

## Área: Tecnologia de Alimentos

### SUSCEPTIBILIDADE ENZIMÁTICA E PROPRIEDADES DE PASTA DE AMIDO DE PINHÃO NATIVO E MODIFICADO

Vânia Zanella Pinto\*, Shanise de Melo El Halal, Wyller Max Ferreira da Silva, Patrícia Gomes Vivian, Jean Paulo Oliveira, Francine Tavares, Alvaro Renato Guerra Dias

*Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil.*

\*E-mail: [vania\\_vzp@hotmail.com](mailto:vania_vzp@hotmail.com)

**RESUMO** – As sementes da araucária são denominadas pinhões e possuem alto teor de amido, sendo este seu principal constituinte. O amido nativo apresenta uma utilização limitada para uso industrial. A fim de melhorar ou adaptar suas propriedades, modifica-se química, física ou enzimaticamente o amido. A obtenção de amidos modificados por processos físicos apresenta vantagens de não utilizar reagentes químicos na produção que poderiam causar efeitos alérgicos, além do aumento na poluição industrial. A modificação física denominada tratamento térmico de baixa umidade (TTBU) é uma técnica em que se utiliza temperaturas que variam de 80-120 °C e baixa umidade (10-30%). Este tratamento pode promover alterações no poder de inchamento, no lixiviamento da amilose e na estabilidade ao aquecimento do amido, além disso, altera a viscosidade e a estabilidade do amido ao cisalhamento mecânico e aquecimento. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do tratamento térmico de baixa umidade, sob diferentes temperaturas, nas propriedades viscoamilográficas e na suscetibilidade enzimática do amido de pinhão. As características do amido de pinhão nativo foram alteradas a partir da modificação por TTBU. Os amidos de pinhão tratados por TTBU apresentaram maior temperatura de pasta e tendência à retrogradação em relação ao amido nativo. No entanto, os amidos modificados apresentam menor pico de viscosidade e são mais estáveis diante processos de cisalhamento e de aquecimento. Os amidos de pinhão tratado termicamente apresentaram maior suscetibilidade pela enzima  $\alpha$ -amilase.

**Palavras-chave:** amido, modificação hidrotérmica, viscosidade, hidrólise.

## 1 INTRODUÇÃO

O pinhão é a semente da árvore *Araucaria angustifolia*, pertencente à família *Araucariaceae*. É uma espécie vegetal encontrada na América do Sul, sendo encontrada no Brasil, (Sudeste e Sul), na Argentina (região de Misiones) e no Paraguai (CONFORTI, LUPANO, 2008). O pinhão apresenta um elevado teor de amido, que pode variar de 68% a 72% da matéria seca, que é facilmente obtido por decantação depois da moagem das sementes sem casca (CORDENUNSI et al. 2004; BELLO-PÉREZ et al., 2006). Este amido poderia ser utilizado

na indústria de alimentos, diversificando a obtenção de novas matérias-primas e produtos (HENRÍQUEZ et al., 2008, PINTO et al., 2012).

Na forma nativa o seu uso é mais restrito devido à algumas propriedades **indesejáveis**. As modificações hidrotérmicas são utilizadas para se obter amidos com diferentes características para a aplicação em alimentos. Este tipo de modificação é de grande interesse por se tratar de uma modificação que não utiliza produtos químicos e não deixa resíduos após a modificação, além de não agredir o meio ambiente com a toxicidade de efluentes industriais (ZAVAREZE, DIAS, 2011).

A modificação física denominada tratamento térmico de baixa umidade (TTBU) é uma técnica em que se utiliza temperaturas de 80 a 120 °C e baixa umidade (10-30%). Esta modificação promove ao amido uma redução no seu poder de inchamento, o lixiviamento da amilose e a estabilidade ao aquecimento, que são propriedades desejáveis para o processamento vários tipos de alimentos, tais como massas alimentícias. (ZAVAREZE & DIAS, 2011). Além disso, promove alterações na solubilidade dos amidos, aumenta a dureza de géis, bem como aumenta a estabilidade do amido ao cisalhamento mecânico (ZAVAREZE, DIAS, 2011). O amido de pinhão apresenta padrão de cristalinidade tipo C, baixo poder de inchamento e elevada retrogradação após TTBU (PINTO et al., 2012).

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do tratamento térmico de baixa umidade, sob diferentes temperaturas, nas propriedades viscoamilográficas e na suscetibilidade enzimática do amido de pinhão.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

As sementes de pinhão, provenientes da safra de 2012, foram adquiridas em comércio local da cidade de Pelotas, RS, Brasil. A extração do amido de pinhão foi realizada conforme descrito por Pinto et al., (2012). Após a extração, os amidos foram secos em estufa a 40°C, moídos e armazenados para posterior utilização. O amido obtido apresentou 99% de pureza e 26% de amilose, esta foi determinada conforme descrito por Bertoft et al. (2008). A enzima  $\alpha$ -amilase de origem pancreática EC 3.2.1.1 com atividade superior a  $\geq 15$  units/mg (Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA) Todos os demais reagentes empregados na pesquisa foram de grau analítico (ACS).

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Modificação por TTBU do amido de pinhão

O tratamento térmico de baixa umidade foi conduzido com o ajuste da umidade do amido para  $22\% \pm 0,5\%$  com o auxílio de uma bureta e com o emprego de batedeira planetária (para promover uma mistura homogênea). As amostras foram deixadas em repouso por 4 dias a 4°C para equalização da umidade. Após o período de equalização as amostras foram transferidas para vidros com capacidade de 500mL, hermeticamente fechados, e submetidos a aquecimento em autoclave por 1h à 100°C e 120°C. Após o aquecimento, as amostras foram resfriadas em temperatura ambiente, removidas dos vidros, colocadas em bandejas, secas em estufa à 40°C e na sequência moídas e armazenadas.

### 2.2.2 Propriedades de pasta do amido

As propriedades de pasta dos amidos nativos e modificados foram determinadas com o analisador rápido de viscosidade (Rapid Visco Analyser – RVA – 4, Newport Scientific, Australia) com o auxílio do software Thermocline for Windows (Versão 3). As amostras de amido (3,0 g, umidade corrigida para 14%) foram pesadas diretamente no canister e 25 mL de água deionizada foi adicionada. Na sequência, as amostras foram aquecidas a 50°C e misturadas a uma velocidade de 160 rpm por 10s para completa dispersão. A amostra foi mantida a 50°C por 1 min e então aquecida a 95°C por 7,3 min, onde se manteve esta temperatura por 5 min, resfriada a 50°C em 7,4 min e mantida a esta temperatura por 2 min. Os parâmetros avaliados foram o pico de viscosidade, viscosidade mínima, quebra de viscosidade, viscosidade final, tendência a retrogradação e temperatura de pasta.

### 2.2.3 Hidrólise enzimática

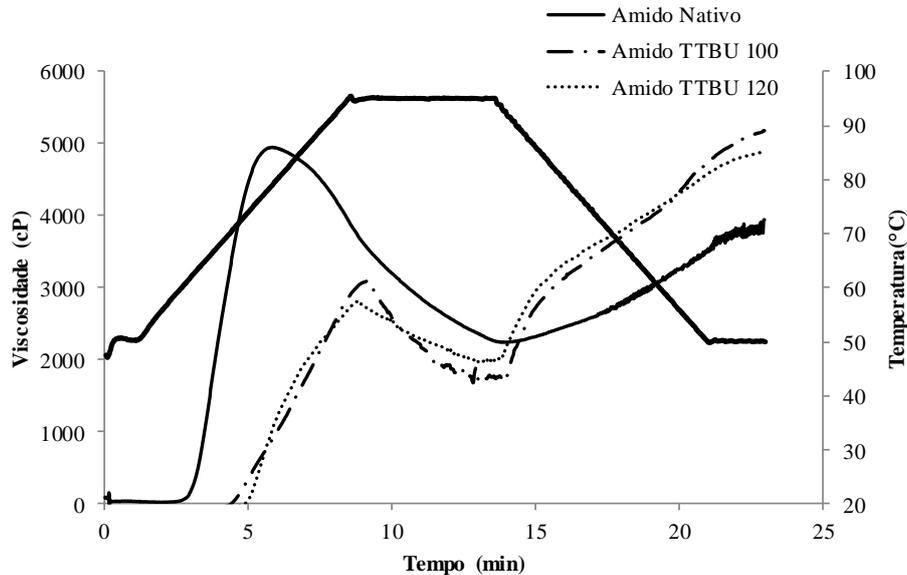
A suscetibilidade enzimática dos amidos foi determinada a partir do método descrito por Foresti et al. (2014). As amostras de amido foram dispersas (1 g) em 50 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 7 e 950 U de  $\alpha$ -amilase. Esta dispersão foi mantida a temperatura constante de 37 °C e sob agitação durante 48 h. A cada intervalo de tempo de reação (30, 60, 180, 360, 1440 min) foram retiradas aliquotas (1 mL), centrifugadas durante 5 min a 5000 rpm e adequadamente diluída de modo a verificar o comportamento da hidrólise, através da determinação de açúcares redutores (método de DNS) usando glicose como padrão e considerando o fator de 0,9 da conversão de amido para glicose. A extensão da hidrólise do amido (%) em cada intervalo de reação foi calculada como a quantidade (g) de equivalentes de glicose libertada por grama de amido seco.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 representa as propriedades de pasta dos amidos de pinhão nativo e modificados por TTBU em diferentes temperaturas. O tratamento térmico de baixa umidade promoveu alterações intensas na viscosidade da pasta do amido de pinhão (Figura 1). Segundo Watcharatewinkul et al. (2009) as mudanças ocorridas nas propriedades de pasta dos amidos tratados com calor e baixa umidade, devem-se as associações entre as cadeias dentro da região amorfa do grânulo e as alterações na cristalinidade durante este tratamento.

Os amidos modificados por TTBU apresentaram maior temperatura de pasta em relação ao amido nativo (Figura 1). O tratamento térmico em baixa umidade reduziu o pico de viscosidade do amido de pinhão. Os autores explicam que as mudanças ocorrem nos amidos com TTBU devido a associação entre as cadeias nas regiões amorfas dos grânulos. Também, as alterações que ocorrem na região cristalina durante o processo hidrotérmico são dependentes dos conteúdos de umidade utilizados nas modificações (ZAVAREZE, DIAS, 2011).

A quebra é a diferença entre o pico de viscosidade e a viscosidade mínima. Os amidos de pinhão tratados por TTBU apresentaram uma diminuição na quebra em relação ao amido nativo (Figura 1). Este resultado sugeriu que os amidos estes amidos modificados são mais estáveis durante o cisalhamento e aquecimento contínuos (WATCHARATEWINKUL et al., 2009).



**Figura 1** Propriedades de pasta dos amidos de pinhão nativo e modificado por tratamento térmico de baixa umidade a 100°C (TTBU 100) e 120°C (TTBU 120).

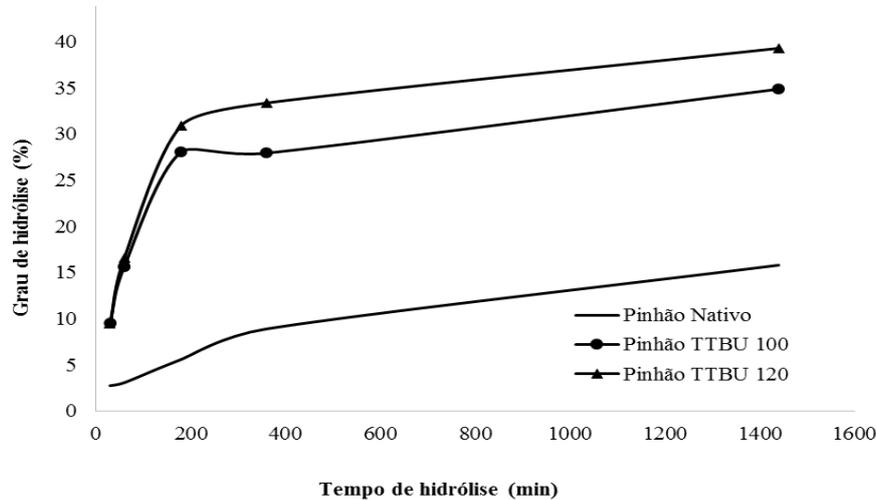
O tratamento hidrotérmico aumentou a tendência de retrogradação do amido de pinhão (Figura 1), o que pode ser indesejável para algumas aplicações alimentícias. Geralmente os amidos tratados hidrotérmicamente apresentam menor tendência de retrogradação quando comparado ao amido nativo (ZAVAREZE, DIAS, 2011) (BEMILLER, HUBER, 2009). Klein et al., (2013) e Pinto et al., (2012) verificaram um aumento na tendência a retrogradação dos amidos submetidos ao TTBU e concluíram que este fenômeno pode estar associado com a diminuição da solubilidade observado no amido de pinhão. Segundo Lan et al., (2008) a tendência a retrogradação é influenciada pela lixiviação da amilose e pela presença de grânulos inchados e não fragmentados na suspensão de amido.

Na maioria das aplicações de amidos em alimentos, a retrogradação do amido é um fenômeno que deve ser minimizado por se tratar da reconstrução de uma estrutura mais rígida devido a maior facilidade de rearranjo das cadeias de amilose durante o armazenamento do produto, resultando em maior perda de água do sistema e endurecimento do produto final (MUNHOZ, WEBER, CHANG, 2004)

A Figura 2 representa, através das curvas de cinética de hidrólise, o efeito da modificação por TTBU sobre a suscetibilidade enzimática dos amidos de pinhão nativo. Os amidos modificados por TTBU apresentaram maior percentual de hidrólise quando submetidos à ação da enzima  $\alpha$ -amilase quando comparados aos amidos nativo (Figura 2).

A suscetibilidade enzimática pode ser influenciada pela proporção de amilose/amilopectina, pela estrutura cristalina, pelo tamanho das partículas e também pela estrutura do grânulo (ZHANG, OATES, 1999). Segundo Gunaratne e Hoover (2002), o tratamento térmico em baixa umidade promove um rompimento da estrutura cristalina e dissociação das estruturas de duplas hélices na região amorfa e posterior rearranjo dos cristais rompidos durante o tratamento. Com isso, sugere-se que um possível rompimento dos cristais próximos

da superfície do grânulo facilitou o ataque da  $\alpha$ -amilase no interior do grânulo do amido modificado por TTBU, e conseqüentemente aumentou a porcentagem de hidrólise destes amidos.



**Figura 2** Grau de hidrólise ( $\alpha$ -amilase pancreática) dos amidos de pinhão nativo e modificados por tratamento térmico de baixa umidade a 100°C (TTBU 100) e 120°C (TTBU 120) por 1440 minutos.

#### 4 CONCLUSÃO

As características do amido de pinhão nativo foram alteradas a partir da modificação por TTBU. Os amidos de pinhão tratados por TTBU apresentaram maior temperatura de pasta e tendência à retrogradação em relação ao amido nativo. No entanto os amidos modificados apresentam menor pico de viscosidade e são mais estáveis diante o cisalhamento e o aquecimento. Os amidos tratados hidrotermicamente mostraram-se mais suscetíveis à ação da enzima  $\alpha$ -amilase.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao programa Ciências sem Fronteiras (CsF), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), a Secretaria de Ciência e Tecnologia (SCT-RS) e Polos Tecnológicos pelo apoio financeiro e a concessão de bolsas de estudos e à University of Guelph, Ontário, Canadá pela realização das análises.

#### 6 REFERÊNCIAS

- BELLO-PÉREZ, L. A., GARCÍA-SOAREZ, F. J., MÉNDEZ-MONTEALVO, G., NASCIMENTO, J. R. O., CORDENUSI, B., R., Isolation and characterization of starch from seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel starch for application in food industry. **Starch/Stärke**, v. 58, p. 283-291, 2006.
- BEMILLER, J. N.; HUBER, K. C. Physical Modification of Food Starch Functionalities. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 6, p. 19-69, 2009

- BERTOFT, E. et al. Internal unit chain composition in amylopectins. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 527–543, nov. 2008.
- CONFORTI, P. A., LUPANO, C. E. Comparative Study of the Starch Digestibility of *Araucaria angustifolia* and *Araucaria araucana* Seed Flour. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 192–198, 2008.
- CORDENUNSI, B. R., MENEZES, E. W., GENOVESE, M. I., COLLI, C., SOUZA, A. G., AJOLO, F. M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal Agric. Food Chemistry**, v.52, p. 3412–3416, 2004.
- FORESTI, M. L., WILLIAMS, M. P., MARTÍNEZ-GARCÍA, R., AZQUEZ, A. V. Analysis of a preferential action of  $\alpha$ -amylase from *B. licheniformis* towards amorphous regions of waxy maize starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 104, p. 80-87, 2014.
- GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 425-437, 2002.
- HENRÍQUEZ, C., ESCOBAR, B., FIGUEROLA, F., CHIFFELLE, I., SPEISKY, H., ESTEVÉZ, A., M. Characterization of piñon seed (*Araucaria araucana* (Mol) K. Koch) and the isolated starch from the seed. **Food Chemistry**, v.107, p. 592–601, 2008.
- Leach, H. W.; McCowen, L. D.; Schoch, T. J.; **Cereal Chemistry**, v. 36, p. 534, 1959.
- MUNHOZ, M. P., WEBER, F. H., CHANG, Y. K. Influência de hidrocolóides na textura de gel de amido de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 403-406, 2004.
- PINTO, V. Z., VANIER, N. L., KLEIN, B., ZAVAREZE, E. D. R., ELIAS, M. C., GUTKOSKI, L. C., DIAS, A. R. G. Physicochemical, crystallinity, pasting and thermal starch properties of heat-moisture-treated pinhão. **Starch - Stärke**, v. 64, p. 855–863, 2012.
- THYS, R. C. S., WESTFAHL JR., H., NOREN, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F., SILVEIRA N. P., CARDOSO M. B., Effect of the Alkaline Treatment on the Ultrastructure of C-Type Starch Granules. **Biomacromolecules**, v.9, p. 1894–1901, 2010.
- WATCHARATEWINKUL, Y.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; UTTAPAP, D. Pasting properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural characteristics, **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 505-511, 2009.
- ZAVAREZE, E. D. R., DIAS, A. R. G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 317–328, 2011.
- ZHANG, T.; OATES, C.G. Relationship between  $\alpha$ -amylase degradation and physicochemical properties of sweet potato starches, **Food Chemistry**, v. 65, p. 157-163, 1999.