Para todas as amostras tratadas por 30 minutos, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao padrão. Já para os tempos de 60 e 90 minutos, apenas a amostra controle foi encontrada como significativamente diferente da padrão. Para o tempo de 120 minutos, por sua vez, nenhuma amostra foi indicada como diferente da amostra padrão. Portanto, pode-se observar que, segundo o julgamento dos provadores, a diferença de cor entre as amostras tratadas e a padrão reduziu-se com o aumento do tempo de tratamento.

Para embasar a discussão desses resultados é importante ressaltar algumas considerações, tanto com relação aos dados obtidos quanto aos procedimentos inerentes ao processamento e à preparação das amostras. A primeira consideração relevante diz respeito à umidificação e secagem do amido, antes e depois do tratamento, respectivamente. Isso pode ter influenciado na cor do produto, em especial nas amostras controle, que apresentaram-se

significativamente diferentes da padrão em quase todos os tempos de processamento. Esse efeito pode não ter sido tão pronunciado nas amostras ozonizadas pelo fato do ozônio ter possivelmente contribuído para o clareamento e conseqüente recuperação da cor original do produto. Inclusive, houve julgador que fizesse comentário referente à cor mais clara de algumas amostras (as ozonizadas) e à cor mais escura de outras (controle).

A segunda consideração refere-se ao não reconhecimento, por parte dos julgadores, da amostra padrão codificada. Como foi mencionado anteriormente, a diferença de cor entre as amostras tratadas e a padrão reduziu-se com o aumento do tempo de tratamento. Mas isso não se deve somente às menores médias obtidas para as amostras ozonizadas e controle, mas principalmente às maiores médias obtidas para a amostra padrão codificada, o que foi decorrente do não reconhecimento dessa amostra por parte dos julgadores.

De modo geral, pode-se afirmar que não foram encontradas diferenças significativas entre as amostras ozonizadas e a padrão, com relação à cor, o que está de acordo com os dados obtidos na análise instrumental do referido atributo.

3.3.2 Odor

A Figura 3.2 apresenta as notas médias atribuídas às amostras avaliadas. Pode-se observar que alguns julgadores não identificaram a amostra padrão codificada entre as amostras-teste, obtendo a mesma média próxima a 0,7. É possível também visualizar através da figura abaixo que, conforme esperado, a média obtida para a amostra ozonizada na maior concentração (118 ppm) foi superior à da ozonizada na concentração menor (40 ppm).

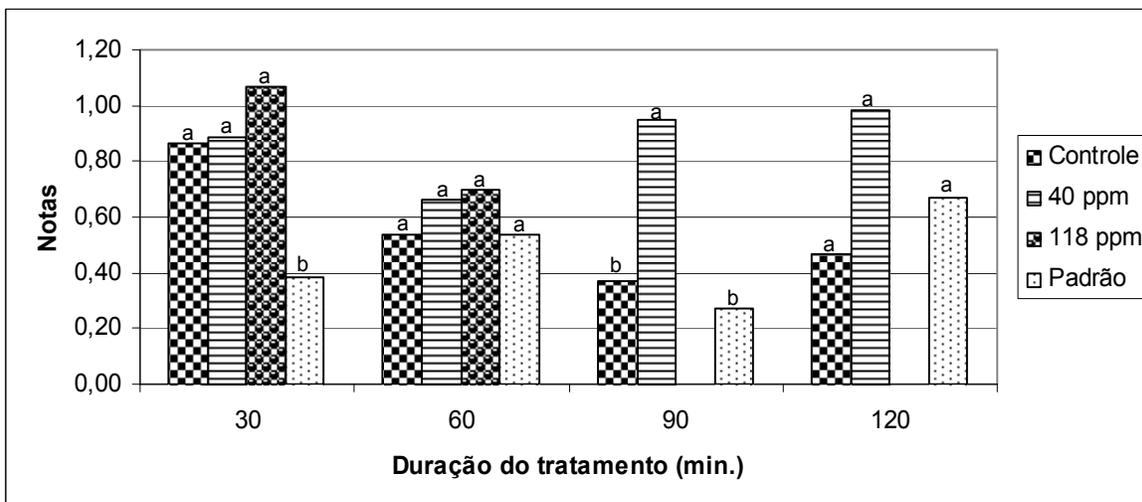


Figura 3.2. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de odor

Amostras tratadas (ozonizadas e controle) codificadas com letras diferentes da amostra padrão diferiram significativamente da mesma.

Para todas as amostras tratadas por 30 minutos, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao padrão. Para os tempos de 60 e 120 minutos, nenhuma amostra foi apontada como diferente da amostra padrão. Para o tempo de 90 minutos, por sua vez, apenas a amostra ozonizada foi indicada como diferente da amostra padrão.

Pode-se observar algumas incoerências nos resultados obtidos. Por exemplo, nas amostras tratadas por 120 minutos não foi encontrada diferença significativa entre as amostras tratadas e a padrão, sendo que nesse tempo de tratamento a amostra ozonizada (40 ppm) apresentou a maior média das notas que lhe foram atribuídas e a segunda maior média obtida na análise de odor. Isso ocorreu em função da não identificação, por parte dos julgadores, da amostra padrão codificada entre as amostras-teste, pois foi também no tempo de 120 minutos que a amostra padrão obteve sua maior média (0,67).

Por outro lado, quando houve diferença entre apenas uma amostra tratada e a padrão (no tempo de 90 minutos), esta foi apontada para a amostra ozonizada e não para a controle (o que havia ocorrido na análise de cor).

Em resumo, as amostras tratadas apontadas como diferentes da padrão com relação ao odor foram as amostras controle e ozonizadas (40 e 118 ppm)

tratadas por 30 minutos e a amostra submetida a 40 ppm de ozônio durante 90 minutos.

4 CONCLUSÕES

A partir do estudo do efeito do ozônio sobre as características físico-químicas do amido de mandioca, pode-se inferir que:

- O ozônio não proporcionou a oxidação do amido, já que não foram observadas alterações significativas nos conteúdos de carboxila e carbonila do produto, bem como não promoveu variação perceptível na sua cor.

- Com relação ao pH, as amostras ozonizadas apresentaram valores significativamente inferiores aos das amostras controle e padrão.

- Portanto, de um modo geral, as características físico-químicas do amido de mandioca não foram significativamente alteradas pelo ozônio.

No que se refere às propriedades de pasta, pode-se concluir que elas foram parcialmente alteradas, de modo que:

- O efeito do ozônio foi mais evidente nos parâmetros de pico de viscosidade e *breakdown*, proporcionando a obtenção de pastas de amido com maior poder de intumescimento e menor estabilidade de pasta durante o cozimento sob agitação.

- A diferença entre os dois tratamentos com ozônio (40 e 118 ppm) foi bastante discreta, sendo percebida em poucos parâmetros (*breakdown*, viscosidade final e *setback*) e em, basicamente, um tempo de exposição (60 minutos).

- O efeito do aumento do tempo de exposição foi observado apenas para os parâmetros de pico de viscosidade e *breakdown* quando a concentração de 40 ppm foi empregada, e no *setback* quando a concentração de 118 ppm foi estudada.

E a partir da análise sensorial, pode-se inferir que:

- O efeito do ozônio foi mais evidente no atributo de odor do que no atributo de cor, e metade das amostras ozonizadas sofreu o efeito do ozônio nas características sensoriais estudadas.

- A diferença de cor entre as amostras ozonizadas e a padrão foi indicada apenas quando o tempo de tratamento foi de 30 minutos. Com relação ao atributo

de odor, somente as amostras ozonizadas a 40 ppm por 30 e 90 minutos e a 118 ppm por 30 minutos foram apontadas como diferentes da amostra padrão.

Por fim, pode-se concluir que as diferenças entre as amostras ozonizadas e a amostra padrão, quando encontradas, podem ser atribuídas exclusivamente ao processo de ozonização, pois para todas as características físico-químicas e propriedades de pasta estudadas, as amostras controle não diferiram significativamente da amostra padrão.

REFERÊNCIAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC). **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9th ed. Saint Paul, M.N.: AACC, 1995.

AN, H. J.; KING, J. M. Using ozonation and amino acids to change pasting properties of rice starch. **Journal of Food Science**, Chicago, v.74, n.3, p. 278-283, 2009.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003.

CHAN, H. T.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Physicochemical and functional properties of ozone-oxidized starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.57, n.13, p. 5965-5970, 2009.

CRAIG, S. A. S. et al. Starch paste clarity. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.66, n.3, p.173-182, 1989.

DEMIATE, I. M. et al. Amidos nativos e modificados: propriedades e aplicações em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.37 (supl.), p. 101-106, 2003.

DIAS, A. R. G. et al. Oxidação dos amidos de mandioca e de milho comum fermentados: desenvolvimento da propriedade de expansão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.4, p. 794-799, 2007.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT - Food Science and Technology**, London, v.37, n.4, p. 453-460, 2004.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p. 231-240, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KIM, J.-G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.62, n.9, p. 1071-1087, 1999.

KUNZ, A. et al. Construção e otimização de um sistema para produção e aplicação de ozônio em escala de laboratório. Nota Técnica. **Química Nova**, São Paulo, v.22, n.3, p. 425-428, 1999.

MATTISSON, M. F.; LEGENDRE, K. A. Determination of the carboxyl content of oxidized starches. **Analytical Chemistry**, Washington, v.24, n.12, p. 1942-1944, 1952.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V. **Sensory evaluation techniques**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press. 1999.

MINOLTA. Precise color communication. **Manual**. Minolta Co., Ltd. Osaka, 1994. 49p.

PEREIRA, L. H. G. **Obtenção e estudo das propriedades físico-químicas de amidos de mandioca (*Manihot esculenta*) oxidados e ácidos-modificados**. 2008. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

RICKARD, J. E.; ASAOKA, M.; BLANSHARD, J. M. V. The physico-chemical properties of cassava starch. **Tropical Science**, London, v.31, p.189-207, 1991.

SHIRAI, M. A. et al. Características físico-químicas e utilização em alimentos de amidos modificados por tratamento oxidativo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p. 239-247, 2007.

SILVA, G. O. et al. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p. 188-197, 2006.

SILVA, J. R.; ASSUMPÇÃO, R.; VEGRO, C. L. R. A inserção da fécula de mandioca no mercado de amido. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.30, n.7, p. 31-46, 2000.

SILVA, R. M. et al. Características físico-químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p. 66-77, 2008.

SMITH, R. J. Characterization and analysis of starches. In: WHISTLER, R. L.; PASCHALL, E. F. (Ed.). **Starch chemistry and technology**. New York: Academic Press, 1967. p. 620-625.

TIWARI, B. K. et al. Effect of ozonization on the rheological and colour characteristics of hydrocolloid dispersions. **Food Research International**, Amsterdam, v.41, n.10, p. 1035-1043, 2008.

**CAPÍTULO 4. AMIDO DE MANDIOCA TRATADO COM OZÔNIO: AVALIAÇÃO
DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS, REOLÓGICAS E
MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO DURANTE SUA ESTOCAGEM**

RESUMO

Tem-se observado uma crescente busca, por parte das indústrias processadoras de alimentos, por novos sanitizantes em substituição àqueles rotineiramente utilizados. O ozônio é considerado um sanitizante seguro para uso em produtos alimentícios, em função de suas propriedades antimicrobianas e ausência de substâncias residuais. Encontrado em diversos alimentos, o amido é a mais importante fonte de carboidratos da dieta. Sendo um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza, é um produto de ampla aplicação na indústria de alimentos, especialmente pelas suas propriedades tecnológicas, incluindo seu poder espessante e estabilizante. O objetivo deste trabalho foi estudar, durante dois meses, as características físico-químicas, sensoriais, microbiológicas e as propriedades de pasta do amido de mandioca tratado com ozônio. O amido, previamente umidificado para um conteúdo de umidade de cerca de 30%, foi submetido a 118 ppm de ozônio gasoso durante 90 minutos. As características do produto ozonizado foram comparadas com as do amido de mandioca tal como comercialmente disponível (amostra padrão). As amostras foram avaliadas quinzenalmente quanto ao pH, umidade, cor instrumental (L^* , a^* , b^*), oxidação, propriedades de pasta e análise sensorial de cor e odor e, mensalmente, quanto às suas características microbiológicas. O pH da amostra ozonizada assumiu valores entre 4,4 e 4,7, os quais foram significativamente inferiores ($p < 0,05$) ao pH da amostra padrão, cujos valores estiveram entre 5,9 e 6,1. E, ao final dos dois meses de estudo, os valores de pH das amostras foram levemente superiores aos valores iniciais. O conteúdo de carboxila das amostras estudadas variou entre 0,036 e 0,044% durante o período de estocagem, não havendo variação significativa ao longo do tempo. Os teores de carbonila da amostra ozonizada encontraram-se entre 1,544 e 1,667% e não variaram significativamente ao longo do tempo. Por sua vez, a amostra padrão apresentou teores de carbonila entre 1,547 e 1,790%, havendo pequenas variações ao longo do período de estocagem. As amostras ozonizada e padrão não diferiram significativamente entre si quanto aos teores de carboxila e carbonila. Com relação aos parâmetros de cor, os valores de L^* da amostra ozonizada foram ligeiramente superiores aos da amostra padrão, embora não tenha sido observada diferença significativa entre as amostras. Já os valores de a^* da amostra ozonizada foram significativamente inferiores aos da amostra padrão, em todos os tempos de estocagem estudados. Para os valores de b^* , houve diferença significativa entre a amostra ozonizada e a amostra padrão, em determinados tempos de estocagem, tendo a amostra tratada valores de b^* superiores. A análise conjunta dos parâmetros de cor, indicada pela diferença total de cor (ΔE), revelou que a diferença de cor entre a amostra ozonizada e a padrão não foi significativa. Com relação ao comportamento das amostras durante os dois meses de estocagem, a amostra ozonizada apresentou-se mais estável, sem variação significativa em nenhum dos parâmetros de cor, ao contrário da amostra padrão, cujos parâmetros sofreram variações significativas ao longo do tempo. Nas propriedades de pasta, o efeito do ozônio foi mais evidente nos parâmetros de pico de viscosidade, *breakdown* e *setback*, proporcionando a obtenção de pastas de amido com maior poder de

intumescimento, menor estabilidade de pasta durante o cozimento sob agitação e menor tendência à retrogradação. As características sensoriais do amido de mandioca foram significativamente afetadas pelo ozônio, sendo o odor o atributo mais fortemente influenciado. Quanto às características microbiológicas, as amostras estudadas estavam de acordo com a legislação vigente e a ozonização proporcionou a redução da concentração de *B. cereus* em amido de mandioca. Além disso, a carga microbiana das amostras permaneceu inalterada ao longo do período de estocagem. Pode-se concluir que, com exceção do pH, as características físico-químicas do amido de mandioca não foram significativamente alteradas pelo ozônio. As características sensoriais, por sua vez, foram alteradas pelo tratamento, cujo efeito foi negativo para o odor do produto. O tratamento com ozônio também alterou parcialmente as propriedades de pasta do amido.

Palavras-chave: Amido. Características físico-químicas. Características sensoriais. Características microbiológicas. Ozonização. Propriedades de pasta.

ABSTRACT

Food industries are in search of new sanitizers in order to replace disinfectants currently used. Ozone is considered a safe sanitizer to use in foods, due to its antimicrobial properties without leaving residual substances. Being found in many foods, starch is the most important source of carbohydrates in the human diet. It is one of nature's most abundant polysaccharides and has diverse applications in the food industry, especially due to its technological properties, including its thickening and stabilizing effects. The objective of this work was to study, during two months of storage, the physicochemical, sensory, rheological and microbiological characteristics of cassava starch treated with ozone. Cassava starch was humidified to obtain a final moisture content of approximately 30% and it was exposed to gaseous ozone at a concentration of 118 ppm for 90 minutes. The samples were analyzed for pH, moisture content, instrumental color (L^* , a^* , b^*), oxidation (carbonyl and carboxyl contents) and their sensory and microbiological characteristics and pasting properties were also evaluated. The physicochemical, sensory and rheological analyses were carried out every fifteen days and the microbiological characteristics were evaluated monthly. The characteristics of the ozonized starch were compared with those of cassava starch as commercially available (standard sample). The pH for the ozonized sample ranged between 4.4 and 4.7 and it was significantly lower ($p < 0.05$) than the pH of the standard sample, which ranged between 5.9 and 6.1. After two months of storage, the pH of the samples was slightly higher than the initial values. The carboxyl content of the samples studied ranged from 0.036 to 0.044% during the storage period, without significant variation over time. The carbonyl content of the ozonized sample ranged from 1.544 to 1.667%, although the variation was not significant. On the other hand, the standard sample showed carbonyl content between 1.547 and 1.790%, with small variations during the storage period. There was no significant difference among ozonized and standard samples regarding the carboxyl and carbonyl contents. The ozonized sample presented L^* values slightly higher than the untreated sample, although no significant difference among samples was observed. The a^* values of the treated sample were significantly lower than those of the untreated sample, for all storage times studied. On the other hand, for some storage times, the b^* values of the ozonized sample were significantly higher than those of the untreated sample. The total color difference (ΔE) between ozonized and standard samples showed that the effect of ozone treatment on the color of the starch was not significant. Thus, during two months of storage, greater variation in the color parameters was observed for the standard sample as compared to the ozonized sample. On the pasting properties, the effect of ozone was more evident on the peak viscosity, breakdown and setback. The ozonized samples presented higher peak viscosities, lower cooking stability under agitation and lower retrogradation than the untreated sample. The sensory characteristics of cassava starch were significantly altered by ozone and the odor was the most affected attribute. For the microbiological characteristics, the samples studied were in accordance with current legislation and the ozonation treatment reduced the population of *B. cereus* in cassava starch. Furthermore, during the storage period,

the microbial load of the samples remained unchanged. It can be concluded that, except for the pH, the physicochemical characteristics of cassava starch were not altered significantly by ozone. However, the sensory characteristic (odor) of the product was negatively affected. Also, ozone treatment partially changed the pasting properties of the starch.

Keywords: Microbiological characteristics. Ozonation. Pasting properties. Physicochemical characteristics. Sensory characteristics. Starch.

1 INTRODUÇÃO

O ozônio é um efetivo sanitizante com fortes propriedades desinfetantes, apresentando um amplo espectro antimicrobiano que, combinado com seu alto potencial de oxidação, faz dele uma opção atrativa de processamento para a indústria de alimentos (TIWARI et al., 2008b).

O ozônio é um agente bactericida com efeitos benéficos para a preservação de alimentos, devido à redução da atividade microbiana responsável pela perda de qualidade dos produtos. Além disso, o ozônio não produz resíduos tóxicos ao ambiente, sua aplicabilidade na indústria de alimentos é diversificada e pode proporcionar muitas vantagens. Por essas razões, a aplicação de ozônio é uma tecnologia promissora para a conservação de produtos alimentícios (PASTORIZA et al., 2008).

O amido encontra-se amplamente distribuído em diversas espécies vegetais como carboidrato de reserva, sendo abundante em cereais, raízes e tubérculos. Ele apresenta grande importância nutricional e industrial, sendo a fonte mais importante de carboidratos na alimentação humana, representando 80-90% de todos os polissacarídeos da dieta, e o principal responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados (WALTER; SILVA; EMANUELLI, 2005).

As proporções em que a amilose e a amilopectina aparecem no amido diferem entre as diversas fontes, entre variedades de uma mesma espécie e ainda, numa mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta. Estas variações podem resultar em grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais diferenciadas, o que pode afetar sua utilização em alimentos e em outras aplicações industriais (WANG; WHITE, 1994). A aplicação do amido depende de suas propriedades físicas e químicas, as quais dependem da fonte botânica. E sua funcionalidade influencia ou controla propriedades como textura, volume, consistência, umidade e vida de prateleira de alimentos (YONEMOTO; CALORI-DOMINGUES; FRANCO, 2007).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de mandioca (FELIPE; ALVES; CAMARGO, 2010), e o amido, componente que está presente em maior quantidade na raiz, correspondendo a 80% da sua massa seca, é a segunda fonte de amido no país e no mundo, perdendo apenas para o amido de milho (CEREDA et al., 2001; LEONEL; JACKEY; CEREDA, 1998; VILPOUX, 2003).

Pelo fato da raiz de mandioca ter contato direto com o solo é natural encontrar maior carga microbiana do que no amido de milho. A carga microbiana presente, embora não tenha seu crescimento favorecido pelas características inerentes do produto, pode encontrar condições favoráveis de crescimento quando da utilização do amido como ingrediente em produtos processados. Alguns usos dos amidos não exigem aquecimento, o que torna viável a utilização de métodos alternativos eficazes na inativação de microrganismos e que possam garantir a preservação das características do produto.

O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento do amido tratado com ozônio, durante dois meses de estocagem, através da avaliação das características físico-químicas, sensoriais, propriedades de pasta e das características microbiológicas do produto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Matéria-prima

O amido de mandioca utilizado neste estudo foi doado pela empresa Corn Products Brasil (Conchal, Brasil).

2.1.2 Sistema de geração de ozônio

O sistema utilizado para a geração de ozônio era constituído por um gerador de ozônio Interzone Linha DEVOC[®], Modelo SGOZ-123 (Grupo Interzone Brasil, Jundiaí, Brasil), com capacidade de produção de 5 g/h, e um concentrador de oxigênio Modelo NewLife Elite (AirSep Corporation, Nova York, Estados Unidos), com fluxo de 5 L/min.

O gerador de ozônio tem como princípio de geração do gás o método de descarga por efeito corona, e o ar atmosférico foi utilizado para alimentação do sistema. Antes de entrar na célula geradora de ozônio, o ar passava pelo concentrador de oxigênio, o qual era responsável pela sua concentração em 95% de oxigênio. Em seguida, o ar concentrado fluía entre dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial, sendo transformado em ozônio. O fluxo de ar ozonizado no sistema era de 14 m³/h.

2.1.3 Analisador de ozônio

A concentração de ozônio no ar ozonizado foi determinada por um Analisador de Ozônio, Modelo UV-100 (Eco Sensors, Inc., Santa Fe, EUA). A faixa de medição do equipamento é de 0-900 ppm, e seu princípio de funcionamento

baseia-se na absorção de luz UV (emitida por uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão) por moléculas de ozônio.

2.1.4 Misturador de pó

O ar ozonizado, após sair do gerador, era direcionado ao misturador de pó, equipamento construído pela empresa Cardoso Comércio de Equipamentos Ind. Ltda. (Sumaré, Brasil) especificamente para uso no sistema de ozonização utilizado. O corpo do misturador era construído em aço inoxidável e a tampa em policarbonato. O misturador apresentava sistema basculante e velocidades de agitação variáveis. A tampa em policarbonato possibilitava avaliar visualmente a capacidade de mistura do equipamento, sendo utilizada uma velocidade que proporcionava um bom contato do amido com o ar injetado no sistema e que não resultava em grande perda de produto pelas mangueiras de saída do gás durante o tratamento.

As pás eram removíveis e construídas em teflon; a distância das pás em relação à parede do misturador, bem como a sua disposição sobre o eixo do equipamento, eram ajustáveis. O volume total do misturador era de 25 litros.

O ar ozonizado era injetado no misturador através da parte superior do equipamento por meio de duas entradas localizadas na tampa. O excesso de ozônio saía do misturador através de dois orifícios também localizados na tampa, do lado oposto à entrada do gás. As mangueiras utilizadas no sistema para entrada e saída do gás do misturador eram compostas de PVC, material inerte ao ataque químico do ozônio.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Tratamento com ozônio

Para estudar o comportamento do amido tratado com ozônio, durante dois meses de estocagem, empregou-se o tratamento cujas condições de concentração e tempo de exposição proporcionaram a obtenção de reduções superiores a 5 ciclos logarítmicos na população de ambos os microrganismos estudados (*Escherichia coli* e esporos de *Bacillus subtilis*). Previamente ao tratamento, fez-se a umidificação do amido de mandioca, com o auxílio de um pulverizador de junta esmerilhada, de forma a obter um conteúdo de umidade final de aproximadamente 30%.

O amido foi submetido ao tratamento com ar ozonizado na concentração de 118 ppm de ozônio durante 90 minutos. O tratamento foi realizado em duplicata e, para cada processo, 1 kg de amido foi umidificado e submetido ao tratamento de ozonização.

O tratamento com ozônio consistiu na aplicação de ozônio gasoso ao amido de mandioca, injetando-se o ar ozonizado no misturador. As mangueiras de entrada de ar ozonizado no misturador foram posicionadas no sentido contrário ao da rotação do equipamento e foram utilizados filtros, alocados em uma carcaça de aço inoxidável, no final das duas mangueiras de saída do ar. As medidas da concentração do ar ozonizado eram realizadas na saída do gerador.

Ao final dos processos, as amostras de amido foram levadas à estufa a 45°C e mantidas por 24 h, sendo posteriormente embaladas a vácuo, em porções de 80 g, e armazenadas ao abrigo da luz. A secagem em estufa teve por finalidade evitar a deterioração microbiana do amido, evitar que a avaliação instrumental e sensorial da cor fosse influenciada pela maior quantidade de água presente, e adequar a umidade do produto a valores dentro da faixa de leitura do analisador de viscosidade, bem como à faixa adequada para a comercialização do amido.

As análises das características físico-químicas, sensoriais, propriedades de pasta e das características microbiológicas do amido foram realizadas conforme descrito nos itens 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4 e 2.2.5. As análises microbiológicas das amostras foram realizadas a cada 30 dias, durante os 2 meses de estocagem; as demais análises foram realizadas quinzenalmente.

Amido de mandioca não umidificado nem submetido ao tratamento com ozônio, aqui denominado de amostra padrão, foi também analisado quanto às suas características físico-químicas, sensoriais, propriedades de pasta e características microbiológicas durante o período de estocagem.

2.2.2 Análises físico-químicas

Para avaliar as características físico-químicas do amido de mandioca ozonizado e da amostra padrão foram determinados os parâmetros de umidade, pH, cor e oxidação, conforme descrito nos itens 2.2.2.1, 2.2.2.2, 2.2.2.3 e 2.2.2.4, respectivamente.

2.2.2.1 Determinação de umidade

A umidade foi determinada por dessecação em estufa a 130°C, de acordo com a metodologia descrita pela AACC (1995) e pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), e as medidas foram realizadas em duplicata.

2.2.2.2 Determinação de pH

O pH foi determinado utilizando-se pHmetro modelo MP120, marca Mettler Toledo, previamente calibrado. Para a determinação do pH, 10 g de amido foram suspensos em 100 mL de água destilada, agitando-se a suspensão durante 10 minutos (AACC, 1995; IAL, 2008; SMITH, 1967). As determinações foram

realizadas em triplicata, com agitações intercaladas entre as leituras a fim de ressuspender a amostra.

2.2.2.3 Análise de cor

A cor das amostras foi determinada usando-se o Colorímetro HunterLab, modelo ColorQUEST II. Utilizou-se o sistema de cor CIEL*a*b*, com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. As amostras foram analisadas realizando-se leituras em quadruplicata.

Para as medidas de cor, foram determinados os seguintes parâmetros:

L* - luminosidade, que varia de 0 (preto) a 100 (branco);

a* - cromaticidade, que varia de +a* (vermelho) a -a* (verde);

b* - cromaticidade, que varia de +b* (amarelo) a -b* (azul).

A diferença total de cor entre a amostra ozonizada e a padrão, bem como a variação de cor para uma mesma amostra ao longo do tempo de estocagem, foi calculada usando-se a Equação 4.1 (MINOLTA, 1994).

$$\Delta E = ((L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2)^{1/2} \quad (4.1)$$

Onde, L_0^* , a_0^* e b_0^* são os valores de cor da amostra padrão de amido de mandioca, e L^* , a^* e b^* são os parâmetros de cor da amostra ozonizada, para cada tempo de estocagem, na determinação da diferença total de cor entre a amostra ozonizada e a padrão; e L_0^* , a_0^* e b_0^* são os parâmetros de cor iniciais (equivalentes ao tempo 0) e L^* , a^* e b^* os parâmetros de cor correspondentes ao respectivo dia de estocagem (15, 30, 45 ou 60 dias), na determinação da variação total de cor ao longo do tempo, para cada amostra estudada.

2.2.2.4 Determinação do conteúdo de carboxila e carbonila

A análise do grau de oxidação foi realizada pela determinação dos conteúdos de carbonila e carboxila. O conteúdo de carbonila foi determinado de acordo com o procedimento de Smith (1967), e o conteúdo de carboxila foi determinado de acordo com o procedimento de Mattisson e Legendre (1952). As determinações foram realizadas em duplicata.

Para determinação do conteúdo de carboxila, 5 g de amostra foram suspensos em 25 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 N, com agitação por 30 minutos, a fim de acidificar todas as carboxilas presentes. Em seguida, a amostra foi recuperada por filtração a vácuo e lavada com água destilada para eliminação de íons cloreto; o pH da água de lavagem foi medido para assegurar que estivesse neutro. A torta de amido obtida foi transferida cuidadosamente para um béquer, foi adicionada de 300 mL de água destilada e aquecida em banho de água fervente por cerca de 10 minutos até a completa gelatinização do amido. Após esse período, a pasta ainda quente foi titulada com hidróxido de sódio 0,025 N, empregando-se fenolftaleína como indicador. O cálculo da porcentagem de carboxilas no amido foi feito empregando-se a Equação 4.2.

$$\% \text{COOH} = V \times F \times 0,045 \times 100 \times (\text{peso da amostra})^{-1} \quad (4.2)$$

Onde,

V é o volume (em mL) de NaOH gasto na titulação;

F é a normalidade da base.

Para determinação do conteúdo de carbonila, 2 g de amostra (b.s.) foram suspensos em 100 mL de água destilada, seguido de aquecimento em banho de água fervente por aproximadamente 15 minutos até a completa gelatinização do amido. A amostra gelatinizada, após atingir a temperatura de 40°C, teve seu pH ajustado para 3,2 (com ácido sulfúrico 1 N), seguido da adição de 15 mL de solução de cloridrato de hidroxilamina. Em seguida, a amostra foi coberta com

folha de alumínio e foi mantida em banho a 40°C durante 4 horas. Após esse período, procedeu-se à titulação com ácido clorídrico 0,1 N até pH 3,2. O cálculo da porcentagem de carbonilas no amido foi feito empregando-se a Equação 4.3.

$$\%COH = V \times F \times 0,028 \times 100 \times (\text{peso da amostra})^{-1} \quad (4.3)$$

Onde,

V é o volume (em mL) de HCl gasto na titulação;

F é a normalidade do ácido.

2.2.3 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta das amostras foram determinadas usando-se um analisador rápido de viscosidade (*Rapid Visco Analyser - RVA*), modelo RVA-3D+ (Newport Scientific Pty. Ltd., Sidney, Austrália) provido do *software Thermocline for Windows*.

Uma vez conhecida a umidade do amido, as amostras foram pesadas e adicionadas de água destilada, de forma a se obter a correção para a base de 14% de umidade. Foi utilizado o programa Padrão 1 do RVA. A viscosidade foi expressa na unidade do aparelho, ou seja, em RVU (*Rapid Visco Units*) e as análises foram realizadas em duplicata.

Dos perfis viscoamilográficos obtidos, foram avaliados os parâmetros: temperatura de pasta, pico de viscosidade, tempo de pico, viscosidade mínima, quebra de viscosidade (*breakdown*), viscosidade final e tendência à retrogradação (*setback*).

- Temperatura de pasta (°C): temperatura em que ocorre o primeiro aumento da viscosidade (pelo menos 2 RVU) em um período de 20 segundos;
- Pico de viscosidade (RVU): viscosidade máxima obtida durante o aquecimento (pico da curva);

- Tempo de pico (min.): tempo decorrido até que a viscosidade máxima seja alcançada;
- Viscosidade mínima (RVU): valor mínimo de viscosidade obtido durante a manutenção da temperatura a 95°C;
- *Breakdown* (RVU): diferença entre a viscosidade máxima e mínima;
- Viscosidade final (RVU): viscosidade obtida ao final do teste durante o resfriamento a 50°C;
- *Setback* (RVU): viscosidade final subtraída da viscosidade mínima.

2.2.4 Análises microbiológicas

Para a avaliação das características microbiológicas do amido ozonizado e da amostra padrão, foram realizadas as contagens de *B. cereus* e coliformes a 45°C e averiguada a presença de *Salmonella*, de acordo com os padrões microbiológicos sanitários estabelecidos pela RDC n° 12/2001 da ANVISA.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Downes e Ito (2001). Foi utilizado o método do número mais provável (NMP) de 3 tubos para a determinação da contagem de coliformes termotolerantes, utilizando-se os meios de cultura caldo lauril sulfato triptose (LST), para o teste presuntivo, e caldo *E. coli* (EC), para a confirmação da contagem.

A contagem de *B. cereus* foi realizada pelo método de plaqueamento direto, utilizando-se o meio de cultura ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP), e para a confirmação das colônias isoladas foram realizados a coloração de Gram e os testes bioquímicos: teste da catalase, teste de utilização anaeróbia da glicose (caldo vermelho de fenol 1% glucose), teste de decomposição da tirosina (ágar tirosina), teste de Voges-Proskauer (caldo VP modificado), teste de redução do nitrato (caldo nitrato), teste de crescimento rizóide (ágar nutriente - NA), teste de motilidade (ágar motilidade), teste de hemólise (ágar sangue) e coloração de cristais paraesporais.

Para identificação da presença de *Salmonella*, foi realizado inicialmente o pré-enriquecimento em água peptonada tamponada (BPW), seguido do enriquecimento seletivo em caldo tetrionato (TT) e em caldo Rappaport Vassiliadis (RV). Para o plaqueamento seletivo diferencial, foram utilizados os meios de cultura ágar bismuto sulfito (BS), ágar entérico de Hectoen (HE) e o ágar xilose lisina desoxicolato (XLD). Para confirmação preliminar, as colônias suspeitas foram inoculadas em ágar lisina ferro (LIA) e em ágar tríplice açúcar ferro (TSI). Como as colônias suspeitas não deram reações típicas de *Salmonella* em TSI e LIA, a análise foi finalizada e os demais testes não foram realizados. Os resultados foram expressos como ausência do microrganismo em 25 g de amostra.

2.2.5 Análise sensorial

O método utilizado para avaliação sensorial das amostras foi baseado no Teste de Comparação Múltipla (ou Diferença do Controle). Três amostras codificadas, sendo duas amostras ozonizadas (repetição do tratamento) e uma amostra padrão, foram apresentadas aos julgadores, solicitando-se aos mesmos que as avaliassem segundo os atributos de cor e odor em comparação com a amostra padrão (designada pela letra P). A escala pré-estabelecida para avaliar a existência e a magnitude de diferença entre as amostras codificadas e a padrão (P) foi a seguinte: 0 = nenhuma diferença, 1 = ligeiramente diferente, 2 = moderadamente diferente, 3 = muito diferente e 4 = extremamente diferente. Cada avaliação sensorial, realizada quinzenalmente, foi realizada por um grupo de 30 provadores.

Os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), e a comparação das médias das amostras ozonizadas com a média da amostra padrão codificada foi realizada pelo teste de Dunnett, segundo as orientações de Meilgaard e Civille (1999) e do Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.6 Análise estatística

Os resultados das análises físico-químicas e das propriedades de pasta foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), e o teste de Tukey foi realizado para determinar diferenças entre as médias da amostra ozonizada e padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

A seguir são descritos os resultados das análises de umidade, pH, cor e oxidação das amostras avaliadas.

3.1.1 Análise de umidade

A Tabela 4.1 apresenta os valores médios da umidade das amostras ozonizada e padrão.

Tabela 4.1. Umidade (%) das amostras ozonizada e padrão

Tempo de estocagem (dias)	Amostra	
	Ozonizada (118 ppm/90 min.)	Padrão
0	15,3 ± 0,2 ^{aA}	10,4 ± 0,1 ^{bB}
15	14,7 ± 0,1 ^{aAB}	11,5 ± 0,3 ^{bA}
30	14,2 ± 0,1 ^{aB}	11,4 ± 0,1 ^{bA}
45	13,4 ± 0,3 ^{aC}	11,7 ± 0,2 ^{bA}
60	14,2 ± 0,0 ^{aB}	11,7 ± 0,1 ^{bA}

Os resultados representam as médias de duas determinações. Letras minúsculas diferentes numa mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes numa mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

O conteúdo de umidade da amostra padrão está abaixo do limite máximo preconizado pela legislação brasileira para este tipo de produto, que é de 18% (BRASIL, 2005), bem como está de acordo com os padrões estabelecidos pela Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca, que admite um valor máximo de 14% (ABAM, 2009).

De acordo com Moorthy (2002), o conteúdo de umidade de amidos varia entre 6 e 16%, sendo dependente das condições climáticas durante o cultivo e colheita da cultura de origem e do processo usado para secagem do produto. Segundo o autor, elevados níveis de umidade podem levar à deterioração

microbiana do produto, e o conteúdo máximo de umidade prescrito pela maioria dos países produtores de amido é de 13%.

Comparada à amostra padrão, a amostra ozonizada apresentou maiores teores de umidade, o que foi decorrente da umidificação do amido de mandioca previamente ao tratamento com ozônio. Pois, embora as amostras ozonizadas tenham sido submetidas à secagem em estufa após a ozonização, as condições de temperatura e/ou tempo de secagem não foram suficientes para que as amostras perdessem o excesso de água. Cabe salientar que a utilização de temperatura superior a 45°C na secagem poderia ocasionar a gelatinização do amido, haja vista o elevado teor de água presente.

Com relação à variação do conteúdo de umidade ao longo do tempo de estocagem, pode-se observar na Tabela 4.1 que, de modo geral, as amostras ozonizada e padrão apresentaram comportamentos inversos. No decorrer do tempo, a amostra ozonizada apresentou uma redução no seu conteúdo de umidade, ao contrário da amostra padrão, que teve seu teor de umidade aumentado. Essas alterações, decorrentes da perda ou ganho de umidade, são uma consequência da interação produto/ambiente, onde o fator embalagem exerce papel fundamental.

3.1.2 Análise de pH

A Tabela 4.2 apresenta os valores de pH obtidos para as amostras ozonizada e padrão.

Os valores médios de pH encontrados para a amostra padrão (5,9 a 6,1) estão próximos dos valores encontrados na literatura. Valores de pH para amido de mandioca nativo correspondentes a 5,6 e 6,2 foram relatados por Henrique, Cereda e Sarmiento (2008) e Silva et al. (2006), e Shirai et al. (2007), respectivamente.

Tabela 4.2. Valores de pH das amostras

Tempo de estocagem (dias)	Amostra	
	Ozonizada (118 ppm/90 min.)	Padrão
0	4,5 ± 0,0 ^{bBC}	6,0 ± 0,0 ^{aB}
15	4,5 ± 0,0 ^{bAC}	5,9 ± 0,0 ^{aC}
30	4,4 ± 0,0 ^{bC}	5,9 ± 0,0 ^{aC}
45	4,6 ± 0,1 ^{bAB}	6,1 ± 0,0 ^{aA}
60	4,7 ± 0,0 ^{bA}	6,1 ± 0,0 ^{aA}

Os resultados representam as médias de três determinações. Letras minúsculas diferentes numa mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes numa mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Verificou-se que a amostra ozonizada apresentou valores de pH significativamente inferiores aos obtidos para a amostra padrão. Esses resultados confirmam os obtidos quando o amido de mandioca foi submetido a concentrações de 40 e 118 ppm de ozônio por 30, 60, 90 e 120 minutos, e 30 e 60 minutos de exposição, respectivamente, em que todas as amostras ozonizadas, independente da concentração e tempo de tratamento, apresentaram valores de pH inferiores ao da amostra de amido não tratado.

Com relação ao comportamento das amostras durante o período de estocagem, os valores de pH sofreram variações significativas ao longo do tempo, para as duas amostras estudadas. Embora não tenha ocorrido uma tendência de variação do pH a cada quinze dias de estocagem, de modo geral, pode-se observar que, ao final dos dois meses de estudo, os valores de pH das amostras foram levemente superiores aos valores iniciais.

3.1.3 Análise de Cor

Os parâmetros obtidos na análise de cor instrumental são apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Parâmetros de cor das amostras

Parâmetro	Tempo de estocagem (dias)	Amostra	
		Ozonizada (118 ppm/90 min.)	Padrão
L*	0	96,10 ± 0,16 ^{aA}	95,32 ± 0,18 ^{bAB}
	15	96,14 ± 0,27 ^{aA}	95,66 ± 0,16 ^{aA}
	30	95,92 ± 0,27 ^{aA}	95,27 ± 0,34 ^{aAB}
	45	96,19 ± 0,04 ^{aA}	95,09 ± 0,18 ^{bAB}
	60	95,45 ± 0,34 ^{aA}	94,35 ± 0,42 ^{aB}
a*	0	-0,25 ± 0,01 ^{bA}	-0,07 ± 0,01 ^{aBC}
	15	-0,28 ± 0,01 ^{bA}	-0,03 ± 0,00 ^{aAB}
	30	-0,31 ± 0,03 ^{bA}	-0,09 ± 0,02 ^{aC}
	45	-0,29 ± 0,02 ^{bA}	-0,02 ± 0,01 ^{aA}
	60	-0,30 ± 0,00 ^{bA}	-0,07 ± 0,01 ^{aBC}
b*	0	2,95 ± 0,19 ^{aA}	2,18 ± 0,00 ^{bAB}
	15	2,88 ± 0,21 ^{aA}	2,30 ± 0,02 ^{aAB}
	30	2,88 ± 0,38 ^{aA}	2,17 ± 0,06 ^{aAB}
	45	2,91 ± 0,13 ^{aA}	2,35 ± 0,05 ^{bA}
	60	2,68 ± 0,11 ^{aA}	2,13 ± 0,06 ^{bB}

Os resultados representam a média de quatro determinações. Letras minúsculas diferentes numa mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes numa mesma coluna, para um mesmo parâmetro, indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

O valor de L* inicial da amostra submetida a 118 ppm de ozônio, durante 90 minutos, diferiu significativamente do da amostra padrão, sendo esse valor mais elevado para a primeira amostra, o que indica que a amostra ozonizada apresentava-se mais clara que a amostra padrão. E, durante os dois meses de estocagem, os valores de L* da amostra ozonizada mantiveram-se levemente superiores aos da amostra padrão, embora não tenham sido significativamente diferentes, com exceção dos valores aos 45 dias de estocagem. No decorrer do período de estocagem, os valores de luminosidade das amostras mantiveram-se praticamente estáveis.

Com relação aos valores de a*, a amostra ozonizada revelou-se diferente da amostra padrão, apresentando valores inferiores em todos os tempos de estocagem estudados. No decorrer dos dois meses, os valores de a* da amostra ozonizada mantiveram-se estáveis, ao contrário dos da amostra padrão, que sofreram algumas variações, as quais não foram regulares nem tendenciosas, com elevações e reduções dos valores do parâmetro.

Os valores de b^* das amostras estudadas diferiram significativamente entre si no tempo inicial e aos 45 e 60 dias de estocagem, sendo os valores da amostra ozonizada superiores aos da amostra padrão. Para a amostra ozonizada, similarmente ao observado para os parâmetros L^* e a^* , não houve variação significativa ao longo do período de estocagem. A amostra padrão, por sua vez, sofreu pequena variação no seu valor de b^* , ocorrida do 45º para o 60º dia de estocagem, embora não tenha diferido do valor inicial assumido pelo parâmetro.

A Tabela 4.4 mostra os valores de ΔE , que indicam a diferença de cor entre a amostra ozonizada e a padrão, bem como a variação de cor sofrida por cada uma das amostras ao longo do tempo de estocagem.

Tabela 4.4. Diferença total de cor (ΔE) das amostras

Tempo de estocagem (dias)	ΔE_1	ΔE_2	ΔE_3
0	1,11	-	-
15	0,79	0,36	0,09
30	0,99	0,05	0,20
45	1,26	0,29	0,11
60	1,25	0,97	0,71

ΔE_1 = diferença total de cor entre a amostra ozonizada e a amostra padrão, para cada tempo de estocagem; ΔE_2 = variação de cor da amostra padrão, ao longo do tempo de estocagem, com relação ao tempo zero; ΔE_3 = variação de cor da amostra ozonizada, ao longo do tempo de estocagem, com relação ao tempo zero.

Diferenças perceptíveis na cor foram analiticamente classificadas, por Tiwari et al. (2008a), em muito distintas, distintas e pouco distintas quando o valor de ΔE foi superior a 3,0, entre 1,5 e 3,0, e inferior a 1,5, respectivamente. Assim, com base nos valores de ΔE , pode-se afirmar que a amostra ozonizada, para todos os tempos analisados, não apresentou variação de cor significativa em relação à amostra padrão.

Com relação ao comportamento de cada amostra em função do tempo de estocagem, pode-se observar que a amostra ozonizada apresentou-se mais estável que a amostra padrão, tendo em geral valores mais baixos de ΔE , embora todos os valores de ambas as amostras tenham sido inferiores a 1,5, não havendo, portanto, variação de cor significativa ao longo do período estudado.

Ao tratarem soluções aquosas de quitosana com ozônio gasoso, Seo, King e Prinyawiwatkul (2007) observaram uma diminuição do valor de a^* e um aumento no valor de b^* das amostras tratadas, sem variações significativas no valor de L^* , ocorrendo o desenvolvimento de uma cor amarelada durante a ozonização, embora essas alterações não tenham proporcionado uma mudança notável na cor do polímero.

3.1.4 Conteúdo de carboxila e carbonila

A Tabela 4.5 mostra os conteúdos de carboxila e carbonila do amido de mandioca ozonizado e da amostra padrão. A amostra padrão apresentou conteúdo inicial de carboxila de 0,036%, valor próximo ao reportado por Shirai et al. (2007) em amido de mandioca nativo comercial, que foi correspondente a 0,047%, e inferior aos encontrados por Silva et al. (2006), que foram equivalentes a 0,16 e 0,3%, em amidos de mandioca nativos comerciais oriundos de diferentes produtores.

Tabela 4.5. Conteúdos de carboxila e carbonila das amostras

Parâmetro	Tempo de estocagem (dias)	Amostra	
		Ozonizada (118 ppm/90 min.)	Padrão
Carboxila (%)	0	0,036 ± 0,001 ^{aA}	0,036 ± 0,001 ^{aA}
	15	0,037 ± 0,003 ^{aA}	0,036 ± 0,001 ^{aA}
	30	0,039 ± 0,003 ^{aA}	0,037 ± 0,004 ^{aA}
	45	0,039 ± 0,001 ^{aA}	0,038 ± 0,001 ^{aA}
	60	0,044 ± 0,002 ^{aA}	0,044 ± 0,003 ^{aA}
Carbonila (%)	0	1,575 ± 0,083 ^{aA}	1,724 ± 0,006 ^{aAB}
	15	1,667 ± 0,059 ^{aA}	1,790 ± 0,000 ^{aA}
	30	1,563 ± 0,012 ^{aA}	1,750 ± 0,087 ^{aA}
	45	1,575 ± 0,023 ^{aA}	1,646 ± 0,021 ^{aAB}
	60	1,544 ± 0,014 ^{aA}	1,547 ± 0,054 ^{aB}

Os resultados representam a média de duas determinações. Valores com letras minúsculas iguais numa mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). Valores com letras maiúsculas iguais numa mesma coluna, para um mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$).

Os conteúdos de carboxila da amostra ozonizada não diferiram, em nenhum dos tempos, dos da amostra padrão. No decorrer do período de estocagem, os teores de carboxila de ambas as amostras estudadas estiveram entre 0,036 e 0,044% e, embora tenham sofrido um leve aumento, não variaram significativamente ao longo do tempo.

Ao estudarem as características físico-químicas de amidos oxidados por ozônio, Chan, Bhat e Karim (2009) encontraram conteúdos de carboxila variando de 0,006 a 0,063%, 0,001 a 0,058% e 0,002 a 0,048%, dependendo do tempo de tratamento, em amidos de milho, tapioca e sagu, respectivamente. Por tratamento oxidativo de amido de mandioca com peróxido de hidrogênio, Shirai et al. (2007) obtiveram amido modificado com 0,16% de carboxila. Silva et al. (2008), ao tratarem amido de mandioca com permanganato de potássio ou hipoclorito de sódio, obtiveram amido modificado com teor de carboxila de 0,15 e 0,12%, respectivamente.

Os teores de carboxila encontrados neste trabalho encontram-se dentro da faixa dos valores reportados para amidos oxidados com ozônio e inferiores aos apresentados por amidos modificados por tratamentos oxidativos convencionais. Contudo, os resultados obtidos para a amostra ozonizada, comparados aos obtidos para a amostra padrão, evidenciaram que a ozonização não promoveu a oxidação do amido de mandioca.

Com relação ao conteúdo de carbonila, a amostra padrão apresentou um teor inicial de 1,724%. Trabalhos com análise do teor de carbonilas em amidos de mandioca são escassos, sendo mais comuns estudos envolvendo determinações do conteúdo de carboxilas, o que dificultou a comparação dos resultados obtidos. O conteúdo inicial de carbonila do amido de mandioca ozonizado foi de 1,575% e não diferiu significativamente do valor encontrado para a amostra padrão.

No decorrer do período de estocagem, os teores de carbonila da amostra ozonizada encontraram-se entre 1,544 e 1,667% e não variaram significativamente ao longo do tempo. Por sua vez, a amostra padrão apresentou teores de carbonila entre 1,547 e 1,790%, havendo pequenas variações ao longo do período de estocagem.

Todos os valores encontrados para o conteúdo de carbonila das amostras estudadas foram superiores aos reportados por Chan, Bhat e Karim (2009), que encontraram conteúdo de carbonila variando de 0,025 a 0,061%, 0,121 a 0,250% e 0,066 a 0,085%, respectivamente, em amidos de milho, tapioca e sagu oxidados por ozônio.

Assim como aconteceu com o conteúdo de carboxila, os teores de carbonila da amostra ozonizada não diferiram, em nenhum dos tempos, dos da amostra padrão. Os resultados mostraram, portanto, que a ozonização não promoveu a oxidação do amido de mandioca.

3.2 PROPRIEDADES DE PASTA

Na Tabela 4.6 são apresentadas as propriedades de pasta do amido de mandioca submetido ao tratamento de ozonização e sem tratamento (amostra padrão).

O pico de viscosidade da amostra ozonizada diferiu significativamente do da amostra padrão, no tempo inicial e aos 15 e 30 dias de estocagem, não havendo diferença significativa entre as amostras, no entanto, aos 45 e 60 dias. Os valores de viscosidade máxima da amostra ozonizada apresentaram-se superiores aos da amostra padrão, podendo-se afirmar que o tratamento com ozônio contribuiu para o aumento do pico de viscosidade da pasta de amido de mandioca. Contudo, é importante ressaltar os desvios encontrados, os quais foram mais elevados para a análise da amostra ozonizada, principalmente nos resultados de 45 e 60 dias, o que possivelmente influenciou na amenização da diferença encontrada entre as amostras estudadas. A viscosidade máxima das duas amostras avaliadas permaneceu estável ao longo do período estudado.

Tabela 4.6. Propriedades de pasta das amostras

Parâmetro	Tempo de estocagem (dias)	Amostra	
		Ozonizada (118 ppm/90 min.)	Padrão
Viscosidade máxima (RVU)	0	446,3 ± 6,5 ^{aA}	333,1 ± 1,5 ^{bA}
	15	470,4 ± 6,6 ^{aA}	335,0 ± 4,7 ^{bA}
	30	475,0 ± 24,9 ^{aA}	346,8 ± 7,0 ^{bA}
	45	464,1 ± 43,6 ^{aA}	350,2 ± 23,4 ^{aA}
	60	390,3 ± 84,1 ^{aA}	335,7 ± 0,1 ^{aA}
Viscosidade mínima (RVU)	0	119,2 ± 2,6 ^{aA}	128,9 ± 5,4 ^{aB}
	15	127,1 ± 8,7 ^{aA}	127,2 ± 2,6 ^{aB}
	30	119,9 ± 6,8 ^{aA}	129,2 ± 0,1 ^{aB}
	45	145,6 ± 7,5 ^{aA}	156,6 ± 8,9 ^{aA}
	60	123,6 ± 39,9 ^{aA}	150,3 ± 9,3 ^{aAB}
Breakdown (RVU)	0	327,1 ± 3,9 ^{aA}	204,2 ± 3,9 ^{bA}
	15	343,3 ± 2,1 ^{aA}	207,8 ± 2,1 ^{bA}
	30	355,0 ± 18,1 ^{aA}	217,5 ± 6,9 ^{bA}
	45	318,5 ± 36,2 ^{aA}	193,6 ± 14,5 ^{bA}
	60	266,8 ± 44,2 ^{aA}	185,3 ± 9,2 ^{aA}
Viscosidade final (RVU)	0	141,9 ± 2,3 ^{bA}	184,8 ± 5,3 ^{aA}
	15	151,1 ± 8,3 ^{aA}	178,8 ± 9,8 ^{aA}
	30	149,2 ± 6,1 ^{aA}	186,8 ± 11,2 ^{aA}
	45	191,3 ± 5,3 ^{aA}	235,1 ± 13,6 ^{aA}
	60	172,4 ± 42,8 ^{aA}	252,8 ± 36,1 ^{aA}
Setback (RVU)	0	22,7 ± 0,3 ^{bC}	55,9 ± 0,1 ^{aA}
	15	24,0 ± 0,4 ^{bBC}	51,6 ± 7,2 ^{aA}
	30	29,3 ± 0,7 ^{aB}	57,6 ± 11,1 ^{aA}
	45	45,7 ± 2,2 ^{bA}	78,5 ± 4,7 ^{aA}
	60	48,9 ± 2,9 ^{aA}	102,5 ± 26,8 ^{aA}
Temperatura de pasta (°C)	0	67,4 ± 0,0 ^{aC}	68,6 ± 2,1 ^{aA}
	15	68,8 ± 0,8 ^{aBC}	66,7 ± 0,7 ^{aA}
	30	67,5 ± 0,0 ^{aC}	68,5 ± 0,8 ^{aA}
	45	70,3 ± 0,0 ^{aAB}	70,5 ± 0,1 ^{aA}
	60	71,1 ± 0,1 ^{aA}	69,3 ± 0,1 ^{bA}
Tempo do pico (minutos)	0	3,3 ± 0,1 ^{aB}	3,7 ± 0,2 ^{aB}
	15	3,5 ± 0,4 ^{aB}	3,6 ± 0,0 ^{aB}
	30	3,2 ± 0,1 ^{aB}	3,6 ± 0,1 ^{aB}
	45	4,8 ± 0,1 ^{bA}	5,6 ± 0,0 ^{aA}
	60	5,0 ± 0,1 ^{aA}	5,2 ± 0,5 ^{aA}

Os resultados representam a média de duas determinações. Para cada parâmetro, valores com letras minúsculas iguais numa mesma linha e valores com letras maiúsculas iguais numa mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$).

Ao tratarem suspensões de amido de arroz com ozônio, durante 15 e 30 minutos, An e King (2009) observaram um aumento no pico de viscosidade das amostras tratadas com ozônio, quando comparadas à amostra sem tratamento. O aumento do pico de viscosidade foi atribuído pelos autores ao fato dos grupos

carboxila formados durante a oxidação manterem as moléculas de amido mais afastadas, permitindo uma maior absorção de água pelos grânulos durante o aquecimento.

Chan, Bhat e Karim (2009), por sua vez, ao estudarem o efeito do ozônio nas características físico-químicas e funcionais de amidos de milho, sagu e tapioca, observaram um aumento do pico de viscosidade em amostras de amido de sagu altamente oxidado e em amido de tapioca levemente oxidado. No primeiro caso, o fato foi atribuído à formação de grupos carboxilas, e no segundo, ao efeito *cross-linking*.

Para a viscosidade mínima, não foi observada diferença significativa entre as amostras em nenhum dos tempos de estocagem estudados. E, com o decorrer do período de estocagem, foi observada alteração da viscosidade mínima apenas da amostra padrão a partir do 45º dia, a qual diferiu dos valores de viscosidade anteriores (0, 15 e 30 dias), embora não tenha havido variação do 45º para o 60º dia. A amostra ozonizada, por sua vez, não sofreu variação no parâmetro ao longo do período estudado.

A estabilidade da pasta durante o cozimento sob agitação (avaliada pelo parâmetro *breakdown*) das amostras ozonizada e padrão diferiu significativamente entre si nos tempos de estocagem estudados, exceto aos 60 dias. De modo geral, os valores de *breakdown* da amostra tratada com ozônio foram superiores aos da amostra padrão, estando esse resultado de acordo com o obtido por An e King (2009), que também observaram um aumento do *breakdown* nas amostras de amido de arroz submetidas à ozonização. Um aumento do *breakdown* em amido de sagu oxidado com ozônio também foi observado por Chan, Bhat e Karim (2009), o que foi atribuído ao enfraquecimento da estrutura dos grânulos depois do tratamento, levando ao rompimento da estrutura durante o cozimento sob agitação. Similarmente ao observado com a viscosidade máxima, o *breakdown* das amostras permaneceu estável ao longo do período em estudo.

Para a viscosidade final, foi observada diferença significativa entre as amostras estudadas apenas no tempo inicial de análise, e não houve variação do parâmetro em nenhuma das amostras ao longo do período de estocagem. Para o

setback, foi observada diferença entre as amostras avaliadas no tempo inicial e aos 15 e 45 dias. Pode-se observar que os valores de *setback* da amostra ozonizada foram inferiores aos da amostra sem tratamento, mostrando que a ozonização proporcionou alteração do comportamento do amido durante o resfriamento da pasta, reduzindo a sua tendência à retrogradação.

Chan, Bhat e Karim (2009) observaram uma menor tendência à retrogradação em amidos de milho e tapioca oxidados com ozônio. Resultados similares também foram reportados por An e King (2009), ao avaliarem as propriedades de pasta de amido de arroz tratado com ozônio. Os autores sugeriram a formação de grupos carboxila, que impedem a reassociação das moléculas de amido durante o resfriamento da pasta, e também a despolimerização como as principais razões para a redução do *setback*.

No decorrer do tempo de estocagem, similarmente ao observado com a viscosidade mínima, as amostras apresentaram comportamentos diferentes quanto ao parâmetro *setback*, sendo que aqui a amostra que sofreu variação foi a ozonizada e não a padrão. Para a amostra ozonizada, a variação foi observada no 30º dia de estocagem, cujo valor diferiu significativamente do valor inicial. No entanto, uma maior alteração foi observada aos 45 dias, que diferiu do valor inicial e dos demais tempos (15 e 30 dias). Essa alteração levou ao aumento dos valores de *setback* e, conseqüentemente, ao aumento da tendência à retrogradação. É importante ressaltar os elevados desvios encontrados para os resultados da amostra padrão, o que possivelmente influenciou na amenização da diferença entre os valores de *setback* no decorrer da estocagem, pois os valores médios também revelam um aumento da tendência à retrogradação para a amostra padrão.

Com relação à temperatura de pasta, observou-se diferença entre as amostras apenas aos 60 dias de estocagem. Assim como observado no parâmetro *setback*, apenas a amostra ozonizada apresentou variação nos valores de temperatura de pasta no decorrer da estocagem, sendo a variação notável a partir do 45º dia, levando ao aumento dos valores desse parâmetro.

O tempo para atingir o pico de viscosidade foi significativamente diferente entre as amostras avaliadas apenas no tempo de 45 dias de estocagem. Tanto para a amostra ozonizada quanto para a amostra padrão, o tempo de pico sofreu variação no decorrer do período de estocagem, a qual foi similar para ambas as amostras estudadas e foi observada a partir do 45º dia de estocagem, resultando no aumento do tempo para atingir a viscosidade máxima da pasta.

Os resultados mostraram que os parâmetros de viscosidade mínima, *setback*, temperatura de pasta e tempo de pico foram mais sensíveis às alterações no decorrer do tempo de estocagem, sendo as variações observadas, principalmente, a partir do 45º dia. Além disso, a amostra padrão apresentou-se mais estável que a amostra ozonizada, pois esta foi a que apresentou o maior número de parâmetros afetados pelo aumento do tempo de estocagem.

3.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As características microbiológicas das amostras ozonizada e padrão estão apresentadas na Tabela 4.7.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece, através da Portaria RDC nº 12/2001, os padrões microbiológicos sanitários para amido, cujos limites para coliformes a 45°C, *Bacillus cereus* e *Salmonella* spp. são de 10² NMP/g, 3x10³ UFC/g e ausência em 25 g, respectivamente (BRASIL, 2001).

Tabela 4.7. Características microbiológicas das amostras

Análise	Tempo de estocagem (dias)	Amostra	
		Ozonizada	Padrão
Coliformes a 45°C (NMP/g)	0	< 3	< 3
	30	< 3	< 3
	60	< 3	< 3
<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	0	< 10 ²	4,1x10 ²
	30	< 10 ²	2,2x10 ²
	60	< 10 ²	2,7x10 ²
<i>Salmonella</i> (em 25 g)	0	Ausência	Ausência
	30	-	-
	60	-	-

_ Análises não realizadas.

Os resultados deste estudo mostraram que a carga microbiana do amido de mandioca estava de acordo com os valores preconizados pela legislação vigente. Pode-se observar que a contagem de coliformes termotolerantes na amostra padrão foi muito pequena, evidenciando que o amido foi obtido sob condições higiênico-sanitárias satisfatórias. A amostra ozonizada apresentou a mesma contagem de coliformes apresentada pela amostra padrão, indicando que não ocorreu recontaminação do amido durante sua manipulação.

Com o decorrer do tempo de estocagem, não houve variação da contagem de coliformes em nenhuma das amostras estudadas, indicando que o amido apresenta-se como um substrato de baixo potencial para o desenvolvimento desses microrganismos, o que pode estar relacionado à baixa atividade de água do produto.

A contagem de *Bacillus cereus* na amostra padrão, embora seja inferior ao limite estabelecido pela legislação, apresentou valores significantes. Isso se deve ao fato do *Bacillus cereus* ser uma bactéria geralmente encontrada no solo, contaminando frequentemente vegetais, cereais e tubérculos.

Pode-se observar que a concentração de *B. cereus* na amostra ozonizada foi inferior à da amostra padrão, o que indica que a ozonização inativou parte das células microbianas presentes.

Com o decorrer do tempo de estocagem, não houve variação significativa da contagem de *B. cereus* nas amostras avaliadas, indicando que esse microrganismo não encontrou condições favoráveis de crescimento no amido, o que se deve, principalmente, à baixa atividade de água do produto. No entanto, quando da incorporação de amido em algum produto alimentício, os microrganismos veiculados podem causar deterioração desses produtos.

Não foi verificada a presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras estudadas, encontrando-se ambas de acordo com a legislação vigente. Como esse microrganismo não foi detectado na análise inicial, sua presença não foi averiguada nos demais tempos de estocagem.

3.4 ANÁLISE SENSORIAL

O teste utilizado (Método de Comparação Múltipla ou Diferença do Controle) permitiu estimar a magnitude da diferença entre a amostra ozonizada e a amostra padrão, quanto aos atributos de cor e odor. Os resultados relativos à pontuação atribuída às amostras, segundo a escala de diferença pré-estabelecida, foram avaliados com base em Análise de Variância (ANOVA), e o teste de Dunnett foi aplicado para comparação da média da amostra ozonizada com a média da amostra padrão codificada. A seguir são apresentados os resultados da análise sensorial para os atributos de cor e odor das amostras estudadas.

3.4.1 Cor

A Figura 4.1 apresenta as notas médias atribuídas às amostras avaliadas. Em todos os períodos de estocagem estudados, a amostra ozonizada foi identificada, segundo o julgamento dos avaliadores, como significativamente diferente da amostra padrão com relação à cor. Portanto, pode-se afirmar que o tratamento de ozonização a 118 ppm por 90 minutos proporcionou alteração visual da cor do amido de mandioca.

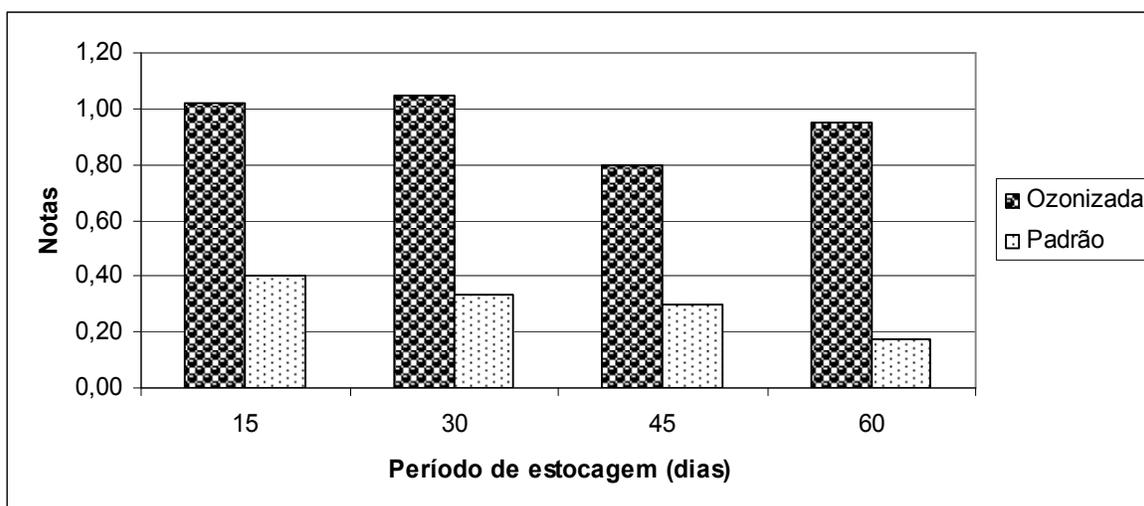


Figura 4.1. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de cor

Poucos comentários sobre a cor das amostras foram feitos por parte dos julgadores. Algumas referências foram feitas com relação à cor “mais branca” da amostra ozonizada. Logo, isso sugere que a alteração na cor do amido decorrente do tratamento com ozônio foi positiva, já que contribuiu para o branqueamento/clareamento do produto.

O método de avaliação sensorial empregado permitiu avaliar a diferença da amostra-teste (amostra ozonizada) em relação à amostra padrão, em cada período de estocagem, não sendo possível fazer uma análise do comportamento individual de cada amostra em função do tempo de estocagem.

3.4.2 Odor

A Figura 4.2 apresenta as notas médias atribuídas às amostras avaliadas. Pode-se observar que a amostra ozonizada foi identificada, segundo a avaliação dos julgadores, como significativamente diferente da amostra padrão com relação ao odor, em todos os períodos de estocagem estudados.

Portanto, pode-se afirmar que o tratamento a 118 ppm de ozônio durante 90 minutos proporcionou alteração do odor do amido de mandioca. É importante ressaltar que a magnitude da diferença entre a amostra ozonizada e a padrão, percebida por parte dos julgadores, foi bastante significativa, dadas as elevadas notas atribuídas à amostra ozonizada. As notas médias obtidas para a amostra ozonizada, ao longo do período de estocagem, assumiram valores mínimo e máximo de 2,09 e 2,50, respectivamente, o que a classifica entre moderadamente e muito diferente da amostra padrão.

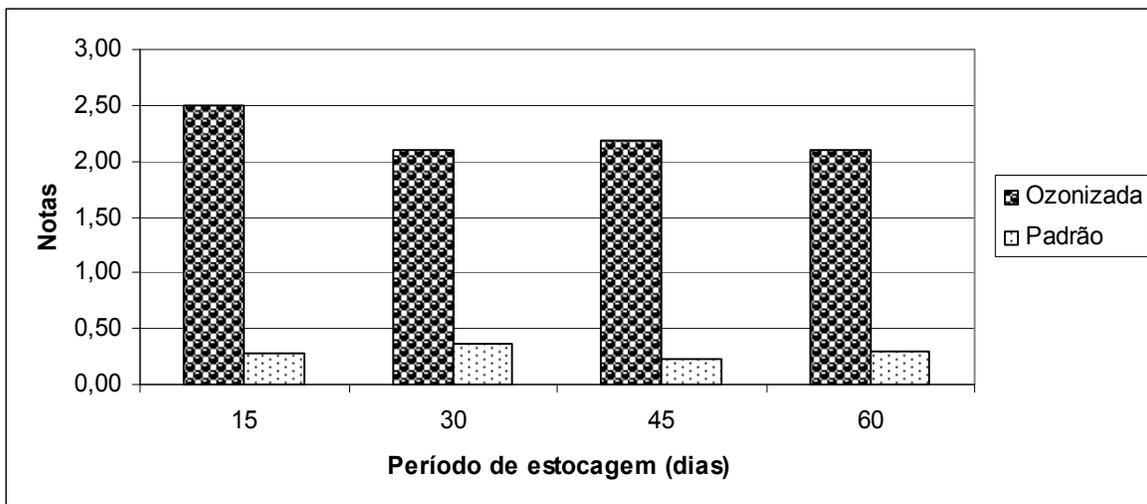


Figura 4.2. Valores médios das notas atribuídas às amostras para o atributo de odor

Vale salientar que a maioria dos julgadores identificou corretamente a amostra padrão codificada entre as amostras-teste, e muitos deles fizeram comentários com relação à amostra ozonizada. Diversas referências foram apontadas para o odor percebido na amostra ozonizada, principalmente associadas ao aroma de vegetais; alguns provadores descreveram odor ácido, adocicado, de farinha velha, de gás, etc.; outros citaram a percepção de um odor muito forte, mas não identificável.

Embora o tratamento de amido de mandioca a 118 ppm de ozônio durante 90 minutos seja eficaz para a descontaminação do produto, as alterações decorrentes do tratamento com prejuízo para a qualidade sensorial do produto, podem comprometer sua aceitação, bem como seu emprego nas mais diversas aplicações industriais.

Apesar do amido de mandioca apresentar teor naturalmente baixo de lipídios (0,1%), quando comparado com amidos de cereais (CEREDA et al., 2001), a oxidação da gordura pelo ozônio seria uma provável causa da alteração do odor do produto. Faz-se necessário, portanto, estudos futuros com o objetivo de elucidar as possíveis transformações que originaram a alteração do odor do amido.

É importante ressaltar que os efeitos sensoriais negativos do ozônio podem ser minimizados utilizando-se tratamentos menos rigorosos, haja vista que matérias-primas de boa qualidade microbiológica têm baixa carga microbiana.

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que:

- A amostra ozonizada apresentou valores de pH significativamente inferiores aos da amostra padrão e, para ambas as amostras estudadas, esses valores foram levemente aumentados ao final dos dois meses de estocagem.

- A amostra ozonizada não apresentou variação total de cor significativa em relação à amostra padrão, embora tenha ocorrido diferença significativa entre as amostras para alguns parâmetros individuais de cor.

- O ozônio não proporcionou a oxidação do amido, já que não foram observadas alterações significativas nos conteúdos de carboxila e carbonila do produto.

- O efeito do ozônio foi mais evidente nos parâmetros de pico de viscosidade, *breakdown* e *setback*, proporcionando a obtenção de pastas de amido com maior poder de intumescimento, menor estabilidade de pasta durante o cozimento sob agitação e com menor tendência à retrogradação.

- O efeito do aumento do tempo de estocagem foi observado nos parâmetros de viscosidade mínima e tempo de pico, na amostra padrão, e no *setback*, temperatura de pasta e tempo de pico, na amostra ozonizada.

- As características microbiológicas das amostras estavam de acordo com a legislação vigente e a ozonização proporcionou a redução da concentração de *B. cereus* em amido de mandioca.

- O tratamento com ozônio provocou alterações significativas nas características sensoriais de cor e odor do amido de mandioca, sendo seu efeito mais notável no segundo atributo.

- Os resultados obtidos no estudo das características do amido, ao longo do período de estocagem, indicaram uma maior estabilidade do produto quando o tratamento de ozonização foi empregado, evidenciada principalmente pelas variáveis físico-químicas (notadamente pelos parâmetros a^* , b^* , ΔE e carbonila).

REFERÊNCIAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC). **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9th ed. Saint Paul, M.N.: AACC, 1995.

AN, H. J.; KING, J. M. Using ozonation and amino acids to change pasting properties of rice starch. **Journal of Food Science**, Chicago, v.74, n.3, p. 278-283, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA (ABAM). 2009. Disponível em: <<http://www.abam.com.br>>. Acesso em: 09 fev. 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Publicada no Diário Oficial da União de 10/01/2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 31 ago. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. Publicada no Diário Oficial da União de 23/09/2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 12 maio 2008.

CEREDA, M. P. et al. (Ed). **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. 224p. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.1).

CHAN, H. T.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Physicochemical and functional properties of ozone-oxidized starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.57, n.13, p. 5965-5970, 2009.

DOWNES, F. P.; ITO, K. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington, D.C.: APHA, 2001.

FELIPE, F. I.; ALVES, L. R. A.; CAMARGO, S. G. C. Panorama e perspectivas para a indústria de fécula de mandioca no Brasil. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v.6, p. 134-146, 2010.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p. 231-240, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

LEONEL, M.; JACKEY, S.; CEREDA, M. P. Processamento industrial de fécula de mandioca e batata doce - um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.3, p. 343-345, 1998.

MATTISSON, M. F.; LEGENDRE, K. A. Determination of the carboxyl content of oxidized starches. **Analytical Chemistry**, Washington, v.24, n.12, p. 1942-1944, 1952.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V. **Sensory evaluation techniques**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press. 1999.

MINOLTA. Precise color communication. **Manual**. Minolta Co., Ltd. Osaka, 1994. 49p.

MOORTHY, S. N. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: a review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.54, n.12, p. 559-592, 2002.

PASTORIZA, L. et al. Use of sterile and ozonized water as a strategy to stabilize the quality of stored refrigerated fresh fish. **Food Control**, Oxford, v.19, n.8, p. 772-780, 2008.

SEO, S.; KING, J. M.; PRINYAWIWATKUL, W. Simultaneous depolymerization and decolorization of chitosan by ozone treatment. **Journal of Food Science**, Chicago, v.72, n.9, p. 522-526, 2007.

SHIRAI, M. A. et al. Características físico-químicas e utilização em alimentos de amidos modificados por tratamento oxidativo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p. 239-247, 2007.

SILVA, G. O. et al. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p. 188-197, 2006.

SILVA, R. M. et al. Características físico-químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p. 66-77, 2008.

SMITH, R. J. Characterization and analysis of starches. In: WHISTLER, R. L.; PASCHALL, E. F. (Ed.). **Starch chemistry and technology**. New York: Academic Press, 1967. p. 620-625.

TIWARI, B. K. et al. Effect of ozonization on the rheological and colour characteristics of hydrocolloid dispersions. **Food Research International**, Amsterdam, v.41, n.10, p. 1035-1043, 2008a.

TIWARI, B. K. et al. Modelling colour degradation of orange juice by ozone treatment using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.88, n.4, p. 553-560, 2008b.

VILPOUX, O. Processos de produção de fécula de mandioca: comparação Brasil, Tailândia e China. In: CEREDA, M. P. et al. (Ed). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. cap. 7, p. 143-175. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.3).

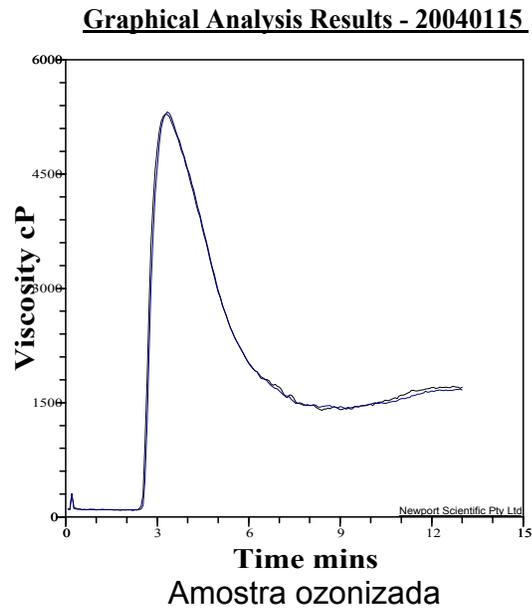
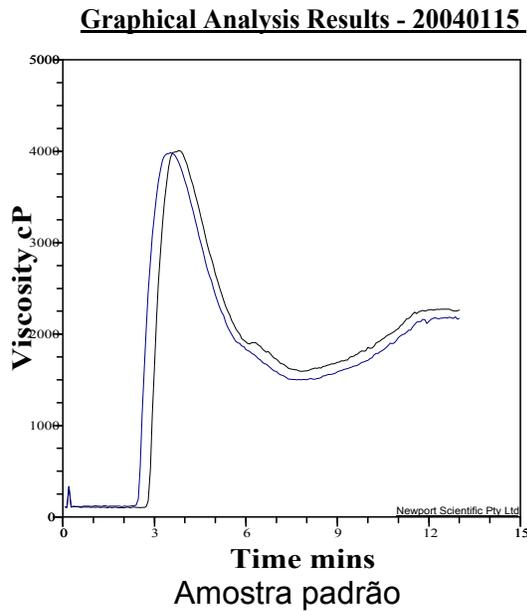
WALTER, M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.974-980, 2005.

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

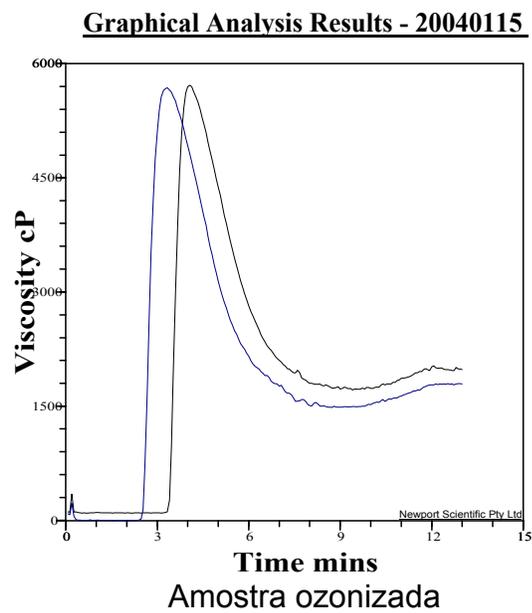
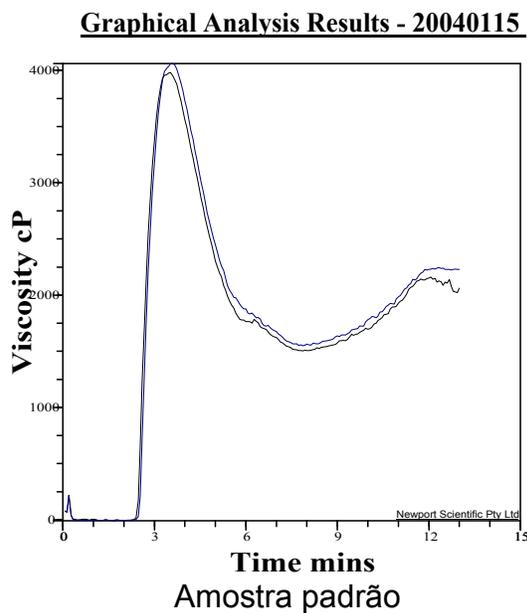
YONEMOTO, P. G.; CALORI-DOMINGUES, M. A.; FRANCO, C. M. L. Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 761-771, 2007.

**APÊNDICE A – Propriedades de pasta das amostras de amido avaliadas em
Rapid Visco Analyser (RVA)**

Tempo: Inicial

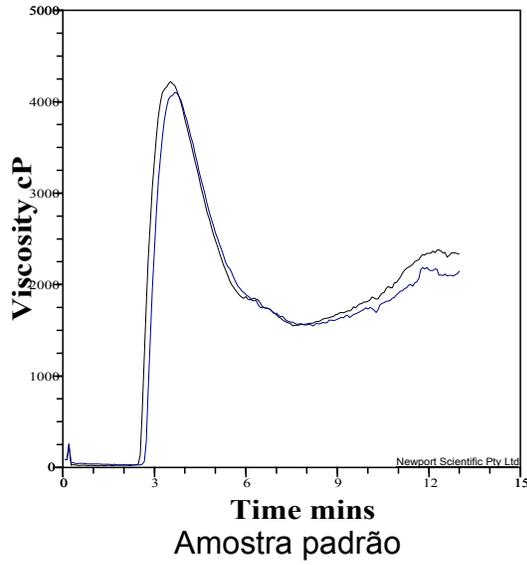


Tempo: 15 dias

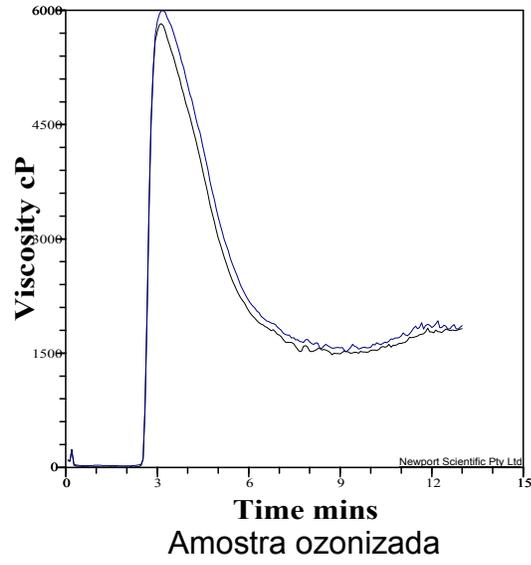


Tempo: 30 dias

Graphical Analysis Results - 20040115

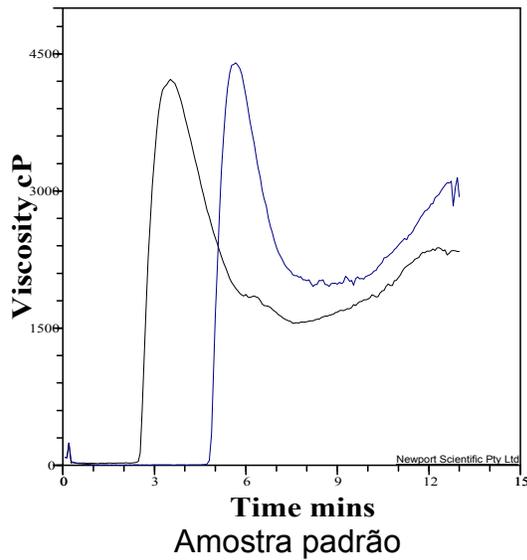


Graphical Analysis Results - 20040115

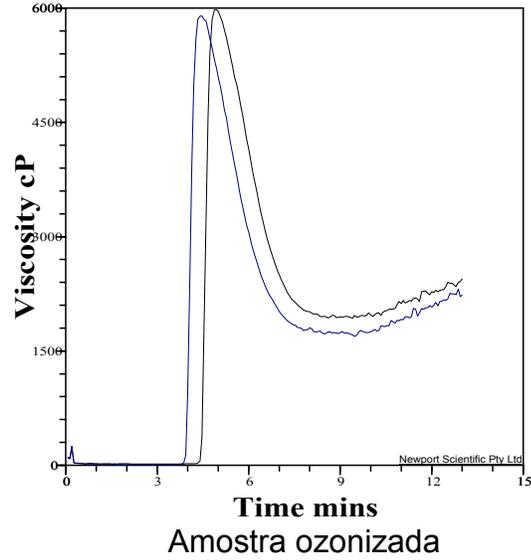


Tempo: 45 dias

Graphical Analysis Results - 20040115

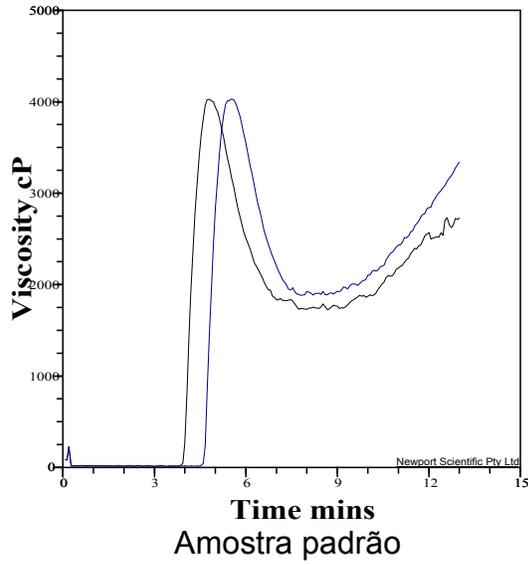


Graphical Analysis Results - 20040115

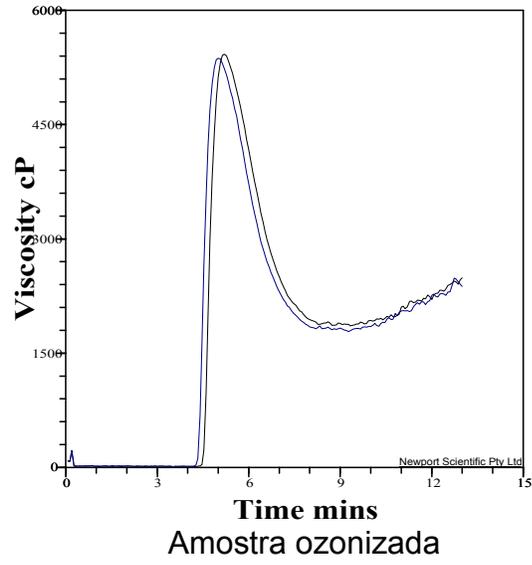


Tempo: 60 dias

Graphical Analysis Results - 20040115



Graphical Analysis Results - 20040115



APÊNDICE B – Ficha de avaliação sensorial

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____

Avaliação de amido de mandioca

Você está recebendo uma amostra padrão, identificada pela letra P, e quatro amostras codificadas. Por favor, avalie as amostras da esquerda para a direita quanto às suas características de cor e odor, e atribua notas para o grau de diferença **entre cada amostra e a padrão (P)**, de acordo com a escala abaixo.

Cor

- 0 = nenhuma diferença
- 1 = ligeiramente diferente
- 2 = moderadamente diferente
- 3 = muito diferente
- 4 = extremamente diferente

Amostra

Nota

Amostra

Nota

Amostra

Nota

Amostra

Nota

Odor

- 0 = nenhuma diferença
- 1 = ligeiramente diferente
- 2 = moderadamente diferente
- 3 = muito diferente
- 4 = extremamente diferente

Amostra

Nota

Amostra

Nota

Amostra

Nota

Amostra

Nota

Você observou algum aroma atípico nas amostras avaliadas? Caso tenha observado, por favor, informe o código da amostra e o aroma percebido.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 09/12/08.
(Grupo III)

PARECER CEP: N° 987/2008 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).
CAAE: 0782.0.146.000-08

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA DESCONTAMINAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA COM OZÔNIO”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Emanuele Oliveira Cerqueira Amorim

INSTITUIÇÃO: Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 11/11/2008

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 09/12/09 (O formulário encontra-se no *site* acima).

II - OBJETIVOS

Avaliar a eficiência do ozônio na descontaminação de amido de mandioca e seus efeitos sobre as propriedades físico-químicas, sensoriais e reológicas do produto.

III - SUMÁRIO

Trata-se de uma pesquisa cujo o objetivo é avaliar a eficiência do ozônio na descontaminação de amido de mandioca e seus efeitos sobre as propriedades físico-químicas, sensoriais e reológicas do produto. Para análise de cor e odor serão envolvidos 30 provadores. Será utilizado o método de Comparação Múltipla, em que uma amostra referência (proveniente do tratamento controle) será apresentada juntamente com as amostras tratadas devidamente codificadas, sendo solicitado ao provador que avalie a existência de diferenças entre as amostras tratadas e controle quanto à cor e odor. As amostras tratadas serão apresentadas aos provadores em copos descartáveis transparentes, codificados com números aleatórios de três dígitos. A ordem da apresentação das amostras seguirá delineamento em blocos completos casualizados. A análise sensorial será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA). Os participantes serão selecionados em virtude do seu interesse e disponibilidade de tempo.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Após respostas às pendências, o projeto encontra-se adequadamente redigido e de acordo com a Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Recomendamos que fosse encaminhado o cartaz para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

V - PARECER DO CEP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13084-971 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br



O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na XI Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 25 de novembro de 2008.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM/UNICAMP.