

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

GISLEÂNIA DOURADO LANDIM PARENTE

DESENVOLVIMENTO DE TAPIOCA FORTIFICADA COM
CAROTENOIDES DA CENOURA E INVESTIGAÇÃO DAS
PROPRIEDADES DO AMIDO DE MANDIOCA

JOÃO PESSOA – PB

2021

GISLEÂNIA DOURADO LANDIM PARENTE

DESENVOLVIMENTO DE TAPIOCA FORTIFICADA COM
CAROTENOIDES DA CENOURA E INVESTIGAÇÃO DAS
PROPRIEDADES DO AMIDO DE MANDIOCA

JOÃO PESSOA – PB

2021

GISLEÂNIA DOURADO LANDIM PARENTE

DESENVOLVIMENTO DE TAPIOCA FORTIFICADA COM
CAROTENOIDES DA CENOURA E INVESTIGAÇÃO DAS
PROPRIEDADES DO AMIDO DE MANDIOCA

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
do Centro de Tecnologia, da
Universidade Federal da Paraíba em
cumprimento aos requisitos para
obtenção do título de Doutor em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora – Prof^a. Dra. Marta Maria Conceição
Coorientadora – Prof^a. Dra. Ana Luiza Mattos Braga

JOÃO PESSOA – PB
2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

P228d Parente, Gisleania Dourado Landim.

Desenvolvimento de tapioca fortificada com carotenoides da cenoura e investigação das propriedades do amido de mandioca / Gisleania Dourado Landim Parente. - João Pessoa, 2021.

122 f. : il.

Orientação: Marta Maria Conceição.

Coorientação: Ana Luiza Mattos Braga.

Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Amido de mandioca. 2. Tapioca. 3. Carotenoides - cenoura. 4. Coacervação complexa. 5. Reologia. I. Conceição, Marta Maria. II. Braga, Ana Luiza Mattos. III. Título.

UFPB/BC

CDU 664.27(043)

GISLEÂNIA DOURADO LANDIM PARENTE

DESENVOLVIMENTO DE TAPIOCA FORTIFICADA COM CAROTENOIDES DA
CENOURA E INVESTIGAÇÃO DAS PROPRIEDADES DO AMIDO DE
MANDIOCA

Tese _____ APROVADA _____ em 22 / 02 / 2021

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Marta Maria Conceição – UFPB/DTA/CTDR
Coordenadora da Banca Examinadora - Orientadora



Profa. Dra. Ana Luiza Mattos Braga – UFPB/DTA/CTDR
Coorientadora



Prof. Dr. Sandro Marden Torres – UFPB/DEM/CT
Examinador Externo



Prof. Dr. Rennan Pereira de Gusmão – UFCG/UAEA/CTRN
Examinador Externo



Profa. Dra. Graciele da Silva Campelo Borges – UFPB/DTA/CTDR
Examinador Interno



Profa. Dra. Ângela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro – UFPB/DTA/CTDR
Examinador Interno

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois és minha força, meu sustento e minha luz, estás presente em cada passo da minha vida e nada seria possível sem sua divina presença.

A Universidade Federal da Paraíba através do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar esse trabalho e adquirir conhecimentos relevantes a minha carreira profissional.

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional – CTDR da UFPB, que em comum acordo aceitaram meu pedido de afastamento das atividades laborais para que eu pudesse me dedicar mais as atividades de pesquisa. Aqui expresso minha gratidão pelo apoio.

A minha orientadora professora Dra. Marta Maria da Conceição, por ter aceitado esse desafio e apostado no sucesso dessa tese.

A minha coorientadora professora Dra. Ana Luiza Mattos Braga, por ter acreditado na minha capacidade de realizar essa pesquisa de doutorado. Muito obrigada por me ensinar a ser uma pesquisadora melhor e ter uma visão mais prática e eficiente no mundo acadêmico sempre relacionando com a industrial e o bem social.

Ao professor Dr. Johan B. Ubbink, que não só confiou veemente em nosso trabalho como também contribuiu realizando análises e compartilhando conhecimento. Tenho muita gratidão e admiração por você.

Aos professores da banca e a todos os outros professores que se dispuseram a me ensinar em especial a professora Cristiani Grizi. Minha eterna gratidão.

A minha família, pelo apoio incondicional em todos os momentos. Quando já não tinha mais forças para continuar vocês me lembraram que sou capaz de vencer qualquer desafio, estenderam as mãos e caminharam junto comigo. Mainha, painho, Ju e Láiny vocês são minha base e essa conquista é nossa. Amo muito vocês.

Ao meu amado esposo que esteve junto comigo desde dos primeiros obstáculos. Muitas vezes abriu mão de momentos de lazer, foi paciente, compreensivo, companheiro e nunca me deixou desistir. Me ajudou diversas vezes a ser otimista e acreditar em mim

mesma. Obrigada meu amor, nós conseguimos! E essas é apenas uma das inúmeras conquistas que alcançaremos juntos. Sou muita abençoada por ter você comigo. Te amo.

Aos meus amigos de trabalho Erivelto Oliveira, Alinne Gouveia, Patrícia Almeida e Hebert Henrique que foram meu suporte emocional quando mais precisei. Me escutaram, me apoiaram e me defenderam sempre que preciso. Muito obrigada, saibam que foram essenciais nessa batalha.

A minha sogra Cecília Maria e minhas cunhadas Clarice Limeira e Clarice Maria por terem me acolhido nos momentos difíceis. As palavras de apoio e o carinho contribuíram fortemente nessa caminhada.

Por fim, gratidão ao universo por essa experiência marcante e todo crescimento pessoal.

RESUMO

Considerada uma das culturas mais exploradas no mundo, a mandioca é uma raiz rica em amido, utilizado na elaboração de vários produtos. Atualmente, o amido de mandioca é hidratado e comercializado em diversas regiões brasileiras, esse produto conhecido no mercado como goma de tapioca é utilizado há décadas na elaboração de tapioca, mas só recentemente foi industrializada. A tapioca do nordeste do Brasil, é um produto amiláceo à base de mandioca, em formato de panqueca muito consumido por grande parte da população regional, e tem se expandido comercialmente nos últimos anos e está ganhando cada vez mais espaço no mercado internacional. Apesar de sua popularidade, existem poucos estudos sistemáticos sobre tapiocas e seu melhoramento nutricional. Dessa forma, o objetivo dessa pesquisa foi investigar as características da tapioca juntamente com as transformações ocorridas no amido de mandioca durante o processo de elaboração, propor uma definição científica da tapioca, incluindo a especificação técnica do material, e fortificá-la com carotenoides provitamina A da cenoura. Para isso, investigou-se primeiramente, as características físicas da tapioca, aplicando-se um teste de distribuição de tamanho partículas agregadas com a finalidade de esclarecer a condições de temperatura e conteúdo de água em que se obtém o agregado de partículas contínua, ao que se refere a tapioca. Esta tese também realizou um estudo sobre as características do amido de mandioca em misturas com alta concentração de amido (40 -85 %), através de análises reológicas, DRX e MEV. Por fim, foram desenvolvidas micropartícula de carotenoides utilizando a técnica de coacervação complexa seguida de secagem a 30°C em estufa de circulação de ar. As micropartículas foram inseridas a goma de mandioca e comparada com a goma fortificada com o suco de cenoura. Os resultados mostraram o amido hidratado ou goma de mandioca devem ter um mínimo de 37 % de teor de água para que ocorra a formação de tapioca. Observou-se que, as tapiocas têm um núcleo translúcido e totalmente gelatinizado que é elástico e altamente coeso, e crostas seca com estrutura granular semelhante ao do amido de mandioca nativo. Sugere-se que as tapiocas grossas (5 mm) sejam preparadas em temperaturas superiores a 200 °C, enquanto que as tapiocas finas podem ser preparadas em temperaturas a partir de 100 °C, se a fécula de mandioca apresentar pelo menos 43 % de teor de água. Além disso, esse estudo mostrou que a textura das tapiocas parece ser influenciada principalmente pelo tempo de cozimento. Notou-se, através de MEV o rompimento dos grânulos de amido em partículas amiláceas pós aquecimento de mistura com 35 % (p / p) de amido. A amostra de amido nativo apresentou características do padrão de cristalinidade tipo A, o mesmo foi apresentado pelas amostras com 15 25 % de amido, enquanto as amostras com 50 e 60 %, mostraram perda relevante do grau de cristalinidade decorrente do tratamento térmico aplicado. O desenvolvimento de micropartícula de carotenoides da cenoura realizado a partir de coacervação complexa possibilitou a separação de até 87 % do soro da cenoura concentrando em média cinco vezes o carotenoide da cenoura. Além disso, conseguimos secar os sólidos do suco de cenoura coacervado com amido de mandioca como agente de secagem para obter um pó seco. O processo de encapsulação alcançou 79 % de eficiência. Pode -se dizer que a técnica desenvolvida nessa pesquisa para o encapsulamento de carotenoides da cenoura é bastante simples de ser controlado e pode ser aplicada diretamente pelas indústrias locais, uma vez que não requer equipamentos sofisticados e instalação única. A fortificação da goma de mandioca com a micropartícula de carotenoides de cenoura permite padronizar a concentração de vitamina A e direcionar a ingestão diária recomendada no produto, o que não seria viável se a fortificação fosse realizada com adição de suco de cenoura.

Palavras-chave: tapioca, amido, enriquecimento, coacervação complexa, reologia, textura

ABSTRACT

Considered one of the most explored crops in the world, cassava is a root rich in starch, used in the preparation of various products. Currently, cassava starch is hydrated and marketed in several Brazilian regions, this product known on the market as tapioca gum has been used for decades in the production of tapioca, but it has only recently been industrialized. Tapioca from northeastern Brazil, is a starchy product based on cassava, in the form of a pancake widely consumed by a large part of the regional population, and has been expanding commercially in recent years and is gaining more and more space in the international market. Despite its popularity, there are few systematic studies on tapioca and its nutritional improvement. Thus, the objective of this research was to investigate the characteristics of tapioca together with the transformations occurred in cassava starch during the elaboration process, to propose a scientific definition of tapioca, including the technical specification of the material, and to fortify it with provitamin A carotenoids. of the carrot. For this purpose, the physical characteristics of tapioca were first investigated, applying an aggregate particle size distribution test in order to clarify the temperature and water content conditions in which the continuous particle aggregate is obtained, refers to tapioca. This thesis also carried out a study on the characteristics of cassava starch in mixtures with a high concentration of starch (40 -85 %), through rheological analyzes, XRD and SEM. Finally, carotenoid microparticles were developed using the complex coacervation technique followed by drying at 30 ° C in an air circulation oven. The microparticles were inserted into the cassava gum and compared with the gum fortified with carrot juice. The results showed that hydrated starch or cassava gum must have a minimum of 37% water content for tapioca formation to occur. It was observed that tapioca has a translucent and fully gelatinized core that is elastic and highly cohesive, and dry crusts with granular structure similar to that of native cassava starch. It is suggested that thick tapioca (5 mm) be prepared at temperatures above 200 ° C, while thin tapioca can be prepared at temperatures above 100 ° C, if the cassava starch has at least 43% content of water. In addition, this study showed that the texture of tapioca seems to be influenced mainly by the cooking time. It was noted, through SEM, the breaking of the starch granules into starch particles after heating the mixture with 35 % (w / w) starch. The native starch sample showed characteristics of the type A crystallinity pattern, the same was presented by the samples with 15 25 % starch, while the samples with 50 and 60 % showed a relevant loss of the degree of crystallinity resulting from the applied heat treatment. The development of the carrot carotenoid microparticle carried out from complex coacervation allowed the separation of up to 87 % of the carrot serum, concentrating on average five times the carrot carotenoid. In addition, we were able to dry the solids from the coacervated carrot juice with cassava starch as a drying agent to obtain a dry powder. The encapsulation process reached 79 % efficiency. It can be said that the technique developed in this research for the encapsulation of carrot carotenoids is quite simple to be controlled and can be applied directly by the local industries, since it does not require sophisticated equipment and a single installation. The fortification of cassava gum with the carrot carotenoid microparticle allows to standardize the concentration of vitamin A and direct the recommended daily intake in the product, which would not be feasible if the fortification were carried out with the addition of carrot juice.

Keywords: tapioca, starch, enrichment, complex coacervation, rheology, texture

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fluxograma do processo de elaboração da goma de mandioca 22

Figura 2. Cadeias de amilose e amilopectina 23

ARTIGO 1

Fig. 1. Typical schematic curve of cassava starch gel obtained through texture profile analysis according to the above method. D1 - 1st compression; D2 - 1st return; D3 - 2nd compression, D4 - 2nd return. Springiness = $D3 / D1$; Resilience = $(\text{Area } 3) / (\text{Area } 2)$; Cohesiveness = $(\text{Area } 4) / (\text{Area } 1)$; Adhesiveness = Area 5. 59

Fig. 2. Visual diagrams showing the type of material formed after cassava starch frying pan cooking at different water content and initial temperature for 120 s cooking time. The data are derived from visual observations on cassava starch samples after heat preparation. (A) Ratio $0.29 \text{ g} / \text{cm}^2$ (2.5 mm thick samples) (B) Ratio $0.49 \text{ g} / \text{cm}^2$ (5 mm thick samples). ■: Free flowing particles; ○: Fragile particle aggregates; *: Samples with particles sintered at the bottom surface only; ▼: Samples with gelled cores and sintered surfaces (i.e. the regular tapioca structure and texture). 61

Fig. 3. Heating curve of the tapioca surface during preparation. The nomenclature Swc stands for Starch water content. 65

Fig. 4. Shear force profile as a function of indentation distance in a shear cutting test of the different tapioca samples determined by the texture analyzer. The nomenclature Swc stands for starch water content. 69

Fig. 5. TPA curves for tapioca samples for different preparation times. A) Preparation time of 120 s and temperature of 300°C , starch water content of 41 % (w/w) ; B) Preparation time of 210 s and temperature of 200°C , starch water content of 45 % (w/w). 70

Fig. 6. Effect of tapioca preparation time on texture parameters values. A) Shear-cutting test and Hardness-TPA results; B) TPA parameters. Tapioca samples were prepared for 120 or 210 s at 300°C and 45 % of starch water content. 71

ARTIGO 2

Figura 1. Curva de sorção do amido de mandioca em diferentes proporções de amido: água..... 83

Figura 2. Fração mássica retida em peneiras de mesh com diferentes granulometrias.84

Figura 3. Micrografias (MEV) do amido de mandioca nativo (A) e do material amiláceo obtido após tratamento térmico das amostras de amido hidratado com diferentes proporções de amido:água. (B) partícula agregada 75:25 % (p / p), (C) partícula agregada

65:35 % (p / p), (D) partícula 55:45 % (p / p), (E) partícula agregada 40:60 % crosta 1, (F) partícula agregada 40:60 % Crosta 2 86

Figura 4. Micrografia eletrônica de varredura da região central do material amiláceo obtido após tratamentos térmico do amido hidratado em proporção 40:60% (p / p) de amido:água 88

Figura 5. Padrões de difração de raio X do amido nativo de mandioca e das partículas agregadas fpmadas após tratamento térmico com amido hidratado em diferentes proporções de amido:água (p / p) 89

Figura 6. Propriedades de pasta do amido de mandioca em diferentes concentrações. TP = Temperatura de pasta; PV = Pico de Viscosidade; QV = Queda da Viscosidade; VF = Viscosidade Final. 91

ARTIGO 3

Fig 1. Stages of the microencapsulation process. (A) Mixing carrot juice with biopolymers (GA: WPI); (B) Complex coacervation by decreasing pH value, where the coacervate (C1) is taken to the centrifuge and the supernatant (S1) discarded; (C) Centrifugation step - A more concentrated complex coacervate (C2) is obtained; (D) Concentrated complex coacervate 2 is mixed with cassava starch in a 1:1 w/w ratio forming a mass, which was then dried at 30°C. 104

Fig 2. Complex coacervation between the whey proteins and gum arabic, in carrot juice, at pH values of 6.0; 5.2; 4.9; 4.0 and 3.0, at different WPI-GA ratio after 12 h ageing at 25 °C. A) Ratio of 1.5:1 WPI:GA; B) Ratio of 6:1 WPI:GA. 112

Fig 3. Paste properties of starch suspension samples with carrot juice or microparticles added. (A) 40 % suspended solids, (B) 50 % suspended solids and (C) 55 % suspended solids. 116

Fig 4. Visual images of the carotenoid samples during encapsulation process or as final products. A) Complex coacervated sample after centrifugation, (B) Complex coacervated sample dry-blended with cassava starch prior to drying; (C) Carotenoid microparticles; (D) Carotenoid fortified cassava gum; (E) Top view of carotenoid fortified tapioca; (F) Transversional section of carotenoid fortified tapioca. 119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade de água adicionada no preparo das amostras de goma de tapioca	34
Tabela 2. Quantidade dos componentes usados na elaboração da goma de tapioca enriquecida.....	37
Tabela 3. Valores das variáveis aplicadas no preparo das amostras de tapioca	41

ARTIGO 1

Table 1. Preparation conditions of the tapioca samples.....	57
Table 2. Classification and description of the characteristics of the final products, after heat preparation of cassava starch at different water content	62
Table 3. Color parameters for cassava gum (45 % of water) and prepared tapioca at 200 °C for 120 s.....	66
Table 4. Tapioca samples water activity at 25 °C, water content and the water loss during preparation of the tapioca.	67
Table 5. Mean and standard deviation values of texture parameters	70

ARTIGO 2

Table 1. Preparation conditions of the tapioca samples.....	57
Table 2. Classification and description of the characteristics of the final products, after heat preparation of cassava starch at different water content	62
Table 3. Color parameters for cassava gum (45 % of water) and prepared tapioca at 200 °C for 120 s.....	66
Table 4. Tapioca samples water activity at 25 °C, water content and the water loss during preparation of the tapioca.	67
Table 5. Mean and standard deviation values of texture parameters	70

ARTIGO 3

Table. 1. Technical Requirements for satisfactory performance of carotenoid microparticles in cassava gum and tapioca products..... 110

Table. 2. Rheological parameters of gelatinization process of starch suspensions fortified with carrot juice or microparticles..... 116

Table. 3. Textural properties, carotenoid and water content of tapiocas. 118

Table. 4. Color parameters of carotenoid microparticles and fortified gum immediately after processing (day 0) and following 30 days of storage in plastic bags, at 10 °C, under air contact and light protected. 120

Table. 5. Color parameters of the crusts and core of the fortified tapiocas. 121

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

CEASA - Central Estadual de Abastecimento

DRX – Difração de Raio X

DSC – Differential Scanning Calorimetry

FAO – Food and Agriculture Organization

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IDR – Ingestão Diária Recomendado

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

TPA – Textura Prolife Analysis

WPI - Whey Protein Isolated

WHO - World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	MANDIOCA	20
2.2	TAPIOCA	21
2.3	AMIDO	22
2.3.1	Propriedades do grânulo de amido	25
2.4	FORTIFICAÇÃO OU ENRIQUECIMENTO DE ALIMENTOS	27
2.5	CAROTENOIDES.....	28
2.6	MICROENCAPSULAÇÃO	31
3	MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1	PREPARAÇÃO DA GOMA DE MANDIOCA.....	33
3.2	PROCESSO PADRONIZADO DE ELABORAÇÃO DA TAPIOCA	34
3.3	TESTE DE DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULAS AGREGADAS	34
3.4	CARACTERIZAÇÃO VISUAL DA TAPIOCA	35
3.5	DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS.....	35
3.6	ENRIQUECIMENTO DA GOMA DE TAPIOCA.....	36
3.7	ELABORAÇÃO DE TAPIOCA ENRIQUECIDA COM CAROTENOIDES ..	37
3.8	DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES	38
3.9	DETERMINAÇÃO DE UMIDADE	38
3.10	DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE DE ÁGUA	38
3.11	DETERMINAÇÃO DE COR.....	39
3.12	ANÁLISE REOLÓGICA DE SUSPENSÕES DE AMIDO	39
3.13	DIFRAÇÃO DE RAIOS X – DRX	40
3.14	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA -MEV	41
3.15	TEXTURA INSTRUMENTAL DAS TAPIOCAS	41

3.15.1	Análise de perfil de textura – TPA	42
3.15.2	Teste de cisalhamento	42
3.16	ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
	REFERÊNCIAS	43
4	RESULTADOS	51
4.1	ARTIGO 1: OBSERVATIONS ON THE FORMATION AND TEXTURAL PROPERTIES OF "TAPIOCAS", A TRADITIONAL CASSAVA-BASED FOOD FROM THE NORTHEAST OF BRAZIL	51
4.2	ARTIGO 2: A CIÊNCIA DA TAPIOCA: DA GOMA DE AMIDO AO PRODUTO FINAL	51
4.3	ARTIGO 3: TRADITIONAL TAPIOCA "PANCAKES" FROM THE BRAZILIAN NORTHEAST: ENRICHMENT WITH MICROENCAPSULATED CARROT CAROTENOIDS	51
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	126

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) é uma raiz arbustiva lenhosa, pertencente à família Euphorbiaceae. Bastante resistente a condições de seca, solo pobre em nutrientes e ataque de pragas, a mandioca é facilmente encontrada em vários países. Além disso, a mandioca é citada pela Food and Agriculture Organization como um poderoso recurso para a segurança alimentar no combate à fome, chegando a atingir um número estimado de 800 milhões de consumidores (FAO, 2016). O Brasil está entre os cinco países com maior plantação de mandioca no mundo com produção média de 19 milhões de toneladas por ano, sendo as regiões Norte, Nordeste e sul responsáveis pela maior parte desse cultivo (IBGE, 2017; NJANKOUO NDAM et al., 2019; WILSON et al., 2017).

A partir da mandioca pode-se obter vários produtos e subprodutos, tais como mandioca congelada, minimamente processada, farinhas, fécula (amido), goma de tapioca, tapioca entre outros (BRASIL, 2011). Dependendo do país e região os produtos podem ter nomes diferentes. Atualmente, os alimentos à base de mandioca têm crescido disparadamente, a indústria de alimentos tem aproveitado essa fase mercadológica para lançar diversos produtos com o propósito de atender as expectativas dos consumidores. Apesar do grande leque de produtos, existe uma carência em relação ao embasamento científico na elaboração desses novos produtos.

No Nordeste brasileiro, a tapioca é um alimento bastante comum e faz parte da rotina alimentar da população, essa característica tem se espelhado pelo Brasil inteiro e conquistado os turistas de inúmeros países. Mesmo com tanta popularidade a tapioca não tem uma definição registrada e nem métodos fundamentados para sua elaboração. Normalmente, o alimento em forma de panqueca elaborado a partir do amido de mandioca hidratado (goma de tapioca) é reconhecido como tapioca. Por ser um produto praticamente a base de amido e água, a tapioca é rica em carboidrato levando a indústria de alimentos investir no enriquecimento nutricional e na praticidade.

A deficiência de vitamina A é vista como um problema de saúde pública sério e pode causar grandes prejuízos ao organismo humano, sendo a cegueira infantil o mais recorrente, além da anemia e a fraca resistência à infecção, o que pode aumentar a gravidade de doenças infecciosas e o risco de morte (BAILEY; WEST; BLACK, 2015; WASSEF et al., 2014), além disso a carência em vitamina A pode desacelerar o crescimento intra-uterino e pós-natal e causar malformações congênitas (CLAGETT-DAME; KNUTSON, 2011).

A ingestão de alimentos com baixa quantidade ou sem vitamina A é preocupante pois os seres humanos não apresentam a habilidade de sintetizá-la (TOZER et al., 2019). A preocupação se torna maior quando se refere a criança, uma vez que, a quantidade de refeições consumida por estas muitas vezes é bastante limitada, sendo imprescindível fornecer nutrição ideal em todas as refeições (ABBASPOUR; HURRELL; KELISHADI, 2014). Para melhorar a saúde pública e aumentar o acesso as vitaminas e minerais essenciais, tais como iodo, ferro, ácido fólico e vitamina A, muitos países desenvolvidos introduziram políticas nacionais de fortificação (ROSELL, 2016). Segundo Dobe, Garg e Bhalla (2017), as intervenções nutricionais para combater a desnutrição podem levar a um alto retorno dos investimentos.

As vitaminas geralmente apresentam grande sensibilidade a diversos fatores (calor, agentes oxidantes e redutores, luz, estresses físicos e químicos). Por sua vez, a vitamina A é instável a altas temperaturas, presença de oxigênio e luz, devido à sua suscetibilidade à oxidação. Portanto, medidas de proteção devem ser usadas para reduzir sua degradação, sendo a microencapsulação uma forma eficiente para protelar a estabilidade da vitamina A e seus precursores (carotenoides) (ROSELL, 2016). O processo de microencapsulação consiste basicamente em aprisionar um determinado agente ativo dentro uma substância que formará uma membrana de proteção (ESFANJANI et al., 2015; RAJABI et al., 2015) e com isso impedir que o material principal entre em contato com condições ambientais adversas. Além de favorecer a vida útil do produto a microencapsulação pode promover liberação controlada do bioativo (POURASHOURI et al., 2014a, 2014b)

Diante do exposto, a presente tese teve como objetivo investigar o comportamento do amido de mandioca em altas concentrações dentro do processo térmico semelhante ao preparo da tapioca em seu estado puro e na presença de microcápsulas ricas em carotenoides a partir do suco de cenoura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MANDIOCA

A mandioca (*Manihot esculenta*) é classificada como um arbusto lenhoso pertencente à família Euphorbiaceae, capaz de suportar condições adversas e adaptando-se facilmente a diversos ambientes (BURNS et al., 2010; WANG et al., 2014). Suas raízes apresentam grande potencial de produção de amido, glutamato monossódico, glicose e produtos de papel além de serem bastante utilizadas na alimentação animal (CHINNADURAI et al., 2019).

De acordo com a FAO (2016), a mandioca é considerada a sexta cultura alimentícia mais importante do mundo, fazendo parte da rotina alimentar de mais de 800 milhões de pessoas em todo o mundo. Historicamente, não existe nenhuma certeza em relação a origem do plantio de mandioca, mas acredita-se que seu cultivo para fins alimentícios teve início no oeste do Brasil e se estendeu inicialmente entre os grupos pré-colombianos. Com o passar dos anos, a mandioca ganhou espaço pela América do sul e África, tornando-se uma das culturas mais consumidas pelos africanos, garantindo assim, grande parte da produção mundial (CAGNATO, 2016; SHIGAKI, 2016).

Em 2017, foram produzidos mais de 291 milhões de toneladas de mandioca no mundo, onde boa parte foi cultivada pela Nigéria com produção média de 59 milhões de toneladas, seguida da República Democrata do Congo ($\pm$ 31 milhões) e Tailândia ($\pm$ 30 milhões). A produção brasileira, chegou a mais de 23 milhões de toneladas em 2015 caindo para 18.876.470 toneladas em 2017, contudo, esse valor ainda é estimado alto, correspondendo a 6,46 % da produção mundial. No geral, as atividades relacionadas ao cultivo da mandioca e seus derivados promove quase um milhão de empregos diretos no País, sendo 450 mil diretos e 500 mil indiretos. (FAO, 2019, ALVES et al., 2010).

Segundo os dados do IBGE (2017), as regiões Norte e Sul do Brasil são responsáveis por mais da metade do cultivo total de mandioca no país, sendo o Pará e o Paraná os Estados que atualmente mais contribuem com o plantio, apresentando uma produção de 22 e 17 %, respectivamente. No Nordeste a produção chega a 21 %, tendo o Maranhão, Bahia e Ceará os Estados com maior percentual da colheita de mandioca da região. Na Paraíba, o plantio de mandioca cresce a cada ano, entre 2015 e 2017 houve um aumento de 15.095 toneladas, movimentando em média 78.917 mil reais por ano (IBGE, 2019).

Uma forma de minimizar as perdas pós-colheita da mandioca é utilizá-la como matéria-prima na indústria de processamento de alimento. No mundo, existem inúmeros produtos

derivados da mandioca, na África, por exemplo, a raiz é utilizada na fabricação de farinha, amido, fufu, tapioca, makopa, chingwage, rali, gari entre outros (ABASS et al., 2018).

No Brasil, a mandioca pode ser encontrada no mercado na sua forma in natura, congelada, minimamente processada ou em chips, além disso é utilizada na fabricação de farinha e fécula, que por sua vez são usados na elaboração diversos outros subprodutos. A farinha pode ser do tipo seca, farinha d'água (de origem amazônica) ou bijusada, diferenciadas de acordo com o processo de fabricação (BRASIL, 2011). A fécula, também conhecida como amido ou polvilho, consiste em um pó branco, sem cheiro ou sabor, encontrado no comércio varejista para uso doméstico e podendo ser utilizada também pela indústria, como ingrediente para melhorar a textura de alimentos como molhos, sopas, pudins e sorvete (COÊLHO, 2018).

2.2 TAPIOCA

A palavra tapioca significa “tirado do fundo” e vem da língua tupi: typi-og, sendo assim originalmente brasileiro (BACELAR; GÓIS, 1997). A legislação brasileira, de acordo com a Instrução Normativa nº 23 de 14 de Dezembro de 2005 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que regulamenta os produtos amiláceos derivados da raiz de mandioca designa o termo tapioca para o produto que, conforme o processo de fabricação se apresenta sob forma de grânulos irregulares, poliédricos ou esféricos, e subdivide-se em : tapioca granulada (Flakes granulated) quando o produto apresentar forma de grânulos, poliédricos irregulares, de diversos tamanhos e tapioca pérola (Pearl) ou sagú artificial quando o produto estiver sob forma de grânulos esféricos irregulares, de diversos tamanhos (BRASIL, 2005a).

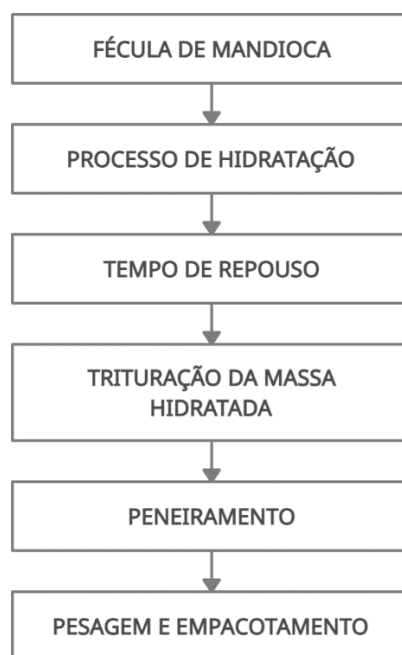
Popularmente, o termo “tapioca” tem vários significados dependendo da cultura de cada região do Brasil, o que tem gerado grande confusão e dúvidas entre os consumidores. Os equívocos em relação a esse termo também são observados fora do Brasil. Segundo Chisté et al. (2012), em diversos países as expressões, *cassava starch*, *tapioca flour* e *tapioca starch* são usadas para denominar a farinha de tapioca, mas na verdade estão se referindo a fécula de mandioca.

Normalmente, no Nordeste a tapioca é o produto na forma de crepe elaborado a partir amido de mandioca hidratado também conhecida como goma de mandioca ou goma de tapioca. A Figura 1 apresenta as etapas do processo de para elaboração da goma de mandioca. Primeiramente, adiciona-se água em excesso a fécula de mandioca para que ocorra a hidratação do grânulo de amido, a mistura fica em repouso por um período de 12 a 24 horas em temperatura

ambiente (25-28°C). durante esse período de repouso o amido sofrerá uma precipitação. A água sobrenadante é retirada e a massa de amido hidratado segue para a etapa de trituração, onde os blocos grandes de massa são destruído e submetidos ao peneiramento, feito isso, a goma de mandioca encontra-se pronta para o preparo de tapioca.

Na região Norte a tapioca do Nordeste é mais conhecida como tapioquinha e a tapioca ou farinha de tapioca pronta para o consumo consiste no produto elaborado a partir da goma de mandioca peneirada submetida a altas temperaturas ($\pm 240^{\circ}\text{C}$) até que ocorra a moldagem do grânulo devido à alta temperatura, processo conhecido como “espocamento”. Este produto tanto pode ser consumido diretamente como pode ser usado no preparo de receitas típicas da região (SHIGAKI, 2016; SILVA et al., 2013).

Figura 1. Fluxograma do processo de elaboração da goma de mandioca



Fonte: Próprio autor

2.3 AMIDO

O amido é um polímero, bastante encontrado na natureza e considerado o principal componente de fonte de energia na dieta humana e animal. É sintetizado e armazenado na forma granular em plastídios durante a fotossíntese, seu armazenamento a longo prazo é feito em amiloplastos como os encontrados no endosperma dos grãos (WANG; HENRY; GILBERT, 2014).

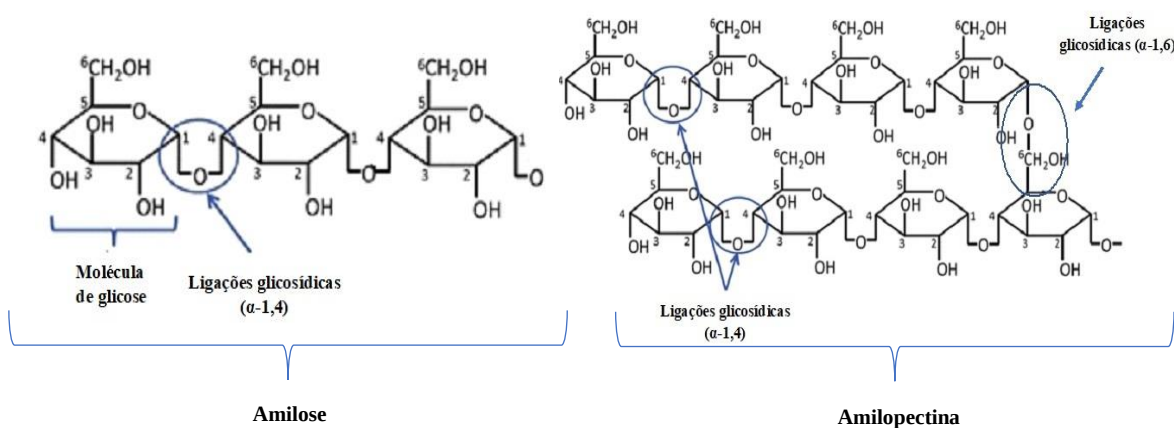
Segundo Singh et al. (2003), o amido apresenta atributos fundamentais, responsáveis pelas características tecnológicas de grande importância para boa parte dos produtos industrializados, contribuindo para o melhoramento das propriedades de textura dos alimentos, além de possuir funcionalidade relevantes para indústria, como estabilizador de colóides, espessante, agente gelificante e de volume, adesivo, na retenção de água, dentre outros.

A estrutura do amido está diretamente ligada ao desenvolvimento das plantas, e por isso intimamente relacionada às condições agrônômicas do ambiente de cultivo, podendo haver diversas influências ambientais sob o tamanho e formação do grânulo (DAIUTO; CEREDA, 2006). Os amidos de diferentes fontes botânicas variam em termos de suas propriedades funcionais (por exemplo, temperatura de início da gelatinização, viscosidade final da pasta, formação de pastas em duas fases ou viscosidade da pasta) e, portanto, em seus usos finais. Essa variação decorre de diferenças na estrutura do amido, como o tamanho dos grânulos de amido, sua composição e arquitetura molecular dos polímeros constituintes (WANG; HENRY; GILBERT, 2014).

O grânulo de amido é composto por regiões amorfa e cristalina alternadas, formadas por dois polissacarídeos a amilose e amilopectina (ZHANG et al., 2018). Ambas são construídas a partir de moléculas de D-glicose unidas por meio de ligações glicosídicas α -1,4, formando cadeias lineares (amilose), nas ramificações apresentadas principalmente pela amilopectina, encontram-se ligações α -1,6 (Figura 1) (WANG; HENRY; GILBERT, 2014).

A qualidade funcional do amido pode ser afetada pela sua morfologia, características moleculares, organização física da amilose e amilopectina dentro da estrutura granular, bem como da razão entre elas e sua distribuição de tamanhos, onde as mesmas podem variar de acordo com a origem botânica do amido (VILLAS-BOAS et al., 2019).

Figura 2. Cadeias de amilose e amilopectina



Fonte: Adaptado de Gous e Fox (2017)

A instabilidade da amilose em solução aquosa pode formar retículos pela retrogradação afetando significativamente as propriedades reológicas do amido. Além que, sua presença pode reduzir o ponto de fusão das zonas cristalinas e a energia inicial necessária para a gelatinização, isso deve-se as cadeias longas de amilopectina, que exigem temperaturas mais elevadas para dissociarem completamente. Sendo assim, amidos ricos em amilose tem região zona amorfa maior, e são mais susceptíveis a perda da cristalinidade em temperatura de gelatinização mais branda (SINGH et al., 2003).

Dentro de cada molécula, as cadeias constituintes são categorizadas de acordo com a sua conexão com outras cadeias: cadeias A são cadeias externas que não possuem ramificações, enquanto cadeias B são aquelas que carregam uma ou mais ramificações. A cadeia C é a cadeia de cadeia B única por molécula que possui uma extremidade redutora livre. Nos modelos de amilopectina, os pontos de ramificação estão concentrados em certas regiões a partir das quais os segmentos de cadeias lineares se estendem para formar aglomerados (PFISTER; ZEEMAN, 2016).

O tipo de polimorfo cristalino depende do comprimento da cadeia curta em amilopectina. As cadeias mais curtas, encontradas em grãos de cereais, favorecem a formação de cristalitos de tipo A, enquanto cadeias mais longas, encontradas em tubérculos, normalmente formam cristalitos do tipo B (CARLSTEDT et al., 2015).

A organização molecular da amilopectina, sua composição do amido em relação as frações de amilose e arquitetura granular (proporção de regiões cristalinas e amorfas) têm grande influência sob as propriedades de inchamento e gelatinização do amido. Recentemente, tem se observado um grande interesse em compreender melhor a estrutura interna da amilopectina e seu papel nas propriedades físico-químicas do amido (BERTOFT, 2017; SIMI; ABRAHAM, 2008; SINGH et al., 2003).

Segundo Bertoft (2017), a parte interna da amilopectina refere-se à parte da molécula desde a única extremidade redutora até os ramos mais externos. Os ramos estão concentrados nesta parte na forma de blocos de construção e clusters. A parte interna da amilopectina contribui para a formação das lamelas amorfas dos grânulos, enquanto a parte externa forma a região cristalina.

Em média, o amido de mandioca é composto por 82 % de amilopectina e 18 % de amilose, enquanto nos amidos de cereais, a quantidade de amilose varia de 20 a 25 % (CEREDA, 2001). Com relação as características morfológicas do amido de mandioca,

acredita-se que seus grânulos apresentam formato oval, truncada e arredondada, como observado por várias técnicas microscópica (VAN HUNG et al., 2017).

Van Hung et al., (2017) concluiu que todo o amido de mandioca analisado exibiu tipo A ou Ca (o tipo Ca denota que a porção do tipo A é dominante sobre o tipo B na composição polimórfica), onde um estudo detalhado de difração de raios X em grande ângulo mostrou que a porcentagem de tipo B presente no amido do tipo Ca variou de 10 a 20 %). Observou-se também, a partir de análises de micrografia de luz, o processo de gelatinização dos grânulos de amido de mandioca em diferentes temperaturas e diferentes tempos e viu que a suspensão do amido de mandioca em excesso de água (2 % p / v) permite gelatinização suficiente e os grânulos de amido de mandioca aumentaram rapidamente em tamanho em 10 s a 60 ° C e depois mudaram lentamente, demonstrando o rápido e limitado inchaço do amido de mandioca.

Em geral, os amidos nativos de mandioca, são amostras interessantes devido ao seu padrão de cristalinidade do tipo A possuem baixa capacidade de retenção de água, retrogradação e sinérese (BERTOFT et al., 2010; CHEN; FU; LUO, 2015).

2.3.1 Propriedades do grânulo de amido

O poder de inchamento do grânulo, a gelatinização e a retrogradação, são propriedades importantíssimas que podem ajudar a compreender as características físicas, químicas e funcionais do amido. Ainda que, exista inúmeros estudos envolvendo as propriedades do amido, o conhecimento do mesmo não é suficiente para sanar todas as dúvidas envolvendo o assunto, principalmente no que diz respeito a sistemas mais complexos (CARLSTEDT et al., 2015; HAN et al., 2019; MATIGNON; TECANTE, 2017).

O amido é considerado um material semicristalino onde possui moléculas lineares de amilose e moléculas de cadeias ramificadas (amilopectina), as quais são conectadas por ligações de hidrogênio, formando regiões cristalinas e amorfas. De acordo com Hoskeney (1994), não existe uma demarcação entre as zonas amorfas e cristalinas, acredita-se existe uma estrutura supramolecular em que as partes amorfas e cristalinas apresentam uma relação mútua. (ZOBEL,1988).

Quando são aquecidos na presença de água, os grânulos de amido têm a capacidade de absorver água e inchar, com isso, à medida que a temperatura e a absorção de água aumentam, os grânulos se rompem com o desordenamento das cadeias e a amilose e amilopectina se solubilizam, caracterizando o processo de gelatinização. Quando o sistema gelatinizado é submetido ao resfriamento, as cadeias desordenadas passam por reordenamento e re-associação

através de interações moleculares e ligação de hidrogênio. Este processo é denominado retrogradação. (WANG et al., 2015)

Wang e Copeland (2013) descreve mais detalhadamente a gelatinização apresentando uma série de eventos que podem ocorrer durante o processo, onde o amido sofre uma absorção de água, inchaço, ruptura irreversível da ordem molecular interna por dissociação de hélices duplas e fusão de cristalitos, lixiviação de polissacarídeos, desintegração de grânulos inchados e formação de uma pasta ou gel.

Estudos mostraram que, os amidos com maior teor de amilose ou com cadeias de glucana mais longas e menos ramificadas (material intermediário ou amidos de amilopectina de cadeia longa) são mais propensos à retrogradação, enquanto a retrogradação da amilopectina está geralmente ligada à capacidade das cadeias externas de glucana em formar hélices duplas. O comprimento de cadeias internas mais longas de amilopectina contribui para formação de amilopectina recristalizada com uma estrutura mais organizada e com maior estabilidade (SASAKI; YASUI; MATSUKI, 2000; VAMADEVAN; BERTOFT, 2015; ZHU, 2018).

Normalmente, a formação de um estado de gel ocorre como consequência da formação de ligações entre moléculas que interagem ou partículas coloidais dentro de um meio solvente. Isto pode levar ao estabelecimento de uma estrutura de percolação que é essencialmente capaz de imobilizar a fase de solvente, fazendo a transição de um material de um estado de sol para um estado de gel (DAY et al., 2016).

A firmeza de um gel, durante a retrogradação do amido, pode estar relacionada com o desenvolvimento de uma fonte de amilose, e o aumento lento na dureza do gel pode ser devido a reestruturação da molécula de amilopectina. Estudos indicaram que amidos de genótipos não-mutantes, a amilose pode promover mudanças na característica do gel em menos de 24 horas, enquanto, as mudanças estruturais em períodos maiores e as características reológicas do gel são de responsabilidade da amilopectina (HOOVER, 2001; LIU; THOMPSON, 1998).

Os grânulos de amido de mandioca geralmente exibem uma forma poliédrica e truncada com tamanhos entre de 10 a 53 μm (VALENCIA; DJABOUROV; SOBRAL, 2016). O conteúdo de amilose pode variar entre 18,78 a 30,3 % (POURMOHAMMADI et al., 2018). Apresentam polimorfo do tipo A e cristalinidade relativa de 24,10 %. A transição de gelatinização do grânulo de amido de mandioca tem uma temperatura inicial de 50 °C, temperatura de pico de 62 °C e entalpia de transição ΔH de 13,58 J/g de amido seco (VALENCIA; DJABOUROV; SOBRAL, 2016; WANG et al., 2019).

Han et al. (2019), verificou que há uma diferença substancial nas mudanças dos grânulos durante a gelatinização entre o amido de mandioca e a batata doce. Os grânulos de amido de

mandioca permanecem intactos com leve inchaço, com aproximadamente 8,5 % de amilose sendo lixiviada em água por 30 min a 60 °C. Em contraste agudo, os grânulos de amido de batata incham muito bem e rapidamente, perdendo muita integridade com 51,05 % de lixiviação de amilose. O tempo de gelatinização e a temperatura têm efeitos muito maiores nas mudanças dos grânulos de amido de batata do que nos grânulos de amido de mandioca.

2.4 FORTIFICAÇÃO OU ENRIQUECIMENTO DE ALIMENTOS

O enriquecimento ou fortificação de alimentos consiste na adição de um ou mais vitaminas e / ou minerais em um determinado produto alimentício. É de extrema importância que essa adição de nutriente aos alimentos seja realizada com base em estudos científicos envolvendo o desempenho das vitaminas e minerais na saúde humana além disso, deve ser levado em consideração a biodisponibilidade do micronutrientes, a preservação das características sensoriais e que tenha uma boa aceitação pela população (CARDOSO et al., 2019; ROSELL, 2016)

De acordo com a ANVISA por meio da Portaria n ° 31, de 13 de janeiro de 1998, “alimento fortificado/enriquecido ou simplesmente adicionado de nutrientes é todo alimento ao qual for adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e ou prevenir ou corrigir deficiência (s) demonstrada (s) em um ou mais nutrientes, na alimentação da população ou em grupos específicos da mesma” (BRASIL, 1998).

A produção de alimentos fortificados ou enriquecidos visa principalmente, prevenir ou minimizar problemas de deficiência de um ou mais nutriente na população ou em um grupo especial da população e tem sido um dos melhores métodos para a correção das deficiências nutricionais principalmente na infância, sendo necessária e recomendada no caso de deficiência ser endêmica ou quando se destina a populações de alto risco, mostrando ser um processo eficaz por atingir vários níveis sociais, além de ser uma medida efetiva a curto, médio e longo prazo, e por apresentar baixo risco de toxicidade (MARQUES et al., 2012; ROSELL, 2016).

O enriquecimento de alimentos pode ser obrigatório ou voluntário. Estas categorias referem-se ao nível de obrigação requerida pelos produtores de alimentos para cumprir os alvos do governo expressos na lei. Com relação a fortificação obrigatória, acontece quando o governo obriga, legitimamente, os produtores a fortificar determinados alimentos com micronutrientes específicos. Este tipo de fortificação é estabelecido quando uma parte da população (a maioria ou um grupo específico) apresenta necessidades expressivas em micronutrientes específicos,

em nível de saúde pública, podendo tais necessidades ser minimizadas através do fornecimento contínuo e regular de alimentos fortificados, que contenham esses micronutrientes (ALLEN et al., 2006).

No Brasil, os elevados índices de anemia e de doenças causadas pela deficiência de ácido fólico, induziram o Ministério da Saúde e a Anvisa (2002) a exigirem a fortificação de farinhas de trigo e milho. Os resultados positivos na fortificação de alimentos podem ser alcançados com a utilização de micronutriente que ofereçam boa disponibilidade de absorção pelo organismo, que possua características semelhantes ao alimento original, que participe da alimentação habitual da população e que tenha boa aceitação, além disso os consumidores tem procurado cada vez mais por alimentos ricos nutricionalmente que não só sacie a fome mas também proporcionem benefícios à saúde (MARQUES et al., 2012; PÁRAMO-CALDERÓN et al., 2019).

2.5 CAROTENOIDES

Os carotenoides fazem parte de um grupo diversificado de pigmentos naturais, sintetizados por organismos fotossintéticos, incluindo plantas, algumas bactérias e fungos não fotossintéticos. Como os animais (exceto algumas espécies de pulgões) são incapazes de sintetizar carotenoides, eles precisam ser obtidos a partir dos alimentos (MORAN; JARVIK, 2010; NAMITHA; NEGI, 2010). Com base em sua estrutura química, os carotenoides podem ser classificados como carotenos e xantófilos, onde o β -caroteno e o licopeno são exemplos de carotenos, isto é, carotenoides não oxigenados. Luteína, zeaxantina, astaxantina e cantaxantina são exemplos de xantófilos, ou seja, derivados oxigenados de carotenos. O α -caroteno, o β -caroteno e o licopeno são os carotenoides funcionais não polares predominantes e a luteína é o carotenoide funcional polar primário (ABUJAH; OGBONNA; OSUJI, 2015; SHETE; QUADRO, 2013).

De acordo com a literatura, existem mais de 700 carotenoides, dos quais 40 estão presentes no suprimento de alimentos humanos, a partir de frutas e legumes, dos quais menos de um décimo foi minuciosamente estudado. Tal fato mostra a necessidade de estudar novas moléculas de carotenoides e relacioná-las com suas fontes alimentares e efeitos biológicos (MONEGO; DA ROSA; DO NASCIMENTO, 2017).

Os carotenoides desempenham papéis importantíssimos na vida dos animais, tais como, proteção contra câncer de pulmão, cabeça, pescoço e próstata, provavelmente devido a seu potencial antioxidante mediada pela oxidação do ânion radical superóxido; ajuda na modulação

do sistema imunológico, fatores de crescimento e vias de sinalização intracelular (comunicação de junção de gap); na regulação da diferenciação celular, ciclo celular e apoptose; fotoproteção contra radiação UV; e como precursores do pigmento visual retinol (Vitamina A) (SAINI; SHETTY; GIRIDHAR, 2014). Além disso, recentemente foram notificadas evidências que os carotenoides podem melhorar a função cognitiva e reduzir a adiposidade e a obesidade (BONET et al., 2015; CANAS et al., 2017; JOHNSON, 2012; LINDBERGH et al., 2017).

De acordo com Harrison (2012), a absorção e distribuição tecidual dos carotenoides ocorre por processos semelhantes aos de outros compostos solúveis em gordura da dieta, onde os carotenoides são primeiramente liberados da matriz alimentar e solubilizados em gotículas de óleo, em seguida são transferidos para micelas mistas de sal biliar que são geradas durante a digestão de triglicerídeos, fosfolipídios e ésteres de colesterol para formar ácidos graxos livres, mono- e di-acilglicerídeos, liso-fosfolipídios e colesterol livre.

A absorção de carotenoides a partir de alimentos vegetais ingeridos é relativamente ineficiente. É de grande interesse da sociedade acadêmica o estudo de estratégias que venha aumentar a eficiência da absorção de carotenoides. São vários os fatores que podem afetar a absorção dos carotenoides entre eles as características físico-químicas dos carotenoides, barreiras físicas e químicas naturais dentro de tecido da planta, barreiras químicas induzidas durante o processamento e a preparação de alimentos que impedem a solubilização de carotenoides em gotículas lipídicas emulsionadas. Resumindo, a absorção de carotenoides é amplamente dependente da bioacessibilidade dos carotenoides (DURING et al., 2002; KOPEC; FAILLA, 2018; REBOUL, 2013). Portanto, apesar dos carotenoides serem encontrados em grandes quantidades nos alimentos vegetais, isso não significa necessariamente que seu impacto biológico seja significativo (FIEDOR; BURDA, 2014; PRIYADARSHANI, 2017).

Os carotenoides da provitamina A contêm pelo menos um anel de β -ionona não substituído (por exemplo, β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina) e podem ser clivados enzimaticamente para produzir vitamina A, um micronutriente essencial para os seres humanos (RAGHUVANSHI et al., 2015).

A deficiência de vitamina A é considerado um problema de saúde pública sério e pode causar uma série de problemas, sendo a principal cegueira infantil o mais recorrente, podendo ser evitável na primeira infância, além da anemia e a fraca resistência à infecção, o que pode aumentar a gravidade de doenças infecciosas e o risco de morte (BAILEY; WEST; BLACK, 2015; WASSEF et al., 2014)

Entre as estratégias usadas para minimizar o problema da deficiência de vitamina A, a fortificação dos alimentos tem sido uma das intervenções mais eficazes com resultados

positivos. Recentemente, em um estudo feito por Masnadi Shirazi e colaboradores. (2018), mostrou que a suplementação de 25.000UI / dia de vitamina A em pacientes com colite ulcerativa melhora significativamente a atividade geral da doença em comparação com o placebo, além de desenvolver a cicatrização da mucosa.

Mendu, Nair e Athe (2019), realizaram uma revisão sistemática e meta-análise dos ensaios para identificar e quantificar o efeito de alimentos enriquecidos com vitamina A na concentração sérica de vitamina A em crianças menores de 10 anos e concluíram que o consumo de alimentos enriquecidos com vitamina A resulta em um aumento da concentração de retinol e, portanto, na redução da deficiência de vitamina A entre as crianças, sendo assim uma estratégia eficaz no combate e prevenção da deficiência de vitamina A.

O suco de cenoura consiste em uma excelente fonte de carotenoides e outros compostos nutricionalmente importantes, como polifenóis, fibras alimentares, incluindo pectina ou ácidos orgânicos, entre outros (STINCO et al., 2019; ZHANG et al., 2016). Apesar da grande quantidade de carotenoides presente na cenoura, existe uma certa dificuldade para libera-la da matriz alimentar, isso porque, os carotenoides estão localizados nos cromoplastos das células vegetais, sua liberação da matéria-prima é restringida pelas membranas celulares e paredes celulares que afetam sua bioacessibilidade. Portanto, dependendo do produto final há necessidade de adotar um processamento mecânico apropriado para diminuir o tamanho das partículas e destruir barreiras estruturais ((LIU et al., 2019).

Os carotenoides usados na indústria de alimentos como precursor da vitamina A ou como corante natural, referem-se a um composto lábil e facilmente degradável pelo calor, luz e oxigênio, sendo necessário o uso de técnicas apropriadas que venham prolongar o tempo de vida útil dos carotenoides e outros bioativos (GUL et al., 2015). A incorporação desses ingredientes bioativos para produzir alimentos funcionais exige um grande cuidado, principalmente no que diz respeito à estabilidade durante o processamento e armazenamento, havendo necessidade de evitar interações indesejáveis com a matriz alimentar transportadora e garantir sua estabilidade sem perder a funcionalidade até atingir o trato gastrointestinal humano e finalmente liberar os ingredientes bioativos no local desejado (SILVA; BARREIRA; OLIVEIRA, 2016). São vários os estudos envolvendo estratégias de proteção desses compostos, entre eles o encapsulamento é um dos meios mais eficaz capaz de melhorar a estabilidade dos mesmos (GUL et al., 2015).

Rutz e colaboradores (2016), desenvolveram micropartículas contendo β -caroteno sintético e óleo de palma. Para isso foi aplicado o método de coacervação complexa usando quitosana e carboximetilcelulose como material de parede e o método de gelificação iônica

usando tripolifosfato de quitosana e sódio como material de parede. Com isso, verificaram alta eficiência de microencapsulação nos dois métodos utilizados (acima de 95 %) mostrando viabilidade no processo de elaboração de micropartículas de carotenoides por tais processos.

Além da coacervação complexa, os carotenoides podem ser encapsulados por diferentes outros métodos como spray-drying, spray-cooling, sistema de emulsão, lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas, complexação por inclusão entre outras. A técnica de spray-drying é a mais utilizada para a microencapsulação de carotenoides, vários trabalhos foram publicados mostrando a variedade de biopolímeros que podem ser usados como agentes encapsulantes onde a goma arábica apresentou maior eficiência devido à capacidade de formar emulsões estáveis, solubilidade adequada e baixa viscosidade (GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016).

2.6 MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação é definida como um processo para prender uma substância (agente ativo) dentro de outra substância (material de parede) (RAJABI et al., 2015). O principal objetivo do encapsulamento é proteger o material do núcleo de condições ambientais adversas, tais como efeitos indesejáveis de luz, umidade e oxigênio (POURASHOURI et al., 2014a, 2014b), além de retardar a oxidação, especialmente de lipídios, proteger agentes ativos de perdas nutricionais, ajuda a mascarar propriedades organolépticas desagradáveis, como odor e sabor de alguns compostos e proporciona a liberação do material do núcleo de forma controlada (JANISZEWSKA-TURAK et al., 2017; NARSAIAH et al., 2014).

Esta tecnologia, tem sido amplamente utilizada em indústrias de alimentos por inúmeras razões, como por exemplo, a estabilização de compostos bioativos, liberação controlada dos compostos bioativos, mascarar o seu sabor desagradável e odor (DORDEVIC et al., 2015,). A seleção de um método de microencapsulação depende de aplicações e parâmetros específicos como o tamanho de partícula necessário, propriedades físico-químicas do núcleo e materiais de revestimento, mecanismos de liberação, custo do processo, entre outros (MAHDAVI et al., 2014).

De acordo com Gonçalves, Estevinho e Rocha (2016), a escolha de um agente encapsulante apropriado e o método a ser aplicado são pontos determinantes para o êxito de uma microencapsulação. O agente de encapsulamento determinará a eficiência do encapsulamento, a estabilidade das micropartículas e as características do produto final, enquanto o método de microencapsulação deve ser selecionado de acordo com as propriedades

físicas e químicas do material do núcleo e do agente de encapsulamento, o tamanho e a forma desejáveis das micropartículas, e o perfil exigido de liberação controlada (GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016).

Existem inúmeras técnicas de microencapsulação as principais são spray-drying (ALCÂNTARA et al., 2019; STOUT; PARK; DRAKE, 2017), liofilização (YAMASHITA et al., 2017), baseadas em fluidos supercríticos (VILLANUEVA-BERMEJO et al., 2017), lipossomas (DAG; OZTOP, 2017), gelificação iônica (OTÁLORA et al., 2016) e coacervação complexa (JAIN et al., 2016; SHADDEL et al., 2018).

Entre os métodos de microencapsulação, a coacervação se destaca por ser um procedimento com grandes vantagens, incluindo condições de reação mais moderadas durante o processamento, menor custo em equipamentos e maior capacidade de carga e entre outros (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

A coacervação complexa é um método de microencapsulação que se refere a uma separação de fases direcionada por interações estáticas de moléculas carregadas em ambiente aquoso. Os coacervados formam soluções turvas feitas de gotículas líquidas micrométricas com um formato esférico que geralmente coalescem, resultando ainda mais na separação macroscópica de fase. Dois tipos de fenômeno de coacervação são distinguidos: a coacervação complexa e a coacervação simples ou auto (PERRO et al., 2019). O termo coacervação geralmente é usado na química para denotar a separação de fase associativa induzida pela alteração do pH, força iônica, temperatura ou solubilidade do meio de dissolução (SCHMITT; TURGEON, 2011). De acordo com Timilsena et al. (2019), a coacervação complexa é altamente promissora e amplamente empregada nas indústrias farmacêutica, alimentícia, agrícola e têxtil. O processo envolve basicamente a interação de polieletrólitos de carga oposta em forma aquosa. Alta carga útil e alta eficiência de encapsulamento (até 99 %), custo relativamente baixo de processamento, capacidade de usar materiais de núcleo de grau alimentício e síntese à temperatura ambiente fazem da coacervação uma escolha apropriada nas indústrias de alimentos e agroquímico.

Estudos relataram que, a coacervação complexa é um processo reversível e os coacervados formados pela interação de uma proteína e um polissacarídeo podem se dissociar quando as condições, especialmente o pH e a temperatura, são desfavoráveis. Contudo, os coacervados podem ser estáveis em prateleiras dentro de uma faixa estreita de pH, força iônica e temperatura. (TIMILSENA et al., 2016; WANG; ADHIKARI; BARROW, 2014) O processo coacervado complexo é afetado pela carga, densidade, concentração, razão e natureza dos

polímeros, bem como pelos parâmetros do processo, como pH, força iônica, temperatura e tempo de agitação (TIMILSENA et al., 2017)

A condição ideal usada para uma coacervação complexa onde se tem um determinado conjunto de polímeros não pode ser usada para outro conjunto de polímeros. Por esse motivo, a otimização dos parâmetros de coacervação é a etapa prioritária essencial para sua aplicação eficaz na microencapsulação (TIMILSENA et al., 2017).

Acredita-se que a aplicação de microcápsulas resultante da coacervação complexa, preparados a partir de biopolímeros em produtos alimentícios, tem chamado atenção. Cápsulas contendo substâncias ativas podem ser incorporadas em produtos alimentícios com várias finalidades, incluindo modificação de textura e cor, mostrando atividades antimicrobianas e antioxidantes. Porém, existem poucos estudos sobre a aplicação de agentes encapsulados em alimentos e a liberação de agentes de coacervados na matriz alimentar (EGHBAL; CHOUDHARY, 2018).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O amido de mandioca foi obtido em comércio local (João Pessoa, Brasil) e armazenado a 25 – 30 °C durante o tempo de pesquisa. Algumas análises como a Difração de raio X foram executadas na Universidade de Minnesota (Minnesota, EUA) sob supervisão do professor Dr. Johan B. Ubbink.

As cenouras (*Daucus carota subsp. Sativus*) foram adquiridas na Central Estadual de Abastecimento em João Pessoa – CEASA e previamente higienizadas usando uma solução de hipoclorito de sódio (100 ppm) por 10 minutos, em seguida foram pesadas e cortadas em cubos. O suco foi extraído usando uma centrifuga da marca Mondial, modelo Turbo Juice Cf-06, mesmo foi caracterizado quanto a quantidade de sólidos solúveis total (°Brix), acidez, densidade, umidade (AOAC, 2016) e quantidade de carotenoides totais. O material usado na elaboração das microcápsulas por coacervação como o WPI e a goma arábica foram adquiridos pela Funcional Mikron (São Paulo, Brasil)

3.1 PREPARAÇÃO DA GOMA DE MANDIOCA

A goma de mandioca foi preparada a partir da hidratação do amido nativo de mandioca, foi realizada em várias proporções de adição de água, de acordo com a Tabela 1. A mistura foi deixada em repouso por 12 horas à temperatura ambiente (25 a 30 °C). Após esse tempo, a

massa foi triturada manualmente e peneirada, utilizando peneira de comum de uso doméstico. Esse processo foi feito com base em práticas comerciais.

Tabela 1. Quantidade de água adicionada no preparo das amostras de goma de tapioca

Amostras	Quantidade de água (g) para 100 g de amido
A5	5
A10	10
A15	15
A25	25
A35	30
A45	45
A55	55
A60	60

3.2 PROCESSO PADRONIZADO DE ELABORAÇÃO DA TAPIOCA

O método para elaboração das amostras de tapioca foi padronizado utilizando moldes de inox cilíndrico com diâmetros de 9,5 cm, frigideira com superfície de teflon com 15 cm de diâmetro e termômetro digital infravermelho da marca Intrutherm modelo TI-870 para monitorar a temperatura durante todo o processo. As condições de temperatura, tempo de processo e espessuras foram definidas de acordo com o objetivo de cada análise.

O processo se inicia aquecendo a frigideira em fogão industrial até a temperatura inicial desejada (100-300 °C). Logo em seguida 35 g da goma de mandioca (com ou sem enriquecimento) foram colocadas no interior do molde e espalhada por toda a área. Após 60 s do início do processo, foi feita a viragem da tapioca, nessa etapa, a superfície que estava voltada para o ambiente passa a ter contato direto com a frigideira, onde permaneceu por 60 s, somando um tempo total de processo de 120 s.

3.3 TESTE DE DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULAS AGREGADAS

O teste de distribuição de tamanho de partículas foi realizado com a finalidade de observar o comportamento macroscópico dos grânulos de amido de mandioca em diferentes condições de temperatura e umidade principalmente em baixas concentrações de água. Para isso, as amostras de amido de mandioca hidratado preparados conforme a Tabela 1 foram submetidos ao processo de calor seco variando a temperatura inicial da frigideira em 100, 200, 205 e 300 °C e o tempo de processo foi fixado em 120 s. As proporções massa: área superficial

iguais a $0,29 \text{ g/cm}^2$ e $0,49 \text{ g/cm}^2$ foram aplicadas para calcular a massa de amido hidratado necessária para obtenção do produto final com espessura de 2,5 mm e 5 mm, respectivamente.

O material resultante foi colocado em um peneirador mecânico da marca Matest (Belo Horizonte, Brazil), com peneiras de malhas de 2,36 mm; 1,18 mm; 850 μm e 300 μm dispostas do maior *mesh* para o menor, sob agitação de 10 minutos a 80 rpm (agitação máxima permitida pelo equipamento). A massa retida pelas peneiras foi quantificada por gravimetria em uma balança eletrônica de precisão marca BEL Engineering modelo M214AIH (Milano, Itália).

3.4 CARACTERIZAÇÃO VISUAL DA TAPIOCA

A análise visual do material produzido após o processo de cocção foi realizada com a fécula hidratada com conteúdo de água adicionada entre 15 e 45 %. O processo térmico foi realizado variando-se a temperatura inicial da frigideira (100-300 °C). Para cada amostra, avaliou-se se as características físicas das partículas do material após cocção e ao retirar da frigideira quente: 1) livre escoamento, 2) partículas agregadas quebradiças, 3) partículas agregadas e não gelificadas, 4) partículas agregadas contínuas - tapioca. Os resultados obtidos destes testes foram expressos em forma de diagrama visual, que define regiões gráficas com as características dos materiais resultantes.

3.5 DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS

A coacervação complexa foi realizada usando suco de cenoura como material de núcleo e a goma arábica (GA) e a proteína isolada do leite (WPI). As misturas foram preparadas em uma concentração total de biopolímero de 7% (p / p), e as proporções de biopolímeros foram 1,5: 1, 3: 1 e 6: 1 WPI: GA com base no peso e o suco representou 93 % da solução. O processo iniciou-se com a adição dos bioplímeros ao suco de cenoura (SC). Em seguida foi feita a homogeneização, usando o agitador mecânico IKA RW 20 digitais (Staufen, Alemanha). A solução homogeneizada foi submetida a mudança de pH até atingir a condição ideal para a separação de fases (pH = 3,22) e deixada em repouso por 12 horas para que ocorra a coacervação (precipitação). Após o tempo de repouso, fez-se a retirada do sobrenadante e o coacervado/precipitado foi levado a centrifuga de marca Eppendorf modelo 5430R (Hamburgo, Alemanha). Depois da centrifugação, foi retirado novamente o sobrenadante e o coacervado foi misturado ao amido de mandioca na proporção de 1:1. O material obtido após a mistura do coacervado com o amido foi colocado em bandejas alumínio redonda com 14,5 cm

de diâmetro de forma que as proporções massa: área superficial utilizada foi de 0,12 g/cm². A secagem foi realizada em estufa com circulação de ar da marca Solab modelo SL102 (Piracicaba, Brasil) a temperatura de 30 °C até obtenção de peso constante

Após a secagem, a matéria seca foi triturada usando almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino com granulometria próximo ao dos grânulos de amido de mandioca (52 µg a 38 µg). O cálculo da eficiência da coacervação e da secagem foram feitos a partir da Equação (1). As micropartículas de carotenoides foram caracterizadas, determinando -se o conteúdo de umidade, atividade de água, cor, teor de carotenoides e tamanho de partículas.

O rendimento do processo de microencapsulação, a eficiência da encapsulação e dos métodos de secagem foram calculadas a partir das Equações 1 e 2 respectivamente.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Peso final da amostra (g)}}{\text{Peso inicial da amostra (g)}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{\text{Carotenoides antes do processamento (mg/100 g .d.m.)}}{\text{Carotenoides depois do processamento (mg/100 mg .d.m.)}} \times 100 \quad (2)$$

3.6 ENRIQUECIMENTO DA GOMA DE TAPIOCA

A goma de tapioca foi enriquecida adicionando-se o suco puro de cenoura em algumas amostras e micropartículas em outras com fontes de carotenoides. A adição do suco de das micropartículas foram realizadas por métodos distintos, pois são misturas de materiais em estado físico diferentes (sólido e líquido). Sendo assim, os componentes da mistura foram divididos em componentes líquidos (água e suco) e sólidos (amido de mandioca e microcápsulas). Dessa forma, para elaboração da goma enriquecida com suco de cenoura os componentes líquidos foram a água e o suco e o componente sólido é o amido, enquanto na elaboração da goma de tapioca enriquecida com micropartículas o componente líquido foi apenas a água e os componentes sólidos foram o amido e as micropartículas.

O enriquecimento com suco, foi realizado misturando-se 30 g do suco, a 30 g de água, essa mistura de líquidos foi despejada em 100 g de amido de mandioca. Para o enriquecimento com micropartículas, primeiramente fez-se a mistura dos pós onde 6g de micropartículas foram pesadas em um Becker de 250 mL e depois foi acrescentado 94g de amido de 20 em 20g, após obter a homogeneidade dos pós, acrescentou-se 60 g de água. Durante todos os processos de

mistura de componentes utilizou-se o agitador mecânico IKA RW 20 digital (Staufen, Alemanha) sob agitação por 5 minutos em cada etapa de homogeneização (SHENOY et al., 2015)

A indústria de goma de tapioca não apresenta um padrão para a elaboração da mesma, sendo assim, a goma de tapioca para esse estudo foi produzida baseando-se nas características das gomas comercializadas, que sugere-se que a quantidade de água a ser adicionada ao amido de mandioca é em média de 60 %. A quantidade de cada componente foi calculada seguindo o princípio que a soma dos ingredientes líquidos deve representar 37,5 % do produto final, enquanto a soma dos ingredientes sólidos deve representar 62,5 %.

O cálculo da quantidade de suco de cenoura e micropartículas adicionada a goma de tapioca foi guiada pela Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, da Secretaria de Vigilância Sanitária que informa a necessidade de no mínimo adição de 30% da IDR para um adulto, o que corresponde a 600 µg/100g de retinol ou 2.142,85 µg de carotenoides por 100 g de goma de tapioca (1 µg carotenoides provitamina A = 0.084 µg retinol). (BRASIL, 2005b). Sabendo que o suco de cenoura apresentou 12973,4 µg/100 g e as micropartículas 61955,89 µg/100 g foram calculados os valores de cada componentes para elaboração da goma de tapioca (Tabela 2)

Tabela 2. Quantidade dos componentes usados na elaboração da goma de tapioca enriquecida

Componentes	Goma enriquecida com suco de cenoura	Goma enriquecida com micropartículas
Amido de mandioca (g)	100,00	94,00
Água (g)	30,00	60,00
Suco (g)	30,00	-
Micropartículas (g)	-	6,00

3.7 ELABORAÇÃO DE TAPIOCA ENRIQUECIDA COM CAROTENOIDES

As tapiocas enriquecidas com carotenoides foram preparadas seguindo a metodologia descrita no Item 3.2 utilizando goma mandioca enriquecida com suco de cenoura ou micropartículas (Item 3.6). Com a finalidade de observar o impacto da temperatura na retenção de carotenóides, a temperatura inicial da frigideira foi ajustada para 200 ° C ou 300 ° C, medida por um termômetro infravermelho Intrutherm modelo TI-870 e o tempo total do processo foi de 120 s (60 s para cada face da tapioca). a quantidade de gomo enriquecida foi de 35 g para obtenção de tapioca com aproximadamente 0,49 cm de espessura.

3.8 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES

O método utilizado para determinação de carotenóides foi o de microextração de acordo com, Pacheco et al. (2011). Sendo assim, as amostras foram colocadas em tubo para microcentrifuga (eppendorf) de 2 mL, com 100 mg de celite e 500 µL de acetona, e maceradas com bastão de vidro. A mistura foi centrifugada no equipamento de marca Eppendorf modelo 5430R (Hamburgo, Alemanha), utilizando o rotor modelo FA-45-24-11-Kit, a 8000 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi transferido para uma bureta de 25 mL contendo 3 mL de éter de petróleo e 10 mL de água destilada. A extração foi repetida até que a matriz não apresentasse coloração alaranjada, característica dos carotenoides. A solução contida na bureta foi lavada lentamente com 60 ml de solução aquosa 5% NaCl. Em seguida, verificou-se o volume de solução etéreo e recolhida em tubo contendo 10 mg de sulfato de sódio anidro. A absorbância em comprimento de onda de 450 nm foi medida em Espectrômetro Shimadzu® UV-1800 (Quioto, Japão). O cálculo da quantidade de carotenoides foi feito através da Equação (3)

$$\text{Quantidade de carotenóides } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times \text{peso da amostra (g)}} \quad (3)$$

Onde A é a absorbância, $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ absorvidade molar com valor de 2592 e V o volume total do extrato.

3.9 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

A determinação de umidade das amostras de amido hidratado (Tabela 1), micropartículas, goma de mandioca enriquecida e tapiocas com ou sem enriquecimento seguiu a metodologia descrita pela AOAC (2016).

3.10 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE DE ÁGUA

A análise de atividade de água foi realizada com as amostras a 25 °C, através do aparelho Aqua-lab, modelo Dew Point Water Activity Meter 4 TEV,(Pullman, Estados Unidos).). Foram determinadas a atividade de água das amostras de goma de tapioca com e sem enriquecimento e das micropartículas.

3.11 DETERMINAÇÃO DE COR

Os parâmetros de cor foram obtidos através do colorímetro eletrônico de marca GRETAG MACBETH (Estados Unidos), modelo COLOR-EYE 2180 usando a escala CIE Lab, seguindo a metodologia descrita por Pathare e colaboradores (2013). Dessa forma, onde foram obtidos os valores de L^* (luminosidade), a^* (cor verde para cor vermelha) e b^* (cor azul para amarela) e calculado dos valores de C (cromaticidade) a partir da Equação (4) e o valor de h^* (Equação 5) Os valores do ΔE foram calculados pela Equação (6) afim de avaliar a mudança de cor das micropartículas e gomas enriquecidas após o tempo de 30 dias e entre as amostras de tapioca quanto a mudança de temperatura. Foram submetidas a análises de cor as amostras de goma de tapioca enriquecidas, as tapiocas elaboradas com as gomas enriquecidas e as micropartículas. A medida da cor foi feita em regiões distintas da tapioca, área externa: superfície ou crosta e área interna: núcleo ou gel.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (4)$$

$$h^* = \text{tg}^{-1} \cdot (b^*/a^*) \quad (5)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (6)$$

Onde, $\Delta L = (L_{\text{final}} - L_{\text{inicial}})$, $\Delta a = (a_{\text{final}} - a_{\text{inicial}})$, $\Delta b = (b_{\text{inicial}} - b_{\text{final}})$.

3.12 ANÁLISE REOLÓGICA DE SUSPENSÕES DE AMIDO

O perfil de pasta do amido de mandioca disperso em água ou em suco de cenoura foi determinado de acordo com metodologias propostas para Rapid Visco Analyser (LI et al., 2015) adaptadas para um reômetro de tensão controlada Haake MARS III (Karlsruhe, Alemanha). As amostras submetidas ao estudo reológico foram escolhidas as amostras com quantidades de água adicionada que deram origem a partículas amiláceas com aspectos mais próximos ao produto de inspiração, a tapioca. O experimento foi conduzido, utilizando uma geometria do tipo cone-placa de 35 mm de diâmetro e 2° de inclinação (C35/2° Ti L) e uma capa protetora para evitar a evaporação da água durante o teste. As amostras foram aquecidas de 50 a 85 °C a 0,125 °C/s, mantidas a 85 °C por 90 s e resfriadas até 40 °C, a 0,125 °C/s.

As amostras de misturas de amido e água foram preparadas nas seguintes proporções: 60 g de amido e 40 g de água, 55 g de amido e 45 g de água, 50 g de amido e 50 g de água e 40 g de amido e 60 g de água. Para as suspensões preparadas com suco, a quantidade de amido (40-55 %) foi primeiramente feita a mistura do suco de cenoura e água, de modo que a suspensão final contivesse 16,5 % de suco. Com relação as suspensões com micropartículas, o pó seco e o amido foram misturados e em seguida, foi adicionada água a essa mistura (40-55 % p / p) de modo que a dispersão final foi de 3,4 % de micropartículas

Os parâmetros avaliados foram: temperatura de pasta (TP), a qual se refere a temperatura em que se inicia o aumento na viscosidade; pico de viscosidade (PV), que é a viscosidade máxima obtida após o início do aquecimento e antes do início do resfriamento, quebra de viscosidade (QV), que é a diferença entre a viscosidade máxima e mínima durante a manutenção a 85 °C, tendência a retrogradação (TR), que é a diferença entre a viscosidade final e o menor valor de viscosidade durante a manutenção a 85 °C e viscosidade final (VF).

3.13 DIFRAÇÃO DE RAIOS X – DRX

O experimento de difração de raios X foi realizado com a utilização do equipamento Microdifratômetro de raios X Advance D8 (Bruker, Karlsruhe, Alemanha) acoplado a um detector Vantec bidimensional, sistema de alinhamento de câmera de vídeo / laser e uma fonte de ponto de radiação de raios X Co K α ($\lambda = 1,79 \text{ \AA}$) O feixe de raios-X foi condicionado com um monocromador de grafite. Utilizou-se um colimador de 800 μm e a distância entre a amostra e o detector foi mantida em 20 cm. Três quadros de medição foram digitalizados a 20, 45 e 70°, respectivamente. Foram submetidas análise de DRX amostra de amido nativo de mandioca sem adição de água e partículas amiláceas obtidas a partir das aplicações das amostras de amido hidratado (15 – 60 % conteúdo de água) ao processo padronizado (Item 3.3). As amostras foram inicialmente secas durante 12 horas a 40 °C sob um fluxo de ar suave, em seguida foram moídas até um pó fino. As amostras de pó foram montadas para o modo de reflexão em um único cristal orientado a silício 001. Foi utilizado o As imagens do detector de área foram finalmente convertidas em intensidade unidimensional vs. conjuntos de dados 2 θ usando um algoritmo de integração de média

3.14 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA -MEV

A observação da estrutura morfológica das amostras foi realizada em microscópio eletrônico de varredura modelo Quanta 450, marca FEI (Estados Unidos). Foram escolhidas as amostras da Tabela 1 que melhor representam as mudanças ocorridas no amido de mandioca em altas concentrações, entre elas 85, 75, 65 e 40 % de amido, para esta última concentração, a observação foi feita em parte distintas do material, onde foi observado a crosta 1 referente a superfície que teve o primeiro contato com a frigideira, crosta 2 teve contato com a frigideira após 60 segundos do início do processo térmico e o núcleo (gel). As amostras foram fixadas em fita de carbono e recoberta com ouro em um evaporador a vácuo, em seguida foram inseridas ao equipamento a uma tensão de aceleração 15 kV a uma ampliação de 2000 x.

3.15 TEXTURA INSTRUMENTAL DAS TAPIOCAS

As análises de textura foram realizadas usando o texturômetro Texture Analyser CT3 (Brookfield Engineering Labs, Middleboro, EUA) com programa de aplicação fornecido com aparelho (Texture Expert for Windows, versão 1.19). As amostras de tapioca preparadas em diferentes condições de água adicionada, temperatura e tempo, conforme a Tabela 3. Foram submetidas a análise de perfil de textura e ao teste de cisalhamento, enquanto as amostras de tapioca enriquecidas com suco de cenoura e micropartículas elaboradas a 200 e 300 °C com tempo de processo de 120 s, foi feito a análise de perfil de textura onde obteve-se os parâmetros de dureza, elasticidade, coesividade e resiliência. O preparo das amostras de tapioca seguiu a metodologia descrita nos Itens 3.2 e 3.7.

Tabela 3. Valores das variáveis aplicadas no preparo das amostras de tapioca

Amostras	Água adicionada (%)	Temperatura (°C)	Tempo (s)
A1	50	200	120
A2	60	200	120
A3	50	300	120
A4	60	300	120
A5	50	200	210
A6	60	200	210
A7	50	300	210

A8	60	300	210
----	----	-----	-----

3.15.1 Análise de perfil de textura – TPA

As amostras para a análises de perfil de textura (TPA), foram preparadas em triplicata e em cada amostra o teste foi feito duas vezes em áreas diferentes, desprezando 2 cm da borda. O teste foi realizado aplicando-se um ciclo de dupla compressão com 80 % de taxa de deformação e velocidade de 1mm/s, de acordo com Bouner (2002). Foi utilizada uma geometria cilíndrica de acrílico com 12 mm de diâmetro. A temperatura das tapiocas após seu preparo foi mantida na faixa de 38 °C – 45 °C durante o teste.

3.15.2 Teste de cisalhamento

Para o teste de cisalhamento as amostras de tapioca foram cortadas em formato retangular com 50 mm de comprimento, 30 mm de largura. A geometria utilizada foi do tipo lâmina de acrílico com 60 mm de largura (TA7). A lâmina percorreu 3,5 mm ao tocar na amostra, a uma velocidade de 2,0 mm/s. Para cada amostra do planejamento experimental foram feitas 6 repetições.

3.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente aplicando-se o teste de Tukey para realizar a comparação de média ao nível de 0,5 % de significância entre os grupos de amostras com o auxílio do programa R studio versão 0 1.2.1335 (RStudio, Inc., Boston, EUA)

Foram avaliadas a diferença de umidade entre as amostras de amido nativo de mandioca hidratados com quantidades distinta de água e feito um estudo comparativo das características físico-químicas entre as amostras de tapioca com e sem enriquecimento com carotenoides. Os gráficos apresentados foram construídos através do programa *OriginPro* 8 SR0 (Northampton, USA).

REFERÊNCIAS

ABBASPOUR, N, Hurrell R, Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. **J Res Med Sci**. 2014 Feb;19(2):164-74. PMID: 24778671; PMCID: PMC3999603.

ABASS, A. B. et al. Can food technology innovation change the status of a food security crop? A review of cassava transformation into “bread” in Africa. **Food Reviews International**, v. 34, n. 1, p. 87–102, 2018.

ABUAJAH, C. I.; OGBONNA, A. C.; OSUJI, C. M. Functional components and medicinal properties of food: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 2522–2529, 2015.

ALLEN L, et al. eds. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. Geneva: World Health Organization/Food and Agriculture Organization, 2006.

ALCÂNTARA, M. A. et al. Influence of the emulsion homogenization method on the stability of chia oil microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 354, p. 877–885, 2019.

ALVES, R. N. B. et al. **Potencialidades da cultura da mandioca para a agricultura familiar do Pará**. mar.2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/882846/1/PotencialidadesCulturaMandioca.pdf>> Acesso em: 12 de setembro 2019.

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists**, 2016. Official methods of analysis of 384 the Association of Official Analytical Chemists 20th ed. Rockville: A.O.A.C.

BACELAR, L. N.; GÓIS, M. L. DE S. A produtividade do léxico tupinambá no português do Brasil. **Signótica**, v. 9, p. 105–117, 1997.

BAILEY, R. L.; WEST, K. P.; BLACK, R. E. The epidemiology of global micronutrient deficiencies. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 66, n. suppl 2, p. 22–33, 2015.

BERTOFT, E. et al. International Journal of Biological Macromolecules The fine structure of cassava starch amylopectin . Part 2 : Building block structure of clusters. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 47, n. 3, p. 325–335, 2010.

BERTOFT, E. Understanding Starch Structure : Recent Progress. **Agronomy**, v. 56, 2017.

BONET, M. L. et al. Carotenoids and their conversion products in the control of adipocyte function, adiposity and obesity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 572, p. 112–125, 2015.

BURNS, A. et al. Cassava: The Drought, War and Famine Crop in a Changing World. **Sustainability**, v. 2, n. June 2014, p. 3572–3607, 2010.

BRASIL. Portaria de nº 31, de 13 de janeiro de 1998 Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais, **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, jan. 1998.

BRASIL. Resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprovar o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, dez. 2002.

BRASIL. Instrução Normativa nº 23, de 14 de dezembro de 2005. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Amiláceos Derivados da Raiz de Mandioca **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, dez de. 2005a

BRASIL. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, set de. 2005b

BRASIL. Resolução nº 52, de 07 de novembro de 2011 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aprova Regulamento técnico da farinha de mandioca, **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, nov. 2011.

CAGNATO, C. A Paleoethnobotanical Study of Two Classic Maya Sites, El Perú-Waka' and La Corona. 2016.

CANAS, J. A. et al. Effects of mixed carotenoids on adipokines and abdominal adiposity in children: A pilot study. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 102, n. 6, p. 1983–1990, 2017.

CARDOSO, R. V. C. et al. Flour fortification for nutritional and health improvement: A review. **Food Research International**, v. 125, n. May, p. 108576, 2019.

CARLSTEDT, J. et al. Understanding starch gelatinization : The phase diagram approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 62–69, 2015.

CEREDA, M., P. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. In: CEREDA, M., P. **Manejo, Uso e Tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. Cap. 1, p.13-37.

CHEN, H. MING; FU, X.; LUO, Z. GANG. Effect of gum arabic on freeze-thaw stability, pasting and rheological properties of tapioca starch and its derivatives. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 355–360, 2015.

CHINNADURAI, V. et al. Comparative studies of phytochemical analysis and pharmacological activities of wild and micropropagated plant ethanol extracts of *Manihot esculenta*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 19, n. May, p. 101166, 2019.

CHISTÉ, R. C. et al. Sorption isotherms of tapioca flour. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 4, p. 870–874, 2012.

CLAGETT-DAME, M.; KNUTSON, D. Vitamin a in reproduction and development. **Nutrients**, v. 3, n. 4, p. 385–428, 2011.

COÊLHO, J. D. Produção de mandioca – raiz, farinha e fécula. p. 1–11, 2018.

DAG, D.; OZTOP, M. H. Formation and Characterization of Green Tea Extract Loaded Liposomes. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 2, p. 463–470, 2017.

DAIUTO, É. R.; CEREDA, M. P. Physical characteristics and energetic evaluation of tuber and root starch gels under sterilization stress. **Energia na Agricultura**, v. 21, n. 2, p. 45–60, 2006.

DAY, L. et al. **Food Structure, Rheology, and Texture**. [s.l.] Elsevier, 2016.

DOBE, M.; GARG, P.; BHALLA, G. Fortification as an effective strategy to bridge iron gaps during complementary feeding. **Clinical Epidemiology and Global Health**, p. 4–7, 2017.

DURING, A. et al. Carotenoid uptake and secretion by CaCo-2 cells: β -Carotene isomer selectivity and carotenoid interactions. **Journal of Lipid Research**, v. 43, n. 7, p. 1086–1095, 2002.

EGHBAL, N.; CHOUDHARY, R. Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, n. May 2017, p. 254–264, 2018.

ESFANJANI, A. F. et al. Nano-encapsulation of saffron extract through double-layered multiple emulsions of pectin and whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 165, p. 149–155, 2015.

FAO. **Save and Grow: Cassava A Guide to Sustainable Production Intensification**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 2013. Disponível: <http://www.fao.org/3/a-i3278e.pdf>. Acesso em 20 de março de 2017
FAO, **Food Agriculture Organization**. 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 12 de junho de 2019.

FIEDOR, J.; BURDA, K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. **Nutrients**, v. 6, n. 2, p. 466–488, 2014.

GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 76–87, 2016.

GOUS, P. W.; FOX, G. P. Trends in Food Science & Technology Review : Amylopectin synthesis and hydrolysis e Understanding isoamylase and limit dextrinase and their impact on starch structure on barley (*Hordeum vulgare*) quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 62, p. 23–32, 2017.

GUL, K. et al. Chemistry, encapsulation, and health benefits of beta-carotene - A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1–12, 2015.

HAN, H. et al. Insight on the changes of cassava and potato starch granules during gelatinization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 37–43, 2019.

HARRISON, E. H. et al. The formation, occurrence, and function of β -apocarotenoids: β -carotene metabolites that may modulate nuclear receptor signaling. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 5, p. 1189–1192, 2012.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and

root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, p. 253–267, 2001.

HOSENEY, R. C. **Principles of Cereal Science and Technology**. Ed. 2, Minnesota: AACC, 1994

IBGE, INSTITUTO B. DE G. E E. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 2017. **Estatística da Produção Agrícola**, p. 1–72, 2017.

IBGE, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção Agrícola Municipal – 2017. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricolamunicipal?=&t=resultados>. Acesso em 13 de junho de 2019.

JAIN, A. et al. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 87, p. 101–113, 2016.

JANISZEWSKA-TURAK, E. et al. The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. **Food Chemistry**, v. 236, p. 134–141, 2017.

JOHNSON, E. J. A possible role for lutein and zeaxanthin in cognitive function in the elderly. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 5, 2012.

KOPEC, R. E.; FAILLA, M. L. Recent advances in the bioaccessibility and bioavailability of carotenoids and effects of other dietary lipophiles. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, n. January 2017, p. 16–30, 2018.

LINDBERGH, C. A. et al. Relationship of Lutein and Zeaxanthin Levels to Neurocognitive Functioning: An fMRI Study of Older Adults. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 23, n. 1, p. 11–22, 2017.

LIU et al. Effects of high pressure homogenization on physical stability and carotenoid degradation kinetics of carrot beverage during storage. **Journal of Food Engineering**, v. 263, n. October 2018, p. 63–69, 2019.

LIU, Q.; THOMPSON, D. B. Retrogradation of du wx and su2 wx maize starches after different gelatinization heat treatments. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 6, p. 868–874, 1998.

MAHDAVI, S. A. et al. Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers : A Review Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers : **A Review**. v. 3937, 2014.

MARQUES, M. F. et al. Fortificação de alimentos : uma alternativa para suprir as necessidades de micronutrientes no mundo contemporâneo. **HU Revista**, v. 38, n. 1, p. 79–86, 2012.

MASNADI SHIRAZI, K. et al. Vitamin A supplementation decreases disease activity index in patients with ulcerative colitis: A randomized controlled clinical trial. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 41, n. July, p. 215–219, 2018.

MATIGNON, A.; TECANTE, A. Starch retrogradation : From starch components to cereal products. **Food hydrocolloids**, v. 68, p. 43–52, 2017.

- MENDU, V. V. R.; NAIR, K. P. M.; ATHE, R. Systematic review and meta-analysis approach on vitamin A fortified foods and its effect on retinol concentration in under 10 year children. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 30, p. 126–130, 2019.
- MONEGO, D. L.; DA ROSA, M. B.; DO NASCIMENTO, P. C. Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: A review. **Food Chemistry**, v. 217, p. 37–44, 2017.
- MORAN, N. A.; JARVIK, T. Lateral transfer of genes from fungi underlies carotenoid production in aphids. **Science**, v. 328, n. 5978, p. 624–627, 2010.
- NAMITHA, K. K.; NEGI, P. S. Chemistry and biotechnology of carotenoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 8, p. 1040–8398, 2010.
- NARSAIAH, K. et al. Optimizing microencapsulation of nisin with sodium alginate and guar gum. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 4054–4059, 2014.
- NJANKOUO NDAM, Y. et al. Influence of cultivars and processing methods on the cyanide contents of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its traditional food products. **Scientific African**, v. 5, p. e00119, 2019.
- OTÁLORA, M. C. et al. Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, v. 202, p. 373–382, 2016.
- PACHECO, S., DE OLIVEIRA, R., LUZIMAR, D. S., PASSOS, C., PESSANHA, M., & SANTOS, J. (2011). Adaptação Do Método De Extração De Carotenoides Para Escala De Micro-Extração. *IV Reunião de Biofortificação*, 1, 4.
- PÁRAMO-CALDERÓN, D. E. et al. Tortilla added with *Moringa oleífera* flour: Physicochemical, texture properties and antioxidant capacity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 100, n. April 2018, p. 409–415, 2019.
- PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 36–60, 2013.
- PERRO, A. et al. Self-coacervation of ampholyte polymer chains as an efficient encapsulation strategy. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 548, p. 275–283, 2019.
- PFISTER, B.; ZEEMAN, S. C. Formation of starch in plant cells. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 14, p. 2781–2807, 2016.
- POURASHOURI, P. et al. Impact of Wall Materials on Physicochemical Properties of Microencapsulated Fish Oil by Spray Drying. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 8, p. 2354–2365, 2014a.
- POURASHOURI, P. et al. Oxidative stability of spray-dried microencapsulated fish oils with different wall materials. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 23, n. 6, p. 567–578, 2014b.
- POURMOHAMMADI, K. et al. International Journal of Biological Macromolecules Effects

of sucrose , isomalt and maltodextrin on microstructural , thermal , pasting and textural properties of wheat and cassava starch gel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1935–1943, 2018.

PRIYADARSHANI, A. M. B. A review on factors influencing bioaccessibility and bioefficacy of carotenoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 8, p. 1710–1717, 2017.

RAGHUVANSHI, S. et al. Cellular localization of β -carotene 15,15' oxygenase-1 (BCO1) and β -carotene 9',10' oxygenase-2 (BCO2) in rat liver and intestine. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 572, p. 19–27, 2015.

RAJABI, H. et al. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 327–337, 2015.

REBOUL, E. Absorption of vitamin A and carotenoids by the enterocyte: Focus on transport proteins. **Nutrients**, v. 5, n. 9, p. 3563–3581, 2013.

ROSELL, C. M. **Fortification of Grain-Based Foods**. 2. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2016.

RUTZ, J. K. et al. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v. 202, p. 324–333, 2016.

SAINI, R. K.; SHETTY, N. P.; GIRIDHAR, P. Carotenoid content in vegetative and reproductive parts of commercially grown Moringa oleifera Lam. cultivars from India by LC-APCI-MS. **European Food Research and Technology**, v. 238, n. 6, p. 971–978, 2014.

SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 58–63, 2000.

SCHMITT, C.; TURGEON, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 167, n. 1–2, p. 63–70, 2011.

SHADDEL, R. et al. Double emulsion followed by complex coacervation as a promising method for protection of black raspberry anthocyanins. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 803–816, 2018.

SHENOY, P. et al. Dry mixing of food powders: Effect of water content and composition on mixture quality of binary mixtures. **Journal of Food Engineering**, v. 149, p. 229–236, 2015.

SHETE, V.; QUADRO, L. Mammalian metabolism of β -carotene: Gaps in knowledge. **Nutrients**, v. 5, n. 12, p. 4849–4868, 2013.

SHIGAKI, T. Cassava : The Nature and Uses. In: **Encyclopedia of Food and Health**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2016. p. 687–693.

SILVA, P. A. et al. Obtenção Da Farinha De Tapioca: Parte 1 – Avaliação Do Processo. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 31, n. 1, 2013.

SILVA, B. V.; BARREIRA, J. C. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Natural phytochemicals and

probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 50, p. 144–158, 2016.

SIMI, C. K.; ABRAHAM, T. E. Physicochemical rheological and thermal properties of njavara rice (*Oryza sativa*) starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 24, p. 12105–12113, 2008.

SINGH, N. et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 1–31, 2003.

STINCO, C. M. et al. Effect of high-pressure processing on carotenoids profile, colour, microbial and enzymatic stability of cloudy carrot juice. **Food Chemistry**, v. 299, n. July, p. 125112, 2019.

STOUT, M. A.; PARK, C. W.; DRAKE, M. A. The effect of bleaching agents on the degradation of vitamins and carotenoids in spray-dried whey protein concentrate. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 10, p. 7922–7932, 2017.

TIMILSENA, Y. P. et al. Preparation and characterization of chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 554–563, 2016.

TIMILSENA, Y. P. et al. Advances in microencapsulation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs)-rich plant oils using complex coacervation: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 369–381, 2017.

TIMILSENA, Y. P. et al. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 1276–1286, 2019.

TOZER, S. et al. Aggregate exposure modelling of vitamin A from cosmetic products, diet and food supplements. **Food and Chemical Toxicology**, v. 131, n. January, p. 110549, 2019.

VALENCIA, G.; DJABOUROV, M.; SOBRAL, P. J. Water desorption of cassava starch granules: A study based on thermogravimetric analysis of aqueous suspensions and humid powders. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 533–541, 2016.

VAMADEVAN, V.; BERTOFT, E. Structure-function relationships of starch components. **Starch/Staerke**, v. 67, n. 1–2, p. 55–68, 2015.

VAN HUNG, P. et al. Physicochemical characteristics and in vitro digestibility of potato and cassava starches under organic acid and heat-moisture treatments. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, n. 1, p. 299–305, 2017.

VILLANUEVA-BERMEJO, D. et al. Selective precipitation of phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. extracts by supercritical anti-solvent technique. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 52–58, 2017.

VILLAS-BOAS, F. et al. Influence of molecular structure on the susceptibility of starch to α -amylase. **Carbohydrate Research**, v. 479, n. March, p. 23–30, 2019.

WANG, S.; COPELAND, L. Molecular disassembly of starch granules during gelatinization

and its effect on starch digestibility: A review. **Food & Function**, v. 4, p. 1564–1580, 2013.

WANG, B.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 158, p. 358–365, 2014.

WANG, C. et al. Commercial Potato Starch Standards Cannot Be Used in Place of Cassava Starch Standards when Measuring the Starch Content of Cassava Samples. v. 1800339, p. 1–10, 2019.

WANG, K.; HENRY, R. J.; GILBERT, R. G. Causal Relations Among Starch Biosynthesis , Structure , and Properties. p. 15–33, 2014.

WANG, S. et al. Phase transition and swelling behaviour of different starch granules over a wide range of water content. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P1, p. 597–604, 2014.

WANG, S. et al. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.

WASSEF, L. et al. b -Carotene – Producing Bacteria Residing in the Intestine Provide Vitamin A to Mouse Tissues. **The Journal of Nutrition**, v. 144, p. 608–613, 2014.

WILSON, M. C. et al. Gene expression atlas for the food security crop cassava. **New Phytologist**, v. 213, n. 4, p. 1632–1641, 2017.

YAMASHITA, C. et al. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 256–262, 2017.

ZHANG, Y. et al. Comparative study on the interaction between native corn starch and different hydrocolloids during gelatinization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 136–143, 2018.

ZHU, F. Relationships between amylopectin internal molecular structure and physicochemical properties of starch. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, n. March, p. 234–242, 2018.

ZOBEL, H.F. The terminologia and methodology associated with basic starch phenomena. **Cereal Foods World**, v. 33, p. 306–311, 1988.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta Tese estão apresentados em forma de Artigos Científico submetidos em periódicos de impacto na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

4.1 ARTIGO 1: OBSERVATIONS ON THE FORMATION AND TEXTURAL PROPERTIES OF "TAPIOCAS", A TRADITIONAL CASSAVA-BASED FOOD FROM THE NORTHEAST OF BRAZIL

(Submetido ao periódico **International Journal of Gastronomy and Food Science**. Fator de impacto: 2,186. Qualis: A1).

4.2 ARTIGO 2: A CIÊNCIA DA TAPIOCA: DA GOMA DE AMIDO AO PRODUTO FINAL

(A submeter ao periódico **Food Hydrocolloids**. Fator de impacto: 7,053. Qualis: A1)

4.3 ARTIGO 3: TRADITIONAL TAPIOCA "PANCAKES" FROM THE BRAZILIAN NORTHEAST: ENRICHMENT WITH MICROENCAPSULATED CARROT CAROTENOIDS

(Submetido ao periódico **LWT - Food Science and Technology**. Fator de impacto: 4,006. Qualis A1)

Observations on the formation and textural properties of "tapiocas", a traditional cassava-based food from the northeast of Brazil

Gisleânia Dourado Landim Parente^a, Flora de Almeida Macêdo^a, Natasha Carolina Melo Diniz^a, Marta Maria da Conceição^a, Johan B. Ubbink^b, Ana Luiza Mattos Braga^{a*}

^a Department of Food Science and Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, CEP 58058-600, Brazil.

^b Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, United States

Abstract

"Tapioca" from northeastern Brazil, a starchy pancake-like product based on cassava that is a staple food for much of the regional population, has expanded commercially in recent years and is steadily gaining foothold in the international market as well. Despite its popularity, there are very few systematic studies on tapiocas from the perspective of food science. The objective of this investigation was to propose a definition for tapiocas based on physical and structural characteristics. Tapiocas were prepared by sintering cassava gum samples with a variation in water content between 15 % w/w and 45 % w/w on a hot frypan that was set in the range of 100 °C to 300 °C, for preparation times of either 120 s or 210 s. Post-preparation, the tapioca samples were qualitatively evaluated for structure and cohesivity. Based on these observations, temperature-water content diagrams that delimited the regions of tapioca formation were elaborated. The prepared tapiocas were furthermore evaluated for water content, water activity and instrumental texture. Our results demonstrate that tapioca is a product that has a thin (2-6 mm) slab-like shape with characteristic continuous gelatinous and translucent core, formed by starch that is fully or near fully gelatinized. Both the top and bottom crust of the tapiocas are formed by starch particles that have retained their granularity and are thus not or almost not gelatinized. We observed that the minimum starch water content for tapioca formation, independent of thickness, was 37 % w/w, at temperature equal or above 250 °C. Thick tapiocas

could not be formed at temperatures below 200 °C even at higher starch water content. Tapioca texture parameters including hardness, elasticity, cohesiveness, resilience and cutting force were mainly influenced by cooking time.

Keywords: Tapioca, texture analysis, cassava starch, gel, gelatinization, sintering

1 Introduction

"Tapioca" from northeastern Brazil, a starchy pancake-like product based on cassava that is a staple food for much of the regional population, has expanded commercially in recent years and is gradually gaining foothold in the international market as well. The word tapioca originates from the term *tipi'og*, which in Tupi, an indigenous language of the Northeast of Brazil, means "sediment" (Bacelar and Góis, 1997). It refers to the sedimented starchy mass that is obtained in the process of starch manufacturing. According Bezerra (2005), the word tapioca is translated by the indigenous people as "house bread" (*tapi* = bread and *oca* = house). Its current meaning has thus remained quite coherent to the cultural tradition of family consumption of tapioca. As well as the meaning of the word tapioca, the description of the product that it refers to also has somewhat divergent interpretations. This is in part as there is no universal and officially established definition for the product that we generally recognize as "tapioca". The most extensive discussion of tapiocas, how to prepare them and with what fillings to serve them is currently found on sites and blogs and in social network messaging. These all share several commonalities, namely that tapiocas are from the Brazilian Northeast, are elaborated from hydrated cassava starch (also known as cassava gum) by heating a thin layer on a suitable hot surface. Tapiocas are prepared by sprinkling sifted hydrated cassava gum in a frying pan or on a hotplate, spreading it with the aid of a spoon in order to obtain a layer of starch particles of more-or-less uniform thickness ($\sim 2 - 6$ mm). The elevated temperature induces the partial gelatinization of the starch particles, which start sintering together and, in

the process, form a thin elastic, chewy disk (typical diameter 10 - 15 cm) with a dried, grainy surface and a soft and elastic gelled core, which can be perceived when biting or cutting.

In the context of the food traditions of the Brazilian Northeast, "tapioca" thus refers to the foodstuff, of indigenous origin, that is prepared from cassava starch by partially sintering starch granules under the influence of water and elevated temperatures. It is considered to be one of the foods that most represents Brazilian cuisine. For example, tapioca from Northeastern Brazil is listed as Intangible Heritage of the Historical Site of Olinda in the State of Pernambuco (Gusmão, 2011). The literature also shows that migration of the population, together with tourism and globalization, provided the expansion of cassava-based products to outside of its original region. Currently, tapioca "*crêpes*" are served as the main dish even in a restaurant in France (Picanço, 2017).

Outside of Brazil, the term "tapioca" is used to refer to other types of cassava-based products. For instance, in the Northern region of Brazil, this term is used to name a product in the granular form ready for consumption, produced through the process known as "espocamento" (molding of granules at high temperatures) of hydrated starch. (Shigaki, 2016; Silva et al., 2013; SILVA et al., 2013). In some countries, including the English-speaking world, tapioca flour and tapioca starch that refer directly to cassava starch (Chisté et al., 2012). According to Picanço (2017), cassava and its derived products are of great importance in the socioeconomic development of Brazil, and is now a major staple in many tropical regions in the world, in particular Brazil, West Africa and Southeast Asia. Cassava gum, also known as tapioca gum, is increasingly seen as a staple crop with major opportunity in international markets, and its cultivation, trade and use is stimulated by public agencies and private institutions (Costa et al., 2019).

Not only the restaurant and street food sectors focus on cassava gum and its use in tapiocas. Consumers now have the choice of a wide range of new cassava-based products like

frozen tapioca, tapioca chips, individual portions of tapioca gum, sweet potato and yam tapioca, among others. Those products are mostly produced by small- and medium-sized food companies, while the traditional sifted cassava gum is locally also produced by artisanal manufacturers. Furthermore, recent reports have shown different ways to add value to the basic tapioca "pancake". For example, Almeida (2017) developed and evaluated the characteristics of cassava gum enriched with bioactives from beetroot. Santos, Alves Rodrigues & Gomes (2015), prepared tapiocas containing soluble beetroot extract and analyzed their texture profile and color, while Ferreira et al. (2014) compared the color and sensory response of tapiocas fortified with iron.

However, little is known about the physical-chemical properties of tapiocas and how the its preparation conditions or raw material impact their properties, in particular structure and texture. Texture is a parameter of great importance in food acceptance and liking, and may influence flavor perception (Foegeding et al., 2017; Funami, 2017). The instrumental texture measurement has been widely used by scientists to predict the physical properties of various products including food. This type of analysis can quantify parameters responsible for food characteristics such as hardness, elasticity, cohesiveness, resilience, chewability, among others. Such quantitative insights aid the development of new products (Pozo et al., 2018).

The objective of this study is to propose a specification of the tapioca "pancakes" that are typical of the Northeastern region of Brazil, based on a systematic exploration of the impact of the preparation conditions on the physicochemical properties of the prepared tapiocas. Specifically, we investigated the impact of the water content of cassava starch and the preparation time and temperature of the tapiocas on the sintering and starch gel formation of the cassava starch and on the texture of the prepared tapiocas.

2 Methodology

The native cassava starch used in this research was purchased in a local supermarket in João Pessoa, Paraíba, Brazil. The cassava starch was hydrated by adding different amounts of distilled water to obtain samples with water:starch ratio from 5:100 to 60:100 (w/w). This humidified material was left to equilibrate for 12 hours in a closed plastic container at room temperature (25 – 30 °C). The equilibrated starch was sifted immediately before the cooking process.

2.1 Visual characterization of frypan cooked cassava starch

The visual analysis of the frypan cooked cassava starch samples, including tapioca "pancakes", was performed with pre-hydrated starches (water content of 15 – 45 % w/w) and the cooking performed by varying the initial temperature of the frying pan between 100 °C and 300 °C. For each sample, the degree of conversion of the starch during preparation was assessed using the following scale: 1) free flowing particles, 2) fragile aggregated particles, 3) Bottom surface-sintered particles, 4) sintered surfaces and gelled core, namely tapioca. The results obtained from these tests were expressed in the form of a visual diagram with the corresponding images, which defined graphic regions with the characteristics of the resulting materials after heating, among them, tapiocas with the regular structure and consistency.

2.1.1 Sample preparation

The sifted cassava gum was spread evenly on a heated plate and inside a cylindrical mold (9.5 cm in diameter) in order to obtain tapiocas of defined thickness (2.5 or 5 mm). The amount of cassava gum used was so that the mass/surface area proportions were 0.29 g/cm² or 0.49 g/cm². These two proportions were applied to verify the influence of temperature on the formation of products of different thicknesses. The preparation of the tapiocas was performed at 5 initial frying pan temperatures: 100, 150, 200, 250 and 300 °C. The total time of the

preparation process was fixed at 120 s, i.e. 60 s for each surface of the sample. After the initial 60 s of cooking, the tapioca samples were flipped using a spatula, allowing for a further 60 s of cooking on the other side. The methodology was set up in this way, as it closely mimics commercial practices traditionally used in the preparation of tapioca in the northeastern Brazilian region.

2.2 Physicochemical characterization of tapioca and cassava gum

The physicochemical characterization of cassava gum and tapioca was performed through analyses of water content, water activity, color and instrumental texture. The texture investigation of tapiocas was conducted by varying the cassava gum water content, the initial plate temperature and the cooking time.

During the preparation of each tapioca sample, temperature measurements were performed every 20 s using an Instrutherm high temperature infrared thermometer, model TI-870. Water loss during the cooking process was calculated by dividing the mass of water lost in drying by the initial gum mass in the cooking process. The preparation conditions of the samples are summarized in Table 1.

Table 1. Preparation conditions of the tapioca samples

Samples	Cassava starch water content (% w/w)	Preparation temperature (°C)	Preparation time (s)
1	41	200	120
2	45	200	120
3	41	300	120
4	45	300	120
5	41	200	210
6	45	200	210
7	41	300	210
8	45	300	210

2.2.1 Water content and water activity analysis

The water content of the cassava gum and the tapiocas samples that were prepared according to the conditions listed in Table 1 was determined using the methodology described in AOAC (2016). The water activity of the samples was determined at 25 °C using a Dew Point Water Activity Meter 4 TeV (Aqua-lab, Pullman, United States). Both water content and water activity analyses were performed in triplicate and the results presented as mean and standard deviation.

2.2.2 Color determination

The sample color was determined using a Color-Eye 2180 electronic colorimeter (GretagMacbeth, Martinsried, Germany) following to the methodology described by Pathare et al. (2013). Values for luminosity L^* , a^* and b^* parameters as defined in the CIELAB color space were experimentally determined. Next, the chromaticity C^* was calculated using Equation 1. Negative values for a^* and b^* indicate green and blue colors, while positive values indicate red and yellow colors, respectively. For cassava gum, a sample containing 45 % water was taken for measurements, while for tapioca, it was a sample prepared at 200 °C for 120 s.

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

2.2.3 Texture analysis

Texture analyses were performed using a CT3 Texture Analyser (Brookfield Engineering Labs, Middleboro, USA). The temperature of tapiocas during testing was maintained between 40 °C and 45 °C. In all texture tests, for each tapioca sample at least 6 repetitions were performed, and the mean and standard deviation were calculated.

For the shear test, the tapioca samples were cut in rectangular shapes of 50 mm by 30 mm. A TA7 acrylic knife-edge sample probe (width of 60 mm) was used. It was applied a test

speed of 2.0 mm/s and a displacement of 4 mm after initial contact of the probe with the sample. The shear force value for each sample was obtained at a displacement of 3.5 mm. For several of the less elastic samples, this was close to the fracture point of the samples.

The texture profile test (TPA) was performed in two different regions of the same tapioca sample, which were 2 cm distant from the sample edge. A cylindrical acrylic probe (TA-10) of 12.7 mm diameter was used. Tapioca samples were submitted to a double compression cycle with 80% deformation, at a test speed of 1 mm/s and with a set waiting time of 5 s after probe return and before starting the second cycle, according to Bourne (2002). The texture parameters of hardness, elasticity index, cohesiveness and resilience were calculated according to Fig. 1 by the application program provided with device (Texture Expert for Windows, version 1.19).

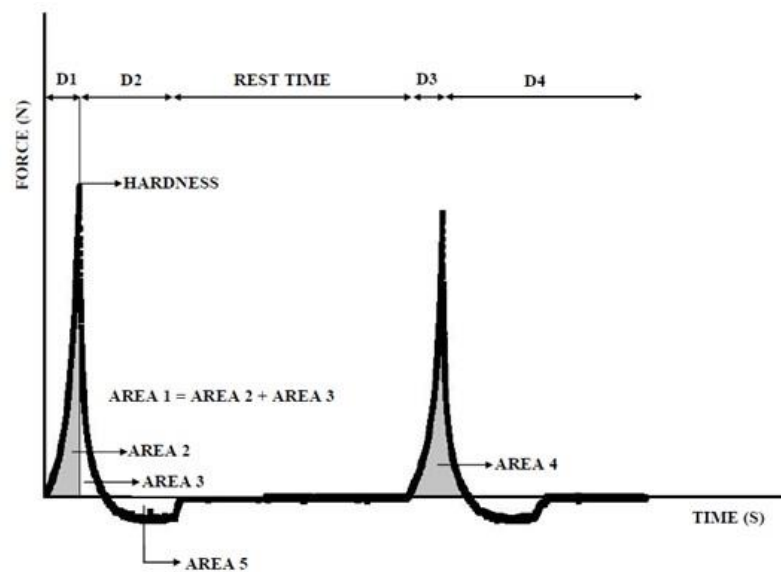


Fig. 1. Typical schematic curve of cassava starch gel obtained through texture profile analysis according to the above method. D1 - 1st compression; D2 - 1st return; D3 - 2nd compression,

D4 - 2nd return. Springiness = $D3 / D1$; Resilience = $(\text{Area } 3) / (\text{Area } 2)$; Cohesiveness = $(\text{Area } 4) / (\text{Area } 1)$; Adhesiveness = Area 5.

2.3 Statistical analysis

The water content results of the tapioca samples and the texture data were statistically analyzed with the Tukey test at the level of 95 % significance, with the aid of the Program R studio version 1.2.1335 (RStudio, Inc., Boston, EUA).

3 Results and discussions

3.1 Preparation conditions for tapioca

The cassava starch used as raw material for the preparation of cassava gum and tapioca samples had a water content of 12.1 ± 0.1 % w/w and a water activity of 0.59 ± 0.01 at 25 °C. Brazilian legislation regulates the identity and quality of starch products derived from cassava, establishing a maximum water content value of 14 % (BRASIL, 2005); hence, the raw material was within legal specifications. Almeida (2017) characterized the same batch of cassava starch used in the present study, but after adding 31 % of water. The values found were 39.04 ± 0.22 water content (wt), 0.09 ± 0.01 ash, 0.43 ± 0.09 protein, 0.15 ± 0.03 fat and 59.28 ± 1.12 starch.

Fig. 2. shows visual diagrams that define the range of cassava starch water content (Swc) and the initial frying pan temperature needed for producing tapioca at two different thicknesses (2.5 and 5 mm). Both diagrams show 4 regions, and tapioca can be formed only in the region indicated by the triangle (▼). When cassava starch is hydrated with less than 37 % water it is not possible to obtain tapioca, at any preparation temperature, instead the resulting materials are free flowing starch particles or only limited sintered and aggregated. Table 2 shows the

images that illustrates the materials obtained at the conditions stated in each region of Fig. 2. A classification was performed according to the material visual characteristics.

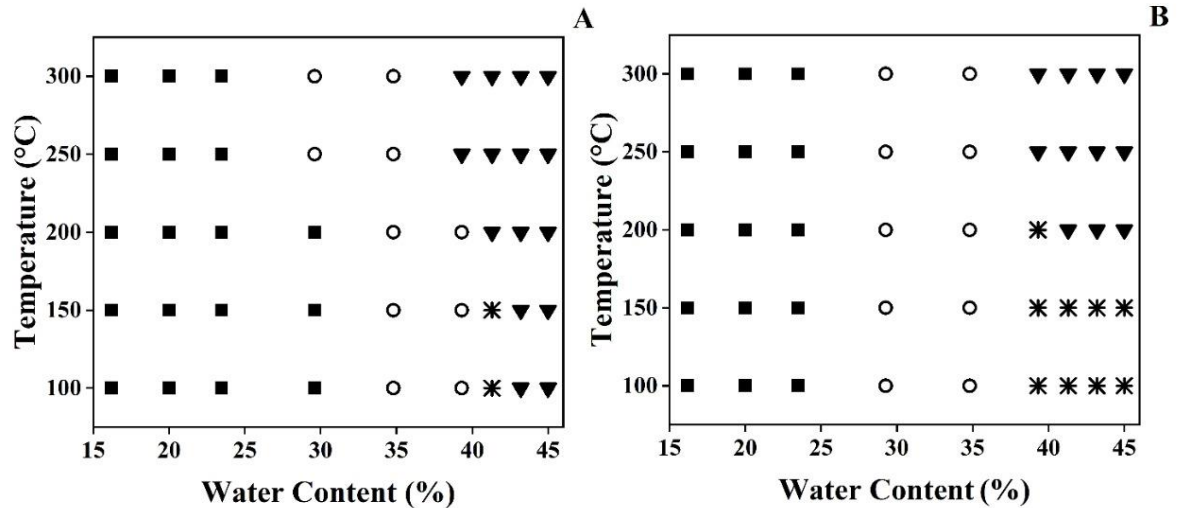


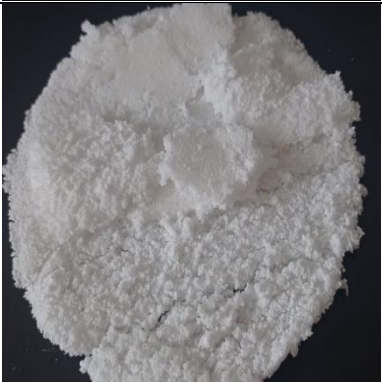
Fig. 2. Visual diagrams showing the type of material formed after cassava starch frying pan cooking at different water content and initial temperature for 120 s cooking time. The data are derived from visual observations on cassava starch samples after heat preparation. (A) Ratio 0.29 g / cm² (2.5 mm thick samples) (B) Ratio 0.49 g / cm² (5 mm thick samples). ■: Free flowing particles; ○: Fragile particle aggregates; *: Samples with particles sintered at the bottom surface only; ▼: Samples with gelled cores and sintered surfaces (i.e. the regular tapioca structure and texture).

For low cassava gum water contents, between 16% w/w and 27 % w/w (Fig. 2), the product is still a free-flowing powder (Table 2) at the end of the preparation step, with very limited or even negligible agglomeration or sintering of the starch particles. This was observed for preparation temperatures and for both sample thicknesses. Fragile particle agglomerates, with a limited degree of particle sintering (Table 2) were obtained after preparation when the water content of the cassava gum ranged from 29.5 % w/w to 37 % w/w (Fig. 2). For samples in this range of water contents, a different behavior was observed for the thick and the thin samples. While the fragile agglomerates were formed at all tested preparation temperatures for the thicker samples (Fig. 2B), for the thinner samples, a cooking temperature of at least 250 °C was needed to induce starch aggregation for the lowest water content (29.5 % w/w) in this water content range (Fig. 2A). This can be explained as a result of the competition between the

230 aggregation and sintering processes of the granules, which require a certain minimum water
 231 content, and the drying kinetics of the sample.

232

233 Table 2. Classification and description of the characteristics of the final products, after heat
 234 preparation of cassava starch at different water content

Classification	Description of the characteristics	Image
Free flowing particles	Free-flowing particles, white color, no visible aggregation of the starch granules.	
Fragile aggregated particles	White fragile material formed by the aggregation of starch granules, with limited gelation and without formation of a continuous slab-like structure.	
Bottom surface-sintered particles	Starch is sintered and forms continuous slab with a clearly identifiable crust and core. - Bottom surface: continuous, dry white crust formed by the partial sintering of starch granules. - Core: partially gelled combined with non-sintered particles. - Top surface: fragile starch aggregates	
Sintered surface with gelled core	Material in the form of continuous, elastic slab with clearly identifiable crust and core. - Surface: white, dry, continuous crusts with significant residual granularity. - Core: translucent gelled material formed by fully gelatinized starch.	

(Tapioca diameter: 8.5 cm)



(Cross-sectional image)

The region of the diagram that are indicated by the asterisk symbols (*) represents the conditions in which the bottom surface (first in contact with frypan) is composed of sintered particles, the top surface by large aggregates, while the core is composed by partially gelled starch and partially free flowing starch particles. So, the material was classified as bottom surface-sintered (Table 2) The region in the tapioca formation diagram where this type of aggregate is formed is more extended for the thicker samples, in particular for the lower temperatures. This is caused by the slower heat penetration into the thick samples, allowing for insufficient agglomeration and sintering time in the core of the samples.

Formation of the regular tapioca structure and texture with the gelled core and partially granular, dry surfaces (Table 2) was observed for samples with water contents between 37 % w/w and 45 % w/w (represented by the triangles (▼) in Fig. 2). Visual observations revealed that the surface that had the first direct contact with the hot frying pan exhibited a smooth surface, while in the upper crust, shown in Table 2, the material proved irregular and rough. The precise extent of the water content regime allowing tapioca formation was however dependent on both sample thickness and the preparation temperature. Our results show that, for the formation of the thinner tapiocas (2.5 mm thickness), it is necessary that the water content of the cassava gum is at least 37 % w/w for the preparation temperatures that are 250 °C or above. When the water content is increased to a water content of 41 % w/w water content, the preparation temperature can be decreased to 200 °C. The trend towards lower preparation temperatures with increasing water content continues: For water contents between 43 % w/w

and 45 % w/w, the minimum preparation temperature decreases to 100 °C can be used to obtain tapioca.

The granules of hydrated starch, when subjected to heating, go through the process of gelatinization producing a gelatinous material (Jenkins and Donald, 1998). During gelatinization, water is first absorbed into the amorphous layers in the starch granule, that is organized as a sequence of concentric layers of alternating amorphous and crystalline starch layers, leading to an initial leaching of starch amylose chains. At water contents higher than about 35 % w/w, this water uptake and amylose leaching is immediately followed by the melting of the crystalline layers of the starch granules. Liberated from the internal constraints posed by the more rigid crystalline structures, the starch granule can now swell and, upon further loss of its constituent amylose and amylopectin molecules, will finally fully disintegrate, forming a homogenous amorphous starch mass. Under the appropriate conditions of water content and temperature, this process can proceed to (near) completion in the core of the tapiocas, whereby the characteristic continuous gel-like inner matrix is formed (cross-sectional image in Table 2).

For the formation of the thicker tapiocas (5 mm thickness), it was observed that the water content and temperature regime for which the regular tapioca structure and texture was obtained was more constrained, in particular with respect to the preparation temperature. In our setup, we observed that the regular tapioca structure and texture was obtained for water contents higher than 37 % w/w to 39 % w/w at preparation temperatures of 250 °C and higher, and for water contents between 41 % w/w and 45 % w/w for preparation temperatures higher than 200 °C. As we argued above, the impact of the thickness on the tapioca formation is likely caused by differences in the rates of heating the core of the sample, which is slower for the thicker samples. Then leads to a subtle balance between the heating up and water evaporation; this

latter effect apparently being less influenced by the thickness of the loosely packed bed of cassava starch particles.

Fig. 3 provides information on the heating kinetics during the preparation of the thicker tapioca samples. We observe that samples cooked at temperature of 300 °C reached the temperature of 88 °C on the upper surface of tapioca in 35 s, while the other samples took a significantly longer time (55-60 s) to reach this surface temperature. Jenkins and Donald (1998) have shown that the complete gelatinization of 40% tapioca starch solution occurs at 88 °C. At a cooking time of 60 s, samples cooked for shorter time (total time of 120 s) were turned. For the other samples, the surface temperature of the material reached at turning point was between 105 - 125 °C. This means that those samples have very dry starch particles at the upper surface, which were more difficult to gelatinize, thereby explaining why the surface is staying in only partially gelatinized, granular state.

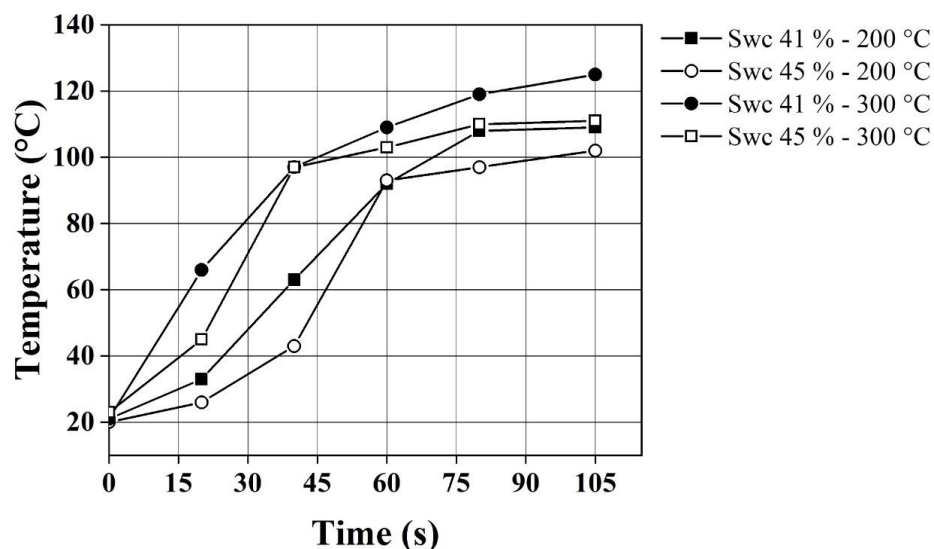


Fig. 3. Heating curve of the tapioca surface during preparation. The nomenclature Swc stands for Starch water content.

A critical application from our results is that it provides a systematic basis to standardize cassava gum for proper tapioca formation. Furthermore, the information contained in the diagram provides industry with a quantitative basis to explore innovations in gum products

fortified with other ingredients. Based on the diagrams, they can for instance preblend dry cassava starch with other components, such as nutrient mixes, flavoring systems or colorants, and then add water in the correct amounts to provide for the desired cooking behavior.

3.2 Physicochemical characterization of tapioca

The analysis of the physicochemical properties of the tapiocas, we have restricted ourselves to the regime in which the regular tapioca structure and texture are obtained (Fig. 2). This are starch blends at water contents between 41 % w/w and 45% w/w, for preparation temperatures of 200 °C and higher for 120 s or 210 s.

The color parameters for cassava gum and the prepared tapiocas are listed in Table 3. We observed that the color of the tapiocas is very similar to the initial cassava starch. The luminosity values were between 82 and 85, which represents a very light material (Claude and Ubbink, 2006). A chromaticity value that is close to zero indicates a very low color saturation, i.e. the color of the tapioca samples may almost fully be expressed in terms of a grey scale. These values are similar to those presented in previous studies of tapioca enriched with iron (Ferreira Batista, Silva, Nascimento & Braga, 2014). Overall, we conclude that very little chemical degradation leading to the formation of colored compounds took place during tapioca preparation.

Table 3. Color parameters for cassava gum (45 % of water) and prepared tapioca at 200 °C for 120 s.

Samples	L*	a*	b*	C*
Cassava gum	83 ± 1.5	0.18 ± 0.01	0.51 ± 0.08	0.54 ± 0.07
Tapioca	85.52 ± 0.06	0.72 ± 0.01	2.92 ± 0.02	3.00 ± 0.02

* Values are mean ± SD (n = 3). Each replication consisted of 3 independent measurements.

Table 4 lists the values of the water activity and water content of tapioca samples, as well as the calculated water loss during its preparation under different conditions. The water content of the tapiocas at the end of the process ranged from 32.8 % w/w to 37.7 % w/w, which is similar to other starchy products such as bread (Gül et al., 2018; Martins et al., 2018; Messia

et al., 2016). The water activity at 25 °C of all tapiocas ranged from 0.93 to 0.97, a value lower than that obtained for the cassava gums used, which was 1.00. The water loss during preparation was mainly impacted by the initial water content of the cassava gum. Keeping constant the preparation time at 120 s and temperature (200 or 300 °C), tapiocas prepared from a cassava gum with 45 % water content showed nearly twice water loss than the samples with 41 % initial gum water content. The same trend was observed for tapiocas prepared for 210 s, but with less impact in the water loss (Table 4). Since the preparation temperature, and thus the faster heating kinetics, was not the main variable affecting water loss, we can suggest that the change in the characteristic of the tapioca matrix from powder to gel does not seem to influence greatly on the water loss of this product.

Table 4. Tapioca samples water activity at 25 °C, water content and the water loss during preparation of the tapioca.

Tapioca Preparation Conditions			Water activity (at 25 °C)	Water content (%, w/w)	Water loss (%)
Cassava gum water content (%)	Temperature (°C)	Time (s)			
41	200	120	0.96 ± 0.01 ^{cd}	36.8 ± 0.1 ^e	6.0 ± 0.1 ^a
45	200	120	0.97 ± 0.01 ^d	37.7 ± 0.1 ^f	11.2 ± 0.1 ^d
41	300	120	0.95 ± 0.01 ^{bc}	36.1 ± 0.2 ^d	7.0 ± 0.3 ^b
45	300	120	0.95 ± 0.01 ^{bc}	36.1 ± 0.1 ^d	13.4 ± 0.1 ^e
41	200	210	0.95 ± 0.01 ^b	34.7 ± 0.1 ^b	9.0 ± 0.2 ^c
45	200	210	0.93 ± 0.01 ^a	34.9 ± 0.1 ^b	15.5 ± 0.2 ^g
41	300	210	0.93 ± 0.13 ^a	32.8 ± 0.3 ^a	11.5 ± 0.5 ^d
45	300	210	0.94 ± 0.01 ^a	35.3 ± 0.1 ^c	14.6 ± 0.1 ^f

*Water loss: during the preparation of the tapioca. The different lowercase letters (a, b, c, d, e, f, g) indicate significant differences ($p < 0.05$) for each parameter, between the tapioca samples presented per column.

3.3 Texture analysis

Fig. 4 shows the shear force as a function of indentation distance for tapioca samples in the simulated instrumental shear-cutting test. The cutting test simulates the shear cutting force exerted by the incisor teeth at the time of the bite or a knife when cutting the product (Bourne, 2002). The test provides data on the force necessary to shear the surface of the tapioca, that is,

primarily on the characteristics of its crust. It was possible to identify two major behaviors, the one of an elastic material, characteristic of polymeric gel, and a second one typical of a dry and breakable material (Fig. 4B). The main parameter that influenced the results was the cooking time. At low cooking time (120 s) all samples showed an elastic behavior (Fig. 4A) and a convex-shaped curve. For samples cooked at 300 °C, the force increased at a faster rate for the same indentation displacement, which means that those tapiocas withstand higher energy level before rupture. Samples prepared at the highest temperature (for 120 s) were far from the boundaries of tapioca region in Fig. 2A, and thus showed a completely gelatinized core. Although the shear-cutting test assess the crust mechanical behavior, our results showed a response typical of the gel material from the core. This was probably because the tapioca crust was very adhered to the gel as indicated in the cross-sectional image of Table 2.

Samples prepared for 210 s showed two types of behavior. For samples prepared at 200 °C it was also observed the convex curve behavior, which was even steeper (Fig. 4B). At 300 °C (Fig. 4B) tapioca samples had texture profile of a dry and breakable material. A rupture point, close to the indentation distance of 3.5 mm, can be observed. Regarding visual observations, these samples presented a crust less adhered to the gelled core when compared to the other samples. Thus, the profile of these samples in Fig. 4 does not resemble the one of an elastic polymer, which was here associated to the core gel behavior, but represent indeed the crust behavior.

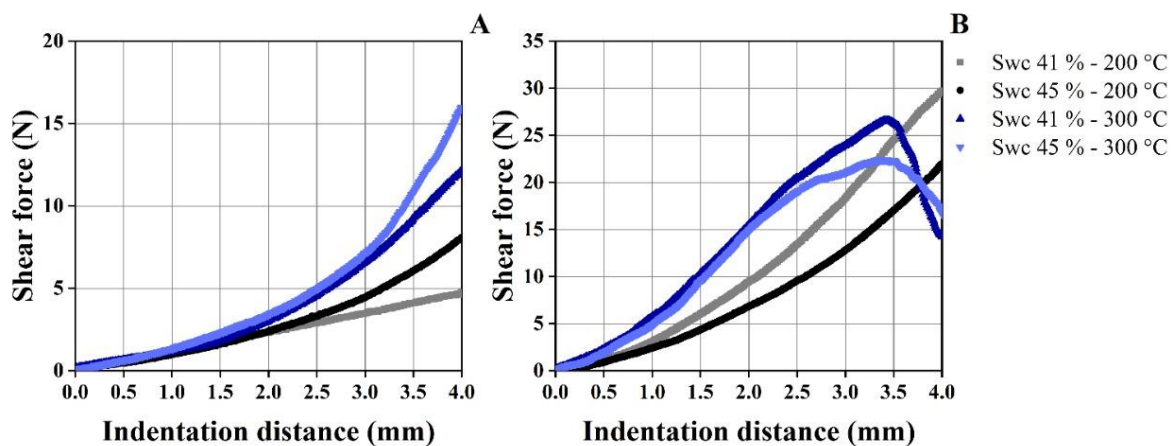


Fig. 4. Shear force profile as a function of indentation distance in a shear cutting test of the different tapioca samples determined by the texture analyzer. The nomenclature Swc stands for starch water content.

Fig. 5 shows time-force curves from TPA test for tapiocas that were prepared with different cooking times: 120 s (Fig. 6A) and 210 s (Fig. 6 B). Those samples were chosen to represent the profiles of the other samples prepared for the same time (120 or 210 s). All profiles showed absence of the peak relative to the material's adhesivity. In low cooking time, it is observed that the maximum force to compress the product in both cycles is quite high. However, the area under the curve of cycle 2 was notoriously smaller than that of cycle 1. This demonstrates that in the second cycle there was less energy expenditure to compress the material. On the other hand, samples prepared during 210 s (Fig. 5B) showed mostly very low compressive force, but almost no disintegration was observed after the first cycle, which means that the areas of the first and second cycles were very close.

The profile also indicates that the elasticity of the materials is different. Samples prepared for 210 s showed distances between the beginning of the peak and its maximum similar for the two cycles, demonstrating an almost complete recovery of the material. On the other hand, tapiocas prepared for 120 s presented a much lower distance value in the second cycle when compared to the first cycle.

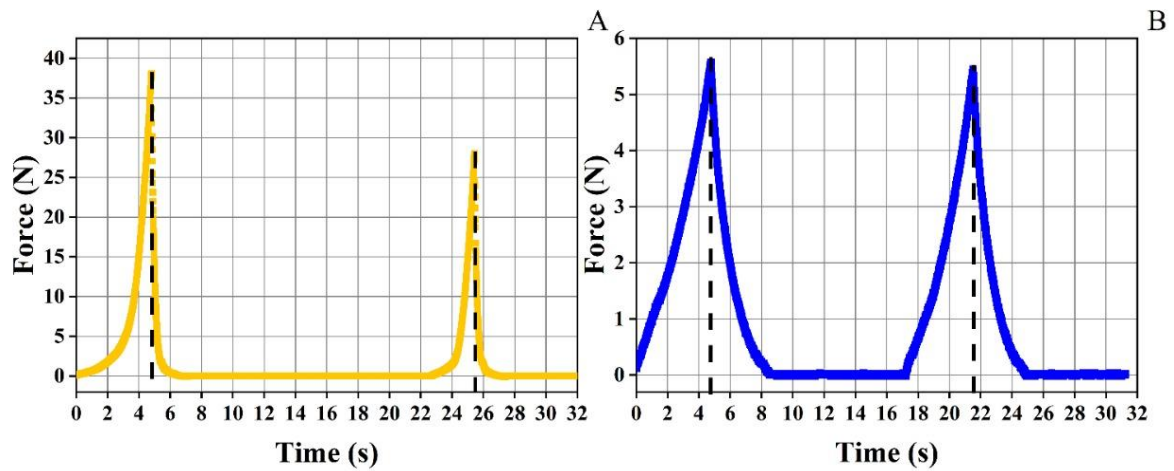


Fig. 5. TPA curves for tapioca samples for different preparation times. A) Preparation time of 120 s and temperature of 300 °C, starch water content of 41 % (w/w) ; B) Preparation time of 210 s and temperature of 200 °C, starch water content of 45 % (w/w).

Table 5 shows the mean and standard deviation of the values obtained by instrumental texture analysis and Fig. 6 shows the effect of tapioca preparation time on the texture parameters.

Table 5. Mean and standard deviation values of texture parameters

Samples	Shear force (N)	Hardness (N)	Cohesiveness (-)	Springiness Index (-)	Resilience (-)
1	4.1 ± 0.9 ^a	35.1 ± 0.7 ^c	0.49 ± 0.03 ^a	0.54 ± 0.07 ^a	0.18 ± 0.02 ^a
2	5.7 ± 0.4 ^a	49 ± 3.4 ^d	0.57 ± 0.06 ^{ab}	0.58 ± 0.01 ^a	0.15 ± 0.01 ^a
3	9.3 ± 5.4 ^{ab}	37 ± 0.8 ^c	0.47 ± 0.01 ^a	0.55 ± 0.05 ^a	0.19 ± 0.06 ^a
4	10 ± 1.4 ^{ab}	48 ± 3.5 ^d	0.53 ± 0.01 ^a	0.60 ± 0.02 ^a	0.17 ± 0.02 ^a
5	26 ± 4.7 ^c	5.4 ± 0.9 ^a	0.78 ± 0.04 ^c	0.87 ± 0.05 ^b	0.47 ± 0.06 ^{bc}
6	15.4 ± 0.8 ^b	55 ± 5.9 ^e	0.58 ± 0.04 ^{ab}	0.54 ± 0.06 ^a	0.20 ± 0.01 ^a
7	27 ± 1.7 ^c	8.8 ± 1.2 ^{ab}	0.81 ± 0.05 ^c	0.92 ± 0.02 ^b	0.56 ± 0.03 ^c
8	24 ± 2.8 ^c	9.3 ± 0.6 ^{ab}	0.75 ± 0.04 ^c	0.78 ± 0.10 ^b	0.38 ± 0.06 ^b

* Values are reported as the mean ± standard deviation (n = 3). Each replication consists of 3 independent measurements.

**Different letters in the same line show significant differences by the Tukey test (p < 0.05).

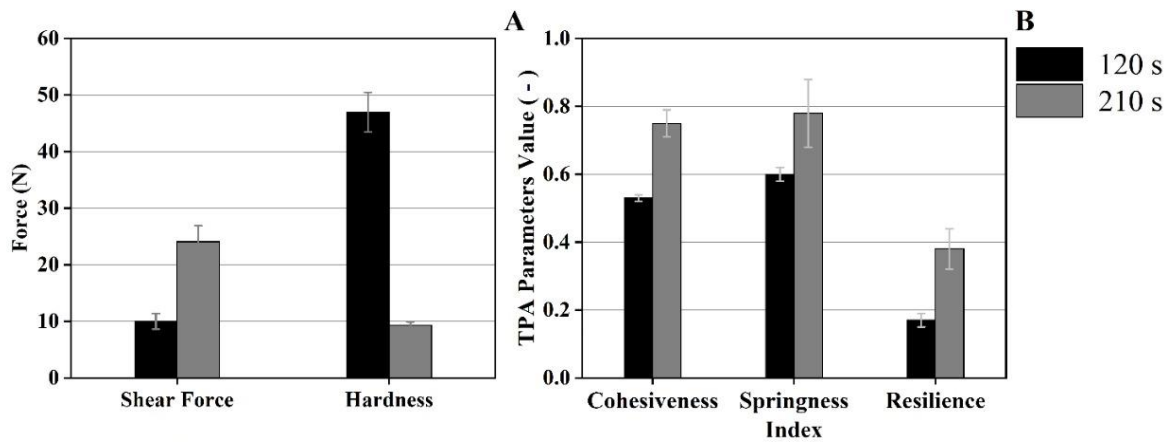


Fig. 6. Effect of tapioca preparation time on texture parameters values. A) Shear-cutting test and Hardness-TPA results; B) TPA parameters. Tapioca samples were prepared for 120 or 210 s at 300 °C and 45 % of starch water content.

Samples prepared for shorter time presented lower cutting shear force (4 – 10 N) than tapiocas prepared for 210 s (15 – 27 N). For longer cooking times, except for sample 6, tapiocas presented a much lower hardness (5-10 N) than in low preparation times (35-50 N). In general, tapiocas presented cohesiveness values of approximately 50 % for samples prepared during low time and approximately 75 % for formulations with cooking time of 210 s (Fig. 6). As cohesiveness indicates the rate that a material disintegrates under compression (Chandra and Shamasundar, 2015) tapiocas prepared during 120 s (low time) although harder, disintegrated more easily from the second compression onward.

Tapioca gels prepared during 210 s showed a high springiness index, with values close to 80-90 % return of the original height, except for sample A6. Zhang et al. (2017) also observed an elasticity rate of 90 % in tapioca gels (10 % starch). On the other hand, tapioca core gels of samples prepared for low time presented springiness index between 0.5 and 0.6, showing that they returned to approximately half of the original height. The resilience values for most samples prepared during 210 s were intermediate (0.38 - 0.56). While the other samples presented resilience of approximately 0.20, corroborating with the springiness results.

Thus, tapiocas and their gels prepared with the longer cooking time displayed a higher elasticity, with lower levels of disintegration rate in the subsequent cycle, requiring a higher

compression energy (chewing), despite presenting softer characteristics in compression by normal force, which mimics the chewing of molar teeth. As soon as core is fully gelatinized, further cooking only leads to additional dehydration of the core and an increase of its mechanical properties, in line with the lower water contents that are reported in Table 4 for tapiocas that are prepared under these conditions.

4 Conclusions

For the first time, we report a physicochemical definition of tapioca "pancakes" as traditional to the Northeast of Brazil in the scientific literature. Tapioca is a cassava-based sintered product that is characterized by a crystalline to amorphous transition in its preparation, and that includes a degree of sintering that varies between core and crust depending on a sensitive balance between the rate of heating, rate of water evaporation, gelatinization of starch and the viscous formation of the sintered structure. The results showed that a minimum of 37 % starch water content is needed to form tapiocas. Tapiocas have a translucent, fully gelatinized core that is elastic as well high cohesive, and crusts that retain to a significant degree the granular structure of the original cassava starch. Thick tapiocas could only be prepared at temperatures higher than 200 °C, while thin tapiocas can be prepared even at 100 °C, if cassava starch has at least 43 % of water content. Tapiocas prepared for 210 s were more resistant at cutting, more elastic, but softer under compression, in instrumental test, than those prepared for the shorted preparation time. Also, the combination of longest time and highest temperature produced tapiocas with breakable crust. Therefore, the texture of tapiocas seems to be mainly influenced by the cooking time. Therefore, for a consumer better food experience, during tapioca commercialization it should be posed a question regarding the wished main texture characteristics, which could be attained by controlling the tapioca preparation time.

Acknowledgements

The authors acknowledge the Science, Technology and Innovation Ministry (MCTI) of Brazil for financial support through the program CVTSAN-UFPB and the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Brazil.

References

- Almeida, E.G. de, 2017. Desenvolvimento de goma de mandioca colorida com bioativos da beterraba (*Beta Vulgaris*). Graduação. Universidade Federal Da Paraíba - UFPB. <https://doi.org/https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15714>
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 2016. Official methods of analysis of 384 the Association of Official Analytical Chemists 20th ed. Rockville: A.O.A.C.
- Bacelar, L.N., Góis, M.L. de S., 1997. A produtividade do léxico tupinambá no português do Brasil. *Signótica* 9, 105–117.
- Bezerra, C., 2005. Dos Passos de gazela de Iracema ao rastro do capital: o cotidiano das(os) tapioqueiras (os) de Messejana-Fortaleza- CE. Universidade Federal do Ceará - CE, Brasil.
- Bourne, M.C., 2002. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement, 2nd ed. Elsevier Science & Technology Books, Geneva, New York.
- Brasil (2005). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 23, de 14 de dezembro de 2005. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Amiláceos Derivados da Raiz de Mandioca Diário Oficial República Federativa do Brasil, Brasília.
- Chandra, M. V., Shamasundar, B.A., 2015. Texture profile analysis and functional properties of gelatin from the skin of three species of fresh water fish. *Int. J. Food Prop.* 18, 572–584. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.845787>
- Chisté, R.C., Silva, P.A., Lopes, A.S., da Silva Pena, R., 2012. Sorption isotherms of tapioca flour. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 870–874. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02900.x>
- Claude, J., Ubbink, J., 2006. Thermal degradation of carbohydrate polymers in amorphous states: A physical study including colorimetry. *Food Chem.* 96, 402–410. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.003>
- Costa, C. de O.C., Moreira, V.F., França, D.C., Pereira, Y.V., 2019. Internacionalização da goma de tapioca brasileira. *Rev. Raunp* 11, 22–39. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21714/raunp.v11i1.188>
- Ferreira Batista, J., Silva, R.T., Nascimento, M.K., Braga, A.L., 2014. Feasibility study for fortification of Tapioca regional food with iron microparticles, in: 2nd Latin-America Symposium on Encapsulation - Bioencapsulation - Research Group. João Pessoa - PB,

- 488 Brasil, pp. 198–199.
- 489 Foegeding, E.A., Stieger, M., van de Velde, F., 2017. Moving from molecules, to structure, to
490 texture perception. *Food Hydrocoll.* 68, 31–42.
491 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.009>
- 492 Funami, T., 2017. In vivo and rheological approaches for characterizing food oral processing
493 and usefulness of polysaccharides as texture modifiers- A review. *Food Hydrocoll.* 68, 2–
494 14. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.020>
- 495 Gül, H., Haylt, F., Acar, C., Kurt, N., Dizlek, H., 2018. Effects of Chickpea-Based Leavening
496 Extract on Physical, Textural and Sensory Properties of White Wheat Bread. *Int. J. Food*
497 *Eng.* 14, 1–11. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2017-0348>
- 498 Gusmão, F.M.B. de, 2011. Empoderamento e Preservação do Patrimônio Cultural O Caso do
499 Programa de Recuperação e Revitalização de Núcleos Históricos Projeto Piloto Olinda /
500 PE , 1981-1989 . Universidade Federal de Pernambuco.
- 501 Jenkins, P. J., & Donald, A. M., 1998. Gelatinisation of starch: a combined SAXS/WAXS/DSC
502 and SANS study. *Carbohydrate research*, 308(1-2), 133-147.
- 503 Martins, Z.E., Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., 2018. Impact of new ingredients obtained from
504 brewer's spent yeast on bread characteristics. *J. Food Sci. Technol.* 55, 1966–1971.
505 <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3107-0>
- 506 Messia, M.C., Reale, A., Maiuro, L., Candigliota, T., Sorrentino, E., Marconi, E., 2016. Effects
507 of pre-fermented wheat bran on dough and bread characteristics. *J. Cereal Sci.* 69, 138–
508 144. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.03.004>
- 509 Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour Measurement and Analysis in
510 Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60.
511 <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- 512 Picanço, M. de N.B., 2017. Comida, consumo e identidade: notas etnográficas por entre os
513 processos migratórios da mandioca; do contexto brasileiro e paraense ao contexto europeu.
514 *Mosaico* 8, 203. <https://doi.org/10.12660/rm.v8n13.2017.70658>
- 515 Pozo, M., Armijo, F., Maraver, F., Manuel, J., Corvillo, I., 2018. Applied Clay Science Texture
516 profile analysis (TPA) of clay / seawater mixtures useful for peloid preparation : E ff
517 ects of clay concentration , pH and salinity 165, 40–51.
518 <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.08.001>
- 519 Santos, D. da C., Alves, I. da S., Rodrigues, L.M. de S., Lisboa, J.F., Gomes, J.P., 2015. Extrato
520 hidrossolúvel de beterraba texture profile and colorimetry of tapiocas hydrated with water-
521 soluble extract of beet, in: Congresso Técnico Científico Da Engenharia e Da Agronomia
522 CONTECC' 2015. CONTECC, Fortaleza-CE, Brasil, pp. 1–4.
- 523 Shigaki, T., 2016. Cassava : The Nature and Uses, in: *Encyclopedia of Food and Health*.
524 Elsevier Ltd., pp. 687–693. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00124-0>
- 525 Silva, Cunha, R.L., Lopes, A.S., Pena, R.D.S., 2013. Caracterização de farinhas de tapioca
526 produzidas no estado do Pará. *Ciência Rural* 43, 185–191. <https://doi.org/10.1590/S0103->

527 84782012005000130

528 SILVA, P.A., CUNHA, R.L., LOPES, A.S., PENA, R.D.S., 2013. Obtenção Da Farinha De
529 Tapioca: Parte 1 – Avaliação Do Processo. Bol. do Cent. Pesqui. Process. Aliment. 31.
530 <https://doi.org/10.5380/cep.v31i1.32659>

531 Zhang, X., Li, R., Kang, H., Luo, D., Fan, J., Zhu, W., Liu, X., Tong, Q., 2017. Effects of low
532 molecular sugars on the retrogradation of tapioca starch gels during storage. PLoS One 12,
533 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190180>

A ciência da tapioca: da goma de amido ao produto final

Gisleânia Dourado Landim Parente^a, Isaque Jeronimo Porto^a, Marta Maria da Conceição^a, Sandro Marden Torres^a, Johan B. Ubbink^b, Ana Luiza Mattos Braga^{a*}

^a Department of Food Science and Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, CEP 58058-600, Brazil.

^b Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, United States

Resumo

Objetivo deste artigo foi analisar as transformações ocorridas em misturas com elevadas concentrações de amido nativo de mandioca. Sistemas de amido concentrado (40-85 %) foram inseridos em um processo padronizado, inspirado na elaboração do produto alimentício típico do nordeste brasileiro, a tapioca. Para tanto, foi realizado teste de distribuição de tamanho partículas, microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise de difração de raio X (DRX) e do amido nativo de mandioca e do material formado após o tratamento térmico. Além disso, desenvolveu-se uma metodologia para estudo reológico de pasta com alta concentração de amido (40 – 60 % p / p). os resultados mostraram que as amostras de amido hidratado exibem elevado teor de atividade de água (0,775 - 0,997) e umidade (15,81 a 42,84 % b.u), o que caracteriza a goma de de mandioca um produto perecível. O amido de mandioca com alta concentração de amido (85 – 40 % p / p) inserido em um processo térmico, forma material com diferentes características físicas dependendo da proporção amido:água. As imagens de microscopia eletrônica d varredura mostraram exatamente o momento em que os grânulos se rompem (65 % de amido), além da presença de material com aspecto coeso e contínuo provavelmente formado pelo processo de gelatinização (65 - 40 % de amido). Também foi observado perda da

cristalinidade dos grânulos de amido hidratados após tratamento térmico em proporções acima de 65 % de amido. Por fim, este estudo apresentou dados ainda não publicados em reação a reologia de sistemas com alta concentração de amido e propõe a aplicação de uma nova metodologia para obtenção de informação científica dentro da perspectiva reológica de materiais amiláceos.

Palavras-chave: amido de mandioca, produto amiláceo, tapioca, propriedades reológicas

1. Introdução

O amido é um polímero na forma granular sintetizado no interior dos plastídios de grãos, raízes e tubérculos. Exibe uma conformação molecular semicristalina, composta por cadeias lineares de amilose (região amorfa) e cadeias ramificadas de amilopectina (região cristalina), ambas formadas por moléculas de D-glicose unidas por meio de ligações glicosídicas (Wang et al., 2014; Zhang et al., 2018).

Além de exercer papel fundamental na alimentação humana, o amido representa um composto valioso para diversos setores industriais como alimentícios, rações, químico, petroquímico, adesivos, tintas, papel, têxtil e farmacêutico (Maniglia et al., 2021; Wang et al., 2014). Essa grande aplicabilidade do amido é decorrente não só por ser um recurso abundante, de baixo custo e renovável, mas principalmente por suas propriedades e capacidade de transformação (Castanha et al., 2017).

Ao ser aquecido na presença de água, os grânulos de amido intumescem, ampliando seu tamanho a partir da absorção de água, o que provoca uma desestabilização no arranjo molecular e cristalino e lixiviação da amilose, esse processo é conhecido com gelatinização. Em seguida, quando a temperatura diminui, o amido sofre uma transição chamada de retrogradação, onde as moléculas de amilose e amilopectina tendem a se reassociarem formando ligações cruzadas e zonas de junção (Koev et al., 2020; Maniglia et al., 2020; Zhang et al., 2018). De acordo com Wang et al. (2015) essas etapas são primordiais na elaboração de produtos alimentares a base

de amido, as quais podem ser influenciadas por fatores como, origem botânica, teor de água no sistema, temperatura e tempo do aquecimento, forças de cisalhamento entre outro (Wang et al., 2015; Xing et al., 2017)

Normalmente, os atributos funcionais do amido são investigados a partir de sistemas modelo com dispersões de baixa concentração ($< 20\%$) ou através da avaliação das características de determinados produtos alimentares (Matignon & Tecante, 2017). Apesar do grande número de dados relacionados as propriedades do amido, ainda não se tem informações suficientes para sanar todas as dúvidas, principalmente quando se trata dos processos de gelatinização e retrogradação (Carlstedt et al., 2015; Matignon & Tecante, 2017; Xing et al., 2018).

Carlstedt e colaboradores (2015) desenvolveram um diagrama de fases para a mistura amido de batata e água a partir de vários métodos e concentrações com a finalidade de esclarecer o processo de gelatinização. Recentemente, Xing et al. (2018) investigou a influência do tempo e da temperatura no processo de gelatinização enquanto Biduaki et al. (2018) estudou a influência do teor de amilose nas características do gel formado pela gelatinização do amido nativo de arroz e Han et al (2019) comparou as características entre o amido de mandioca e de batata-doce. Exceto Carlstedt et al (2015), os estudos citados foram conduzidos a partir suspensões com baixa concentrações de amido. Provavelmente, essa tendência decorre da dificuldade em aplicar as metodologias em sistemas com alta concentração de amido.

A tapioca é um alimento típico do nordeste brasileiro elaborado por meio do amido de mandioca hidratado com baixa quantidade de água e submetido ao calor seco. Tem formato de panqueca com crostas esbranquiçadas e secas nas superfícies e núcleo gelatinoso (Parente et al. 2021). As peculiaridades visuais da tapioca, despertaram interesse do presente grupo de pesquisa em investigar as propriedades do amido nativo de mandioca em estrutura alimentar resultante da alta concentração de amido, a partir da tapioca.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi analisar as transformações ocorridas em misturas de amido e água, com elevadas concentrações de amido de mandioca nativo inserido em um processo padronizado com calo seco, inspirado na elaboração da tapioca afim ampliar o conhecimento científico sobre as propriedades singular do amido. Com isso espera-se obter informações relevantes tanto para comunidade acadêmica que anseiam por novo subsídios sobre esse tema, como para desenvolvimento industrial e tecnológica dos diversos produtos amiláceos.

2 Metodologia

O amido de mandioca nativo utilizado nesse estudo foi adquirido no comércio local (João Pessoa, Brasil) e armazenado em temperatura (25 – 30 °C) durante todo o período de pesquisa. Uma quantidade representativa dessa amostra foi enviada para Universidade de Minnesota (Minnesota, EUA) onde foram realizadas as análises de difração de raio X (DRX) aos cuidados do professor Dr. Johan B. Ubbink.

2.1 Hidratação do amido de mandioca

O amido nativo de mandioca foi hidratado adicionando-se diferentes quantidades de água destilada para obter amostras com proporção água:fécula de 5:100 a 60:100 (p / p). logo em seguida a adição de água foi realizada a homogeneização usando uma espátula e feito movimentos circulares até o desaparecimento de todos os aglomerados ou blocos de partículas formados com a adição da água. As amostras foram deixadas em repouso por 12 horas em temperaturas entre 25 a 30 °C dentro de um recipiente plástico com tampa. Após o tempo de repouso as amostras foram peneiradas utilizando peneira de uso doméstico e submetidas ao processo térmico. A determinação de umidade e atividade de água (25 °C) das amostras de amido nativo e das amostras de amido hidratado (5, 20, 15, 25, 35, 45, 50, 55 e 60 %) foi realizada seguindo a metodologia descrita pela AOAC (2016).

2.2 Processo térmico de calor seco

As amostras de amido:água preparadas (Item 1.1) foram submetidas ao processo térmico de calor seco patronizado com base nas práticas comerciais de elaboração de tapioca. O procedimento foi realizado utilizando uma chapa de teflon em contato direto com a chama do fogão. Um molde cilíndrico de aço inox com diâmetro de 9,5 cm foi colocado sob a sob a chapa quente. Quando a superfície da chapa atingiu a temperatura de 200 °C, adicionou-se uma na área interna do molde a quantidade de 35 g da amostra (amido hidratado), essa quantidade foi definida de modo que todas as amostras pudessem apresentar a proporções massa: área superficial de 0,49 g/cm².

O tempo do processo foi de 120 segundos, dividido em dois momentos. Quando a amostra é colocada em contato com a chapa quente, identifica-se que uma superfície fica em contato direto com a chapa (S1) e uma outra área voltada para o meio externo (S2), sendo assim, a S1 permanece em contato com próximo ao calor por 60 s e em seguida é feita uma viragem onde coloca-se a S2 sob contato direto com a chapa quente por 60 segundos enquanto a S2 fica voltada ao meio externo durante esse tempo.

Cada amostra de amido hidratado submetido ao processo térmico resultou em um material com características físicas diferentes. Essas estruturas amiláceas foram caracterizadas visualmente por Parente e colaboradores (2021), e classificadas como partículas agregadas.

2.3 Teste de distribuição de tamanho de partículas agregadas

As partículas agregadas obtidas pelo processo térmico de calor seco foram submetidas ao teste de distribuição de tamanho de partículas agregadas. Cada amostra foi inicialmente pesada e em seguida colocadas em um sistema de peneira com diferentes Mesh (2,63 mm; 0,30 mm e Fundo) utilizando o equipamento da marca Matest (Belo Horizonte, Brasil). As amostras foram colocadas sob a peneira de maior Mesh (2,63 mm) e submetida a uma agitação de 80 rpm

por 10 minutos. Por fim, a massa retida em cada peneira foi quantificada por gravimetria a partir de uma balança analítica de precisão da marca BEL Engineering M214AIH (Milano, Itália). O sistema de peneira permitiu a separação quantitativa do material amiláceo estudado em tamanhos diferentes

2.4 Microscopia eletrônica de varredura – MEV

A estrutura morfológica do amido nativo de mandioca e das partículas agregadas (15, 25, 45 e 60%) foram observadas em microscópio eletrônica de varredura modelo Quanta 450, marca FEI (Estados Unidos). As partículas agregadas foram preparadas deixando-as por 24 horas em dessecador para reduzir a umidade e proporcionar melhor visualização no equipamento. Em seguida, as amostras foram raspadas e fixadas em fita de carbono e recoberta com ouro em um evaporador a vácuo. A amostras com 60% de água adicionada foi cortada transversalmente e observadas em 3 áreas distintas (S1, S2 e núcleo). Por fim as amostras foram inseridas no equipamento a uma tensão de aceleração 15 kV a uma ampliação de 2000 x.

2.5 Difração de raio X – DRX

Para a análise de difração de raio X, inicialmente as amostras (amido nativo, partículas agregadas 15, 25, 35, 50 e 60 %) foram secas durante por 12 horas a 40 °C sob um fluxo de ar suave, em seguida foram moídas até um pó fino. As amostras de pó foram montadas para o modo de reflexão em um único cristal orientado a silício 001. O equipamento utilizado foi o microdifratômetro de raios X Advance D8 (Bruker, Karlsruhe, Alemanha) acoplado ao detector Vantec bidimensional, sistema de alinhamento de câmera de vídeo / laser e uma fonte de ponto de radiação de raios X Co K α ($\lambda = 1,79 \text{ \AA}$) O feixe de raios-X foi condicionado com um monocromador de grafite. Utilizou-se um colimador de 800 μm e a distância entre a amostra e o detector foi mantida em 20 cm. Três quadros de medição foram digitalizados a 20, 45 e 70°,

respectivamente. As imagens do detector de área foram finalmente convertidas em intensidade unidimensional vs. conjuntos de dados 2 θ usando um algoritmo de integração de média.

2.6 Varredura de temperatura em estado estacionário

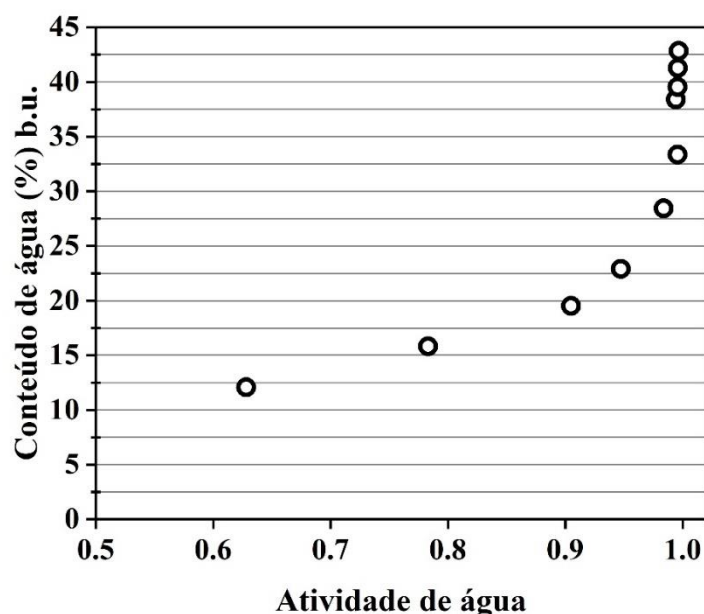
O perfil de pasta do amido de mandioca disperso em água foi determinado de acordo com metodologias propostas para Rapid Visco Analyser (Li et al., 2015) adaptadas para um reômetro de tensão controlada Haake MARS III (Karlsruhe, Alemanha). O experimento foi conduzido, utilizando uma geometria do tipo cone-placa de 35mm de diâmetro e 2° de inclinação (C35/2° Ti L) e uma capa protetora para evitar a evaporação da água durante o teste. As amostras foram aquecidas de 50 a 85 °C, a 0,125 °C/s, e mantidas a 85 °C por 570 s. Para avaliar a influência da redução da temperatura, as amostras foram aquecidas de 50°C a 85°C a 0,125 °C/s, mantidas a 85 °C por 90 s e resfriadas até 40 °C, a 0,125 °C/s. as suspensões de amido submetidas ao estudo reológico foram preparadas adicionando-se água destilada para obter proporções de amido: água de 40:60, 50:50, 55:45, 60:40 % (p/p)

3 Resultados e discussão

Os valores do conteúdo de água (%) b.u. e atividade de água a 25 °C do amido de mandioca e das amostras de amido hidratado com diferentes proporções de água estão representados pela curva de sorção da Figura 1. O amido nativo de mandioca apresentou atividade de água de $0,628 \pm 0,03$ e conteúdo de água $12,07 \pm 0,06$, enquanto as amostras de amido hidratado variaram entre 0,775 a 0,997 de a_w e 15,81 a 42,84 de umidade em base úmida. A curva de sorção mostra-se de forma exponencial, indicando um aumento da atividade de água com o aumento do conteúdo de água nas amostras.

Em sistemas alimentares com baixa atividade de água, as moléculas de água são absorvidas apenas por sítios de ligações superficiais, já em materiais com elevada da atividade de água ocorre a dissolução dos componentes solúveis e com isso o aumento da umidade. Esse

comportamento é característico de curvas tipo III de acordo com a classificação em isotermas de sorção. (Thys et al., 2010).



173

174 Figura 1. Curva de sorção do amido de mandioca em diferentes proporções de amido: água.
175

176 Fécula de mandioca hidratada, comumente conhecida como goma de tapioca, é utilizada
177 há décadas na elaboração de tapioca, mas só recentemente foi industrializada e distribuída como
178 um produto alimentício pronto para o consumo. O processo de industrialização da goma de
179 tapioca é baseado apenas em conhecimento empírico. O controle da atividade da água no
180 produto é importante para avaliação da estabilidade do armazenamento em relação a oxidação
181 lipídica, crescimento microbiano, atividades não enzimáticas e enzimáticas, além das
182 propriedades de textura dos alimentos. Um elevado valor de atividade de água pode desencadear
183 uma série alterações nas características dos alimentos (Yu & Li, 2012).

184 O valor mínimo de atividade de água em que os microrganismos podem crescer é de
185 0,60 e o valor mínimo para o crescimento da maioria das bactérias é de aproximadamente 0,87.
186 Algumas espécies de fungos xerófilos e leveduras osmofílicas podem crescer em atividades de
187 água de 0,60 a 0,70, mas o mínimo para a produção de micotoxinas por fungos é 0,80 (Beuchat
188 et al., 2013). Isso implica que, a fécula de mandioca mesmo sem adição de água corre o risco

de sofrer com o desenvolvimento de microrganismos. A adição da quantidade mínima de água (5 %) atinge uma atividade de água de 0,84 mostrando-se vulnerável ao ataque de fungo produtores de micotoxinas e bem próximo do valor mínimo estimado para a maioria das bactérias. Consequentemente, as demais amostras (10 % a 60 %) encontram-se na faixa de atividade de água que desfavorece a sua estabilidade durante o armazenamento, o que exige maiores cuidados desde as primeiras etapas de produção da goma de tapioca até o consumo. A escolha da embalagem e as condições de armazenamentos podem contribuir para um maior tempo de prateleira.

3.1 Distribuição de tamanho de partículas agregadas

A Figura 2 mostra a quantidade de partículas amiláceas retidas em cada peneira do sistema. Esses resultados contribuem para uma análise mais profunda do comportamento do amido quando submetido a um processo térmico em condições de umidade reduzida e nos permite observar a formação de agregados de grânulos de amido.

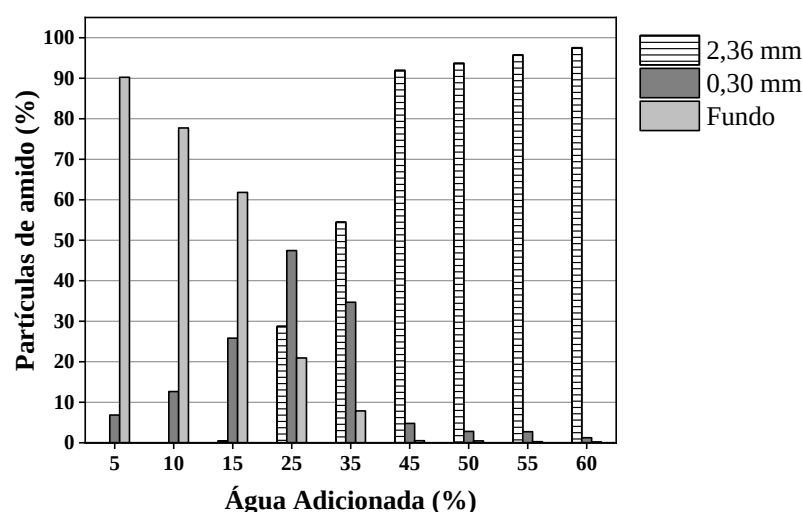


Figura 2. Fração mássica retida em peneiras de mesh com diferentes granulometrias.

Observa-se que, quanto maior a quantidade de água adicionada maior é o tamanho do agregado de partículas amiláceas. A presença de água no amido contribui para formação de

estruturas amiláceas maiores de forma contínua. Entre as amostras com proporção de água 5 a 15 %, grande parte do material ficou retido na última peneira (fundo) A partir da de 25 % de adição de água, percebe-se uma quantidade relevante de agregados maiores (2,36 mm), enquanto as amostras com adição de 45 a 60 % de água, em média 95% do material amiláceo foi retido na primeira peneira (2,35 mm), com formação revelando sólido contínuo semelhante a tapioca.

A partir dessas informações, compreende-se que o amido de mandioca com baixa quantidade de água, ou seja, com alta concentração de amido posto em um processo térmico, é capaz de formar 3 tipos de materiais distintos: um pó fino com pequenos agregados quebradiços (5 – 25 %), pó fino mais partículas agregadas quebradiças maiores (25 – 35 %) e material sólido contínuo (45 – 60 %). Tais observação estão de acordo com os achados encontrados por Parente et al. (2021) que estudou o impacto do teor de água do amido de mandioca e das condições de preparação da tapioca (temperatura e tempo) na sinterização e formação do gel de amido

3.2 Microscopia eletrônica de varredura – MEV

A micrografia de microscopia eletrônica de varredura do amido nativo de mandioca e das partículas agregadas após tratamento térmico são mostradas na Figura 3.

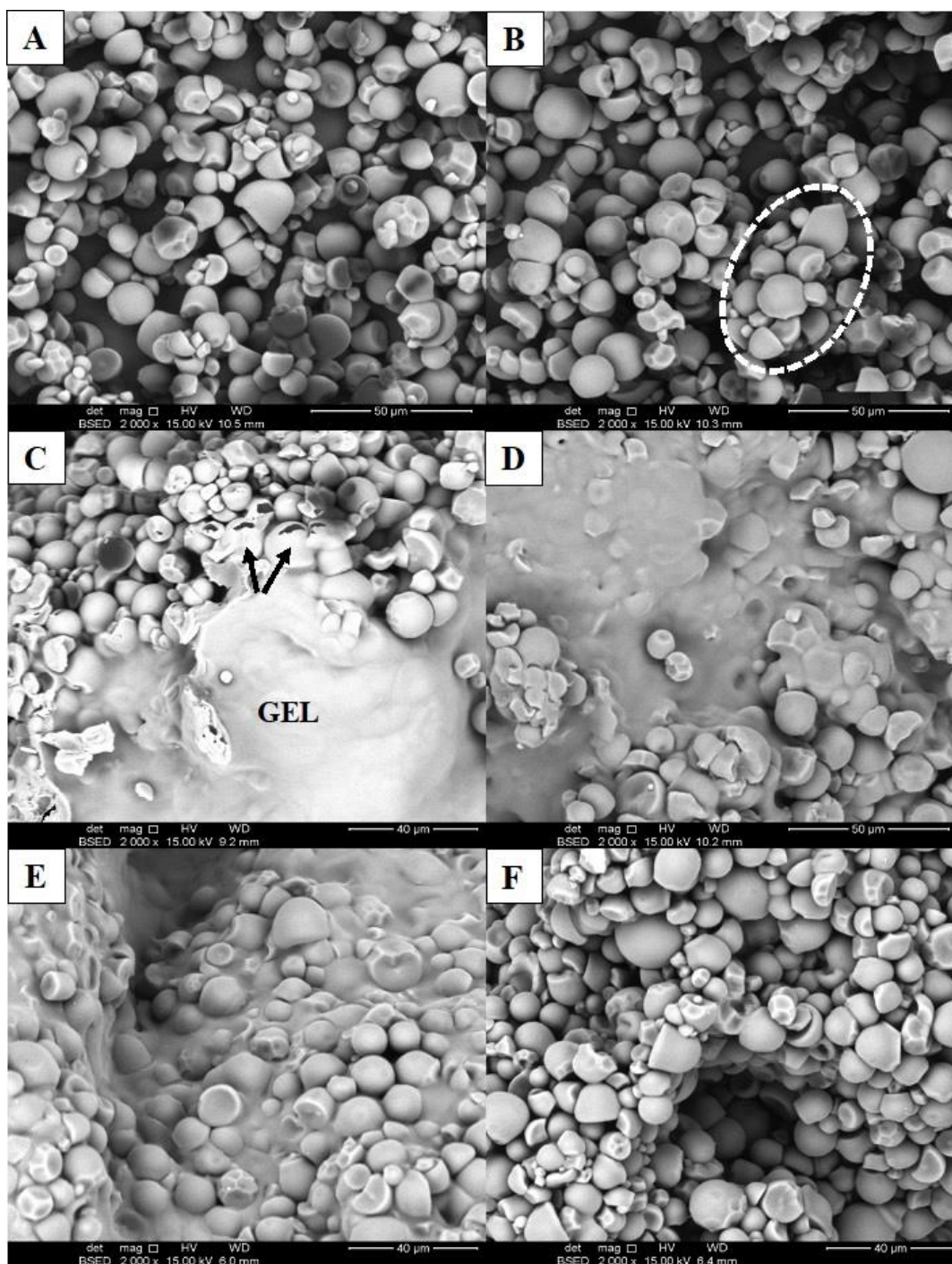


Figura 3. Micrografias (MEV) do amido de mandioca nativo (A) e do material amiláceo obtido após tratamento térmico das amostras de amido hidratado com diferentes proporções de amido:água. (B) partícula agregada 75:25 % (p / p), (C) partícula agregada 65:35 % (p / p), (D) partícula 55:45 % (p / p), (E) partícula agregada 40:60 % crosta 1, (F) partícula agregada 40:60 % Crosta 2

A Figura 3A mostra que o amido nativo de mandioca apresentou formato poligonal e truncados com alguns grânulos circulares (Dudu et al., 2019; Fernandes et al., 2019; Han et al.,

2019). O material amiláceo resultante do processo térmico com proporção de 75 % de amido e 25 % de água apresenta morfologia granular bem semelhante ao do amido nativo, no entanto percebe-se que os grânulos estão maiores e mais próximos uns dos outros (Figura 3B). Observa-se na Figura 3C que os grânulos de amido sofreram uma transformação significativa em sua microestrutura. Essa mudança pode ser atribuída a desintegração dos grânulos de amido. Em sistemas com moléculas de água abundante, os grânulos podem atingir o máximo de expansão e com isso se rompem pendendo a forma granular (Z. Li & Wei, 2020). A imagem obtida da partícula agregada com proporção amido: água 65:35 (p / p) mostra exatamente o momento em que os grânulos se rompem (Figura 3C). Nota-se também, a presença de material contínuo, sem formato granular que provavelmente foi formado pelo processo de gelatinização. Segundo Donmez e colaboradores (2021) a gelatinização provoca uma transformação notável nas características do amido, e esse processo geralmente acontece quando o amido é aquecido na presença de água. Essas características também são notadas na Figura 3D que representa o material resultante da proporção de 55:45 % (amido:água).

As imagens das Figuras 3E – 3F mostram a microestruturas da crosta 1 e crosta 2, respectivamente, do material obtido com proporção 40:60% (p / p) de amido: água, que deu origem ao produto amiláceo conhecido como tapioca. Nota-se uma diferença substancial entre as duas crostas. Observa-se que na crosta 1 (Figura 3E), grânulos de amido embutido na camada contínua, o núcleo, além disso, grande parte dos grânulos parecem intumescidos. Já na crosta 2 (Figura 3F) os grânulos encontram-se inteiros, unidos com elevado grau de aglomeração. Uma região cava é observada em meio a estrutura amilácea, indicando a ausência de fluxo contínuo dos grânulos. Segundo Parente e colaboradores (2021), as crostas da tapioca são formadas pela agregação dos grânulos de amido e estão fortemente ligadas ao núcleo, onde a superfície que teve primeiro contato direto com a chapa quente forma uma superfície lisa (crosta 1), enquanto

superfície que teve contato com a chapa após 60 s do início do processo deu origem a uma superfície rugoso e irregular.

A Figura 4 mostra imagens microscópica da região central (núcleo) do agregado de partícula obtido após tratamento térmico do amido hidratado com concentração de 40 % (p / p), a quais fornecem informações detalhadas sobre as características estruturais do gel formado (núcleo) e sua interface entre a crosta.

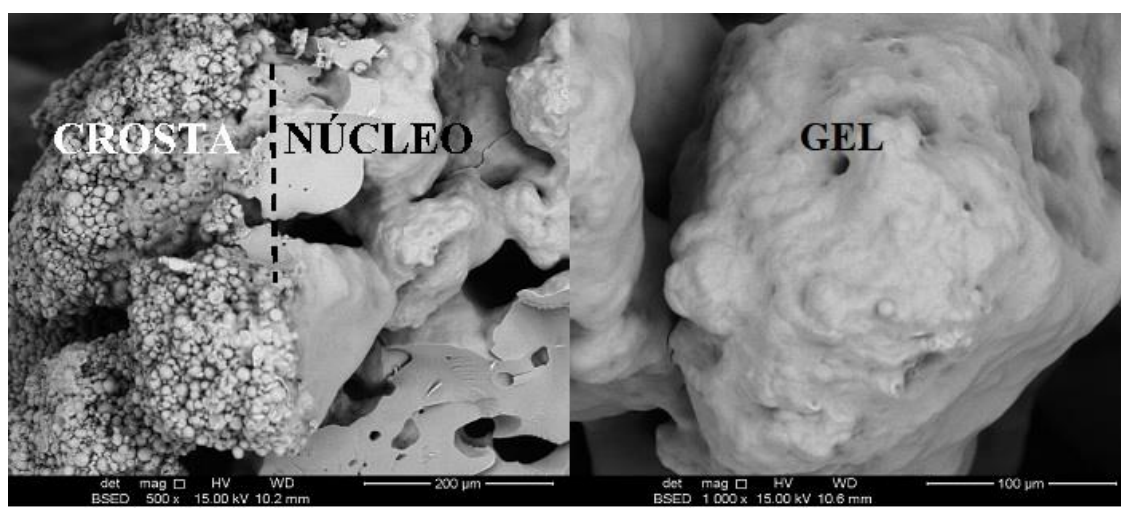


Figura 4. Micrografia eletrônica de varredura da região central do material amiláceo obtido após tratamentos térmico do amido hidratado em proporção 40:60% (p / p) de amido:água

A interface entre a crosta e o núcleo é retratada na Figura 4A, certificando a existência de materiais com características distintas na mesma amostra (Parente et al., 2021). A crostas e o núcleo estão interligadas de maneira indivisível formando um arranjo de componentes amiláceos interligados continuamente. A microestrutura também apresenta aberturas aparentemente largas no núcleo (Figura 4A). A Figura 4B mostra a aparência microscópica do núcleo (gel) do amido de mandioca hidratado com alta concentração de amido (40 % p / p). Nota-se que os grânulos de amido não apresentam morfologia original, o que se ver na imagem é um material com estrutura fechada, sem a presença de grânulos inteiro, aparentemente coeso e espesso, bem característico de um gel, sinalizando a ocorrência do processo de gelatinização

total dos grânulos de amido presentes na região central (núcleo). Segundo Jenkins e Donald (1998), conforme os grânulos de amido se gelatinizam sua estrutura morfológica se desfaz e as propriedades do amido, como a birrefringência deixam de existir.

3.3 Padrão de cristalinidade

A Figura 5 mostra os padrões de difração de raio X do amido nativo de mandioca e das partículas amiláceas obtidas após tratamento térmico padronizado em diferentes proporções de amido:água (85:15, 75:25, 65: 35, 50:50, 40:60). Observa-se que, a amostra de amido nativo apresentou características do padrão de cristalinidade tipo A, com picos em 15, 17 e 23° semelhante aos achados por Dudu et al., (2019) e Valencia et al. (2016).

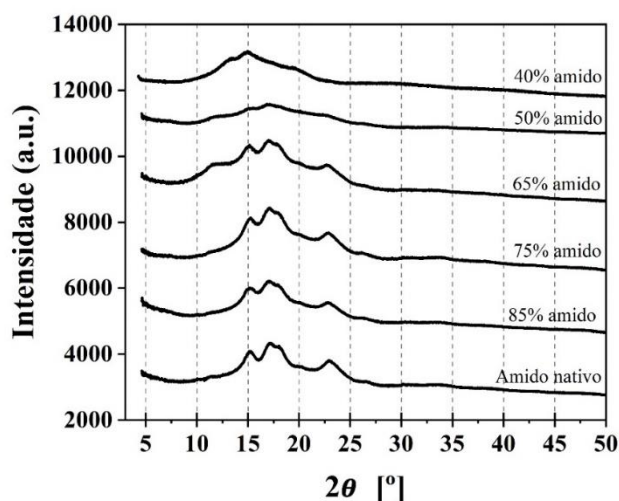


Figura 5. Padrões de difração de raio X do amido nativo de mandioca e das partículas agregadas formadas após tratamento térmico com amido hidratado em diferentes proporções de amido:água (p / p)

As amostras preparadas com 85 e 75 % de amido seguiram o mesmo padrão de cristalinidade do amido nativo, indicando que o grau de cristalinidade do amido de mandioca foi mantido mesmo após o tratamento térmico (200 °C por 120 s). Nota-se também que ocorreu a formação de um pico sucinto e atípico em 11° no material amiláceo preparado com 65 % de amido. Com relação as amostras preparadas com 50 e 40 % de amido, os picos que determinam o padrão de cristalinidade do amido de mandioca desaparecem mostrando que o tratamento

térmico aplicado em amostras com menores concentração de amido e maior quantidade de água foi capaz de destruir significativamente o modelo de cristalinidade do amido.

A diferença da difração de raio X entre as amostras, provavelmente está relacionada a quantidade de água adicionada no amido. Apesar do amido em sua grande maioria ser composto por cadeias ramificadas, ele apresenta um certo grau de cristalinidade demonstrado pelos picos presentes na Figura 5. É coerente que com o aumento da proporção de água ocorra a diminuição da cristalinidade da amostra submetida a tratamento térmico. Conforme desorganização da matriz cristalina observada no MEV (Figura 3).

A mistura de amido e água pode ser considerado um sistema bastante complexo. Essa observação deve-se a estrutura multiforme do amido, configurada pela presença de amilose (região amorfa) e amilopectina (região cristalina), compostos termodinamicamente diferentes tornado mais difíceis a compreensão de transições de fases do amido assim como suas das propriedades (Carlstedt et al., 2015).

A perda da cristalinidade do amido deve-se a vibração das moléculas de água dentro do grânulo, isto é, quanto maior a quantidade de água maior será a energia fornecida pela vibração das moléculas. A produção excessiva de energia é capaz desestabilizar as cadeias organizadas de amilopectina da região cristalina do amido causando a perda da cristalinidade. O resultado desse processo em sistemas com alta concentração de amido é a formação de um material amiláceo macio, gelatinoso e comestível (tapioca) (Vitor et al., 2019)

3.4 Estudo reológico

A Figura 6 apresenta a curva de viscosidade em função do aumento de temperatura para suspensões de amido de mandioca nas concentrações de 40 50 55 e 60 (% p / p). Esta curva permite avaliar as propriedades do material gelatinoso formado, as modificações estruturais das moléculas de amido, e de outros componentes e, também, à tendência a retrogradação durante o resfriamento. A formação da pasta de amido é o fenômeno que ocorre após a gelatinização e

envolve o inchamento do grânulo, a solubilização das moléculas e a desintegração dos grânulos (Atwell et al., 1988). Desta forma, a pasta (gel) é uma mistura da amilose e amilopectina solubilizadas na fase continua e dos grânulos vazios e seus fragmentos na fase dispersa (Bemiller, 2011).

Os parâmetros de pasta da suspensão de amido são frequentemente investigados em um equipamento Rapid Visco-Analyser (RVA), obtendo-se uma curva de viscosidade em função de um ciclo de aumento e redução de temperatura. No RVA utiliza-se uma dispersão aquosa com até 10 % p / p de amido (Vamadevan & Bertoft, 2015). Com a finalidade de estudar pastas com alta concentrações de amido foram analisadas as propriedades de pasta de dispersões aquosas concentradas em amido usando o reômetro de tensão controlada.

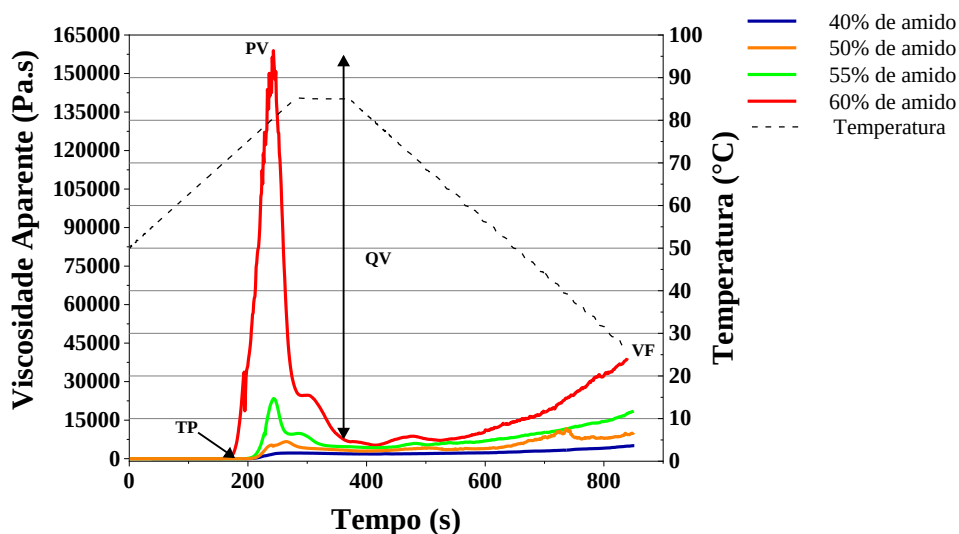


Figura 6. Propriedades de pasta do amido de mandioca em diferentes concentrações. TP = Temperatura de pasta; PV = Pico de Viscosidade; QV = Queda da Viscosidade; VF = Viscosidade Final.

Observa-se na Figura 6 diferença substancial com relação a queda de viscosidade (QV) para as suspensões de 40, 50 e 55 % em comparação a suspensão de 60 % de amido. Esta última apresentou um grande valor de QV. Esta queda de viscosidade pode ser explicada pela desintegração dos grânulos inchados durante o cisalhamento a temperatura de 85 °C, no período de manutenção. Provavelmente, a maior concentração de amido contribuiu positivamente para

a fricção dos grânulos, enfraquecendo estes e facilitando sua ruptura. Esta maior fragilidade corrobora com os menores valores de TP encontrados para a maior concentração de amido.

A tendência a retrogradação relaciona a recuperação da viscosidade durante o resfriamento, que no presente trabalho foi até 40 °C. Esta tendência a retrogradação em curto período é obtida pela diferença entre as viscosidades final e mínima. Os valores da tendência a retrogradação variaram entre 2262 Pa.s (40 %) e 20298 Pa.s (60 %). Nota-se que os valores foram mais elevados com o aumento da concentração de amido. Este comportamento era esperado tendo em vista que maior concentração de moléculas solúveis contribui positivamente para a formação de rede tridimensional e consequente retrogradação. É interessante observar que as amostras com menor concentração de amido (40, 50 e 55 %) apresentaram viscosidade final (VF) maior que o pico de viscosidade (PV). Isto sugere que a rede tridimensional formada por moléculas lixiviadas e grânulos possui maior resistência ao escoamento do que a dispersão dos grânulos de amido a 85 °C. No entanto, comportamento oposto é observado para a amostra de 60 % de amido, reforçando que nesta maior concentração a fricção entre os grânulos passa a contribuir muito para as respostas reológicas.

Os valores de temperatura de pasta, pico de viscosidade e temperatura do pico viscosidade a 85 °C estão listados na Tabela 1. A temperatura de pasta (TP) é o valor de temperatura na qual a suspensão de amido começa a espessar devido ao início do inchamento dos grânulos de amido (Kaur et al., 2011). Nota-se que houve uma pequena redução deste parâmetro (75-70 °C) com o aumento da concentração de amido na suspensão, sugerindo que as forças de ligações de hidrogênio intramoleculares dentro do grânulo foram em parte enfraquecidas (Silva et al., 2006). Santos (2018), Shirai e colaboradores (2007), Silva e colaboradores (2006) encontraram valores de temperatura de pasta para o amido nativo de mandioca inferiores aos obtidos neste trabalho (variando de 65-69 °C). Isto pode ser devido aos

diferentes tipos de equipamentos utilizados, em especial a diferença entre o valor real de temperatura na amostra e do programa do equipamento em altas taxas de aquecimento.

A suspensão de amido a 40 % p / p atingiu pico de viscosidade (PV) inferior comparada a concentração de amido de 60 % (Tabela 1). Estudos anteriores demonstraram que o valor de PV de suspensões de amido é influenciado desde fatores de solubilização molecular até devido a fricção entre grânulos inchados (Vamadevan & Bertoft, 2015). Provavelmente, este último fator deve estar associado ao altíssimo valor de PV encontrado neste trabalho para a concentração de 60 % de amido.

Tabela. 1 Valores referentes as propriedades de pasta das suspensões de amido

Suspensões de amido:água (% p /p)	Parâmetros reológicos		
	TP (°C)	PV (Pa.s)	TPV (°C)
40	75,0 ± 1,0	2033 ± 160	84,8±0,5
50	73,4 ± 0,1	6495 ± 139	83,4±0,2
55	74,5 ± 0,1	23374 ± 945	80,1±0,1
60	70,0 ± 0,4	167100 ± 8200	80,4±0,1

TP (Temperatura de Pasta); PV (Pico de Viscosidade); TPV (Temperatura do pico de viscosidade); MV (Mínima Viscosidade a 85 °C); VF (Viscosidade final); TR (Tendência de Retrogradação)

4 Conclusão

Misturas concentradas de amido de mandioca quando inserido em um processo térmico padronizado a 200 °C por 120 s formam materiais amiláceos distintos, dependendo da quantidade de água adicionada no sistema. Observou-se a formação de um pó fino com pequenos agregados quebradiços (5 - 25 %), pó fino mais partículas agregadas quebradiças maiores (25 - 35 %) e material sólido contínuo (45 – 60 %), este último se assemelha ao produto usado como inspiração (tapioca). A desintegração do grânulo foi verificada microscopicamente a partir de 35 % de amido. Imagens inéditas do rompimento dos grânulos e da interface entre o gel e a superfície seca da tapioca foram registradas nesta pesquisa através

do MEV. A amostra de amido nativo apresentou características do padrão de cristalinidade tipo A, o mesmo foi apresentado pelas amostras com 15 25 % de amido, enquanto as amostras com 50 e 60 %, mostraram perda relevante do grau de cristalinidade decorrente do tratamento térmico aplicado. As propriedades reológicas das suspensões de amido apontam que a medida que a concentração de amido aumenta, os valores de pico de viscosidade (2033-167100 Pa.s), queda de viscosidade (992-165738 Pa.s), e viscosidade final (3303-21660 Pa.s) aumentam consequentemente e que as amostras com menor concentração de amido (40, 50 e 55%) apresentam viscosidade final maior do que pico de viscosidade.

Referências

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 2016. Official methods of analysis of 384 the Association of Official Analytical Chemists 20th ed. Rockville: A.O.A.C.
- Bemiller, J. N. (2011). Pasting, paste, and gel properties of starch-hydrocolloid combinations. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 386–423. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.064>
- Beuchat, L. R., Komitopoulou, E., Beckers, H., Betts, R. P., Bourdichon, F., Fanning, S., Joosten, H. M., & Kuile, B. H. T. (2013). Low-water activity foods: Increased concern as vehicles of foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 76(1), 150–172. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-211>
- Biduski, B., Silva, W. M. F. da, Colussi, R., Halal, S. L. de M. El, Lim, L. T., Dias, Á. R. G., & Zavareze, E. da R. (2018). Starch hydrogels: The influence of the amylose content and gelatinization method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 443–449. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.144>
- Carlstedt, J., Wojtasz, J., Fyhr, P., & Kocherbitov, V. (2015). Understanding starch gelatinization: The phase diagram approach. *Carbohydrate Polymers*, 129, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.045>
- Castanha, N., Matta Junior, M. D. da, & Augusto, P. E. D. (2017). Potato starch modification using the ozone technology. *Food Hydrocolloids*, 66, 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.001>
- Donmez, D., Pinho, L., Patel, B., Desam, P., & Campanella, O. H. (2021). Characterization of starch–water interactions and their effects on two key functional properties: starch gelatinization and retrogradation. *Current Opinion in Food Science*, 39, 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.018>
- Dudu, O. E., Li, L., Oyedeji, A. B., Oyeyinka, S. A., & Ma, Y. (2019). Structural and functional characteristics of optimised dry-heat-moisture treated cassava flour and starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 1219–1227.

- 425 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.202>
- 426 Fernandes, D. D. S., Dos Santos, T. P. R., Fernandes, A. M., & Leonel, M. (2019). Harvest time
427 optimization leads to the production of native cassava starches with different properties.
428 *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 710–721.
429 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.245>
- 430 Han, H., Hou, J., Yang, N., Zhang, Y., Chen, H., Zhang, Z., Shen, Y., Huang, S., & Guo, S.
431 (2019). Insight on the changes of cassava and potato starch granules during gelatinization.
432 *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 37–43.
433 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.201>
- 434 Jenkins, P. J., & Donald, A. M. (1998). Gelatinisation of starch: A combined
435 SAXS/WAXS/DSC and SANS study. *Carbohydrate Research*, 308(1–2), 133–147.
436 [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(98\)00079-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(98)00079-2)
- 437 Koev, T. T., Muñoz-garcía, J. C., Iuga, D., Khimyak, Y. Z., & Warren, F. J. (2020). Structural
438 heterogeneities in starch hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 249(August), 116834.
439 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116834>
- 440 Li, W., Tian, X., Liu, L., Wang, P., Wu, G., Zheng, J., Ouyang, S., Luo, Q., & Zhang, G. (2015).
441 High pressure induced gelatinization of red adzuki bean starch and its effects on starch
442 physicochemical and structural properties. *Food Hydrocolloids*, 45, 132–139.
443 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.013>
- 444 Li, Z., & Wei, C. (2020). Morphology, structure, properties and applications of starch ghost: A
445 review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 2084–2096.
446 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.077>
- 447 Maniglia, B. C., Castanha, N., Rojas, M. L., & Augusto, P. E. (2021). Emerging technologies
448 to enhance starch performance. *Current Opinion in Food Science*, 37, 26–36.
449 <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.09.003>
- 450 Maniglia, B. C., Lima, D. C., Matta Junior, M. D., Le-Bail, P., Le-Bail, A., & Augusto, P. E.
451 D. (2020). Preparation of cassava starch hydrogels for application in 3D printing using dry
452 heating treatment (DHT): A prospective study on the effects of DHT and gelatinization
453 conditions. *Food Research International*, 128(October 2019), 108803.
454 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108803>
- 455 Matignon, A., & Tecante, A. (2017). Starch retrogradation : From starch components to cereal
456 products. *Food Hydrocolloids*, 68, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.032>
- 457 Santos, M. C. L., Shinohara, N. K. S., Pimentel, R. M. de M., & Padilha, M. do R. de F. (2018).
458 Rotulagem da goma de tapioca. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 03, 330–
459 338. <https://doi.org/10.24221/jeap.3.3.2018.2085.330-338>
- 460 Shirai, M. A., Haas, Â., Ferreira, G. F., Matsuguma, L. S., Franco, C. M. L., & Demiate, I. M.
461 (2007). Características físico-químicas e utilização em alimentos de amidos modificados
462 por tratamento oxidativo. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 27(2), 239–247.
463 <https://doi.org/10.1590/s0101-20612007000200005>
- 464 Silva, G. D. O., Takizawa, F. F., Pedroso, R. A., Franco, C. M. L., Leonel, M., Sarmiento, S. B.

- 465 S., & Demiate, I. M. (2006). Características físico-químicas de amidos modificados de
466 grau alimentício comercializados no Brasil. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 26(1),
467 188–197. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100030>
- 468 Thys, R. C. S., Noreña, C. P. Z., Marczak, L. D. F., Aires, A. G., & Cladera-Olivera, F. (2010).
469 Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic
470 analysis. *Journal of Food Engineering*, 100(3), 468–473.
471 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.033>
- 472 Valencia, G., Djabourov, M., & Sobral, P. J. (2016). Water desorption of cassava starch
473 granules: A study based on thermogravimetric analysis of aqueous suspensions and humid
474 powders. *Carbohydrate Polymers*, 147, 533–541.
475 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.030>
- 476 Vamadevan, V., & Bertoft, E. (2015). Structure-function relationships of starch components.
477 *Starch/Staerke*, 67(1–2), 55–68. <https://doi.org/10.1002/star.201400188>
- 478 Vitor, P., Lemos, F., Santos, L., Graça, I., Estevam, R., & Izabel, J. (2019). Characterization of
479 amylose and amylopectin fractions separated from potato , banana , corn , and cassava
480 starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 32–42.
481 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.086>
- 482 Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., & Wang, S. (2015). Starch Retrogradation: A
483 Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5),
484 568–585. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>
- 485 Wang, S., Li, C., Yu, J., Copeland, L., & Wang, S. (2014). Phase transition and swelling
486 behaviour of different starch granules over a wide range of water content. *LWT - Food*
487 *Science and Technology*, 59(2P1), 597–604. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.028>
- 488 Xing, J. jie, Li, D., Wang, L. jun, & Adhikari, B. (2017). Relationship between biphasic
489 endotherms and multi-stage gelatinization of corn starch in excess water. *LWT - Food*
490 *Science and Technology*, 81, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.012>
- 491 Xing, J. jie, Li, D., Wang, L. jun, & Adhikari, B. (2018). Temperature thresholds and time-
492 temperature dependence of gelatinization for heat-moisture treated corn starch. *Journal of*
493 *Food Engineering*, 217, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.08.019>
- 494 Yu, H., & Li, Y. (2012). State diagrams of freeze dried colostral whey powders: Effects of
495 additives on the stability of colostral whey powders. *Journal of Food Engineering*, 110(1),
496 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.001>
- 497 Zhang, Y., Gu, Z., Zhu, L., & Hong, Y. (2018). Comparative study on the interaction between
498 native corn starch and different hydrocolloids during gelatinization. *International Journal*
499 *of Biological Macromolecules*, 116, 136–143.
500 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.011>

Fortification of traditional tapioca "pancakes" from the brazilian northeast with microencapsulated carrot carotenoid

Gisleânia Dourado Landim Parente^a, Bruno Davinci Nunes de Melo^a, Jaciel Albuquerque de Souza^a, Marta Maria da Conceição^a, Johan B. Ubbink^b, Ana Luiza Mattos Braga^{a*}

^a Department of Food Science and Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, CEP 58058-600, Brazil.

^b Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, United States

Abstract

The feasibility to fortify traditional Brazilian cassava gum and tapioca “pancakes” with carotenoid from carrots was investigated, based on the premise that the process should be applicable as a social technology. Microparticles rich in carrot carotenoid were prepared using complex coacervation of whey protein isolate and gum arabic in the weight ratio of 1.5:1, and co-dried with cassava starch. Carotenoid content and stability during product application were analyzed for the microparticles and two product applications: fortified hydrated cassava gum, and in fortified tapioca "pancakes". The results showed that complex coacervation technique can be applied instead of conventional technologies to concentrate carrot juice, keeping more than 90 % of the initial carotenoid content. The further starch co-drying of this material resulted in a microparticle that retained 79 % of initial carotenoid content. A low carotenoid loss (22 %) was observed in the heat preparation of the microparticle fortified tapioca "pancakes". The tapioca textural properties as determined instrumentally were similar for products fortified with microparticles or by direct carrot juice addition. Furthermore, the use of carotenoid in dry powder form facilitates handling and dosing in artisanal and industrial settings and ensure to target the daily intake.

Keywords: cassava starch, carrot carotenoid, complex coacervation, microparticles

1 Introduction

"Tapioca" is a widely consumed food in northeastern Brazil. It is made from a mixture of cassava starch and water in the presence of heat, and comes in the form of a "pancake" with a dry, granular crust and a gelatinous, soft core. Despite being tasty, tapioca is not a nutritious food as it essentially consists of pure starch (Falade & Akingbala, 2011). The street food sector has recently offered customers options of colorful tapiocas by adding juice or plant extracts, while the food industry has been concerned with making nutritionally rich cassava gum available to consumers by adding sufficient amounts of micronutrients to meet Recommended Daily Intake (RDI) levels.

Nutrient fortification is considered to be an important strategy to increase the intake of several essential vitamins and minerals (Garrett et al., 2019). According to Cardoso et al. (2019), addition of micronutrients to products, which are part of the dietary routine, allows to reach the poorer part of the population, whose daily meals often do not meet the minimal nutritional needs. In the current study, we investigate the potential for fortification of cassava starch with carotenoid, as cassava is an important staple in the Northeastern region of Brazil, in particular for those of lower socioeconomic status.

Vitamin A deficiency is among the micronutrient deficiencies that most affect the population worldwide. As an essential micronutrient, it is important that it is consumed daily in the recommended amounts (Gonçalves et al., 2016; Tozer et al., 2019). The addition of carotenoid (provitamin A) to foods as a supplementation route is very challenging, considering that carotenoid are highly sensitive to chemical degradation under influence of heat, oxygen, light, and pH. Such factors in particular accelerate oxidation reactions, leading to a loss of the biological activity of the carotenoid (Ngamwonglumlert et al., 2017).

Microencapsulation is considered to be a promising technology capable of improving the stability of bioactive compounds in food and providing a controlled release (Gonçalves et

al., 2016; Haas et al., 2019; Janiszewska-Turak et al., 2017; Rehman et al., 2019; Rutz et al., 2016; Ubbink & Krüger, 2006). Ubbink and Krüger (2006) introduced a retro-design approach for rationally developing encapsulation systems and establishing their windows of application, rather than by trial and error as is commonly done. The encapsulation of carrot juice or extract is technically difficult due to the active ingredient heat/oxygen sensitivity and the presence of low molecular weight sugars (Chen et al., 2017; Haas et al., 2019; Janiszewska-Turak et al., 2017; Khalilian Movahhed & Mohebbi, 2016). However, by judiciously analyzing conditions governing the target application as well the factors that impact the active ingredient on basis of a rigorous scientific basis incorporating elements from material science, physical chemistry and biophysics it is possible to propose potential solutions that have a significant (Ubbink & Krüger, 2006).

The importance of ascertaining a complete nutrition by the whole population, along with the consumer trend in searching for foods which are rich in key nutrients have aroused the interest of industry and the academic sector in studying and developing not only new products (Páramo-Calderón et al., 2019), but also viable and low-cost methodologies that can be applied in a range of industries. It is also important to consider the availability and characteristics of the raw material used regarding industrial viability in fortifying food. Adding vegetable-based substances in the liquid state requires an exclusive production line for extracting the juice, which must be prepared on the spot due to its low stability and bulkiness. Thus, powder microparticles can facilitate the production process, especially for enterprises in technologically less advanced settings. Furthermore, the use of microparticles carries the perspective of providing ingredients with greater storage and process stability.

The objectives of this investigation were to develop a powder carotenoid microparticle by means of a social technological process and evaluate its technical viability to produce cassava gum and tapioca food fortified in carotenoid (provitamin A). For that, we investigated

the application of complex coacervation to concentrate the carotenoid in carrot juice and, with the addition of cassava starch a drying agent, to obtain a carrot juice powder with a high content of carotenoid. Further, the water content, water activity, color and rheological properties of the microparticle, the carotenoid fortified cassava gum and tapioca food were analyzed to evaluate the technical feasibility of the powder and product application.

2 Methods

Carrots (*Daucus carota subsp. Sativus*) were used as source of carotenoid to enrich the cassava gum. They were purchased at the State Supply Center in João Pessoa (CEASA) and sanitized by washing for 10 minutes in a 100 ppm sodium hypochlorite solution. Next, the carrots were weighed and cut into cylinders of about 1 cm height. Per trial, about 2.7 kg of carrot cubes were passed through a Mondial Turbo Juice Cf-06 centrifuge for juice extraction, which yielded 55.8 % w/w of carrot juice. The carrot juice was subsequently stored frozen at $T = -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ in plastic containers. Prior to freezing, a sample was taken to determine the amount of total soluble solids ($^{\circ}\text{Brix}$), acidity, density, humidity (AOAC, 2016) and total carotenoid content (Item 2.6). The raw juice had concentration of $9.67 \pm 1.69\text{ }^{\circ}\text{Brix}$, a density of $1040 \pm 0.0\text{ kg/m}^3$, a water content of $93.0 \pm 0.12\text{ \% (w/w)}$ and a titratable acidity of $0.13 \pm 0.01\text{ \% (v/v)}$. Whey protein isolate and gum arabic were kindly donated by Funcional Mikron (São Paulo, Brazil) and were used as carrier materials in the encapsulation process. Cassava starch (water content of $12.1 \pm 0.1\text{ \% w/w}$) was obtained from a local market (João Pessoa, Brazil).

2.1 Microparticle development

2.1.1 Definition of complexation pH and biopolymers ratio

For preparation of juice-biopolymers mixtures, first WPI powder was solubilized in carrot juice (pH 5.8) during 5 min using a IKA RW 20 mechanical stirrer (Staufen, Germany), then GA powder was added, and the system was kept under stirring for more 5 min. The

mixtures were prepared at a total biopolymer concentration of 7 % (w/w), and the biopolymers ratios were 1.5:1, 3:1 and 6:1 WPI:GA on weight basis. The phase separation test of carrot juice-WPI-GA mixture samples was conducted by reducing stepwise the pH value from 6.0 to 3.0, by slowly addition of 1M citric acid. The pH value chosen for centrifugation and further carotenoid analysis was determined by visual observation and supernatant quantification after 12h static stand at 25 °C, being considered the optimal pH value the one with the highest amount of supernatant. The best ratio between the two biopolymers, to be used in the encapsulation process, was determined by carotenoid quantification.

2.1.2 Carotenoid microparticles process

The carotenoid microparticles were produced from carrot juice (CJ) by complex coacervation followed by drying using cassava starch as drying agent. Gum arabic (GA) and whey protein isolate (WPI) were used as wall materials in the complex coacervation process. For microparticle production the ratio was fixed as 1.5:1 WPI:GA on weight basis and the carrot-biopolymer mixture contained 93.0 % w/w carrot juice, 2.8 % w/w GA and 4.2 % w/w WPI. According to the literature (Janiszewska, 2014), the use of a ratio of 1:1 of juice to carrier is the most suitable for spray drying juices. The dry matter of the carrot juice used in the present work was approximately 7 % w/w, so the total biopolymers was fixed at 7 % w/w. The components (juice, WPI and GA) were homogenized using a IKA RW 20 mechanical stirrer (Staufen, Germany). Next, the pH was set at 3.2 using 1 M citric acid. The mixture was incubated for 12 hours at 25 °C following which the supernatant was removed. The precipitate was centrifuged using an Eppendorf 5430R centrifuge (Hamburg, Germany). The coacervate obtained after centrifugation was mixed with an amount of cassava starch in the proportion of 1:1 w/w and then dried in a plate oven at 30 °C, with forced air circulation (Fig. 1). For the drying step, the coacervate and cassava starch mixture was placed in 14.5 cm diameter aluminum dishes with a mass:surface area ratio of 0.12 g/cm². In order to attain a particle size

similar to cassava starch (38 - 52 μm) (Han et al., 2019), the dried samples were ground with a laboratory mortar and pestle to the desired particle size. The water content, water activity and particle size distribution of this powder were analyzed after production. The carotenoid and color stability of the powder were analyzed after a storage period of 30 days, which corresponds to the shelf life of cassava gum products as produced by small artisanal producers. The storage test was carried out at 10 °C with the microparticles sealed in plastic bags, in contact with air, but protected from light. The microparticles were characterized by means of its carotenoid concentration, water content, water activity and color from the methods described in the further sections.

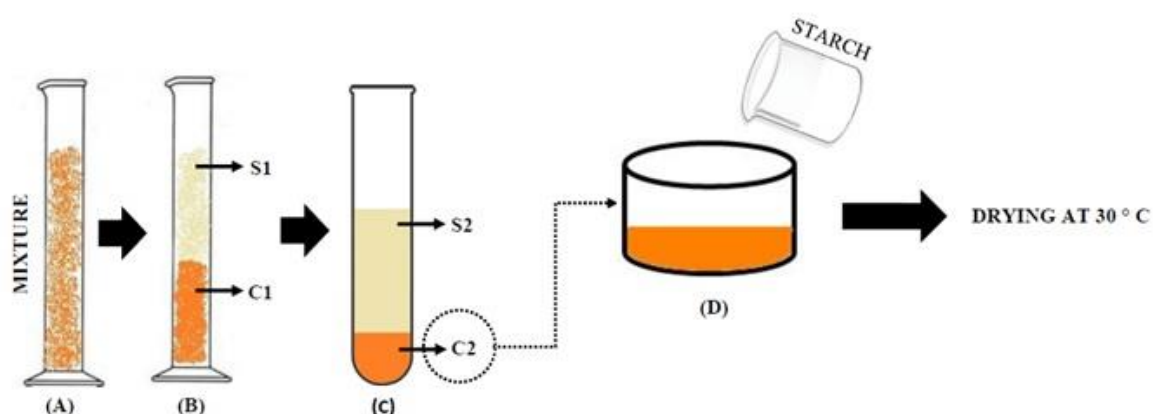


Fig 1. Stages of the microencapsulation process. (A) Mixing carrot juice with biopolymers (GA: WPI); (B) Complex coacervation by decreasing pH value, where the coacervate (C1) is taken to the centrifuge and the supernatant (S1) discarded; (C) Centrifugation step - A more concentrated complex coacervate (C2) is obtained; (D) Concentrated complex coacervate 2 is mixed with cassava starch in a 1:1 w/w ratio forming a mass, which was then dried at 30°C.

The total carotenoid retention after each process step was calculated by dividing the amount of carotenoid in the final process sample divided by its amount in the initial sample. For the coacervation process, the initial sample was the juice-biopolymers mixtures prior to pH change, while final sample was the coacervate bottom-phase obtained after centrifugation. For the drying process, the initial sample was the co-blended coacervate/starch and the final sample was the microparticle powder.

2.1.3 Microparticle size analysis

The microparticle size distribution was determined using a Matest analytical sieve (Belo Horizonte, Brazil) using screens with mesh sizes of 150 μm , 75 μm , 52 μm , 45 μm and 38 μm . A sample of 10 g of microparticles was added on the sieve system, which was shaken for 10 minutes at 80 rpm. The material retained in each sieve was weighed on a BEL Engineering M214AIH precision electronic scale (Milano, Italy).

2.2 Fortification of cassava gum with carrot carotenoid

The tapioca gum was fortified in two ways, either by using carrot juice as the carotenoid source, or by using carotenoid containing microparticles produced from pure carrot juice. The total amount of liquids (juice or water) added to the starch powder was based on commercial practices. For the juice-fortified gum, 30 g of juice was mixed with 30 g of water to which 100 g of cassava starch was added. For the microparticle-fortified tapioca gums, 6 g of dried microparticles were blended with 20 g of starch until homogeneous. In subsequent steps, each time approximately 20 g starch was added and mixed in until the total mixture reached a weight of 100 g. This final blend of starch and microparticles was added to 60 g water and mixed until homogeneous. Both types of fortified cassava gums (direct carrot juice addition and the microparticle-fortified tapioca gum) were left to rest for 12 h at 25 °C to allow for full starch hydration, before being packed. The carotenoid-fortified cassava gum powders were packed in plastic bags, sealed and stored for 30 days, at 10 °C, under air contact and light protected.

The amount of carrot juice and microparticles added to the tapioca gum was guided by Resolution RDC No. 269, of September 22, 2005, of the Health Surveillance Secretariat, which requires the need for at least 30 % addition of the RDI for adults, which corresponds to 600 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ of retinol or 2142.85 μg of carotenoid per 100 g of tapioca gum (1 μg carotenoid provitamin A = 0.084 μg retinol) (Brasil, 2005).

2.3 Preparation of carotenoid fortified tapiocas

The tapiocas were prepared using conditions that are representative for commercial practice. First, the temperature of the heating plate was set to either 200°C or 300°C, as measured by an Instrutherm TI-870 infrared thermometer (São Paulo, Brazil), to observe the impact of temperature on the carotenoid retention. Then a cylindrical mold (9.5 cm diameter) was placed on the hot plate and 35 g of cassava gum fortified with either carrot juice or microparticles was homogeneously distributed inside the mold until a thin layer was formed (thickness approximately 0.49 cm). After 60 s the sample, it was turned up-side-down and left (to cook) for an additional 60 s before lifting of the hot plate. For the prepared tapiocas, each surface of the sample has thus been in contact with the hot plate during 60 s, and the total processing time was 120 s.

2.4 Determination of moisture and water activity

The water content of the carrot juice, carotenoid microparticles, fortified cassava gum and fortified tapioca was determined according to the methodology described by AOAC (2016). The water activity of the samples was determined at 25 °C using an Aqualab Dew Point 4TEV Water Activity Meter (United States).

2.5 Colorimetry

The sample color was determined using a Color-Eye 2180 electronic colorimeter (GretagMacbeth, Martinsried, Germany) following to the methodology described by Pathare et al. (2013). Values for the L* (luminosity), a* and b* parameters as defined in the CIELAB color space were experimentally determined. Next, the c* (chromaticity), h* (hue) and ΔE (global color variation) values were calculated using Equations 1 - 3, respectively, in order to evaluate the color change of the microparticles and the fortified gums during storage, and after heat treatment during tapioca preparation.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Eq.1})$$

$$h^* = \text{tg}^{-1} \cdot (b^*/a^*) \quad (\text{Eq.2})$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (\text{Eq.3})$$

The - a* to +a* quantifies the sample color from green to red, blue color by - b* and yellow color is represented by +b* values. An angle of 0° represents the pure red hue, whilst angles of 90°, 180° and 270° represent the pure yellow, green and blue hues, respectively. The following classification for color perception will be: $\Delta E > 3$: very distinct; $1.5 < \Delta E < 3$: distinct; $\Delta E < 1.5$: minor differences in color.

2.6 Determination of carotenoid

The carotenoid content was determined according to the microextraction and spectrophotometric method proposed by Pacheco et al. (2011). The absorbance at a wavelength 450 nm was measured using a BioSpectrometer Basic spectrophotometer (Eppendorf, Hamburg, Germany). Equation (4) was used to calculate the carotenoid content. Carotenoid were determined in the carrot juice, microparticle with carotenoid and fortified tapioca samples.

$$C = \frac{A \cdot V \cdot 10^4}{A_{cm}^{1\%} \cdot W} \quad (\text{Eq. 4})$$

where C is the total carotenoid content ($\mu\text{g/g}$), A is the absorbance at 450 nm, $A_{cm}^{1\%}$ is the absorption coefficient of β -carotene in Petroleum Ether ($2592 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (Rodriguez-amaya & Kimura, 2004), V is the volume of the extract (ml) and W is the sample weight in grams.

2.7 Texture profile analysis (TPA)

The tapioca samples were subjected to TPA testing using a Brookfield CT3 Texture Analyzer (Brookfield Engineering Labs, Middleboro, USA). The test was carried out by applying double compression with 80 % deformation, a waiting time of 5 s and an indentation speed of 1 mm/s. A sample probe (TA-10) of cylindrical geometry (diameter 12.7 mm) was used. The samples were submitted to the test at the temperature in the range between 40°C and 45°C. Each sample was used to perform 2 tests. In total 6 repetitions were done. The TPA parameters (hardness, springiness index, cohesiveness and resilience) were calculated by the equipment software (Texture Expert for Windows, version 1.19).

2.8 Rheological analysis

The gelatinization profile of cassava gum fortified with either carrot juice (J) or carotenoid-containing microparticles (M) was determined using a MARS III stress-controlled rheometer (Haake, Karlsruhe, Germany) equipped with a cone-plate probe (C35/2° Ti L) with a diameter of 35 mm and an angle of 2°. A protective cover was used to prevent water evaporation. For suspensions prepared with juice, the amount of starch (40-55 % w/w of final suspension) was dispersed in the fluid mixture of juice and water, so that the final suspension contained 16.5 % of juice. For suspensions prepared with microparticles, 3.4 g of microparticles were dry blended to 36.6 g, 46.6 g or 51.6 g of cassava starch and then mixed with water to obtain 100 g suspension. The suspensions were equilibrated for 1 h to ensure complete starch hydration before the analysis. The starch suspensions were submitted to the following temperature profile: 1. Heating ramp from 50 °C to 85°C at a heating rate of 0.125 °C/s; 2. Held at 85 °C for 90 s; and 3. Cooling ramp from 85 °C to 40 °C at a cooling rate of 0.125 °C/s. Tests with cassava gum fortified with carrot juice were conducted in duplicate and tests cassava gum fortified with carotenoid microparticles were conducted in triplicate. These conditions were

determined following preliminary experiments, taking into consideration the gelatinization tests commonly applied in a rapid visco-analyzer (RVA).

2.9 Statistical analysis

The results for water content, water activity, carotenoid and color of the cassava gum and fortified tapioca samples were statistically evaluated in order to verify possible differences between the samples by applying the Tukey test at the 95 % significance level using the R studio program version 1.2.1335 (RStudio, Inc., Boston, USA).

3 Results and discussion

3.1 Development requirements for carotenoid fortification of tapioca

Cassava gum is a traditional Brazilian product, commercialized either by local farmers or small-medium size enterprises. For the development of a fortified product, it is helpful to apply the retro-design approach (Ubbink & Krüger, 2006). For that it is necessary to first identify the final application's physico-chemical properties, including storage and the processes the product will undergo before final consumption. In the case of cassava gum, one has to consider that this is a high moisture (37 – 48 %), high water activity (0.99) agglomerated powder, traditionally packed in plastic bags under air and stored refrigerated (4 °C) or, for short periods of time, at ambient temperature (20 - 40 °C). Traditionally, tapioca is prepared after sieving cassava gum using common household mesh sieves (mesh size around 1 mm), which is then sprinkled on a hot plate surface (>200 °C) and cooked for a minimum duration of 1 min. Typically, regular stove-top skillets are used. Table 1 shows the technical requirements that are posed on microparticles containing carotenoid when blended with cassava gum and the in the prepared tapioca, considering also the social technology requirements.

261 Table. 1. Technical Requirements for satisfactory performance of carotenoid microparticles in
 262 cassava gum and tapioca products

Carotenoid Particle for Tapioca fortified in carotenoid	
Product technical requirements	Microparticle technical requirements
Dry blended homogeneous powder (microparticle - cassava gum).	Free flowing microparticles with size distribution in the same range of the cassava starch one (38 – 52 µm).
All carotenoid-containing microparticles pass through the typical household mesh sieve	Microparticles with maximum size smaller than sieve mesh size (about 1 mm).
Minimal carotenoid degradation for 1-3 months storage at high water content and at high water activity (cassava gum).	To protect carotenoid against oxidation and degradation: - Have dense matrix, in principle in the glassy state (Haas et al., 2019; Ubbink, 2018): a) complex coacervated polymers b) carbohydrate matrix - Application of low/mild temperature processes: a) freeze drying b) vacuum drying c) Forced convective air drying (30 - 50°C) + drying agent
Minimum of 1.338 µg total carotenoid/ 100 g cassava starch for having a claim of “Rich in Carotenoid”, according to Brazilian regulations (Brasil, 2005).	Concentration of carotenoid in the microparticle that is sufficiently high to have the claim, considering: a) Minimum addition of 1 % nutrient powder for good dry blending process b) The microparticles should not be perceived by the consumer in the final food c) The maximum added amount of nutrient powder should be such that the network formation of the tapioca gel is not impacted.
Particles should survive the cooking process, i.e. should be heat-stable at 100°C.	Particles that do not melt, disintegrate or dissolve at 100°C: a) Via the properties of biopolymer matrix or coating b) Via a suitably chosen coating of a crystalline material
Sustainable and environmentally friendly product	- Carotenoid to be sourced from local farmers - Vegetable source - Low energy consumption process - Low degree of carotenoid enrichment in source
Carotenoid fortified product is to be produced by local artisanal and/or small industries.	- Low cost / low energy consumption equipment - Simple technology with easily controlled parameters - Small production plant - Easy scale-up process

To achieve this complex set of aims, we proposed to use carrot juices and the encapsulation process that is described in Fig. 1, considering that farmers or small industries could have a tank and a centrifuge for the coacervation step, a plate oven for the drying step and a grinder with sieve for the particle refining step.

3.2 Development of carotenoid microparticles

To evaluate the potential of complex coacervation process as a technology for carrot juice concentration and for carrot carotenoid encapsulation, first it was determined the optimal coacervation pH and the ratio of biopolymers in the carrot juice-WPI-GA system. Fig. 2 shows the influence of pH on the complexation of whey proteins and gum arabic in carrot juice after 12h ageing at 25 °C. Fig. 2A shows the pH dependent behavior of samples with WPI-GA ratio of 1.5:1, which was very similar to the behavior obtained for the ratio 3:1. Fig. 2B shows that by increasing the WPI proportion up to a WPI:GA ratio of 6:1, the pH dependent complexation profile changed. For all protein (Pr) to polysaccharide (Ps) ratio samples the initial turbidity occurred at pH 5.2, which is the isoelectric point of β -lactoglobulin, the major whey protein (Ach et al., 2015). The initial turbidity has been previously observed for WPI:GA systems in the pH region of 5.2 to 4.8 and associated to the formation of soluble complexes (Weinbreck et al., 2003). For Pr:Ps ratio 6:1, the system destabilized more than those samples with lower protein concentration (ratio < 3:1), which was expected due to the higher number of proteins positive charge in the system (Ach et al., 2015). Macroscopic phase separation with a precipitated coacervate phase occurred from pH 4.9 to 3.0, independent of Pr:Ps ratio (Fig. 2), which is in agreement to the pH region of 4.8 to 2.5 shown by Weinbreck et al. (2004) for WPI:GA system. For the highest Pr:Ps ratio, the supernatant volume at pH 4.9 was significantly higher than at lower pH values, but also more turbid and showing orange color, typical of β -carotenoid (Fig. 2B). On the other hand, for low Pr:Ps ratio samples the supernatant volume did not vary strongly as function of pH, being 10-14 % of total volume. Weinbreck et al. (2004) showed that the optimum pH conditions for coacervation varied with Pr:Ps ratio, being pH 3.5

for a Pr:Ps ratio of 1:1, pH 4 for a Pr:Ps ratio of 2:1, and pH 4.5 for a Pr:Ps ratio of 8:1. Possibly the differences between our results with previous literature is due to the effect of the other carrot juice compounds (9.67 ± 1.69 °Brix). In addition, we did not observe a pH value that caused an intense precipitation (low volume) combined with transparent supernatant for any Pr:Ps ratio samples. However, considering for each ratio the largest amount of supernatant, we have chosen the following samples for the centrifugation step and carotenoid content analysis: pH 3.2 for a Pr:Ps ratio of 1.5:1, pH 3.0 for a Pr:Ps ratio of 3:1 and pH 4.9 for a Pr:Ps ratio of 6:1.

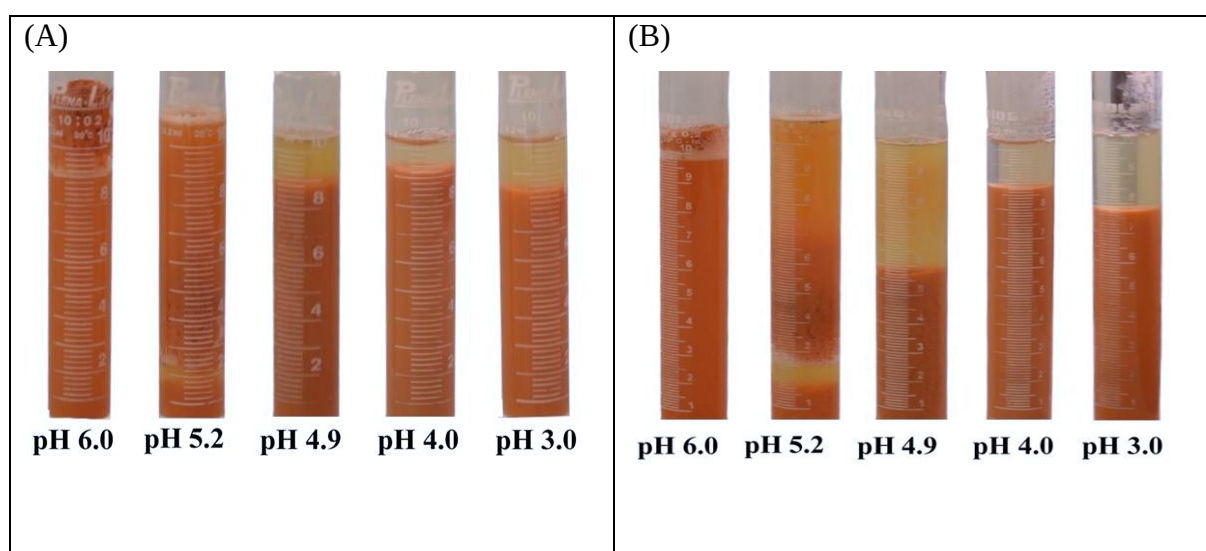


Fig 2. Complex coacervation between the whey proteins and gum arabic, in carrot juice, at pH values of 6.0; 5.2; 4.9; 4.0 and 3.0, at different WPI-GA ratio after 12 h ageing at 25 °C. A) Ratio of 1.5:1 WPI:GA; B) Ratio of 6:1 WPI:GA.

For producing the carrot carotenoid microparticles we evaluated the best Pr:Ps ratio for concentrating carotenoid after centrifugation of the coacervated material. The volume of carrot serum (supernatant) obtained through all process was very similar for all Pr:Ps ratio ranging from 81.4 to 87,4 % (v/v) of total initial mixture volume. For carotenoid retention in the coacervate after centrifugation we have observed an effect of Pr:Ps ratio. The carotenoid content of the juice was 13.0 ± 1.0 mg/100g (wb), corresponding to 185.9 ± 15.3 mg / (100g dry matter). This value was nearly twice the value found previously by Janiszewska-Turak and collaborators (2017), but from carrots of different sources and countries. For the coacervated samples we

obtained a carotenoid content of 48.5 ± 0.9 mg/100g (wb) for Pr:Ps ratio 1.5:1, of 64.0 ± 2.5 mg/100g (wb) for Pr:Ps ratio 3:1 and a content of 44.1 ± 4.8 mg/100g (wb) for Pr:Ps ratio 6:1. Therefore, the carotenoid retention ranged was higher than 90% for the low Pr:Ps ratio samples and 78.4% for the Pr:Ps ratio 6:1. These results indicate that complex coacervation combined with centrifugation showed to be a good processing approach for concentrating the carrot carotenoid in a small amount of a semi-solid matter. The concentration of dilute mixed solutions is normally done industrially by evaporation or by membrane filtration. The first has the disadvantage of being a process that requires temperatures higher than 70 °C and both technologies require a plant set up that can be expensive for small industries or even local agriculture cooperatives to build in. For producing the carotenoid powder the Pr:Ps ratio 1.5:1 was chosen.

The carotenoid content of the coacervate-starch mixture prior to drying was 51.0 ± 1.3 mg/100 g (wb), while the final powder showed a nutrient concentration of 62.3 ± 5.2 mg/100 g (wb), showing a mean carotenoid retention of 81.9 %. The total carotenoid retention of the encapsulation process was 79.2 %, which is higher than the best result obtained by Janiszewska-Turak and co-workers (2017) for spray-dried carrot juices (66 %). However, that value was slight lower than the best results of spray-dried microparticles (approximately 87 %) obtained by Haas and co-workers (2019) for commercial carrot concentrates in crystalline or emulsion forms.

After 30 days microparticles storage, the carotenoid content of the powder decreased to 49.2 ± 4.3 mg/100g (wb), indicating a storage retention of 79.0 % at 10 °C, in contact with air but protected from light. Haas and collaborators (2019) obtained similar values for carotenoid stability (77.4 %) after 91 days at 35°C, for microparticles produced by pilot-scale spray drying. The same authors noted that carotenoid stability in the microparticles was influenced by the particle porosity, with a retention that was typically higher for denser particles. In the study of

Haas and coworkers (2019), it was also shown that after 30 days storage, the rate of carotenoid loss leveled off for spray-dried particles. Therefore, we infer that the carotenoid loss in the microparticle produced by coacervation-starch co-drying (30 °C) would not drop much more than 79 %.

The laboratory-produced microparticles showed a narrow particle size distribution, with 0.8 % of microparticles with effective sieve sizes smaller than 38 µm, 1.7 % with sieve sizes between 38 and 45 µm and 97.5 % with sieve sizes between 45 and 52 µm. The microparticles were characterized by a water content of 9.8 ± 0.2 % in wet basis (wb) and water activity of 0.56 ± 0.01 (at 25 °C). It is important to note that the native cassava starch powder used as drying agent had a water content of 12 % (w/w). The results showed that the microparticle produced in the present work is at the maximum limit for the beginning of microbial growth. The minimum value of water activity in which microorganisms can grow is 0.60, and the minimum value for the growth of most bacteria is approximately 0.87 (Beuchat et al., 2013). Therefore, it was stored under refrigeration to ensure greater microbiological stability of the particle. From the analysis of water content in all stages of the encapsulation process, it can be said that the microparticles consist of approximately 75 % starch, 15 % biopolymers/juice components and 10 % water.

3.3 Physico-chemical properties of carotenoid fortified cassava gum

Carotenoid contents of fortified cassava gum showed no statistically significant initial difference between samples prepared with juice (2.73 ± 0.69 mg/100g wb) versus those prepared with microparticles (2.71 ± 0.73 mg/100g wb). The same trend was observed for products after 30 days of storage, with the carotenoid content being 2.27 ± 0.92 mg/100g (wb) for the juice-based cassava gum and 2.26 ± 0.79 mg/100g (wb) for microparticle-based cassava gum. Carotenoid loss in both samples was determined to be 27 % after 30 days of storage at 10 °C, in contact with air but protected from light. All samples showed water content in the range

of 40.5 to 46.5 % (w/w), which is higher than the minimum amount needed for tapioca formation (37 %) (Parente, et al., 2021). The water activity of all samples was 0.99, which is in agreement to previous work (Almeida, 2017), confirming that this is a highly perishable product.

The rheological profile of the samples presented in Fig. 3 shows the viscosity change as a function of temperature for the starch suspensions added by carrot juice or microcapsules. The pasting parameters values referring to the graphs are listed in Table 2. There was no effect of the type of ingredient (carrot juice or microparticles) on gelatinization in 40 % starch suspensions (Fig. 3). A significant effect of the type of ingredient added (juice or microparticle) to the starch suspension was only observed in the peak viscosity value (Table 2). The pasting temperature of all samples was approximately 77 °C, which was ten degrees higher than reported by Ai and Jane (2015) for 8 % cassava starch. The peak temperature ranged from 82 to 85 °C, which is in accordance with the work of Ai and Jane (2015). It is noted that all suspensions containing microparticles and more than 50 % solids developed a steep curve with a larger and more defined drop in viscosity after gelatinization. The peak viscosity increases from 1.8×10^3 Pa.s at 40 % (w/w) solids to 13.2×10^3 Pa.s at 50 % (w/w) solids and 51.6×10^3 Pa.s at 55 % (w/w) solids (Table 2), which means an increase of 10 and 30 times more, respectively, for 50 and 55 % suspensions. Nevertheless, suspensions containing juice only showed increase of 7 times in peak viscosity when its starch concentration was 55 % (Table 2).

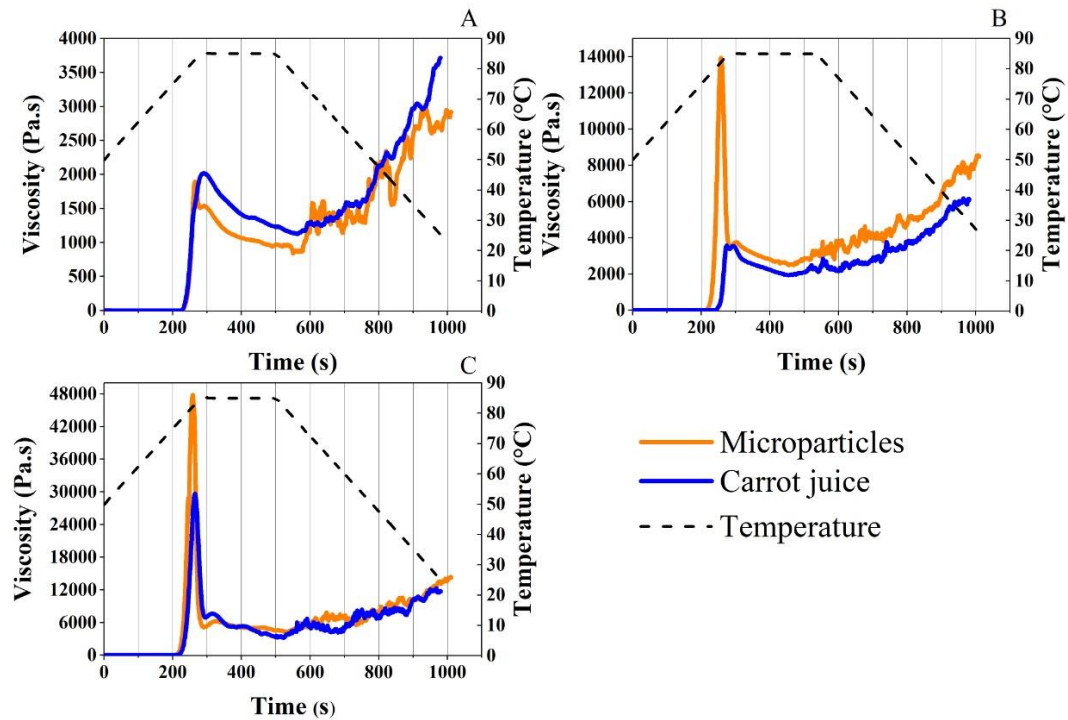


Fig 3. Paste properties of starch suspension samples with carrot juice or microparticles added. (A) 40 % suspended solids, (B) 50 % suspended solids and (C) 55 % suspended solids.

Table. 2. Rheological parameters of gelatinization process of starch suspensions fortified with carrot juice or microparticles.

Samples	Rheological Parameters		
	PT (°C)	PV (Pa.s)	PVT (°C)
40% SS-J	78.3 ± 0.2 ^a	1.8 × 10 ³ ± 213 ^a	85.2 ± 0.0 ^b
40% SS-M	77.1 ± 2.4 ^a	1.7 × 10 ³ ± 117 ^a	82.6 ± 1.1 ^a
50% SS-J	78.6 ± 1.0 ^a	3.9 × 10 ³ ± 388 ^b	83.7 ± 0.8 ^{ab}
50% SS-M	77.6 ± 0.3 ^a	13.1 × 10 ³ ± 790 ^c	82.6 ± 0.5 ^a
55% SS-J	77.1 ± 1.2 ^a	28.3 × 10 ³ ± 1255 ^d	83.0 ± 0.1 ^a
55% SS-M	76.4 ± 0.1 ^a	51.5 × 10 ³ ± 3765 ^e	82.2 ± 0.1 ^a

PT (Paste Temperature); PV (Peak viscosity); PVT (Peak viscosity Temperature). SS stands for suspended solids, J for juice and M for microparticles. The different lowercase letters (a, b, c, d, e) indicate significant differences ($p < 0.05$) for each parameter presented per column.

These results can be explained by the increase of frictional forces as a consequence of the swelling of starch granules during the temperature increase (Vamadevan & Bertoft, 2018; Zhang et al., 2018). This phenomenon results in a very high viscosity at high suspension concentration (> 50 % solids) that the viscosity value got even higher than the final viscosity after cooling, which is associated to the gel network formation. This same phenomenon can

explain the reason why samples with microparticles show higher PV (2-3 times) from the concentration of 50 % starch, thus the microparticles are increasing the molecular friction. Although the matrix of these microparticles is mainly composed by starch, the coacervated biopolymers probably reduced their swelling capacity, so that they were stiffer at gelatinization temperature.

All the above results indicate that the fortification of cassava gum with microparticles is feasible, since there was no difference in carotenoid stability when compared to juice sample, being the nutrient loss after 1 month of about 27 %. In addition, the microparticles affected only the viscosity during gelatinization, but did not have impacted the final gel.

3.4 Physico-chemical properties of carotenoid-fortified tapiocas

Table 3 shows the carotenoid and water content, as well the textural properties of fortified tapiocas. The tapiocas presented approximately a concentration of carotenoid of 2.5 mg/100g (wb), independently of preparation temperature and type of nutritional ingredient added. According to Brazilian regulations (Brasil, 2005), all samples of fortified cassava gum could be claimed as “rich in vitamin A” and the prepared tapiocas would still give the benefit to the consumer.

Tapioca preparation temperature had an impact of carotenoid retention (Table 3). Immediately after preparation, tapiocas prepared at 200 °C using the juice-fortified cassava gum had a carotenoid loss of 23.0 ± 0.5 %, while the same formulation prepared at 300 °C had a slightly higher carotenoid loss of 27.6 ± 1.7 %. However, the preparation temperature did not significantly affect the carotenoid loss of tapiocas containing the microparticles, with carotenoid losses of 21.8 ± 0.5 % and 22.2 ± 0.6 % at 200 °C and 300 °C, respectively. These results indicate that by microencapsulating, the carotenoid is likely to be somewhat more protected from oxidation when exposed to the high temperatures encountered during tapioca preparation.

419 Table. 3. Textural properties, carotenoid and water content of tapiocas.

	Carotenoid-fortified tapioca			
	Prepared with carrot juice (J)		Containing carotenoid microparticles	
	200 °C	300 °C	200 °C	300 °C
Carotenoid content (mg/100g wb)	2.58 ± 0.02 ^a	2.43 ± 0.06 ^b	2.61 ± 0.02 ^a	2.60 ± 0.02 ^a
Water content (% w/w)	34.54 ± 0.51 ^a	34.39 ± 0.11 ^a	34.56 ± 0.40 ^a	34.41 ± 0.24 ^a
Hardness (N)	40.5 ± 2.13 ^a	83.6 ± 17.57 ^b	51.1 ± 3.37 ^{ab}	61.9 ± 16.69 ^{ab}
Springiness Index [-]	0.61 ± 0.06 ^a	0.56 ± 0.05 ^a	0.57 ± 0.03 ^a	0.56 ± 0.05 ^a
Cohesiveness [-]	0.55 ± 0.05 ^b	0.44 ± 0.01 ^a	0.53 ± 0.03 ^b	0.55 ± 0.02 ^b
Resilience [-]	0.14 ± 0.00 ^a	0.11 ± 0.00 ^a	0.13 ± 0.02 ^a	0.15 ± 0.02 ^a

420 The different lower-case letters (a, b) indicate significant differences ($p < 0.05$) between
 421 samples for the same analyzed parameter.
 422

423 The water content of the prepared tapiocas was approximately 34.5 % for all samples
 424 (Table 3), showing that cooking temperatures did not have a major impact of water loss during
 425 the food preparation. Textural parameters obtained through TPA analysis did not show any
 426 statistical differences among samples. TPA test gives mostly information on the core gel
 427 characteristics under two compression cycles. The springiness indicated that this samples have
 428 medium elasticity with a sample height recovery after first compression of about 57 %. The
 429 very low resilience values (Table 3) indicate that the tapiocas do not return very fast to their
 430 original state, at least slower than the probe velocity. The medium cohesiveness values
 431 (approximately 55 %) indicate that the energy used in the second compression is half of the one
 432 in the first compression. In other words, the tapiocas were hard under first compression (40 –
 433 83 N), but their network bonds did not stand much the following compression cycle, showing
 434 that it started to disintegrate. Such instrumental texture information is valuable for developing
 435 new products, as texture plays an important role in the acceptance of food by consumers (Stieger

& Van de Velde, 2013). These texture results confirm that there was no impact of microparticles on gel formation as observed by rheological gelatinization-retrogradation tests (Fig. 3).

3.5 Color analysis of carotenoid microparticles and fortified cassava gum and tapioca products

Fig. 4 shows the visual images of the samples during the microencapsulation process and the final products. Samples showed a vivid orange color during the encapsulation process, which visually does not decrease in intensity between the coacervate sample after centrifugation (Fig. 4A) and the final microparticle (Fig. 4C). The visually perceived color for the carotenoid fortified gum (Fig. 4D) was less intense than that of the microparticles. It was noticed that the gelatinized tapioca core (Fig. 4F) presented a visually more intense color than its crust (Fig. 4E) due to the fact that the crust has sintered and not fully gelatinized starch particles.

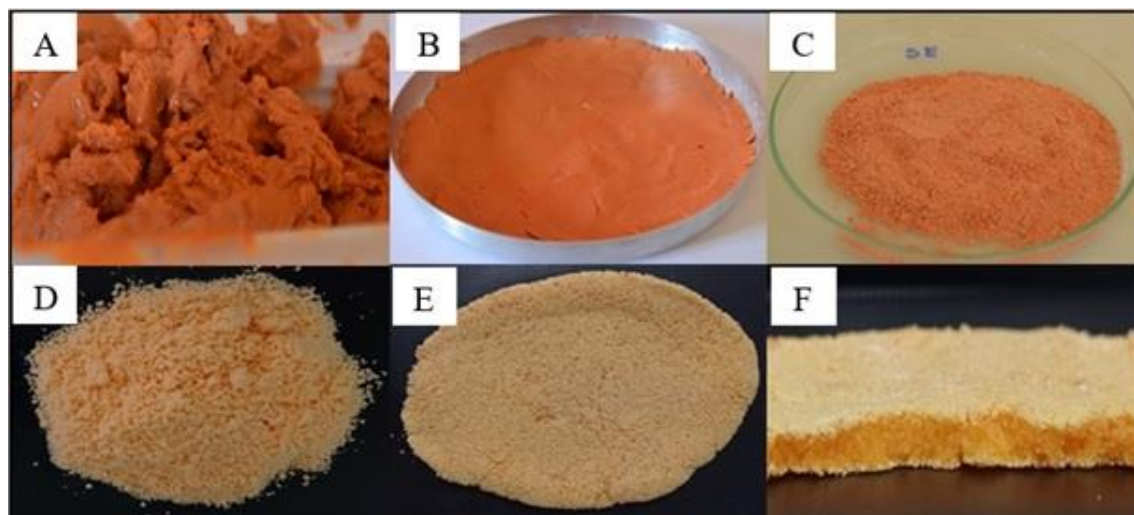


Fig 4. Visual images of the carotenoid samples during encapsulation process or as final products. A) Complex coacervated sample after centrifugation, (B) Complex coacervated sample dry-blended with cassava starch prior to drying; (C) Carotenoid microparticles; (D) Carotenoid fortified cassava gum; (E) Top view of carotenoid fortified tapioca; (F) Transversional section of carotenoid fortified tapioca.

Table 4 shows the color results of microparticles, gum and tapioca fortified after production (initial storage time) and following 30 days of storage at 10 °C under ambient air and protected from light. It was noted that the carotenoid microparticles had a reddish-orange

tint ($h^* = 0.80$) based on positive results of the color parameters ($a^* = 25.87$; $b^* = 28.98$). The luminosity value found ($L^* = 65.6$) was similar to that described by Haas et al. (2019). The ΔE value (4.47) suggests that the change in color after 30 days was classified as very distinct, being easily detected by the human eye (Adekunte et al., 2010). This is likely related to the oxidation of the carotenoid (García et al., 2018; Haas et al., 2019).

Table. 4. Color parameters of carotenoid microparticles and fortified gum immediately after processing (day 0) and following 30 days of storage in plastic bags, at 10 °C, under air contact and light protected.

	After Process (day 0)			After 30 days Storage		
	CM	Juice-Gum	CM-Gum	CM	Juice-Gum	CM-Gum
L*	65.6 ± 0.0	77.2 ± 0.0 ^a	76.6 ± 0.0 ^c	69.6 ± 0.0	81.3 ± 0.0 ^b	83.6 ± 0.1 ^d
a*	25.9 ± 0.0	7.7 ± 0.0 ^a	11.3 ± 0.0 ^c	25.9 ± 0.0	9.1 ± 0.0 ^b	15.8 ± 0.1 ^d
b*	28.9 ± 0.0	13.6 ± 0.3 ^a	12.6 ± 0.0 ^c	27.0 ± 0.0	13.9 ± 0.0 ^b	15.5 ± 0.1 ^d
C*	38.8 ± 0.0	15.6 ± 0.1 ^a	16.6 ± 0.0 ^c	37.4 ± 0.0	16.9 ± 0.0 ^b	22.1 ± 0.2 ^d
h*	0.8 ± 0.0	1.1 ± 0.0 ^a	0.8 ± 0.0 ^c	0.8 ± 0.0	1.0 ± 0.0 ^b	0.8 ± 0.0 ^c
$\Delta E_{T0 \times T30}$	(-)	(-)	(-)	4.47	4.29	8.79

The different lowercase letters (a, b, c, d) indicate significant differences ($p < 0.05$) between samples (effect of time and material added). CM stands for carotenoid microparticle.

A comparative evaluation of the color parameters (Table 4) between the two fortified gum samples studied revealed that the gum with microparticles showed a higher red intensity (a^* positive parameter), also being more reddish-orange (less hue) than the gum with juice, and resulting in a higher chromaticity value. ΔE values > 3 identify a noticeable color change after the storage period in both samples (Adekunte et al., 2010).

Table 5 shows the color results for the tapioca's crust and core after preparation at different temperatures (200 °C and 300 °C). The luminosity (L^*) value of crust was higher than the value obtained for the core. On the other hand, the chroma value of the core was higher than the value of the crust, denoting that crust has a lighter color with light orange tones. The ΔE value of all tapiocas crost were very high (Table 5), indicating a very distinct difference ($\Delta E > 3$) between the tapiocas prepared at the two temperatures. However, for the gelled core the sample prepared with juice were less affected by temperature, showing a $1.5 < \Delta E < 3$, which can still be visually perceived.

Table. 5. Color parameters of the crusts and core of the fortified tapiocas.

Tapioca's samples	L*	a*	b*	C*	h*	ΔE_{T20} 0 x T300
Crust						
CJ - 200 °C	78.1 ± 0.0 ^b	9.7 ± 0.0 ^b	28.5 ± 0.0 ^b	30.1 ± 0.0 ^a	1.2 ± 0.0 ^b	9.33
CJ - 300 °C	73.8 ± 0.0 ^a	10.8 ± 0.0 ^a	36.7 ± 0.0 ^d	38.3 ± 0.0 ^d	1.0 ± 0.0 ^a	
CM - 200 °C	78.8 ± 0.0 ^c	14.5 ± 0.1 ^d	26.8 ± 0.1 ^a	30.5 ± 0.1 ^b	1.3 ± 0.0 ^c	5.73
CM - 300 °C	79.7 ± 0.1 ^d	9.9 ± 0.0 ^c	30.2 ± 0.2 ^c	31.8 ± 0.1 ^c	1.0 ± 0.0 ^a	
Core						
CJ - 200 °C	56.3 ± 0.0 ^B	22.9 ± 0.0 ^B	38.8 ± 0.0 ^D	45.1 ± 0.0 ^C	1.1 ± 0.0 ^B	1.89
CJ - 300 °C	57.8 ± 0.0 ^C	21.8 ± 0.1 ^A	38.1 ± 0.0 ^C	43.9 ± 0.1 ^A	0.9 ± 0.0 ^A	
CM - 200 °C	60.1 ± 0.0 ^D	27.3 ± 0.1 ^D	37.7 ± 0.1 ^A	45.0 ± 0.1 ^{BC}	1.3 ± 0.0 ^C	6.36
CM - 300 °C	53.1±0.1 ^A	26.7 ± 0.1 ^C	35.9 ± 0.0 ^B	44.8 ± 0.1 ^B	0.9 ± 0.0 ^A	

The different lower case letters (a, b, c, d) indicate significant differences ($p < 0.05$) between crust samples for each parameter. Capital letters (A, B, C, D) indicate significant differences ($p < 0.05$) between core gel samples for each parameter. Samples nomenclature: CJ – carrot juice; CM – carotenoid microparticle; numbers indicate the tapioca preparation temperature.

4 Conclusions

We have shown that complex coacervation technique associated to centrifugation provided a way to separate up to 87 % carrot serum and to concentrate up to five times carrot carotenoid. Furthermore, we managed to dry the coacervated carrot juice solids with cassava starch as drying agent to obtain a dry powder. The cassava starch used in the drying operation is of the same type that is used in the preparation of the tapioca product that is traditional to the Northeastern region of Brazil. In this way, an encapsulation efficiency of 79 % was achieved. The process is also simple to be controlled and can be applied directly by local industries, since it does not require sophisticated equipment and plant set up. By fortifying cassava gum with the carrot carotenoid microparticle allows standardization of vitamin A concentration and to target the recommended daily intake of carotenoid in tapioca product, which would not be feasible if fortification is carried out by carrot juice addition. Also, it is easier to handle and to dose powders rather than perishable liquids, like carrot juice, in food industries or in artisanal productions. Only minor carotenoid losses were observed after tapioca preparation under heat process (22 %) and during one-month storage of the fortified cassava gum at 10 °C and light

protected. Instrumental texture properties and color of the microparticle-cassava gum and the prepared tapioca were similar to the same products prepared with the carrot juice.

Acknowledgements

The authors acknowledge the Science, Technology and Innovation Ministry (MCTI) of Brazil for financial support through the program CVTSAN-UFPB and the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Brazil. Job Ubbink acknowledges partial USDA-NIFA funding from the Minnesota Agricultural Experiment Station (hatch project MIN-18-141).

References

- Adekunte, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M., & O'Donnell, C. P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3), 500–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.026>
- Ach, D., Briançon, S., Dugas, V., Pelletier, J., Broze, G., & Chevalier, Y. (2015). Influence of main whey protein components on the mechanism of complex coacervation with Acacia gum. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 481, 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.06.006>
- Ai, Y., & Jane, J. L. (2015). Gelatinization and rheological properties of starch. *Starch/Staerke*, 67(3–4), 213–224. <https://doi.org/10.1002/star.201400201>
- Almeida, E. G. de. (2017). Desenvolvimento de goma de mandioca colorida com bioativos da beterraba (*Beta Vulgaris*) [Universidade Federal Da Paraíba - UFPB]. In *Graduação*. <https://doi.org/https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15714>
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 2016. Official methods of analysis of 384 the Association of Official Analytical Chemists 20th ed. Rockville: A.O.A.C.
- Beuchat, L. R., Komitopoulou, E., Beckers, H., Betts, R. P., Bourdichon, F., Fanning, S., Joosten, H. M., & Kuile, B. H. T. (2013). Low-water activity foods: Increased concern as vehicles of foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 76(1), 150–172. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-211>
- Brasil (2005). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. RDC nº 269, 22 de setembro de 2005. Aprova Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Diário Oficial República Federativa do Brasil, Brasília.
- Cardoso, R. V. C., Fernandes, Â., González-Paramás, A. M., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Flour fortification for nutritional and health improvement: A review. *Food*

- 539 *Research International*, 125(May), 108576.
540 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108576>
- 541 Chen, J., Li, F., Li, Z., McClements, D. J., & Xiao, H. (2017). Encapsulation of carotenoid in
542 emulsion-based delivery systems: Enhancement of β -carotene water-dispersibility and
543 chemical stability. *Food Hydrocolloids*, 69, 49–55.
544 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.024>
- 545 Falade, K. O., & Akingbala, J. O. (2011). Utilization of Cassava for food. *Food Reviews*
546 *International*, 27(1), 51–83. <https://doi.org/10.1080/87559129.2010.518296>
- 547 García, J. M., Giuffrida, D., Dugo, P., Mondello, L., & Osorio, C. (2018). Development and
548 characterisation of carotenoid-rich microencapsulates from tropical fruit by-products and
549 yellow tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.). *Powder Technology*, 339, 702–709.
550 <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.08.061>
- 551 Garrett, G. S., Luthringer, C. L., Yetley, E. A., & Neufeld, L. M. (2019). Food Fortification
552 Policy. In *Encyclopedia of Food Security and Sustainability* (Vol. 2). Elsevier.
553 <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22068-4>
- 554 Gonçalves, A., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2016). Microencapsulation of vitamin A: A
555 review. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 76–87.
556 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.001>
- 557 Haas, K., Obernberger, J., Zehetner, E., Kiesslich, A., Volkert, M., & Jaeger, H. (2019). Impact
558 of powder particle structure on the oxidation stability and color of encapsulated crystalline
559 and emulsified carotenoid in carrot concentrate powders. *Journal of Food Engineering*,
560 263(July), 398–408. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.07.025>
- 561 Han, H., Hou, J., Yang, N., Zhang, Y., Chen, H., Zhang, Z., Shen, Y., Huang, S., & Guo, S.
562 (2019). Insight on the changes of cassava and potato starch granules during gelatinization.
563 *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 37–43.
564 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.201>
- 565 Janiszewska-Turak, E., Dellarosa, N., Tylewicz, U., Laghi, L., Romani, S., Dalla Rosa, M., &
566 Witrowa-Rajchert, D. (2017). The influence of carrier material on some physical and
567 structural properties of carrot juice microcapsules. *Food Chemistry*, 236, 134–141.
568 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.134>
- 569 Janiszewska, E. (2014). Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain.
570 *Powder Technology*, 264, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.05.032>
- 571 Khalilian Movahhed, M., & Mohebbi, M. (2016). Spray Drying and Process Optimization of
572 Carrot-Celery Juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(2), 212–225.
573 <https://doi.org/10.1111/jfpp.12598>
- 574 Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2017). Natural colorants : Pigment
575 stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and
576 extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243–3259.
577 <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498>
- 578 Pacheco, S., De Oliveira, R., Luzimar, D. S., Passos, C., Pessanha, M., & Santos, J. (2011).

- 579 Adaptação Do Método De Extração De Carotenoides Para Escala De Micro-Extração. *IV*
580 *Reunião de Biofortificação*, 1, 4.
- 581 Páramo-Calderón, D. E., Aparicio-Saguilán, A., Aguirre-Cruz, A., Carrillo-Ahumada, J.,
582 Hernández-Uribe, J. P., Acevedo-Tello, S., & Torruco-Uco, J. G. (2019). Tortilla added
583 with Moringa oleífera flour: Physicochemical, texture properties and antioxidant capacity.
584 *LWT - Food Science and Technology*, 100(April 2018), 409–415.
585 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.078>
- 586 Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour Measurement and Analysis in
587 Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60.
588 <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- 589 Parente, G. D. L., Macêdo, F. A., Diniz, N. C. M., Conceição, M. M., Ubbink, J. B., Braga, A.
590 L. M. (2021). Traditional cassava-based food from the northeast of Brazil: observations
591 on the formation and textural properties of tapiocas (Submitted).
- 592 Rehman, A., Tong, Q., Jafari, S. M., Shehzad, Q., Aadil, R. M., Iqbal, W., Rashed, M. M. A.,
593 & Mushtaq, B. S. (2019). Carotenoid-loaded nanocarriers: A comprehensive review.
594 *Advances in Colloid and Interface Science*, 102048.
595 <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102048>
- 596 Rodriguez-amaya, D. B., & Kimura, M. (2004). HarvestPlus Handbook for Carotenoid
597 Analysis. *International Food Policy Research Institute (IFPRI)*, 59.
- 598 Rutz, J. K., Borges, C. D., Zambiazzi, R. C., Da Rosa, C. G., & Da Silva, M. M. (2016).
599 Elaboration of microparticles of carotenoid from natural and synthetic sources for
600 applications in food. *Food Chemistry*, 202, 324–333.
601 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.140>
- 602 Stieger, M., & Van de Velde, F. (2013). Microstructure, texture and oral processing: New ways
603 to reduce sugar and salt in foods. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 18(4),
604 334–348. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2013.04.007>
- 605 Tozer, S., O'Mahony, C., Hannah, J., O'Brien, J., Kelly, S., Kosemund-Meynen, K., &
606 Alexander-White, C. (2019). Aggregate exposure modelling of vitamin A from cosmetic
607 products, diet and food supplements. *Food and Chemical Toxicology*, 131(January),
608 110549. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.05.057>
- 609 Ubbink, J., & Krüger, J. (2006). Physical approaches for the delivery of active ingredients in
610 foods. *Trends in Food Science and Technology*, 17(5), 244–254.
611 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.01.007>
- 612 Ubbink, J. (2018). Plasticization and antiplasticization in amorphous food systems. *Current*
613 *Opinion in Food Science*, 21, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.007>
- 614 Vamadevan, V., & Bertoft, E. (2018). Impact of different structural types of amylopectin on
615 retrogradation. *Food Hydrocolloids*, 80, 88–96.
616 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.029>
- 617 Weinbreck, F., de Vries, R., Schrooyen, P., & de Kruif, C. G. (2003). Complex coacervation of
618 whey proteins and gum arabic. *Biomacromolecules*, 4(2), 293–303.

619 <https://doi.org/10.1021/bm025667n>

620 Zhang, Z., Wei, Q., Nie, M., Jiang, N., Liu, C., Liu, C., Li, D., & Xu, L. (2018). Microstructure
621 and bioaccessibility of different carotenoid species as affected by hot air drying: Study on
622 carrot, sweet potato, yellow bell pepper and broccoli. *Lwt*, 96(May), 357–363.
623 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.061>

624

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pela primeira vez, uma definição físico-química de tapioca comercializada no Nordeste do Brasil foi fornecida na literatura científica. A tapioca é um produto elaborado à base de mandioca que se caracteriza por uma transição cristalina para fase amorfa em durante o seu preparo, e que inclui um grau de sinterização que varia entre o núcleo e a crosta dependendo de um equilíbrio entre a taxa de aquecimento, a taxa de evaporação da água, gelatinização do amido e a viscosidade da estrutura formada. A tapioca foi visualmente considerada um produto predominantemente amiláceo, na forma de um disco de baixa espessura, com estrutura contínua composta por uma região central gelificada e translúcida (núcleo) e superfície esbranquiçada ($L \approx 80$) (crosta) mais seca que a núcleo, sendo possível dobrá-la sem quebrá-lo ou destruí-la. Devido ao alto teor de água (32,5-40% em base úmida) e atividade de água (0,93-0,96) medida em tapiocas preparadas em várias condições, a tapioca foi classificada como um alimento perecível. Portanto, deve ser consumido imediatamente após ser produzido. Quanto às propriedades físicas de textura, a tapioca foi classificada de acordo com o tempo de cozimento (120-210 s).

Misturas concentradas de amido de mandioca quando inserido em um processo térmico padronizado a 200 °C por 120 s formam materiais amiláceos distintos, dependendo da quantidade de água adicionada no sistema. A desintegração do grânulo foi verificada microscopicamente a partir de 35% de amido. Imagens do rompimento dos grânulos e da interface entre o gel e a superfície seca da tapioca foram registradas nesta pesquisa através do MEV. A amostra de amido nativo apresentou características do padrão de cristalinidade tipo A, o mesmo foi apresentado pelas amostras com 85 e 75 % (p / p) de amido, enquanto as amostras com 50 e 40 %, mostraram perda relevante do grau de cristalinidade decorrente do tratamento térmico aplicado. As propriedades reológicas das suspensões de amido apontam que a medida que a concentração de amido aumenta, os valores de PV (2033-167100 Pa.s), QV (992-165738 Pa.s), e VF (3303-21660 Pa.s) aumenta consequentemente e que as amostras com menor concentração de amido (40, 50 e 55%) apresentam VF maior do que PV.

Também foi realizado nesse estudo o desenvolvimento de uma técnica de encapsulação sustentável que concentra o suco de cenoura por meio do processo de coacervação complexa, removendo aproximadamente 87% de água e alguns compostos solúveis, e conseguiu secá-la posteriormente em temperatura amena (30 °C) aplicando o mesmo amido nativo utilizado na tapioca como agente secante, alcançando 79 % de

eficiência de encapsulação. As micropartículas também apresentaram alta retenção de carotenoides após 30 dias armazenadas em baixa temperatura e em contato com o ar. Esse processo também é simples de ser controlado e pode ser aplicado pelas indústrias locais, uma vez que não requer equipamentos sofisticados e montagem de planta. O enriquecimento da goma de mandioca com micropartículas de suco de cenoura é tecnologicamente viável, uma vez que o teor final de carotenoides no produto micropartícula goma de mandioca e correspondentes tapiocas foi superior a 30 % da RDI de vitamina A e de acordo com a legislação brasileira. Houve baixas perdas de carotenoides durante o armazenamento do pó da micropartícula de goma de mandioca (27 %) e após o preparo da tapioca pelo processo térmico (22 %). Todas as propriedades físico-químicas da micropartícula-goma de mandioca e da tapioca preparada foram semelhantes às dos mesmos produtos preparados com o suco fluido de cenoura.

Esses resultados auxiliam ainda na valorização da mandioca e seus derivados como a goma de mandioca e da tapioca no cenário internacional além de proporcionar a indústria alternativas para a expansão mercadológica de tais produtos gerando renda e crescimento da agricultura familiar do Brasil em especial na Região Nordeste.