

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

**Caracterização de Farinha de Mandioca (*Manihot
esculenta* Crantz) com Concentrado Protéico de Folhas de
Mandioca Obtido por Precipitação Isoelétrica.**

Elaine Cristina de Souza Lima

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

CARACTERIZAÇÃO DE FARINHA DE MANDIOCA
(*Manihot esculenta* Crantz) COM CONCENTRADO
PROTÉICO DE FOLHAS DE MANDIOCA OBTIDO
POR PRECIPITAÇÃO ISOELÉTRICA.

ELAINE CRISTINA DE SOUZA LIMA

Sob a orientação do Professor
Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur

e Co-orientação da Professora
Márcia Barreto da Silva Feijó

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2011

664.72272

L732c

T

Lima, Elaine Cristina de Souza,
1986-.

Caracterização de farinha de
mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)
com concentrado protéico de folhas
de mandioca obtido por precipitação
isoelétrica / Elaine Cristina de
Souza Lima - 2011.

84 f.: il.

Orientador: Armando Ubirajara
Oliveira Sabaa Srur.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Bibliografia: f. 62-70.

1. Farinha de mandioca - Teses.
2. Mandioca - Nutrição - Teses. 3.
Mandioca - Processamento - Teses. 4.
Alimentos - Teor protéico - Teses.
I. Srur, Armando Ubirajara Oliveira
Sabaa, 1945-. II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós-Graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos. III.
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

ELAINE CRISTINA DE SOUZA LIMA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM -----/-----/-----

Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur, Dr UFRJ
(Orientador)

Andrea Gomes da Silva, Dra UESB
(Membro titular)

Vera Lúcia Mathias, Dra UFRJ
(Membro Titular)

à Deus e a todos que estiveram ao meu lado, incentivando, apoiando e fazendo com que a realização deste sonho fosse possível, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve ao meu lado, nas minhas quedas, nas minhas fraquezas, nas minhas alegrias e tristezas, nas lutas e controvérsias, vitórias e derrotas. Por fazer este sonho tornar-se realidade,

À minha mãe Nanci que iluminou todos os caminhos obscuros com afeto e carinho, sempre se doando por inteiro e se dedicando a minha formação acadêmica. A alegria desta conquista também é sua, mãe. Afinal, seu amor, estímulo e carinho são a alma desta vitória,

À minha irmã Veronica e minha sobrinha Beatriz, pelo incentivo, carinho e compreensão nos momentos de ausência,

Ao professor orientador Dr. Sabaa por fazer do aprendizado não só um trabalho, mas um contentamento. Pela amizade, compreensão, carinho, respeito, incentivo, oportunidade, confiança, dedicação e ensinamentos. Por ser além de um professor, um grande amigo, um pai, um anjo que Deus colocou em minha vida,

À professora orientadora Dra. Márcia pela dedicação e carinho, que durante estes anos foi sempre muito mais que uma mestre, uma amiga. Sempre incentivando, respeitando, acreditando em minha capacidade e lutando pela minha formação,

À professora Dr. Edna Ribeiro dos Santos pela confiança, carinho e todo incentivo,

Às minhas amigas irmãs Kelly, Simone e Luciana por toda a atenção, carinho, apoio e confiança nestes anos juntas,

Ao Rafael, pela torcida e pelo grande incentivo. Obrigada pelo carinho e pela amizade,

Às minhas amigas, Malu, Mayara, Juliana e Tati Borga que fizeram de momentos tensos, momentos felizes, sempre me ajudando nas análises,

Às amigas Tati Martins, Emanuelle e todos os colegas da turma de mestrado,

À minha grande amiga Ariele, pela força e ajuda na adequação da Língua Portuguesa,

À Ivone, Camila, Renata, Rosa, Samantha, Dilson e Nancy, que me apoiaram e incentivaram quando trocar o caminho foi preciso. Obrigada pela amizade,

Ao amigo, Dr. Alexandre Gonçalves, pela paciência, ajuda, carinho e atenção sempre,

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em especial ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo importante aprendizado,

À toda equipe do Laboratório do Instituto de Nutrição – UFRJ, em especial a Maria Teresa C. Simões por todo apoio e carinho durante as análises,

À toda equipe do Laboratório de Controle de Qualidade – PESAGRO,

Ao professor Dr. Paulo Nascimento e sua aluna Daiane Dias, pela parceria nas análises de cianeto,

À professora Dra. Maria Cristina Jesus Freitas, pela orientação em análises, pela paciência, atenção e carinho,

À Marcela Albuquerque por todo carinho e ajuda nas análises microbiológicas,

Ao meu primo José Carlos, que me ajudou na árdua colheita de folhas de mandioca,

Aos amigos, que compartilharam comigo os anos de estudo e as expectativas, pela paciência e compreensão por minhas ausências,

A todos os provadores, treinados ou não, por estarem sempre dispostos a me ajudar,

Ao CNPq pelo importante apoio financeiro concedido a este projeto,

A todos que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho, o meu muito obrigada!

"Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas, nos auxiliam muito"
Chico Xavier

RESUMO

LIMA, Elaine Cristina de Souza. **Caracterização de farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com concentrado protéico de folhas de mandioca obtido por precipitação isoelétrica**. 2011. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

O aproveitamento de biomassa tornou-se uma preocupação mundial, em especial no Brasil, país rico em diversidade e quantidade de alimentos. No entanto, milhares de brasileiros ainda passam fome, enquanto grande parte da biomassa é desperdiçada como é o caso das culturas de subsistência, entre as quais se destaca a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), que, durante a colheita, tem toda a sua parte aérea desprezada no campo. As folhas dessa maniva contém importantes nutrientes que poderiam ser utilizadas na dieta, como Concentrado Protéico dessa porção (CPFM). Diante da importância nutricional do CPFM, em função do seu perfil de aminoácidos e aos poucos estudos disponíveis relativos ao pH ideal para a precipitação de proteínas em extratos aquosos, o objetivo deste estudo foi produzir um CPFM através de precipitação isoelétrica. As folhas de mandioca (*Manihot esculentum* Crantz) cv. Saracura foram lavadas com água corrente contendo 100 ppm de cloro livre e enxaguadas com água destilada, foram trituradas em presença de solução de NaOH 0,1M e metabissulfito de sódio 0,05%, na proporção de 1:4 (p:v) com auxílio de liquidificador semi-industrial. Depois de sucessivas filtrações e decantações seguidas de centrifugação, os extratos aquosos clarificados obtidos foram divididos em seis alíquotas (cada extrato) e acidificadas com HCl 0,1 M até os pH's 5,0, 4,5, 4,0, 3,5, 3,0 e 2,5, respectivamente. O extrato com pH 2,5 foi o que apresentou maior teor de proteínas 76,25% \pm 1,25, sendo utilizado para elaboração de farinhas de mandioca com 0; 2,5; 5,0 e 10 % de CPFM. A adição de CPFM promoveu aumento significativo nos teores de proteína, cinzas, lipídeos, fibras e acidez, e diminuição dos teores de amido. As farinhas não apresentaram teores de cianeto e foram consideradas microbiologicamente seguras de acordo com a legislação vigente. Análises do perfil de aminoácidos do CPFM mostraram que o CPFM é boa fonte de aminoácidos, pois possui, para a maioria dos aminoácidos, níveis superiores aos requeridos pela FAO (1985), apresentando cômputo químico superior a 100%, no entanto, é deficiente em histidina, metionina e cistina. Sensorialmente a farinha de mandioca com 2,5% de CPFM foi a que apresentou melhor sabor global, no entanto, não houve diferença significativa com as farinhas com 0 e 5,0% de CPFM. A aplicação do CPFM foi efetiva por proporcionar farinhas com aceitabilidade sensorial e aumentar a qualidade protéica da farinha de mandioca, um produto essencialmente energético e base da alimentação dos brasileiros, em especial do norte e nordeste, onde a incidência de desnutrição protéica é maior.

Palavras – chave: Proteína, concentrado protéico, folha de mandioca, farinha

ABSTRACT

LIMA, Elaine Cristina de Souza. **Characterization of Cassava Flour (*Manihot esculenta* Crantz) with Concentrated Cassava Leaf Protein Obtained by isoelectric precipitation.** 2011. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The utilization of biomass has become a worldwide concern, especially in Brazil, a country rich in diversity and quantity of food. However, thousands of Brazilians still go hungry, while much of the biomass is wasted as is the case of subsistence crops, among which highlights the cassava (*Manihot esculenta* Crantz), which, during the harvest, has his entire shoot neglected by the field. The leaves of manioc contains important nutrients that could be used in the diet as concentrate Protein that portion (CLPC). Given the nutritional importance of CLPC in function of its amino acid profile and the few studies available on the optimal pH for precipitation of proteins in the extracts, the goal this study was to produce a CLPC by isoelectric precipitation. The cassava after washing with water containing ppm chlorine and rinsed with distilled water, were crushed in the presence of 0.1 M NaOH and sodium metabisulfite 0.05% at a ratio of 1:4 (w: v) using a semi-blender industrial. After successive filtrations followed by decantation and centrifugation, the extracts were divided into clarified six aliquots (each extract) and acidified with 0.1 M HCl until the pH's 5.0, 4.5, 4.0, 3.5, 3.0 and 2.5, respectively. The extract with pH 2.5 was what had a higher protein content $76.25\% \pm 1.25$, being used for preparation of cassava flour with 0, 2.5, 5.0 and 10% of CLPC. The addition CLPC to promote significant increase in protein, ash, lipid, fiber and acidity, and decreased amounts of starch. The meal does not showed levels of cyanide were found to be microbiologically secure in accordance with current legislation. Analysis of the amino acid profile CLPC showed that the CLPC is good source of amino acids, as it has for the most amino acids, levels above those required by the FAO (1985), presenting chemical calculation above 100%, however, is deficient in histidine, methionine and cystine. Sensory cassava flour with 2.5% of CLPC presented the best overall flavor, however, no significant difference in the flours with 0 and 5.0% for CLPC. The application of CLPC was effective for providing flour and sensory acceptability increase the protein quality of cassava flour, a product mainly energy and basic food of the Brazilians, in particular the north and northeast, where the incidence of malnutrition is higher.

Key - words: Protein, protein concentrate, cassava leaves, flour

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação de diferentes tipos de mandioca seca	08
Tabela 2. Referências utilizadas no teste de reconhecimento de odores	32
Tabela 3. Concentração das soluções aquosas dos gostos básicos	33
Tabela 4. Listas dos termos descritores, definições e referências para cada atributo	35
Tabela 5. Inativação de peroxidase segundo o tempo de tratamento térmico a 100°C	38
Tabela 6. Média da concentração protéica do sobrenadante em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca	39
Tabela 7. Média da concentração protéica do CPFM em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca	40
Tabela 8. Composição centesimal do CPFM	41
Tabela 9. Teor de aminoácidos do CPFM, padrão de aminoácidos estabelecidos (g aa/100g de proteína) e cômputo químico de aminoácidos do CPFM em relação a proteína padrão FAO	43
Tabela 10. Composição química e físico-química das farinhas de mandioca elaborada	44
Tabela 11. Análise microbiológica das farinhas de mandioca elaboradas e padrão estabelecido pela legislação	54
Tabela 12. Médias das notas dos provadores para os atributos sensoriais das farinhas de mandioca elaboradas	57
Tabela 13. Média dos descritores sensoriais das farinhas obtidos através da análise descritiva	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmulas estruturais da Linamarina e Lotaustralina	07
Figura 2. Fluxograma de processamento da farinha de mandioca	08
Figura 3. Seqüência de extração do CPFM por precipitação isoelétrica	23
Figura 4. Obtenção do CPFM	34
Figura 5. Fluxograma de processamento da farinha de mandioca	36
Figura 6. Preparo da farinha de mandioca adicionada de CPFM	27
Figura 7. Ficha utilizada no teste de aceitação	30
Figura 8. Questionário de recrutamento de provadores	31
Figura 9. Ficha do teste de reconhecimento de odores	32
Figura 10. Apresentação das amostras para seleção dos provadores quanto ao aroma	32
Figura 11. Ficha do teste de reconhecimento de sabores	33
Figura 12. Apresentação das amostras para seleção dos provadores quanto ao sabor	33
Figura 13. Ficha para teste triangular	34
Figura 14. Ficha para levantamento dos termos descritores	34
Figura 15. Ficha ADQ utilizada para avaliação das farinhas de mandioca elaboradas	37
Figura 16. Concentração protéica do sobrenadante em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca	39
Figura 17. Concentração protéica do CPFM em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca	40
Figura 18. Teor de umidade das farinhas de mandioca elaboradas	45
Figura 19. Teor de cinzas das farinhas de mandioca elaboradas	46
Figura 20. Teor de proteínas das farinhas de mandioca elaboradas	47
Figura 21. Comparação do teor protéico das farinhas de mandioca elaboradas	48
Figura 22. Teor de lipídeos das farinhas de mandioca elaboradas	49
Figura 23. Teor de glicídios em amido das farinhas de mandioca elaboradas	50
Figura 24. Teor de fibras solúveis e insolúveis das farinhas de mandioca elaboradas	51
Figura 25. Teor de acidez das farinhas de mandioca elaboradas	52
Figura 26. Levantamento da freqüência de consumo de produtos de mandioca	55
Figura 27. Levantamento dos principais produtos de mandioca consumidos pelos provadores	56
Figura 28. Perfil sócio-demográfico dos participantes da avaliação das farinhas de mandioca	56
Figura 29. Médias das notas dos provadores para os atributos sensoriais das farinhas	57
Figura 30. Configuração da análise descritiva quantitativa (ADQ) para cor, sabor, textura e odor das farinhas de mandioca elaboradas	60

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

A.c	Antes de Cristo
AACC	Association of Official Analytical Chemistry
AC	Acre
ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
ANOVA	Análise de Variância
B.U	Base Úmida
BA	Bahia
CFN	Conselho Federal de Nutrição
CNA	Carboidratos sem Amido
CPFM	Concentrado Protéico de Folha de Mandioca
Dr.	Doutor
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FA	Fibra Alimentar
FAO	Food and Agriculture Organization
FAT	Fibra Alimentar Total
FDA	Fibra Detergente Ácida
FDA	Food and Drug Organization
FDN	Fibra Detergente Neutra
FE	Ferro
F ₀	Farinha de Mandioca com 0% de CPFM
F ₁	Farinha de Mandioca com 2,5% de CPFM
F ₂	Farinha de Mandioca com 5,0% de CPFM
F ₃	Farinha de Mandioca com 10% de CPFM
FFM	Farinha de Folha De Mandioca
ha	Hectare
HCl	Ácido Clorídrico
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
HCN	Ácido Cianídrico
HLPC/UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção de Ultravioleta
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDR	Ingestão Recomendada para Adultos
Kg	Quilograma
M	Metro/Massa/Molar

MAPA	Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária
MCP	Massa do Concentrado Protéico
Mg	Miligrama
MIE	Massa da Folha de Mandioca no Início da Extração
Min.	Mínimo
mL	Mililitro
N	Normalidade
NaOH	Hidróxido de Sódio
NEPA/UNICAMP	Núcleo de Pesquisas em Alimentação/ Universidade Estadual de Campinas
NMP	Número Mais Provável
Nº	Número
P	Peso
PA	Para análise
PESAGRO	Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro
pH	Potencial Hidrogênio Iônico
PI	Potencial Isoelétrico
pK	Constante de Dissociação
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
PPM	Parte Por Milhão
Prof	Professor
PTN	Proteína
RDA	Recommended Dietary Allowances
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RJ	Rio de Janeiro
SEBRAE	Serviço de Apoio as Micro e Pequenas Empresas
TACO	Tabela de Composição de Alimentos
Ton	Tonelada
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
v	Volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
1.1	Objetivo geral	02
1.2	Objetivo específico	02
2	REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1	Mandioca	03
2.1.1	Características de cultivo da mandioca	03
2.1.2	Aspectos sócio-econômicos e culturais da mandioca	04
2.1.3	Composição química e toxicidade da mandioca	06
2.2	Farinha de mandioca	07
2.2.1	Processamento da farinha de mandioca	08
2.2.2	Padrões de qualidade para a farinha de mandioca	10
2.3	Importância da produção e desenvolvimento de novos produtos à base de mandioca para a população brasileira	11
2.4	Folha da mandioca	13
2.4.1	Toxicidade e fatores antinutricionais da folha de mandioca	14
2.4.2	Extração de proteínas da folha de mandioca	16
2.4.3	Extração de proteínas da folha de mandioca por precipitação isoelétrica	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Material	20
3.1.1	Matéria prima	20
3.1.2	Equipamentos	20
3.1.3	Reagentes	20
3.1.4	Vidrarias	21
3.2	Métodos	22
3.2.1	Inativação do sistema enzimático das folhas de mandioca	22
3.2.2	Obtenção do concentrado protéico de folhas de mandioca	22
3.2.3	Cálculo do rendimento do CPFM	24
3.2.4	Preparo da farinha de mandioca com CPFM	25
3.2.5	Determinações	28
3.2.5.1	Químicas e físico-químicas	28
3.2.5.2	Análises microbiológicas	29
3.2.5.3	Análise sensorial	29
3.2.5.3.1	Teste de aceitação	29
3.2.5.3.2	Análise descritiva quantitativa	31
a)	Caracterização dos hábitos de consumo dos provadores de farinha de mandioca	31

b) Memória sensorial e capacidade discriminativa	31
c) Desenvolvimento de terminologia descritiva	34
d) Treinamento e seleção da equipe final de provadores	36
e) Avaliação das amostras	36
3.2.5.4 Análise estatística	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1 Inativação da Peroxidase	38
4.2 Cinética de caracterização do sobrenadante e do CPFM obtidos por precipitação isoelétrica	39
4.3 Caracterização do CPFM	41
4.4 Composição química e físico-química das farinhas elaboradas	43
4.4.1 Umidade	44
4.4.2 Cinzas	45
4.4.3 Proteína	46
4.4.4 Lipídeos	48
4.4.5 Glicídios em amido	49
4.4.6 Fibra solúvel e Fibra insolúvel	50
4.4.7 Acidez total titulável	51
4.5 Cianeto total	52
4.6 Análises microbiológicas	53
4.7 Análise sensorial	55
4.7.1 Teste de aceitação	55
4.7.2 Análise Descritiva Quantitativa	58
4.7.2.1 Caracterização dos hábitos de consumo dos provadores	58
4.7.2.2 Pré-seleção dos candidatos	58
4.7.2.3 Seleção da equipe final de provadores	59
4.7.2.4 Perfil sensorial das farinhas de mandioca	59
5 CONCLUSÕES	61
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) constitui a base alimentar de parte considerável das populações da África, Ásia e América Latina assumindo posição sócio-econômica mundial, em face da elevada capacidade de adaptação às condições edafoclimáticas, facilidade de cultivo dessa raiz, e por ser a principal fonte de carboidratos para as populações mais carentes.

Nessas regiões onde a mandioca destaca-se como base alimentar, a deficiência protéica, um dos fatores primordiais da desnutrição humana, acomete grande parcela da população. Essa deficiência pode ser atribuída à falta e ao alto preço dos alimentos protéicos, tanto de origem animal quanto vegetal.

Pesquisas atuais demonstram que as folhas verdes da maioria dos vegetais apresentam características para servirem como fonte de proteínas, podendo ser alternativa ao combate a desnutrição, tanto de forma direta ou indireta, através de rações animais, que servirão de alimento para o homem.

Parte dos resíduos agrícolas é reconhecidamente considerada como fonte protéica, ainda que pouco utilizada. As folhas de mandioca, em especial, além de ótima fornecedora de proteínas, se destaca como fonte vitamínica e mineral.

Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de mandioca, sendo a farinha de mandioca um produto tipicamente brasileiro. O Brasil é o único país americano com produção de farinha, com exceção para os países da região Amazônica, nas tribos de ameríndios e no Paraguai onde, por influência brasileira, se encontram algumas fábricas.

No processo fabril para obtenção da farinha de mandioca, as plantas de mandioca são arrancadas totalmente do solo, a raiz removida é direcionada para a produção de farinha, enquanto que as folhas e hastes são abandonadas no campo.

Apesar das folhas de mandioca apresentarem elevado teor de proteínas, sua digestibilidade é baixa, devido ao seu alto teor de fibras e de polifenóis. A produção de concentrados protéicos de folhas (CPF) permitiria sua melhor utilização como alimento em função da alta digestibilidade pela ausência de fibra nessa porção.

Considerando, o cenário brasileiro, em especial as regiões Norte e Nordeste, a crescente utilização de novos alimentos com diferentes propriedades funcionais, e a boa composição de minerais e outros nutrientes da folha, o objetivo deste estudo foi produzir o concentrado protéico das próprias folhas da mandioca obtido por precipitação isoelétrica, e adicioná-lo a farinha de mandioca para ser utilizado na dieta humana.

1.1 Objetivo geral

- Elaborar farinha de mandioca com proteínas das próprias folhas da mandioca, com vistas a melhorar o valor nutricional desse alimento e a aproveitar este resíduo agrícola.

1.2 Objetivos específicos

- Estudar a cinética de caracterização do sobrenadante obtido na elaboração concentrado protéico de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* cv. Saracura) por precipitação isoeletrica.
- Determinar o ponto isoeletrico de extrato aquoso de folhas de mandioca para obtenção do CPFM por acificação.
- Caracterizar o CPFM obtido pela precipitação isoeletrica.
- Produzir farinha de mandioca com o concentrado protéico de folhas de mandioca e avaliar suas características químicas, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais (teste de aceitação e descritivo).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

2.1.1 Características do cultivo da mandioca

Estudos indicam que a mandioca é uma planta ancestral, natural de vegetação de galeria associada a rios, na zona de transição entre a floresta Amazônica e o Cerrado, próxima às fronteiras entre Peru e Brasil (CARVALHO, 2005). Esse arbusto pertence à ordem Malpighiales, família Euphorbiaceae, gênero *Manihot* e espécie *Manihot esculenta* Crantz, sendo a única, dentre as 98 espécies conhecidas da família Euphorbiaceae, cultivada para fins de alimentação (CARVALHO, 2005).

Originária de região tropical, a mandioca encontra condições favoráveis para o seu desenvolvimento em todos os climas tropicais e subtropicais, sendo cultivada na faixa compreendida entre 30 graus de latitudes Norte e Sul, embora a concentração de plantio da mandioca esteja entre as latitudes 20°N e 20°S. Suporta altitudes que variam desde o nível do mar até cerca de 2.300 metros, admitindo-se que as regiões baixas ou com altitude de até 600 a 800 metros são as mais favoráveis para o cultivo (EMBRAPA, 2010).

A planta de mandioca apresenta ciclo de desenvolvimento composto por cinco fases fisiológicas principais, sendo quatro ativas e uma de repouso vegetativo. A primeira fase é chamada de brotação da maniva com formação do sistema radicular; na segunda fase continua sendo formado o sistema radicular, constituído por raízes fibrosas; na terceira fase ocorre o desenvolvimento da parte aérea da planta e, simultaneamente, o espessamento de algumas raízes fibrosas, pelo acúmulo de amido; a quarta fase é o espessamento das raízes de reserva, nessa fase já não há mais crescimento das raízes em comprimento, mas em diâmetro, pela deposição do amido. A quinta fase é a de repouso vegetativo, durante essa fase, a planta armazena o máximo de reserva de amido nas raízes (TERNES, 2002).

Perez (2010) acredita que a sabedoria popular tem mostrado através das gerações, a diferença entre dois grupos genéricos de variedades de mandioca: as “mandiocas bravas”, cuja concentração de compostos cianogênicos às tornam altamente tóxica para o consumo humano ou animal; e as “mandiocas doces”, “mansas” ou “de mesa”, que apresentam menor quantidade destes compostos e cujo consumo é mais seguro.

Borges et al. (2002), ressaltaram que o grupo de variedades de mandioca mansa caracteriza-se, principalmente, por apresentar teores de cianeto abaixo de 100 mg/kg de polpa nas raízes frescas. As variedades com concentrações de cianeto na raiz fresca acima de 100 mg/kg de peso são denominadas bravas ou venenosas ou seja, impróprias para consumo fresco, sendo, portanto, indicadas para a indústria, onde a toxicidade da raiz é reduzida durante o processamento. No preparo de produtos derivados da mandioca de mesa, como mandioca cozida, frita, bolo, purê, suflê, entre outros, o cianeto presente na polpa também é despreendido por volatilização atingindo níveis baixíssimos, tornando-os inócuos.

Outra forma de se classificar os cultivares de mandioca é de acordo com a duração do ciclo entre o plantio e a colheita. As três categorias usualmente conhecidas são as precoces (de 10 a 14 meses), semiprecoces (de 14 a 16 meses) e as tardias (mais de 18 meses) (SEBRAE, 2008).

2.1.2 Aspectos sócio-econômicos e culturais da mandioca

Segundo Silva (2008), existem evidências diretas e indiretas na América do Sul de que o cultivo da mandioca era praticado desde 2.500 a.C, em quase todas as regiões tropicais do Novo Mundo.

As mais recentes pesquisas agrícolas e arqueológicas indicam que, provavelmente, a Região Amazonense foi o berço da mandioca, enquanto versões alternativas dão conta de seu surgimento no Peru (região dos Andes) ou mesmo na África (SEBRAE, 2008).

Uma das lendas indígenas sobre a origem da mandioca conta que a filha de um chefe selvagem concebeu uma criança a partir de uma gravidez misteriosa, que muito desgostara seu pai. No entanto, o carisma da menina, surpreendentemente branca, fez os aborrecimentos desaparecerem. Seu nome era Mani. Foi motivo de admiração e curiosidade naquela e em outras tribos, tanto sua aparência como pela precocidade com que andou e falou. Subitamente, Mani morreu com um ano de idade, deixando a todos muito tristes. A criança foi enterrada dentro da própria casa, em sepultura diariamente regada e cuidada, conforme os hábitos de seu povo. Em pouco tempo, no local de sua sepultura brotou uma vistosa planta, cujos frutos, quando ingeridos pelos pássaros, causavam-lhes uma leve embriaguez. Os índios, encantados com aquela novidade, escavaram a terra para encontrar o que julgaram ser parte do corpo de Mani, devido à sua coloração muito branca. Desta maneira, os índios aprenderam a usar a raiz e atribuíram-lhe o nome mani-óca, a casa de Mani (CÂMARA CASCUDO, s.d., p.545-46 apud SEBRAE 2008).

A mandioca esta associada à alimentação indígena desde que os portugueses descobriram o Brasil (BRANDÃO, 2007). Segundo Câmara Cascudo (2004), os primeiros indícios da presença de mandioca no Brasil, foram apontados na carta de Pero Vaz de Caminha e na Relação do Piloto Anônimo, quando mencionaram um tipo de “inhame” muito consumido pela população nativa. Para esse autor, tratava-se da mandioca, pois os portugueses já conheciam alguns tipos de inhames de suas viagens à África. Ainda no século XVI, Pero de Magalhães Gandavo (1964), Gabriel Soares de Souza (1971), e outros deixaram em seus escritos, importantes relatos sobre a presença da mandioca na alimentação, principalmente na forma de farinha, sendo ainda hoje, tradicional na dieta alimentar de alguns povos, como os ribeirinhos na Amazônia, as populações das diversas cidades da Região Amazônica, do Nordeste brasileiro, os Caiçaras no Litoral Paulista e muitos outros.

Os portugueses, logo que aqui se estabeleceram, reconheceram o valor da mandioca, passando a cultivá-la em torno de suas vilas, aprendendo desde cedo a preparar a saborosa farinha que mais tarde seria utilizada como alimento primordial nas expedições de colonização do sertão brasileiro. Ramas de mandioca foram levadas do Brasil para a África e as Índias, dentro da campanha de conquista e colonização de novas terras (CAMARA et al., 1982), sendo cultivadas em muitas regiões do planeta, principalmente as subdesenvolvidas.

A mandioca passou a fazer parte da alimentação dos escravos trazidos da África para o Brasil e assim, o negro conheceu a farinha de mandioca, incorporando-a a sua dieta habitual (SEBRAE, 2008), no entanto, muitas vezes a mandioca era cultivada pelos escravos às escondidas de seus senhores (SILVA, 2008).

Segundo Silva (2008), os relatos sobre a província do Rio de Janeiro deixam transparecer que a mandioca estava presente entre os mais variados estratos da sociedade. De acordo com este autor, na primeira metade do século XIX, a mandioca já fazia parte da dieta da população urbana, desde os mais abastados, entre os mais pobres e na população rural.

Atualmente, a cultura da mandioca assume grande importância econômica e social, nutrindo milhões de pessoas. Em algumas regiões do mundo, como no Nordeste brasileiro, em

Gana e na Nigéria (na África) e em algumas ilhas da Indonésia (na Ásia), mais de 70% das calorias consumidas diariamente pela população vêm da mandioca (NASSA, 2006).

No início dos anos 70 do século XX, em meio aos debates internacionais sobre as sérias crises de fome em países da África e de outras partes do mundo, o então presidente dos Estados Unidos, Richard Nixon, formou um comitê de consultoria científica para determinar prioridades em pesquisa de alimento. O comitê enfatizou a mandioca como a cultura com maior capacidade de atender à alta demanda mundial por alimento. Desde então, essa planta tem recebido maior atenção em todo o mundo, sendo considerada prioritária para pesquisa e melhoramento (NASSA, 2006).

A mandioca se disseminou rapidamente após sua inserção no continente africano, que hoje detém grande parte da produção mundial. Dos vinte maiores produtores mundiais, onze se encontram naquele continente, seguido da Ásia (predominantemente o sudeste), com 06 países. A América do Sul tem três representantes: Brasil, Paraguai e Colômbia, nessa ordem. Da produção mundial, a África é responsável por 54,5%; a Ásia, por 27,8%; e a América Latina, 17,7%, sendo a Nigéria o maior produtor mundial dessa raiz (SEBRAE, 2008).

Segundo a Superintendência da Zona Franca de Manaus – SUFRAMA (2003), o Brasil é o segundo produtor mundial de mandioca. Atualmente, a produção brasileira gira em torno de 25,5 milhões de toneladas da raiz, o equivalente a 60% da quantidade da Nigéria.

O Nordeste se destaca como a principal região brasileira produtora de mandioca, com 35,9% da produção nacional; o Norte é responsável por 25,2% e o Sul por 23,1%. Conseqüentemente, os cinco maiores estados produtores pertencem às três regiões: Pará, Bahia, Paraná, Maranhão e Rio Grande do Sul, respectivamente. Em termos de produtividade, o Paraná atinge um índice significativo (21,4 ton/ha), atrás apenas de São Paulo (23,2 ton/ha) (IBGE, 2005).

As raízes de mandioca têm sua produção dirigida tanto para consumo direto como para indústria de transformação, onde é utilizada na elaboração de diversos produtos como farinha de mesa comum, farinha d'água, a farinha seca, goma de tapioca, polvilho doce e azedo, mandioca congelada, minimamente processada e *chips* (CARDOSO et al., 2001). No Brasil, cerca de 80% dessas raízes são utilizadas para produção de farinha e 3% para a extração da fécula (BRANDÃO, 2008).

Dados da *Food and Agriculture Organization* – FAO (2010) revelam que hoje a China é o maior importador do mundo de mandioca e seus derivados. Em 2005 foram aproximadamente 9,5 milhões de toneladas, quase 3,5 vezes mais que a soma dos outros nove maiores importadores (Coréia do Sul, Espanha, Malásia, Indonésia, Japão, Estados Unidos, Holanda, Filipinas e Portugal).

A mandioca de mesa é um alimento comum em países tropicais e subtropicais, sendo conhecida, como cassava, mandioca mansa, aipim ou macaxeira (CONCEIÇÃO, 1983). Esta raiz constitui uma das principais fontes de carboidratos de parte significativa da população de baixa renda no Brasil, representando 10% das despesas anuais com gastos em alimentação, colocando-a em segundo lugar nos gastos alimentares, atrás apenas do feijão, que representa 13% (CARDOSO, 2003)

Atualmente no Brasil, as regiões Norte e Nordeste destacam-se como as principais consumidoras, essencialmente na dieta alimentar. Nas regiões Sul e Sudeste a maior parte da produção é enviada para a indústria, principalmente nos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais (SUFRAMA, 2003).

De acordo com a Pesquisa de Orçamento Familiar – POF (2002/2003) o consumo médio nacional de farinhas, féculas e massas, está em entorno de 23 kg/per capita/ano. As áreas rurais despontam como principais consumidoras do produto (20,6 kg/per capita/ano), contra 5,1 kg/per capita/ano pela população urbana, sendo que as maiores aquisições de farinha de mandioca estão no Norte (34 kg) e Nordeste (15 kg), caracterizando, portanto, o

consumo de farinha de mandioca por parte das famílias com renda mais baixa; o preço baixo e a manutenção de tradições culinárias explicam esse consumo.

Segundo a FAOSTAT (2011), o consumo *per capita* mundial de mandioca em 2009 foi de 49 kg/per capta/ano, enquanto que o Brasil apresentou foi de 101 kg/per capta/ano. Os países da África têm se destacado no consumo de mandioca e derivados, sendo que a República Democrática do Congo, Antiga República do Congo e Gana apresentaram, respectivamente, valores de 738, 822 e 631 kg/per capta/ano.

Além da importância nutricional, a agroindústria da mandioca contribui economicamente para permanência do homem no campo, ao agregar famílias e pequenas comunidades no sistema de cultivo e processamento, gerando ocupação e renda (SEBRAE, 2008).

2.1.3 Composição química e toxicidade da mandioca

A mandioca é caracterizada pelo alto teor de carboidratos sendo, portanto, considerado um alimento calórico. A composição química da raiz pode variar, segundo a cultivar, as condições de cultivo e o estágio de desenvolvimento (EL-DASH; MAZZARI e GERMANI, 1994).

De acordo com Ceni et al. (2003), a raiz de mandioca apresenta composição média de 66 a 70% de umidade, 0,33 a 3,5% de lipídeos, 2,2 a 9,2% de fibra alimentar, 1,2 a 1,3% de proteína, 24 a 39% de amido e 1,5 a 2,7% de CNA (carboidratos sem o amido), além de sacarose, maltose, glicose e frutose, em quantidades limitadas. Já as folhas de mandioca (parte aérea) frescas ou *in natura* apresentam quantidade de 11,4% de carboidratos.

Essas raízes, também, contêm vitamina C, carotenóides, tiamina, riboflavina e ácido nicotínico. Apresentam ainda quantidades consideráveis de cálcio e fósforo (NEPA/UNICAMP, 2003).

Souza et al. (2005) afirmaram que, embora a mandioca apresente teores baixos de proteínas, o grande consumo diário torna essa tuberosa uma fonte protéica razoável para populações de baixa renda.

Uma característica química marcante em raízes de mandioca é a presença dos chamados cianogênicos (compostos cianídricos) e também de enzimas que degradam esses compostos e liberam ácido cianídrico, o princípio tóxico mais importante dessa planta (LORENZI, 2003).

O cianeto é apenas uma parte da molécula do glicosídeo e é a única parte tóxica da linamarina e da lotaustratina. Assim, só há toxidez quando o cianeto está livre, e não quando ainda ligado aos glicosídeos (SOUZA et al., 2005).

Os compostos cianogênicos e suas respectivas enzimas estão distribuídos por toda a planta e em concentrações variáveis, fazendo com que, para sua utilização mais segura como alimento, sejam empregados processos de destoxificação tais como a simples fragmentação e secagem do material, os quais provocam volatilização do ácido cianídrico. Outros processos como fermentação, prensagem e lavagem, e calor acima de 180°C, também podem ser utilizados com sucesso na destoxificação da mandioca (LORENZI, 2003).

Segundo Sant'Ana e Domeme (2008), a ingestão de glicosídeos cianogênicos (linamarina e lotaustralina), pode determinar a produção endógena de cianeto, com danos neurológicos importantes, especialmente em grupos em que a dieta é deficiente.

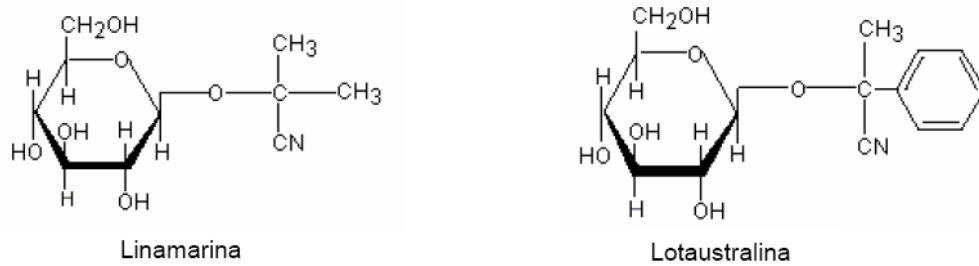


Figura 1. Fórmulas estruturais da Linamarina e Lotaustralina (SOUZA et al., 2005)

Conceição (1987) afirmou que, o nível de segurança para o consumo de mandioca ou de seus subprodutos, para que não ocorra intoxicação com cianeto, é de 1,0 mg/kg de peso vivo.

Lopes (2001) estudou o nível de segurança para o consumo de mandioca e de seus subprodutos, para que não ocorra intoxicação com cianeto, segundo este autor a quantidade de linamarina suficiente para matar 50% dos camundongos usados no teste, foi de 324,86 mg/kg, equivalente a 35,35 mg de cianeto, com base em cálculo teórico.

2.2 Farinha de mandioca

Além do uso *in natura*, a mandioca pode ser usada como matéria prima para a elaboração de produtos, como a farinha de mandioca, o polvilho (doce e azedo), a farinha de raspa (EL-DASH; MAZZARI e GERMANI, 1994), mandioca minimamente processada, congelada ou refrigerada, pré-cozida e congelada e, mais recentemente, *french fries* e *chips* (SOUZA et al., 2005).

A industrialização da mandioca aparece como uma alternativa que possibilita melhor aproveitamento dessa raiz, que pode ser direcionado para o consumo humano, animal, ou transformado em fécula ou amido para servir como insumo para fins industriais (SUFRAMA, 2003).

A farinha constitui um dos principais produtos da mandioca e seu uso é muito difundido em todo o país. A tecnologia de fabricação da farinha é simples, por isso existem no Brasil indústrias das mais variadas escalas de produção e graus de tecnificação (desde casas de farinha até indústrias de maior porte). Essa heterogeneidade leva à comercialização de uma ampla variedade de farinhas, de diferentes grupos, cores, granulometria e tipos. Os produtores rurais detêm o conhecimento prático de fabricação da farinha de mandioca, mas verifica-se que a maioria deles desconhece ou não leva em consideração alguns cuidados que proporcionam o aumento do rendimento e a melhoria da qualidade da farinha produzida (LEONEL et al., 2010).

Segundo Souza et al. (2005), estima-se que 80% das raízes de mandioca produzidas no Brasil, de um total de 23 milhões de toneladas, sejam destinadas à fabricação de farinhas.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) define farinha de mandioca como “o produto obtido de raízes provenientes de plantas da família Euforbiácea, gênero *Manihot*, submetidas a processo tecnológico adequado de fabricação e beneficiamento (BRASIL, 1995). Sendo classificada em grupo, subgrupo, classe e tipo, de acordo com o processo tecnológico de fabricação utilizado, sua granulometria, sua coloração e sua qualidade, respectivamente” (BRASIL, 1995). A farinha de mandioca de qualquer grupo, subgrupo e classe, segundo sua qualidade são ordenadas em tipos, conforme os parâmetros estabelecidos pela Portaria 554 de agosto de 1995, como resumido na Tabela 1 (BRASIL, 1995).

Tabela 1. Classificação dos diferentes tipos de farinha de mandioca seca.

Subgrupo	Fina beneficiada			Extra Fina			Fina			Grossa			Média		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Tipo															
Cepas, fiapos entrecascas % ^e	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0	1,1	2,2	3,3	1,5	3,0	4,5	1,3	2,6	3,9
Pontos pretos ¹	750	1,5	2,25	750	1,5	2,25	750	1,5	2,25	-	-	-	-	-	-
Umidade% ²	13	13	13	10	10	10	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Acidez % ³	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Cinzas %	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Amido % ⁴	75	72	70	75	72	75	75	72	75	75	72	70	75	72	70

¹ Contagem em número de pontos; ² Umidade em base úmida (B.U.); ³ meq de NaOH%; ⁴Tolerância mínima em percentual. Fonte: Adaptada BRASIL, 1995

Segundo a Portaria nº 554 de 30 de agosto de 1995 que estabelece as Normas de Identidade, Qualidade, Acondicionamento, Armazenamento e Transporte da Farinha de Mandioca, para fins de comercialização (BRASIL, 1995), de acordo com a sua coloração, pode ser ordenada em 3 (três) classes: farinha branca com cor branca, natural da própria raiz; farinha amarela com cor amarela, natural da própria raiz, ou decorrente da tecnologia de fabricação (torração); e farinha de outras cores cuja coloração não se enquadra nas classificações anteriores.

2.2.1 Processamento da farinha de mandioca

As operações unitárias do processamento de farinha de mandioca são as mesmas para indústria de diferentes escalas: recepção de raízes, lavagem e descascamento, trituração, prensagem, peneiramento, torração, peneiramento, torração final, resfriamento e envase. Essas etapas são apresentadas na Figura 2 (SEBRAE, 2006).

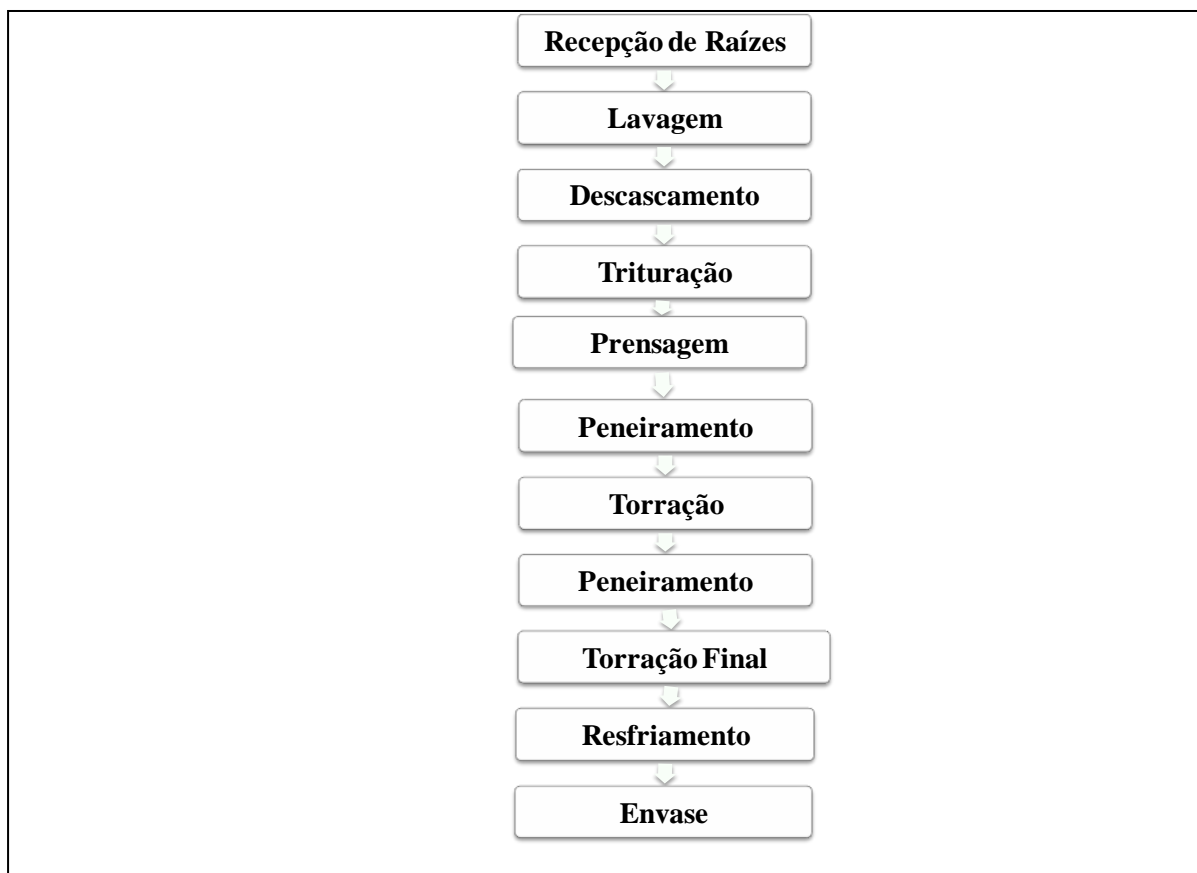


Figura 2. Etapas de processamento da farinha de mandioca. Fonte: SEBRAE, 2005.

Inicialmente, as raízes são descascadas mecanicamente, através do lavador-descascador ou manualmente, como é tradicionalmente feito na região Norte e Nordeste do Brasil (SEBRAE, 2006).

O descascamento elimina as cascas, as substâncias tânicas, que escurecem a farinha e parte do ácido cianídrico que se concentra em maior proporção nas entrecascas (EMATER, 2000).

Nessa etapa os cuidados com a higiene são fundamentais para evitar que as bactérias iniciem seu processo de proliferação, sendo importante que as raízes, após o descascamento, sejam imersas em água potável e encaminhadas diretamente para lavagem em água clorada, nas dosagens recomendadas (100 a 200 ppm de hipoclorito), o que evitará o aparecimento de bactérias (SEBRAE, 2006).

A trituração ou ralação é feita para que as células das raízes sejam rompidas, liberando os grânulos de amido e permitindo a homogeneização da farinha. Esse processo também promove várias reações bioquímicas, devido à exposição de seus constituintes ao oxigênio. Os glicosídeos cianogênicos são hidrolisados pela linamarase, uma enzima que auxilia a eliminação desses compostos. Normalmente essa etapa é feita com cilindro provido de eixo central com serrinhas (EMATER, 2000).

Depois de ralada a massa deve ser prensada para diminuir a umidade que ainda restou. Esse excesso de água precisa ser eliminado antes da secagem para facilitar essa operação e evitar a formação de goma. A oxidação também é reduzida, porque a massa fica reunida em blocos, dificultando a ação do oxigênio atmosférico (SEBRAE, 2006).

A prensagem pode ser realizada em prensas manuais de parafuso ou em prensas hidráulicas. A massa prensada sai na forma de um bloco compacto, que deve ser desmembrado em outro ralador ou esfarelador. Depois a massa esfarelada passa por um peneiramento, onde são separadas as fibras, os pedaços de raiz ou casca (EL-DASH; MAZZARI e GERMANI, 1994).

Após o esfarelamento/peneiragem, a massa é colocada, em bateladas, no forno para eliminação do excesso de água e gelatinizar parcialmente o amido. A torração tem grande influência sobre o produto final, porque define a cor, o sabor e a durabilidade da farinha e deve ser realizada no mesmo dia da ralação das raízes (EMATER, 2000).

Segundo El-Dash; Mazzari e Germani (1994), após a torração a farinha é passada por peneiras para classificação por tamanho das partículas. Essa etapa tem a finalidade de obter uniformidade na granulagem da farinha.

A torração final é a etapa que influencia diretamente na qualidade do produto. Dela dependem a cor e o sabor da farinha e o teor de água. Nessa etapa ocorre a eliminação de 90% da umidade evitando a proliferação dos bolores. Após a saída dos fornos a farinha é resfriada e segue para o envase (SEBRAE, 2006).

2.2.2 Padrões de qualidade para a farinha de mandioca

Embora seja a forma mais ampla de aproveitamento industrial da mandioca, a farinha não é um produto muito valorizado, sobretudo pela falta de uniformidade.

Segundo Lima (1982), a heterogeneidade da farinha de mandioca deve-se, à fabricação por pequenos produtores para seu próprio uso, cada um seguindo o seu processo. É raro, na mesma propriedade ocorrer uniformidade em fabricações sucessivas desse produto.

De acordo com Cereda e Vilpoux (2003), além da heterogeneidade entre os fabricantes de farinha de uma mesma região, existem muitos tipos de farinha nos diversos estados brasileiros e, muitas vezes, as classificações de qualidade são particulares a cada fabricante. Essa variabilidade dos mercados de farinha dificulta a comercialização em nível nacional por uma mesma empresa.

Com o objetivo de padronizar a farinha de mandioca, aumentar sua produção, valorização e comercialização, faz-se necessário que os produtores se adéquem as exigências da RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, que estabelece padrões microbiológicos sanitários para alimentos. A tolerância para amostra indicativa deve ser de 10^3 NPM/g para Coliformes a 45°C e 10^3 UFC/g para *Bacillus cereus*. Em farinhas indica-se que haja ausência de *Salmonella sp* em 25g. Quanto a bolores e leveduras, a legislação atual não estabelece nenhum tipo de exigência (BRASIL, 2001). Porém a Portaria nº 451/97 estabelece o máximo de 10^4 UFC/g para bolores e leveduras em farinhas (BRASIL, 1997).

Apesar da legislação atual não definir padrões para bolores e leveduras, vários estudos tem demonstrado a presença desses microorganismos em produtos derivados de mandioca com baixa atividade de água como as farinhas. Sabe-se, portanto, que por ser um produto de grande consumo em países em desenvolvimento, a intoxicação por micotoxinas pode vir a tornar um problema de saúde pública.

Quanto aos padrões físico-químicos, segundo a Portaria nº 554 de 1995 da ANVISA (BRASIL, 1995), o teor de umidade de farinhas de mandioca deve ser de no máximo 13%. Em relação às cinzas, a legislação exige teor de no máximo 1,50 %. Para a acidez total, o padrão exigido pela legislação é de no máximo 3 %. Quanto ao amido, a tolerância mínima pela legislação atual é de 70 % (BRASIL, 1995).

2.3 Importância da nutricional produção e desenvolvimento de novos produtos à base de mandioca para a população brasileira

O Brasil é um país heterogêneo em relação à distribuição dos determinantes sócio-econômicos da desnutrição. A distribuição regional da pobreza mostra variações importantes, destacando a frequência de duas a três vezes o número de pobres nas regiões Norte e Nordeste do que nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste (COUTINHO; GENTIL e TORAL, 2008).

A deficiência protéica na alimentação humana é ainda um grave problema em muitos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos (ALMEIDA et al., 2003). Apesar do progresso verificado nos últimos 15 anos nos países em desenvolvimento, aproximadamente 40,0% das crianças com menos de cinco anos de idade (cerca de 200 milhões de crianças) são mal nutridas, quando avaliadas pelo déficit estatural (OLIVEIRA et al., 2006). Entre as crianças pré-escolares brasileiras, segundo o indicador altura para idade, a prevalência da desnutrição é de 10,5%, sendo ainda mais acentuado na região Nordeste, 17,9% (OLIVEIRA et al., 2006).

Segundo a POF (Pesquisa de Orçamentos Familiares) 2002/2003, o perfil alimentar do brasileiro era simples, em termos de quantidade e qualidade dietética. Dentre os alimentos de origem vegetais mais consumidos pela população destacavam-se o feijão, o arroz e a farinha de mandioca, que representavam os principais produtos da cesta básica nordestina.

Diante da importância dos produtos derivados da mandioca na alimentação brasileira e, visando estimular o consumo desses como fonte de nutrientes, vários estudos têm sido realizados com o objetivo de caracterizar quanto à composição química dos mesmos (LEONEL, 2010).

Sabe-se que as proteínas são compostos poliméricos complexos formados por moléculas orgânicas, e estão presentes em todas as matérias vivas e algumas processadas. São fundamentais à vida, exercendo funções biológicas, que incluem as contráteis, estruturais do corpo, biocatalisadoras, hormonais, de transferência e de reserva (RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

Siviero et al. (2008) analisaram o arranjo produtivo local da farinha mista de mandioca com castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K) e a produtividade de mandioca em área de agricultores familiares na Reserva Extrativista Cazumbá-Iracema, Sena Madureira-AC. Segundo os autores, a farinha de mandioca é o principal produto em importância alimentar servindo como fonte de energia e geração de renda para os agricultores familiares da Amazônia. Enquanto a castanha-do-brasil além de gerar emprego e renda, é uma das principais fontes de proteína vegetal da Amazônia. Indicaram que o potencial produtivo da mandioca e da castanha através de ensaios de campo e entrevistas técnicas junto às famílias dos agricultores e extrativistas das comunidades Cuidado, Núcleo Cazumbá e Alto Caeté, que existe grande potencial de desenvolvimento social e econômico, com geração e distribuição de renda, além da melhoria na qualidade da alimentação da população local.

As fibras alimentares são responsáveis pela melhora das funções do intestino grosso por meio da redução do tempo de trânsito, pelo aumento de peso e da frequência das fezes, pela diluição do conteúdo do intestino grosso, pelo fornecimento de substrato fermentável à microbiota, normalmente, presente no intestino (CUPPARI, 2007). Por conseguinte, as características de fermentabilidade, massa/volume e capacidade de reter água contribuem para a capacidade da fibra de melhorar as funções do intestino grosso (CUPPARI, 2007).

As fibras são também importantes, pois apresentam como principal característica a viscosidade, aumentam a excreção de ácidos biliares e promovem a diminuição da absorção de lipídeos e glicose, sendo importante para indivíduos diabéticos e os que apresentam dislipidemia (CUPPARI, 2007).

Dias e Leonel (2006) caracterizaram as farinhas de mandioca d'água, seca e tapioca de diferentes estados do País. Essas farinhas apresentam teores baixos a moderados de fibras, contudo, devido ao seu amplo consumo, pode contribuir como importante fornecedor de fibras na alimentação. No grupo das farinhas secas, a farinha bijusada foi a que apresentou o maior teor de fibras, 2,75%.

Outro componente importante da mandioca é o amido, o carboidrato encontrado em abundância na natureza. É a fonte mais importante de carboidratos na alimentação humana, representando 80-90% de todos os polissacarídeos da dieta (LEONEL, 2010).

O amido de mandioca (fécula, polvilho doce ou azedo) é um pó branco, inodoro, e sem sabor, utilizado como ingrediente gerador de uma série de produtos, em diversas áreas de atividade industrial (ARIENTE et al., 2005).

Em função do processamento que são submetidas as raízes de mandioca para produção de farinha, parte significativa da porção de amido dessa raiz pode ser transformar em amido resistente (ARIENTE et al., 2005).

Segundo Jacobs e Delcour (1998), amido resistente é aquele que resiste à hidrólise enzimática, não sendo absorvido/digerido no intestino delgado de indivíduos saudáveis, podendo ser fermentado no intestino grosso. Este tipo de amido possui efeitos fisiológicos, onde o amido não digerido ao chegar ao cólon é utilizado por diversas bactérias intestinais, principalmente as anaeróbias estritas (bacteróides, eubactérias, bifidobactérias e clostridium) que constituem 99% da flora intestinal humana, sendo assim, considerado um agente prebiótico (TOPPING e CLIFTON, 2001).

Silva e Cabello (2010) analisaram as características viscosográficas do amido e também a concentração de amido resistente de quatro variedades de mandioca. As características viscosográficas foram normais para todas as variedades de mandioca. Em relação ao amido resistente, a porcentagem variou de 6,45-13,05% nas variedades analisadas.

Pereira e Leonel (2008) avaliaram o teor de amido resistente em produtos derivados da mandioca comercializados em diferentes localidades (farinhas, farofas, polvilho doce e azedo, sagu e biscoitos de polvilho). Entre as farinhas e farofas analisadas, os maiores teores observados foram na farofa fina (7,72g/100g) e na farinha obtida a granel em Salvador-BA (8,87g/100g). Já o menor valor foi observado na farinha bijusada. Para os demais produtos, os teores de amido resistente variaram de 3,04 a 4,94 g/100g.

Dentre os componentes da raiz de mandioca, os carotenóides têm sido de grande interesse dos pesquisadores devido aos benefícios dessas substâncias na promoção à saúde humana. O estudo dos carotenóides sempre se destacou pela sua importância na alimentação humana como precursor de vitamina A e pela sua ação antioxidante que está relacionada com a diminuição do risco de doenças degenerativas como alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, degeneração muscular e formação de catarata, proteção das mucosas gástricas, além do seu uso comercial como corante natural (OLIVEIRA, 2006).

Segundo Iglesias et al. (1997), estima-se que, a cada ano, mais de 250.000 crianças ficam cegas devido ao consumo insuficiente de vitamina A. Um aumento dos níveis de pró-vitamina A na mandioca poderia significar, nas regiões mais necessitadas, um sistema imunológico mais saudável, melhor saúde dos olhos e redução dos casos de cegueira. Esses autores selecionaram os genótipos de mandioca com mais de 2 mg carotenóides/100g de raiz. Os resultados desse trabalho serviram de base para a definição de estratégias futuras para a melhoria da qualidade nutricional da mandioca.

Quanto aos minerais, destacam-se estudos relacionados com a fortificação de ferro na mandioca. Sabe-se que a anemia ferropriva é uma das enfermidades mais prevalentes em todo o mundo, particularmente nos países em desenvolvimento, sendo a deficiência de ferro a causa mais importante dessa carência (FAO, 1992).

No Brasil a RDC nº 344, de 23 de dezembro de 2002, tornou obrigatório a fortificação das farinhas de trigo e de milho, considerando o seu largo consumo e as conseqüências da anemia ferropriva para a população brasileira. As farinhas devem, portanto, ser adicionadas de no mínimo 4,2 mg de ferro/100 g da farinha (BRASIL, 2002).

Tuma et al. (2003) avaliaram o impacto da farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato em 80 pré-escolares de uma Unidade Filantrópica de Manaus, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de 20 crianças cada, por um período de 120 dias. Foram utilizadas farinha de mandioca sem fortificação (grupo zero) e fortificada com 1, 2 e 3 mg de Fe/dia, correspondendo a quantias diárias de 5, 10 e 15 g de farinha. Os resultados obtidos demonstraram que houve uma recuperação das crianças com desnutrição crônica ao final do estudo, e ocorreu aumento significativo ($p < 5\%$) dos valores de hemoglobina de todos os pré-escolares, independentemente da concentração de ferro. As crianças anêmicas que receberam a farinha de mandioca fortificada com 2 mg de Fe/dia foram plenamente recuperadas ao final da pesquisa, demonstrando um bom desempenho desse grupo em relação aos demais.

A fortificação de alimentos básicos, de consumo maciço, como a farinha de mandioca na região Norte e Nordeste, é uma alternativa promissora na prevenção de anemia ferropriva, deficiência de vitamina A e desnutrição protéica.

2.4 Folha da mandioca

Apesar de o Brasil ser considerado um país rico em diversidade e quantidade de alimentos produzidos, milhares de brasileiros passam fome, e aproximadamente 20% dos grãos e 30% das hortaliças são desperdiçadas. Esse desperdício se dá desde a colheita, transporte, armazenamento até o simples preparo e conservação. São hábitos que vão se tornando imperceptíveis ao longo do tempo e vão se incorporando à sociedade. A falta de hábitos em se utilizar adequadamente os alimentos, aproveitando praticamente todas as suas partes é um dos grandes motivos do desperdício (FUCKNER et al, 1996).

A utilização só das raízes provoca o desperdício de componentes nutricionais no momento da colheita, pois as partes aéreas são descartadas como resíduos agrícolas e incorporados ao solo. Esses materiais com características nutricionais de interesse podem representar uma fonte adicional de recursos alimentares (DANTAS-BARROS, 1984).

Os resíduos alimentares despertam iniciativas para projetos educativos e sociais que ensinam várias maneiras de se aproveitar os alimentos de forma integral, na elaboração de diversos pratos, de rações e de adubos orgânicos. São trabalhos que ajudam na mudança comportamental das pessoas, quebrando preconceitos e paradigmas em relação aos alimentos. Também propiciam o resgate de antigos hábitos culturais cultivados por nossos antepassados e que se perderam ao longo do tempo (VILHENA e SILVA, 2007).

Brandão et al. (1997) afirmaram que, o emprego das alternativas alimentares no Brasil iniciou-se com o aproveitamento integral dos alimentos, visando combater a fome e minimizar as deficiências nutricionais a partir de subprodutos alimentares. Com o decorrer do tempo, esse trabalho se difundiu em todo o Brasil, mobilizando grande número de profissionais, organizações governamentais e não governamentais.

No Brasil as folhas de mandioca são consideradas como resíduos em quase todas as regiões do país, com exceção no estado do Pará localizado no Norte do Brasil, onde as folhas de mandioca brava são utilizadas na culinária paraense para o preparado da maniçoba, um prato típico da região de origem indígena e africana. As folhas de mandioca também são utilizadas na alimentação humana em alguns países na África (GIDAMIS; O'BRIEN; POULTER, 1993).

Apesar da importância para a dieta, a qualidade nutricional da proteína varia conforme sua origem. As de origem vegetal são de baixo valor biológico, principalmente porque são deficientes em alguns aminoácidos essenciais ou sua relação entre eles é desequilibrada (CORRÊA, 2000). Na luta contra a falta de proteínas, vários autores exaltam a importância do aproveitamento das folhas na alimentação humana, frisando as possibilidades que essa matéria-prima, praticamente desperdiçada, pode ser usada na alimentação como fonte protéica (CORRÊA, 2000).

Embora as proteínas foliares não se equiparem às proteínas animais, são melhores do que a maioria das proteínas de semente, cereais e leguminosas (GUERROUÉ et al., 1996).

As folhas de mandioca têm sido muito pesquisadas no Brasil e em diversos países devido às suas características nutricionais (MODESTI, 2006). Teores elevados de proteínas das folhas de mandioca foram observados em vários trabalhos, com uma faixa variando de 20,77 a 35,9 g/100g (MADRUGA e CÂMARA, 2000; ORTEGA-FLORES et al., 2003; WOBETO, 2003).

Sagrilo et al. (2003) estudaram folhas de cinco cultivares de mandioca e observaram, que o teor de proteínas das folhas foi afetado pela idade da planta.

Estudos demonstram que as proteínas das folhas apresentam balanço de aminoácidos adequado com referência ao padrão da FAO (GUERROUÉ et al., 1996). Ortega-Flores et al. (2003) mostram que as folhas de mandioca não são deficientes em nenhum aminoácido essencial. Outros estudos mencionam que essas proteínas apresentam altos teores de lisina, razão pela qual poderiam ser utilizadas como complemento de proteínas de cereais como trigo, milho e arroz (GUERROUÉ et al., 1996).

Ferri (2006) comparou os dados obtidos por Roger e Milner (1963) e Kling et al. (1976) com o perfil de aminoácidos padrão da *Food Agricultural Organization* – FAO, observou que as folhas de mandioca são deficientes em metionina e possuem alto teor de lisina e isoleucina.

Quanto aos demais componentes da folha da mandioca são relatados na literatura teores de extrato etéreo na faixa de 3,30 a 16 g/100g de matéria seca (MADRUGA e CÂMARA, 2000; ORTEGA-FLORES et al., 2003; WOBETO, 2003; MODESTO, 2006). Carboidratos totais 10,06 g/100 g de matéria seca (ORTEGA-FLORES et al., 2003). Quanto à fibra, os valores encontram-se na faixa de 26,50 a 35,40 g/100g em matéria seca, destacando o elevado teor de fibras (CORREA et al., 2004).

As folhas da mandioca podem ser consideradas fontes em betacaroteno e vitamina C, sendo que os teores de vitamina C nessa porção podem variar de 43,64 a 257,64 mg/100g de matéria seca e de betacaroteno de 14,09 a 137,38 mg/100g de matéria seca (CORREA, 2000; WOBETO, 2003; MODESTO, 2006).

Segundo Wobeto (2003), as folhas de mandioca são ricas em minerais, especialmente em magnésio, ferro, manganês e zinco.

Estudos para obtenção da farinha de folhas de mandioca (FFM) têm sido realizados, mostram a concentração da fração protéica, mas conduz a outros problemas, como perda de vitaminas, a retenção do cianeto e a manutenção dos fenólicos (ORTEGA, 1995).

2.4.1 Toxicidade e fatores antinutricionais da folha da mandioca

Segundo Silva e Pereira (2000) fatores antinutricionais são substâncias presentes em alimentos que podem provocar efeitos fisiológicos adversos ou diminuir a biodisponibilidade de nutrientes.

De acordo com Guerroué et al. (1996), o uso potencial das proteínas de folhas *in natura* sofre restrições devido a presença de fatores antinutricionais. As folhas de mandioca,

por exemplo, apresentam elevado teor de linamarina, um beta-glicosídeo cianogênico e tóxico, juntamente com uma pequena quantidade de seu derivado metilado lotaustralina. Esses glicosídeos são capazes de gerar ácido cianídrico após a hidrólise enzimática, levada a efeito pela enzima linamarinase autóctone ou exógena. Entretanto, o glicosídeo da mandioca é termolábil e solúvel em água. No caso de extração das proteínas a partir de folhas frescas, o glicosídeo pode ser eliminado por arraste aquoso ou por aquecimento. Eventuais teores residuais podem ser eliminados durante a operação de secagem. O cianeto não é o único fator antinutricional presente, nem o mais difícil de ser eliminado. A literatura cita ainda a presença de taninos e compostos fenólicos.

Corrêa et al. (2004) afirmam que as folhas de mandioca apresentam elevado teor de fibras, 26,50 a 35,40 g/100g matéria seca e também antinutrientes, como polifenóis, inibidor de tripsina, saponina, hemaglutinina e cianeto.

Muitos estudos têm sido realizados com folhas de mandioca objetivando diminuir esses fatores antinutricionais. Wobeto (2003) verificou que os teores de polifenóis das folhas de mandioca aumentam com a maturidade do vegetal, tendo estudado plantas na idade de 12, 15 e 17 meses.

Gómez e Valdivieso (1985) verificaram os efeitos da secagem ao sol sobre piso de concreto e em estufa a 60°C sobre a eliminação de cianeto da folhagem de mandioca, concluíram que secagem ao sol reduziu mais o teor de cianeto que aquela a 60°C (82 a 94% versus 68 a 76%, respectivamente). Observaram também que a maior parte do cianeto presente na folhagem seca ao sol era constituída por cianeto livre (62 a 77%), ao passo que na folhagem seca a 60°C, havia apenas 24 a 36%.

Padmaja (1989) avaliou o efeito de três temperaturas de secagem (45, 60 e 75°C) sobre o nível de cianeto de folhas de cinco variedades de mandioca e observou que os menores teores foram encontrados nas folhas secas a 60°C, variando de 7,7 a 15 mg/100 g de matéria seca. Também constatou que o murchamento do ramo todo sob sombra, por 16 horas, seguida pela secagem das folhas a 60°C, foi mais eficaz na redução dos níveis de cianeto. Porém, a picagem das folhas murchas, antes da secagem, acarretou a maior retenção de cianeto, comparada com a secagem da folha inteira murcha.

Corrêa et al. (2004) visando melhorar o aproveitamento protéico da farinha das folhas de mandioca, empregou três solventes (água, etanol 50mL/100mL e hidróxido de amônio 1mol/L) para remover os polifenóis. Folhas maduras de mandioca foram coletadas na fase vegetativa, em três repetições, colocadas em bandejas de papel e secas à sombra sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente. Após secagem, retiraram-se os pecíolos e as folhas foram moídas e passadas em peneira de 40 mesh. A farinha foi submetida, antes e após a remoção dos polifenóis, às análises de umidade, fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), açúcares totais, proteína bruta, vitamina C total, β -caroteno, cianeto, inibidor de tripsina, polifenóis e digestibilidade protéica *in vitro*. Após remoção dos polifenóis, houve diminuição dos teores de açúcares totais, vitamina C total, inibidor de tripsina e polifenóis e aumento de FDN, FDA, proteína bruta, β -caroteno e digestibilidade protéica *in vitro*. Dos solventes empregados para remover polifenóis, o hidróxido de amônio foi o mais eficaz, com índice de remoção de 94%, seguido pelo etanol (83%) e água (65%). A digestibilidade da proteína *in vitro* aumentou em 74%, quando o solvente empregado na remoção dos polifenóis foi o hidróxido de amônio.

O aquecimento e o tempo de exposição ao ar também favorecem a reação de liberação do cianeto. Fasuyi et al. (2005) afirmam que a secagem e a combinação da maceração com a secagem reduzem o teor de ácido cianídrico em mais de 95%. Ngudi et al. (2003) demonstram que a cocção também é capaz de reduzir significativamente o teor de cianogênicos totais na folha de mandioca.

Stupak et al. (2006) salientam que o cozimento prolongado das folhas de mandioca é essencial para minimizar as concentrações de cianeto. No entanto, os autores afirmam que os aminoácidos essenciais podem ser degradados durante este processamento. Assim, a secagem adequada das folhas é um recurso que viabiliza a sua utilização, seja na alimentação animal ou humana.

Hemaglutininas ou lectinas são glicoproteínas que têm a propriedade específica ligar-se a certos carboidratos. Portanto, essas substâncias podem ligar-se a certos componentes da membrana das células sanguíneas. São conhecidas por sua habilidade em aglutinar células, especialmente células vermelhas sanguíneas (eritrócitos) provocando a hemaglutinação (REYNOSO-CAMACHO et al., 2003).

2.4.2 Extração de proteínas da folha da mandioca

Uma alternativa para o reaproveitamento das folhas de mandioca é a extração de proteínas. Corrêa et al. (2004) afirmam que atualmente no Brasil, o “pó” de folhas de mandioca vem sendo utilizado como ingrediente de multimistura ou adicionado à refeições no combate à desnutrição de crianças.

No entanto, o Conselho Federal de Nutricionistas (CFN) é contrário a multimistura, afirmando que o valor nutritivo de qualquer alimento não pode ser estabelecido unicamente com base na quantidade de nutrientes, uma vez que sua qualidade nutricional é determinada por uma série de fatores, tais como o equilíbrio entre seus constituintes, as interações entre os diversos compostos da dieta, o estado fisiológico do indivíduo e a ocorrência de fatores antinutricionais (CFN, 1996).

Chaves (1985) afirmou que a utilização de proteínas de fontes vegetais é teoricamente atrativo, devido ao alto rendimento de proteína bruta por hectare. Em termos de matéria seca e proteína bruta a produção na cultura verde é maior do que em qualquer outro tipo de produção.

Apesar das folhas de mandioca apresentarem teor elevado em proteínas, a sua digestibilidade é baixa, devido ao seu alto conteúdo de fibras e polifenóis (LEONEL, 2010). A produção de concentrado protéico das folhas de mandioca (CPFM) permite a utilização das proteínas foliares como alimento, contendo baixo teor de fibras e melhor qualidade nutritiva (LEONEL, 2010).

Segundo Cereda e Vilpoux (2003), o processamento básico de fracionamento é comum a todos os tipos de produção e envolve a moagem das folhas com triturador, a maceração da matéria verde e a separação em duas frações: um suco e um resíduo fibroso prensado. Em seguida, podem-se considerar três diferentes graus de extração: a deságua (remoção do máximo de água com um mínimo de perdas da fração sólida), a extração parcial (por precipitação ácida ou por calor) e a extração exaustiva (coagulação alcalina e precipitação ácida).

Pirie (1987) afirmou que a extração das proteínas de folhas dependerá do grau de desintegração celular, que afeta a quantidade de proteínas obtida durante o processo. Isso porque, quanto maior o rompimento, maior a destruição do material das paredes das células e, conseqüentemente, maior será a quantidade de proteínas obtidas no suco. Portanto, é necessário que haja a utilização de um extrator mecânico, que provocará o rompimento das paredes celulares, através de corte, impacto e aplicação de pressão diferencial, pela combinação desses três ou, ainda, por equipamentos que se baseiam em uma prensa de parafuso, aumentando a fricção e facilitando a desintegração das folhas.

Chaves (1987) destacou como agentes de extração que podem ser utilizados para extração de proteínas de vegetais, tanto a água quanto soluções moderadamente alcalinas.

Salgado e Santos (1986) estudaram quatro métodos para a obtenção de CPFM, e em todos utilizaram a água para a extração das proteínas e um liquidificador industrial. No primeiro método, ajustaram o pH a 7, com uma solução de NaOH; em seguida, reduziram o pH a 4 com uma solução de HCl, não havendo centrifugação. No segundo, não ajustaram o pH, precipitaram com calor entre 60°C e 65°C e não centrifugaram; no terceiro, repetiram o primeiro método, porém, centrifugando por cinco vezes com água deionizada. No último método, repetiram o segundo, porém, centrifugando cinco vezes com água deionizada. Os autores observaram uma maior porcentagem de proteína no último método (40,72 g/100g matéria seca) e atribuíram essa maior porcentagem às sucessivas lavagens que removeram as impurezas e concentraram proteínas. No entanto, o segundo método foi escolhido para estudo, por ser considerado mais simples e de mais rápida execução, apesar de apresentar um teor de proteínas em base seca um pouco menor.

Chaves (1987) extraiu as proteínas das folhas de mandioca utilizando uma máquina de moer carne e uma solução de hidróxido de sódio 0,05N. O autor utilizou vários métodos para a precipitação das proteínas, nos quais observou maior rendimento na autocoagulação por 5 dias (71,5%), em comparação com a precipitação ácido em pH 3,0 (56,6%), com calor a 85°C, por 5 minutos (51,8%) e etanol a 23 % (61,7%).

Molina (1989) extraiu as proteínas das folhas de mandioca, variedade PAN-MEX 51, usando um liquidificador para a extração mecânica e uma solução de NaOH, observou uma considerável digestibilidade do CPFM obtido por ultrafiltração (85%) e por redução do pH até 3,5, seguido de aquecimento a 85°C (80%). Esse autor atribuiu o aumento da digestibilidade do CPFM ultrafiltrado em comparação ao termocoagulado à eliminação de polifenóis durante a técnica de ultrafiltração. Ele observou que os CPFM estudados apresentaram propriedades funcionais atrativas em relação à capacidade de absorver água, gordura e propriedades emulsificantes, podendo ser utilizado na formulação de alguns tipos de alimentos como sopas, carnes e produtos de padaria.

Ferri (2006) estudou o CPFM, extraindo as proteínas das folhas da mandioca, utilizando diferentes métodos para a precipitação das proteínas. A autora observou maior rendimento em base seca no método por precipitação isoeletrica (73,71%) durante 24 horas com repouso, em comparação à fermentação natural (67,4%) por 48 horas. Foi também observado que a utilização de duas extrações consecutivas não melhorou o rendimento na produção de concentrado protéico, somente reduziu a perda de massa que ocorreu na utilização de uma etapa de extração.

Modesti et al. (2007) analisaram as características químicas de CPFM obtidos por diferentes formas de precipitação, com calor e com ácido. Os CPFM praticamente não apresentaram diferenças na composição centesimal. O nível de proteína dos CPFM aumentou 57,72% em comparação ao da farinha de folhas de mandioca (FFM). Os rendimentos de extração das proteínas também foram semelhantes para os CPFM. O teor de Fe dos CPFM foi mais elevado quando comparado com o da FFM. A FFM apresentou absorção de água e de óleo mais elevada que os CPFM, mas, entre os tipos de CPFM, os resultados foram semelhantes. A mínima solubilidade de nitrogênio da FFM e dos CPFM foi observada em pH entre 3 e 5. Verificou-se que a FFM apresentou uma capacidade de formação e estabilidade de espuma mais elevada que os CPFM. Tanto a FFM quanto os CPFM não apresentaram boa estabilidade de emulsão.

Silva (2007) avaliou as propriedades químicas e funcionais do CPFM, obtidos empregando-se quatro métodos de extração: precipitação isoeletrica; fermentação; fermentação com redução no tempo de fermentação; e fermentação com alteração de pH no final da fermentação. O maior rendimento de concentrados foi obtido no método de precipitação isoeletrica. Foi observado, elevada capacidade de absorção de água nos concentrados protéicos, indicando aplicação em alimentos como carnes, pães, sopas e molhos.

A capacidade de absorção de óleo dos concentrados protéicos também foi elevada, indicando boa aplicação industrial para a preparação de produtos como salsichas, massas de bolos, maionese e outros molhos.

Pereira et al. (2008) extraíram as proteínas da folha de mandioca, purificando-as em coluna cromatográfica e determinaram sua atividade hemaglutinante e toxicidade. Foram testadas várias estratégias de extração e precipitação das proteínas, sendo que o maior teor protéico e atividade hemaglutinante foi obtido na extração com água destilada na proporção 1:20 (p/v) seguida da precipitação com sulfato de amônio a 80% de saturação. As proteínas precipitadas foram purificadas em coluna Q-Sepharose. Das quatro frações obtidas na purificação (I, II, III e IV), a I e a II apresentaram maiores atividades hemaglutinantes. As mesmas frações foram injetadas via intraperitoneal em camundongos com doses de 2 g (fração I), 3 g (fração II), 54 g (fração III) e 52 g (fração IV) para cada animal com 20 g de peso médio, não sendo observadas mortes ou quaisquer efeitos adversos após 120h.

2.4.2.1 Extração de proteínas da folha da mandioca por precipitação isoelétrica

As proteínas são macromoléculas formadas pela ligação de aminoácidos através de ligações peptídicas. A seqüência de aminoácidos que compõe a proteína determina a sua estrutura primária e especifica grande parte de suas propriedades. Alguns aminoácidos possuem cadeias laterais de caráter ácido enquanto outros possuem cadeias laterais com caráter básico, o que faz com que a proteína possua caráter anfotero. Dependendo do pH do meio, estes grupos presentes nas proteínas podem ter cargas positivas ou negativas e, se as proteínas carregarem carga global diferente de zero, haverá como resultado a atuação de forças de repulsão eletrostática entre as moléculas inibindo o fenômeno de agregação (ARAÚJO, 1999)

Segundo Iguti (2007), ponto isoelétrico (PI) é o valor de pH em que o número das cargas positivas é igual ao número das cargas negativas, o que confere ao aminoácido a incapacidade de migrar em campo elétrico.

Modesti (2006) afirma que, para valores de pH próximos ao seu ponto isoelétrico, as moléculas protéicas se manifestam com um mínimo de interações com a água e suas cargas e assim podem surgir agregados e conduzir a uma precipitação. Uma alteração no pH pode significar alterações no rendimento e na própria precipitação das proteínas causando interferências na formação do coágulo.

Conforme Sgarbiere (1996), grande parte das proteínas exibe poder tampão muito baixo, na faixa dos pHs fisiológicos, isto é, entre 6 e 7. Ressaltando, portanto, que o único aminoácido com pK (constante de dissociação) nessa faixa é a histidina e muitas proteínas apresentam baixo teor deste aminoácido.

A literatura sugere um pH inferior a 6,0 para a precipitação de proteínas, pois o ponto isoelétrico da maioria destas, está compreendido entre 3,5 e 6,5 (SGARBIERI, 1996).

Tashima (2007) afirma que as diferentes composições de aminoácidos das proteínas fazem com que essas apresentem uma grande variedade de valores de Potencial Isoelétrico (PI), que cobrem uma ampla faixa de valores de pH. No entanto, observa-se que a maioria das proteínas apresenta o PI na região ácida e, este fato, aliado ao baixo custo relativo dos ácidos faz com que seja comum o uso de ácidos como HCl e o H₂SO₄ nos processos de precipitação de proteínas.

Segundo Silva (2007), para a realização da extração de proteínas por precipitação isoelétrica são utilizadas soluções básicas e ácidas para que ocorra a precipitação das proteínas. Em geral, primeiramente, utiliza-se uma solução básica para solubilização da proteína e, a seguir, utiliza-se uma solução ácida para que ocorra o abaixamento de pH para 4

a 5, precipitando as proteínas e formando um coágulo protéico. São utilizadas para extração, soluções de hidróxido de sódio e ácido clorídrico para correção de pH.

Chaves (1987) a fim de determinar as condições de extração, estudou a influência do pH no rendimento em proteínas. O perfil do rendimento sugere que a extração em pH entre 8 e 9 seria bastante efetiva. Assim, a adição de uma solução de NaOH, 0,05 N à massa verde, na proporção de 1:1 (p/v), permitiria alcançar valores próximos ao pH 8,0.

Sabe-se que o pH do meio exerce uma forte influência no processo de desnaturação de proteínas. A maioria das proteínas é estável em uma faixa característica de pH, mas se expostas em valores extremos ($> 10,0$ ou $< 3,0$) as proteínas normalmente desnaturam (IGUTI, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Matéria prima

As raízes e as folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cv. Saracura, foram colhidas 18 meses após o plantio, no aipinzal da Base Aérea de Santa Cruz, Santa Cruz – RJ, no mês de junho de 2010.

3.1.2 Equipamentos

- Aparelho Soxhlet
- Autoclave
- Balança analítica digital
- Banho-maria a 100°C
- Bomba a vácuo
- Centrifuga
- Chapas agitadora e elétrica
- Cromatografo CG Chrompack CP9001 (FDI)
- Cromatografo HPLC/UV
- Destilador de Kjeldahl
- Digestor de Kjeldahl
- Digestor de fibra
- Estufa a 105 °C
- Estufa ventilada a 60°C
- Fogão com 4 acendedores
- Freezer
- Liquidificador
- Moinho
- Mufla a 550 °C
- pHmetro
- Seladoras a vácuo
- Triturador
- Prensa manual
- Peneiras com diferentes granulometrias
- Refrigerador doméstico

3.1.3 Reagentes

- Acido Ascórbico PA
- Acido Bórico PA
- Acido Clorídrico PA
- Acido Oxálico

- Ácido Sulfúrico PA
- Álcool 70%
- Bicarbonato de Sódio
- Carbonato de Sódio
- Cloreto de Sódio
- 2,6 – diclorofenol Indofenol
- Etanol PA
- Éter de Petróleo HPLC
- Fenilisotiocianato (PITC)
- Glicose anidra PA
- Hexano PA
- Hidróxido de Potássio PA
- Hidróxido de Sódio PA
- Indicador de Proteína
- Metanol PA
- Molibdato de Amônio PA
- Peróxido de hidrogênio
- Solução alcoólica de Guaiacol
- Soluções de Fehling A
- Soluções de Fehling B
- Sulfato de Cobre PA
- Sulfato de Sódio anidro
- Mistura catalítica para determinação de nitrogênio total
- Meios: Coliformes - Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante 2%; Fungos – Ágar Batata Dextrose; Salmonella - Agar Salmonella-Shigella e Bacillus cereus: Ágar Mossel (+10% gema de ovo +0,01 mL de polimixina B).

3.1.4 Vidrarias

- Agitadores magnéticos
- Balões de separação
- Balões volumétricos de tamanhos diversos
- Beckeres de tamanhos diversos
- Buretas de 25 e 50 ml
- Cápsulas de porcelana
- Dessecador com sílica gel
- Erlenmeyers de tamanhos diversos
- Espátulas de metal
- Frascos de Kjeldahl
- Funis de Buncher
- Funis de Gooch Pirex®
- Microseringa
- Papeis de filtro
- Papeis de seda
- Peras
- Pesa-filtros
- Pinças de metal

- Pipetas volumétricas e graduadas de diversos volumes
- Placas de Petri
- Quitasatos
- Sacos de polietileno de alta densidade
- Tubos de ensaio com tampa

3.2 Métodos

3.2.1 Inativação do sistema enzimático das folhas de mandioca

Para verificar o efeito da temperatura sobre a atividade da peroxidase em folhas de mandioca, amostras foram imersas em água a 100°C; no tempo zero e a cada 30 segundos alíquotas eram retiradas, colocadas em um liquidificador e trituradas com auxílio de 50 mL de água destilada. Depois, a suspensão era transferida para tubos de ensaio. Em cada tubo de ensaio era adicionada 3 a 4 gotas de solução alcoólica de guaiacol 0,5% (v/v) e 3 a 4 gotas de solução de peróxido de hidrogênio 0,5% (v/v). Após agitação e repouso dos tubos por 3 minutos, avaliou-se a formação ou não de coloração em cada tubo. As amostras com alta atividade da peroxidase produzem uma cor marrom a vermelho tijolo, designada como reação positiva (+). Enquanto, as amostras sem atividade de peroxidase, não mostram alteração quanto à coloração, caracterizando a reação negativa (-).

3.2.2 Obtenção do concentrado protéico de folhas de mandioca

As folhas de mandioca, depois de lavadas com água corrente, foram sanitizadas em água clorada 100 ppm, colocadas para escorrer e pesadas, foram submetidas a cocção em água potável, relação de folhas e água de 1:4 (p/v), até a inativação do sistema enzimático, avaliado pela destruição da peroxidase, como explicado acima. Depois foram trituradas em um liquidificador, durante 5 minutos. O pH da suspensão foi ajustado para 8,0 com solução de NaOH 0,1M. Para obtenção do extrato aquoso clarificado, a suspensão foi filtrada, primeiramente em uma peneira de malha fina e, posteriormente, em tecido de algodão, com auxílio de bomba de vácuo.

Após a filtração, no extrato aquoso obtido foi adicionado 100 ppm de m-bissulfito de sódio e subdividido em alíquotas. Alíquotas em triplicatas tiveram os pHs ajustados para valores que oscilaram entre 5 a 2,5 com HCl 1 ou 10% e deixadas em repouso por 24 horas sob refrigeração, entre 4° a 7°C. Após repouso, cada amostra foi centrifugada por 10 minutos a 3200 rpm para separação da fração sobrenadante e do precipitado. O precipitado, na forma de creme, foi seco em estufa com circulação e renovação de ar a temperatura de 60°C. Tanto no precipitado como no sobrenadante foram mensurados o teor de nitrogênio bruto pelo método do micro Kjeldhal, conforme recomendações dos Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz – IAL (SÃO PAULO, 2008).

A suspensão que proporcionou a maior concentração de proteína bruta foi utilizada para suplementar a farinha de mandioca. Paralelamente foi determinado o perfil de aminoácidos desse concentrado protéico por cromatografia líquida de alta performance (HPLC/UV).

As Figuras 3 e 4 ilustram a seqüência de extração do CPFM.

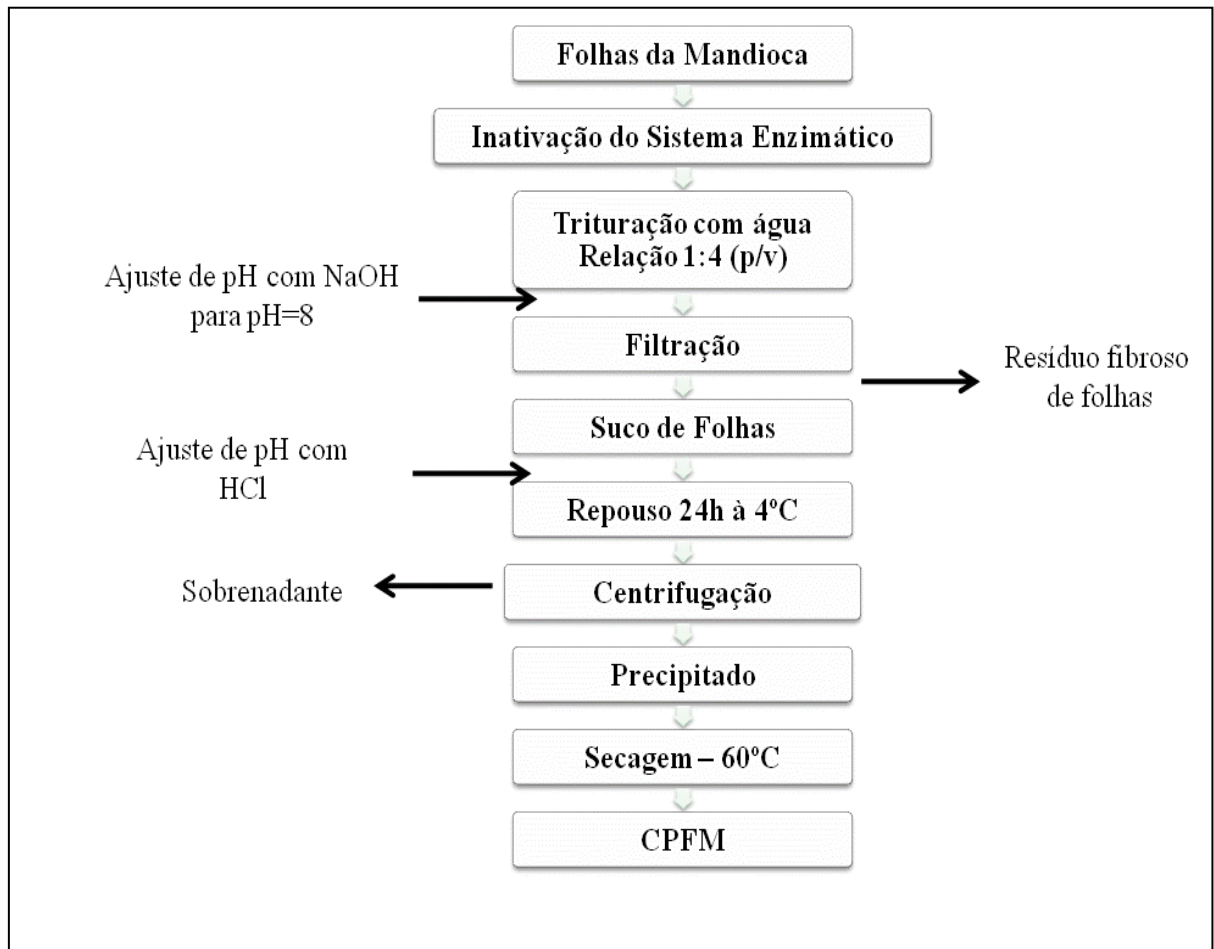


Figura 3. Seqüência de extração do CPFM por precipitação isoelétrica

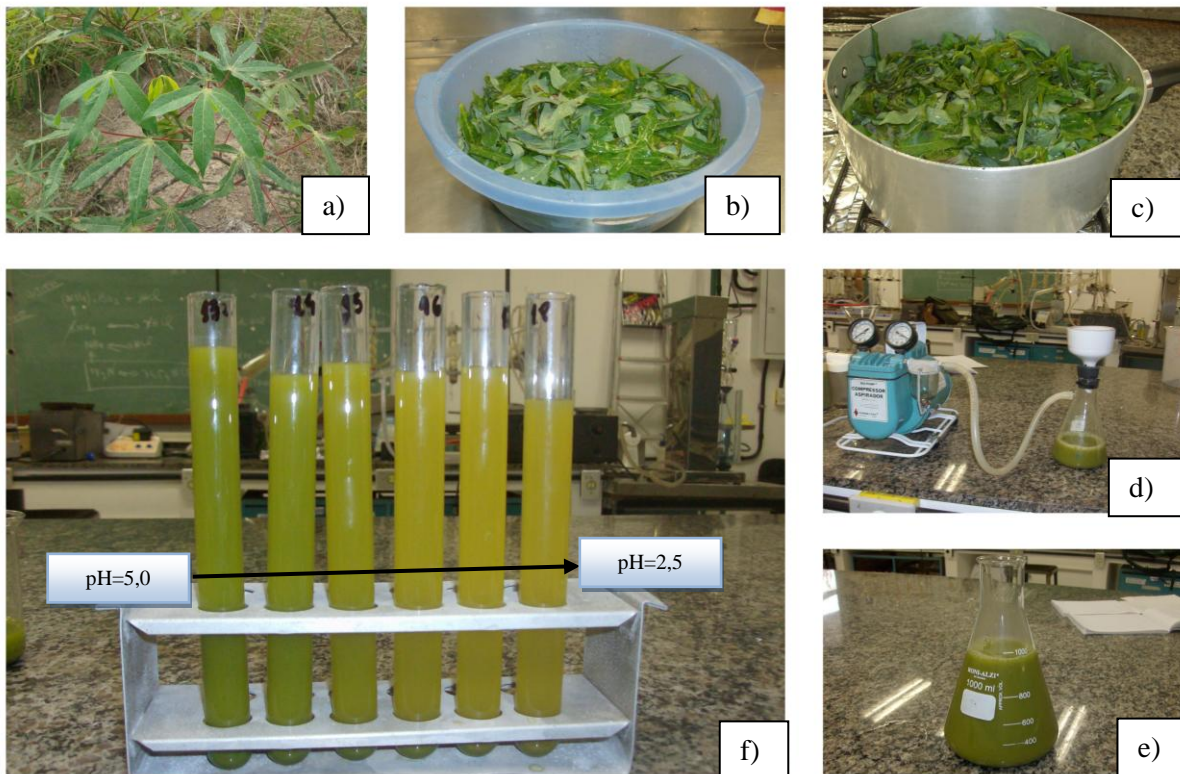


Figura 4. Obtenção do CPFM. a) Folhas de mandioca; b) Sanitização das folhas; c) Inativação da peroxidase; d) Filtração à vácuo; e) Extrato aquoso de folha de mandioca; f) acidificação do extrato a pHs 5 a 2,5.

3.2.3 Cálculo do Rendimento do CPFM

Com o objetivo de determinar o rendimento de extração do CPFM foi realizado o balanço de massa. Considerando que a massa que entra no processo deve ser igual à massa que sai do processo.

O rendimento de concentrado protéico foi calculado pela seguinte equação:

$$\text{RCP (\%)} = \frac{\text{MCP} \times 100}{\text{MIE}} \quad (\text{eq. 1})$$

Onde:

RCP= Rendimento de Concentrado Protéico

MCP= Massa do Concentrado Protéico (g) em base seca;

MIE= Massa de folha de mandioca no Início da Extração (g) em base seca.

3.2.4 Preparo da farinha de mandioca com CPFM

O processamento da farinha de mandioca com CPFM consistiu das seguintes etapas: seleção das raízes de mandioca, lavagem para retirada de sujidades, descascamento manual, lavagem em água corrente, sanitização (com solução de hipoclorito de sódio 150 ppm por 10 minutos), trituração, prensagem com prensa manual, adição do CPFM a massa em três concentrações (2,5; 5,0 e 10 %), secagem em estufa ventilada a 60°C, moagem, peneiramento, torrefação com homogeneização com misturador manual, resfriamento e envase, como apresentado nas Figuras 5 e 6.

Foram produzidas quatro formulações de farinha de mandioca:

- 0,0% de CPFM – F₀
- 2,5% de CPFM – F₁
- 5,0% de CPFM – F₂
- 10% de CPFM – F₃

As farinhas depois de moídas foram classificadas de acordo com sua granulometria, ou seja, descrição do tamanho das partículas dos compostos sólidos. Sua determinação foi feita a partir da quantificação de matéria que conseguiu ultrapassar peneiras de malhas diferentes padronizadas internacionalmente.

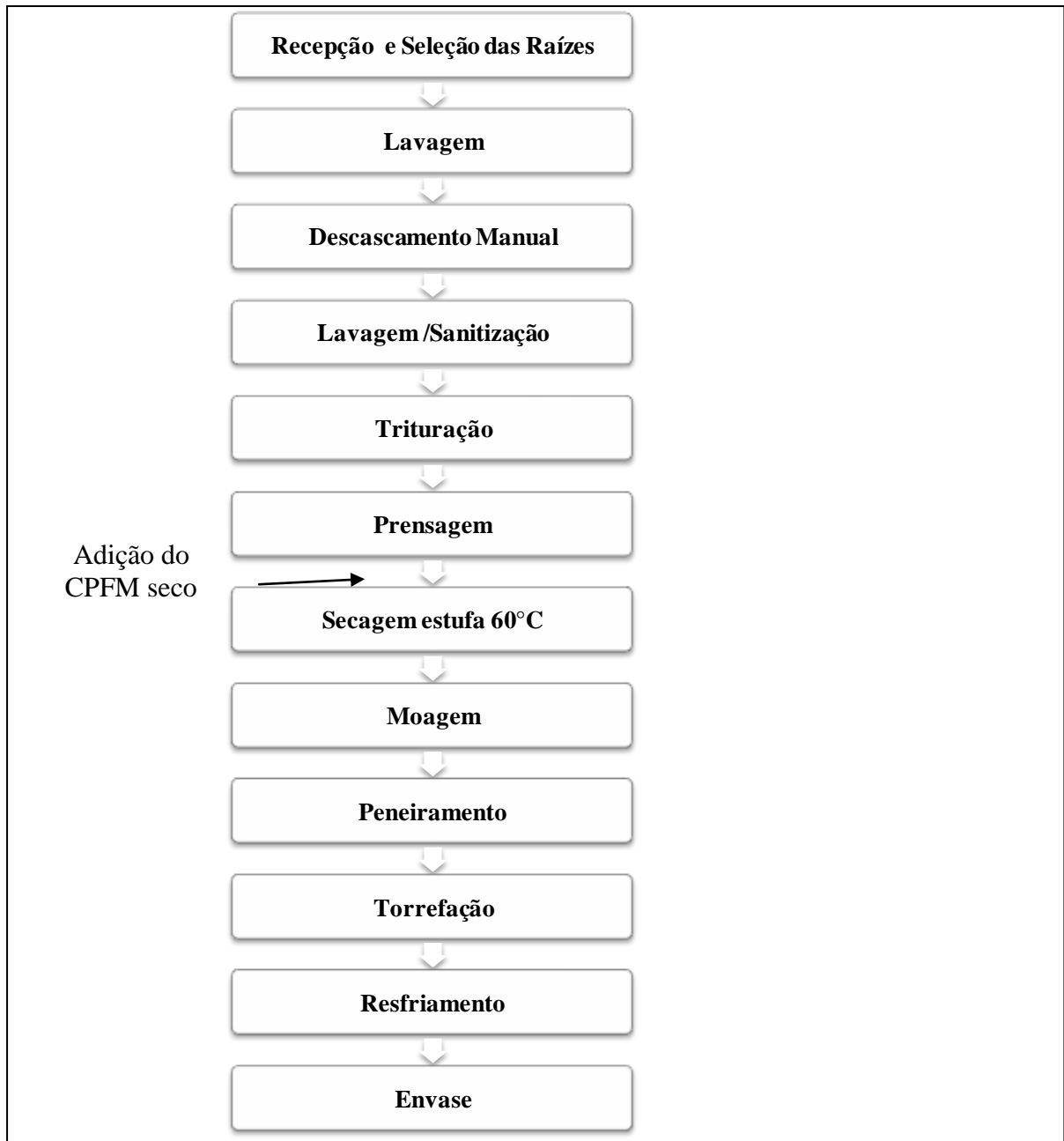


Figura 5. Etapas de processamento da farinha de mandioca.

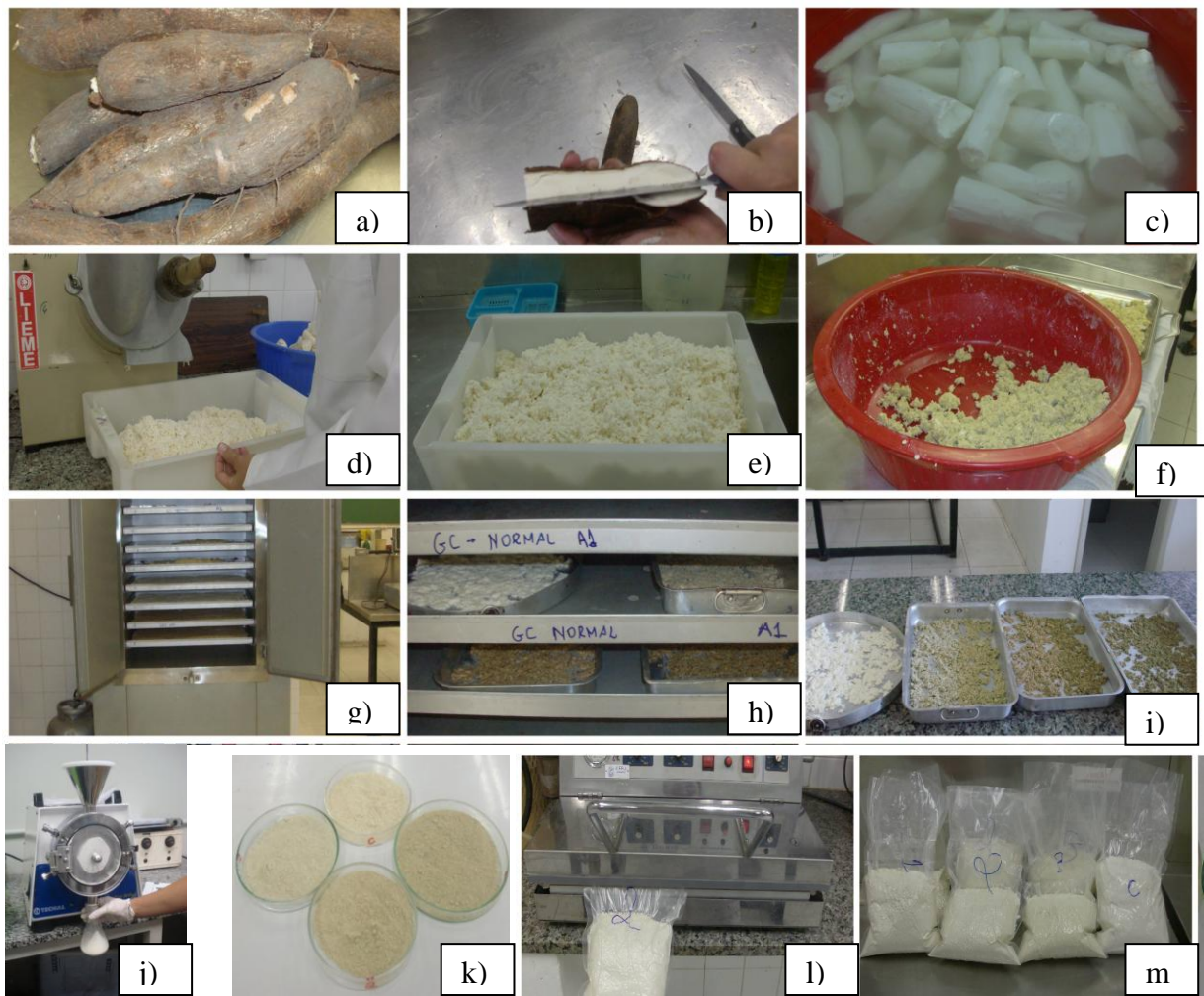


Figura 6. Preparo da farinha de mandioca adicionada de CPMF. a) Mandioca; b) Descasque manual da mandioca; c) Lavagem e sanitização da mandioca; d) trituração; e) massa da mandioca prensada manualmente; f) adição do CPMF a massa de mandioca prensada; g) e h) estufa ventilada a 60 °C; i) farinhas de mandioca após a secagem; j) moagem da farinha; k) farinhas obtidas na torrefação final; l) selagem a vácuo; m) farinhas embaladas.

3.2.5 Determinações

3.2.5.1 Químicas e físico-químicas

Foram realizadas as seguintes determinações:

- Umidade - a umidade foi determinada por gravimetria e consistiu das pesagens das farinhas e do CPFM em pesa-filtros previamente tarados e aquecidos em estufa a 105°C até a obtenção de pesos constantes, conforme recomendações dos Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008). Os resultados foram expressos em g de umidade/100 g de amostra.

- Extrato etéreo - foi determinado no CPFM e nas farinhas, pelo método de Soxhlet com éter etílico de acordo com os Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008). Os resultados foram expressos em g de lipídios totais / 100 g de amostra.

- Proteína bruta - os teores de nitrogênio total foram determinados através do método de micro-Kjeldahl no CPFM, no sobrenadante e nas farinhas elaboradas segundo recomendações dos Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008). O conteúdo de nitrogênio encontrado em cada amostra foi multiplicado por 5,75 para definir o percentual de proteína bruta (AACC, 2000). Os resultados foram expressos em g de proteína total ou bruta / 100 g de amostra.

- Resíduo mineral fixo (cinzas) - as amostras de CPFM e farinhas foram previamente carbonizadas em chapas aquecidas e posteriormente submetidas à incineração. As cinzas foram determinadas após ignição de toda matéria orgânica em mufla aquecida a 550°C, conforme recomendações dos Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008). Os resultados foram expressos em g de cinzas / 100 g de amostra.

- Fibra total (solúvel e insolúvel) - as frações de fibra alimentar foram determinadas nas farinhas segundo as recomendações dos Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008). Os resultados de ambas as determinações foram expressos em g de fibra solúvel ou insolúvel / 100 g de amostra.

- Perfil de aminoácidos – As amostras do CPFM passaram por hidrólise prévia com ácido clorídrico (HCl) bidestilado 6N, seguida de derivação pré-coluna dos aminoácidos livres com fenilisotiocianato (PITC), e a separação dos derivados feniltiocarbamilaminoácidos (PTC-aa), em coluna de fase reversa C18 (Pico-Tag – 3,9x300 mm), com detecção por UV a 254 nm. A quantificação da amostra foi baseada na altura de cada pico de aminoácido, tendo-se usado como referência a altura do pico do padrão interno de aminoácidos com concentração conhecida, com o padrão derivado nas mesmas condições e no mesmo tempo das amostras. Os teores de aminoácidos foram transformados para gramas por 16 g de N da amostra seca. Para isso, o teor de proteína bruta (PB, g por 100 g de matéria seca – MS) da amostra foi determinada pelo método de micro-Kjeldahl (Nx5,75), com o uso da metodologia descrita pelo IAL (2008). Os teores de aminoácidos e de proteína bruta foram quantificados em triplicata. Teor de aminoácidos do CPFM, padrão de aminoácidos estabelecidos (g aa/100g de proteína) e cômputo químico de aminoácidos do CPFM em relação a proteína padrão da FAO (1985), de acordo com a equação a seguir:

$$\text{C\^omputo qu\^imico} = \frac{\text{g de amino\^acido essencial da prote\^ina teste}}{\text{g de amino\^acido essencial da prote\^ina padr\^ao}}$$

- A acidez total titul\^avel - acidez total das farinhas foi determinada por titula\~ao com solu\~ao de NaOH 0,1 N e os resultados expressos em meq de NaOH/100 g da farinha conforme recomenda\~oes dos M\^etodos f\^isico-qu\^imicos para an\^alise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (S\^AO PAULO, 2008).

- Amido – amostras de farinhas foram pesadas e transferidas para um erlenmeyer, adicionando-se 75 mL de \^agua destilada e 5 mL de HCl concentrado. Posteriormente, as amostras foram levadas a autoclave a 120 °C, por 30 minutos. Esfriadas e neutralizadas com NaOH 40%, usando pHmetro e transferidas quantitativamente para bal\~ao volum\^etrico de 250 mL. Adicionou-se 20 mL de K₄[Fe(CN)₆] a 15% e 20 mL de ZnSO₄ a 30 %. O volume foi completado, decantado e depois filtrado, sendo o teor de glicose determinado pelo m\^etodo de Lane-Eynon (S\^AO PAULO, 2008). Os teores amido foram calculas atrav\^es do produto da concentra\~ao de glicose e o valor de 0,90.

- Teor de cianeto total - a quantifica\~ao do cianeto total nas farinhas foi realizada por espectrofotometria, utilizando a metodologia descrita por Cooke (1978) e, posteriormente adaptada por Essers et al. (1993) e Chit\^e et al., (2010).

3.2.5.2 An\^alises microbiol\^ogicas

Foram realizadas pesquisas para determinar a presen\~ca de coliformes a 45°C, *Bacillus Cereus*, unidades formadoras de col\^onias de bolores e leveduras e *Salmonella*. Utilizou-se a t\^ecnica do N\^umero Mais Prov\^avel, para pesquisa de coliformes, para as dilui\~oes (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³). O resultado foi expresso em NMP/100g. Considerou-se a pesquisa de Coliformes Totais um procedimento presuntivo para a detec\~ao de Coliformes Termotolerantes. Em todos os procedimentos foram utilizando as metodologias descritas pelo MAPA, atrav\^es da Instru\~ao Normativa n\^o62 (BRASIL, 2003).

3.2.5.3 An\^alise sensorial

O estudo foi previamente aprovado pelo Comit\^e de \^Etica da Universidade Federal Rural do Rio Janeiro (UFRRJ), N\^o 069/2010.

3.2.5.3.1 Teste de aceita\~ao

Essa avalia\~ao sensorial foi realizada com uma amostra de farinha de mandioca sem CPFM (controle) e tr\^es amostras de farinha de mandioca com 2,5; 5,0 e 10% de CPFM, respectivamente. Foram apresentadas simultaneamente aos 93 provadores n\~ao treinados, 10g das amostras codificadas com 3 d\^igitos, acompanhadas de um copo com \^agua \^a temperatura ambiente, para limpeza da boca e da l\^ingua antes de cada avalia\~ao (DUTCOSKY, 1996).

Primeiramente, os voluntários responderam a pergunta: “Você consome produtos a base de mandioca?”. Caso o entrevistado respondesse que não, foi questionado sobre a possibilidade de consumo. Os provadores que disseram consumir produtos de mandioca ou que não tinham objeção em introduzir a mandioca na alimentação, responderam a um questionário sobre a frequência de consumo desta raiz e de seus produtos, e sobre dados sócio-demográficos com informações sobre faixa etária, sexo e grau de instrução. Logo após a entrega dos respectivos relatórios foram solicitados a avaliar a amostra. Para estudar a aceitação da farinha de mandioca elaborada, foi usada a escala hedônica de 7 pontos (1 = desgostei muitíssimo e 7 = gostei muitíssimo), para avaliar aparência, aroma, sabor, textura e sabor global (Figura 07).

Os experimentos sensoriais foram realizados em ambiente adequado, fresco e arejado, sob luz natural.

Os resultados do perfil sócio-demográfico dos consumidores e aceitação da farinha de mandioca elaborada foram apresentados em forma de gráficos e porcentagem de respostas.

Nome: _____	Data: _____	Idade: _____
Sexo: () Feminino () Masculino	Fuma: () sim () não	
E-mail _____		
Grau de instrução: () 1º Grau () 2º Completo () Superior Incompleto () Superior Completo		
Você consome produtos a base de mandioca? () sim () não () não, mas posso consumir.		
Se sim, quais os produtos que consome? () Raiz () Chips () Farinha de mesa () Polvilho () Farinha de tapioca () Fécula () Outros. Quais? _____		
Qual a frequência que consome estes produtos? () Nunca () Raramente () Esporadicamente () Frequentemente () Diariamente		
<i>Por favor, prove as amostras de farinha, da esquerda para direita, e dê uma nota para cada solicitação abaixo, seguindo a seguinte escala:</i>		
<p>(7) gostei muitíssimo (6) gostei muito (5) gostei regularmente (4) nem gostei e nem desgostei (3) desgostei regularmente (2) desgostei muito (1) desgostei muitíssimo</p>		
	Nº da amostra	_____
1. COR	() () () ()	
2. AROMA	() () () ()	
3. SABOR	() () () ()	
4. AMARGOR	() () () ()	
5. TEXTURA	() () () ()	
6. NOTA GLOBAL PARA A AMOSTRA	() () () ()	
Comentários _____		

Figura 07. Ficha utilizada no teste de aceitação.

3.2.5.3.2 Análise descritiva quantitativa

a) Caracterização dos hábitos de consumo dos provadores de farinha de mandioca

Numa primeira etapa, foi distribuído um questionário de recrutamento a alunos de graduação, professores e funcionários da Faculdade de Nutrição da UFRJ (Figura 8). Esse questionário avaliou os seguintes itens: faixa etária dos entrevistados, frequência média mensal de consumo de farinha e outros produtos a base de mandioca. Com base nas respostas, provadores foram pré-selecionados considerando-se interesse, disponibilidade de participar dos testes sensoriais e frequência de consumo.

Nome: _____	Data: _____
Idade: _____	Sexo: () Feminino () Masculino
E-mail: _____	Fuma: () sim () não
Grau de instrução: () 1º Grau () 2º Completo () Superior Incompleto () Superior Completo	
Você consome produtos a base de mandioca? () sim () não () não, mas posso consumir.	
Se sim, quais os produtos que consome? () Raiz () Chips () Farinha de mesa () Polvilho () Farinha de tapioca () Fécula () Outros. Quais? _____	
Qual a frequência que consome estes produtos? () Nunca () Raramente () Esporadicamente () Frequentemente () Diariamente	
Qual a frequência que consome apenas farinha de mandioca? () Pouco () moderadamente – 1 a 4 vezes mês () + de 5 vezes mês	
Existe algum dia ou horário que você NÃO poderá participar das sessões de degustação? Quais? _____	

Figura 8. Questionário de recrutamento de provadores

b) Memória sensorial e capacidade discriminatória

A memória sensorial dos candidatos pré-selecionados foi verificada em testes de reconhecimento de odores e de gostos básicos. O teste de reconhecimento de odores teve como objetivo avaliar a capacidade de reconhecimento de odores dos candidatos (BEHRENS, 1998; GARRUTI, 2001). As referências de odores (Tabela 2) foram servidas em frascos iodométricos de 125 mL e placas de petri cobertas com papel alumínio perfurado, codificados com três dígitos e apresentadas aos candidatos, que deveriam descrever qual o aroma percebido (Figura 09).

Tabela 02. Referências utilizadas no teste de reconhecimento de odores

Descritores	Referências
Limão	10 mL de suco de limão
Uva	10 mL de suco de uva concentrado
Grama cortada	1 punhado de grama recém-cortada
Mel	10 mL de mel de abelhas
Baunilha	2 gotas de essência de baunilha em papel de filtro
Ovo	¼ de gema de ovo cozido
Ácido acético	5 mL de vinagre
Etanol	15 mL de etanol 95%
Iogurte	50 mL de iogurte natural
Manteiga	10 g de manteiga
Cravo da Índia	1 punhado de cravos da Índia

Nome: _____

Por favor, avalie o primeiro conjunto de aromas da seguinte maneira: leve o frasco ao nariz, remova a tampa, faça 3 inspirações breves e descreva o aroma percebido.

Descrição do Aroma Código da amostra

232

441

969

123

615

896

195

637

564

871

Figura 09. Ficha do teste de reconhecimento de odores.**Figura 10.** Apresentação das amostras para reconhecimento de odores.

O teste de reconhecimento de gostos básicos foi realizado para verificar a capacidade dos provadores em distinguir entre os diferentes gostos. Os candidatos receberam soluções aquosas diluídas de cada gosto básico (Tabela 3 e Figura 12) e foram solicitados a identificá-las (Figura 11).

Tabela 3. Concentração das soluções aquosas dos gostos básicos

Gosto básico	Substância	Concentração 1 (%)
Ácido	ácido cítrico	0,02
Amargo	cafeína	0,03
Doce	sacarose	0,40
Salgado	cloreto de sódio	0,08

Nome: _____

Por favor, avalie o primeiro conjunto de sabores e descreva o sabor percebido.

Descrição do sabor Código da amostra

237

451

989

145

Figura 11. Ficha do teste de reconhecimento de sabores.



Figura 12. Apresentação das amostras aos provadores para reconhecimento de sabores

A capacidade discriminatória de cada provador foi avaliada utilizando o teste triangular (STONE; SIDEL; 1992), nos quais foram servidas amostras de farinha de mandioca comum de marcas comerciais. Foram servidos 10 g de farinha, em temperatura ambiente, em copos de 50 mL codificadas. A ficha empregada para o teste triangular é apresentada na Figura 13.

Nome: _____ Por favor, prove cada amostra servida. Espere alguns segundos entre uma amostra e outra. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Faça um círculo na amostra diferente. _____ Comentários: _____

Figura 13. Ficha para teste triangular

c) Desenvolvimento da terminologia descritiva

O levantamento dos termos descritores das amostras foi realizado utilizando-se o Método Rede - “The Kelly Repertory Grid Method” (1983), citado por Behrens (1998). Foram servidas as quatro amostras de farinhas produzidas no experimento (F_0 , F_1 , F_2 e F_3) que os provadores avaliaram aos pares, descrevendo as similaridades e diferenças entre cada par de amostras quanto à aparência, aroma, sabor e sensações bucais (Figura 14). Após a avaliação, sob a supervisão do líder, os provadores discutiram os termos levantados, eliminando redundâncias, sinônimos e termos poucos citados, e então selecionaram os termos que melhor descreviam as semelhanças e diferenças entre as amostras. Em seguida, os provadores, sob supervisão do líder, elaboraram uma lista com a definição dos termos descritivos das amostras e propuseram referências para exemplificar cada termo descritor (STONE; SIDEL; 1992).

Nome: _____ Por favor, agrupe, compare as amostras e descreva abaixo em que elas são similares e em que elas diferem.
Amostras
1 APARÊNCIA:
2 AROMA:
3 SABOR:
4 TEXTURA:

Figura 14. Ficha para levantamento dos termos descritores

Os termos descritores levantados pelo método de rede para comparação entre as amostras foram, em seguida, apresentados ao grupo de provadores. Sob a supervisão de um líder, os provadores escolheram, em consenso, os termos que melhor descreviam as amostras. Foram eliminados os termos redundantes, subjetivos ou que eram percebidos por apenas um único provador.

Os provadores, também em grupo, sugeriram as referências que seriam utilizadas para descrever cada atributo e a definição destes atributos, que estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 04. Lista dos termos descritores, definições e referências para cada atributo.

TERMO DESCRITOR	DEFINIÇÃO	REFERENCIA
Cor		
Cor Esbranquiçada	Cor característica de farinha de mandioca crua	Forte – farinha de trigo Fraco – farinha de mandioca torrada comercial
Cor Esverdeada	Cor característica do CPFM	Forte – gelatina de limão em pó Nenhum – farinha de trigo
Sabor		
Sabor de mandioca	Sabor característico de mandioca	Forte – mandioca cozida Nenhum – água destilada
Sabor Amargo	Gosto amargo característico presente na solução de cafeína	Forte – solução de 0,06% de cafeína em água. Nenhum – Água destilada
Sabor Salgado	Gosto de solução salina	Forte – biscoito cream cracker Nenhum – água destilada
Sabor característico	Sabor característico de farinha de mandioca	Forte – farinha de mandioca comercial Nenhum – água destilada
Textura		
Granulosidade	Grânulos grosseiros sejam percebidas durante a deglutição	Fraca – farinha de trigo Forte – farinha de milho Forte – farinha de trigo crua
Crua	Textura característica de farinha de trigo	Fraca – farinha de mandioca torrada
Odor		
Folha	Odor característico de folha fresca	Forte – 1 punhado de folha cortada Fraco – água destilada
Mandioca	Odor característico de mandioca cozida	Forte – mandioca cozida Fraco – água destilada

d) Treinamento e seleção da equipe final de provadores

O treinamento consistiu em 4 avaliações de 2 amostras de farinha (F_0 e F_3) e foi realizado com 16 provadores. O treinamento foi realizado de forma individual e não em grupo como recomendado pela literatura (STONE et al., 1974; DAMÁSIO ; COSTELL, 1991) devido à dificuldade em reunir a equipe de provadores.

A capacidade discriminatória dos provadores pré-selecionados foi verificada utilizando-se teste triangular. Os testes triangulares foram realizados até que os provadores atingissem índice de acertos significativo a 5%. Os provadores que não atingiram a quantidade de acertos suficientes, após 7 testes triangulares, foram dispensados. Assim, os provadores foram selecionados para participar das etapas iniciais da análise descritiva quantitativa. Foram selecionados, portanto, os provadores com boa capacidade discriminatória (p amostras $< 0,50$) e reprodutibilidade (p repetições $< 0,05$).

e) **Avaliação das amostras**

Os provadores avaliaram 10g das quatro amostras de farinha (F_0 , F_1 , F_2 e F_3) em três repetições. A intensidade dos atributos das amostras foi avaliada em escala não estruturada de 10 cm, com os termos de intensidade ancorados em seus extremos (Figura 15).

3.2.5.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey), de acordo com Stone et al. (1994) e Stone e Sidel (1992) utilizando o programa estatístico XLSTAT.

ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA		
NOME: _____ DATA: _____ N° DA AMOSTRA: _____		
Por favor, prove esta amostra cuidadosamente e faça um traço vertical num ponto da linha horizontal que melhor descreva cada atributo a farinha		
APARÊNCIA	Fraco	Forte
Cor esbranquiçada	_____	
Cor esverdeada	_____	
SABOR	Fraco	Forte
Sabor de mandioca	_____	
Sabor Amargo	_____	
Sabor característico	_____	
TEXTURA	Fraco	Forte
Granulosidade	_____	
Crua	_____	
ODOR	Fraco	Forte
Folha	_____	
Mandioca	_____	

Figura 15. Ficha de ADQ utilizada para avaliação das farinhas de mandioca elaboradas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Inativação da peroxidase

A peroxidase é uma enzima encontrada em muitas plantas; sendo que mais de 20 isoperoxidasas têm sido detectadas em extrato obtido de uma mesma planta. Essa enzima em plantas superiores é uma glicoproteína que se difere na composição de seus aminoácidos e carboidratos, contendo como grupamento prostético a ferriprotoporfirina III (ROLING; MOURA; CLEMENTE, 2000).

Devido à alta estabilidade e fácil detecção, essa enzima é a mais usada para determinar se o processamento de vegetais pelo calor foi adequado (CLEMENTE, 1996; MACIEL; GOUVÊA; PASTORE, 2006).

Durante o tratamento térmico a perda da atividade dessa enzima está associada com a origem, concentração, pH e métodos de ensaio. Sob certas condições de tratamento térmico, a peroxidase não é totalmente inativada e, além disso, ocorre a perda do sabor e o desenvolvimento de sabores desagradáveis em alimentos (CLEMENTE, 1995).

O controle da atividade da peroxidase é de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que são responsáveis pelo escurecimento em frutas e vegetais, e seus produtos processados (CLEMENTE e PASTORE, 1998). Baseado na inativação enzimática, essa enzima termorresistente, é usada como parâmetro no estabelecimento do processo (RAMASWAMAMY, 1989).

O método utilizado neste trabalho por si só não serve para reconhecer cultivares e enzimas isoladamente. Entretanto, a grande vantagem, é a rápida e fácil caracterização de materiais com reações distintas. Os resultados obtidos mostram que o tratamento térmico em água a 100 °C por 60 segundos foi capaz de inativar as peroxidases presentes nas folhas de mandioca, pois, a partir deste tempo a reação foi negativa, enquanto para o tempo 0 e 30 segundos a reação foi positiva, como pode-se observar na Tabela 5.

Tabela 5. Inativação de peroxidase segundo o tempo de tratamento térmico a 100 °C

Tempo (segundos) após 100 °C	Reação
30	+
60	-
90	-
120	-
150	-
180	-
210	-
240	-
270	-
300	-
330	-
360	-
390	-

(+) reação positiva; (–) reação negativa.

4.1 Cinética de Caracterização do sobrenadante e do CPFM obtidos por precipitação isoelétrica

O extrato aquoso, com pH de 6,47 apresentou concentração de 0,23 g de proteína/mL. A medida que o extrato era acidificado, menor conteúdo protéico foi encontrado no sobrenadante. Pois, próximo ao ponto isoelétrico as moléculas protéicas se manifestam com um mínimo de interações com a água e suas cargas e assim, podem surgir agregados e conduzir a uma precipitação (IGUTI, 2007).

Na Figura 16 e Tabela 6, estão apresentados os resultados da concentração protéica do sobrenadante em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca.

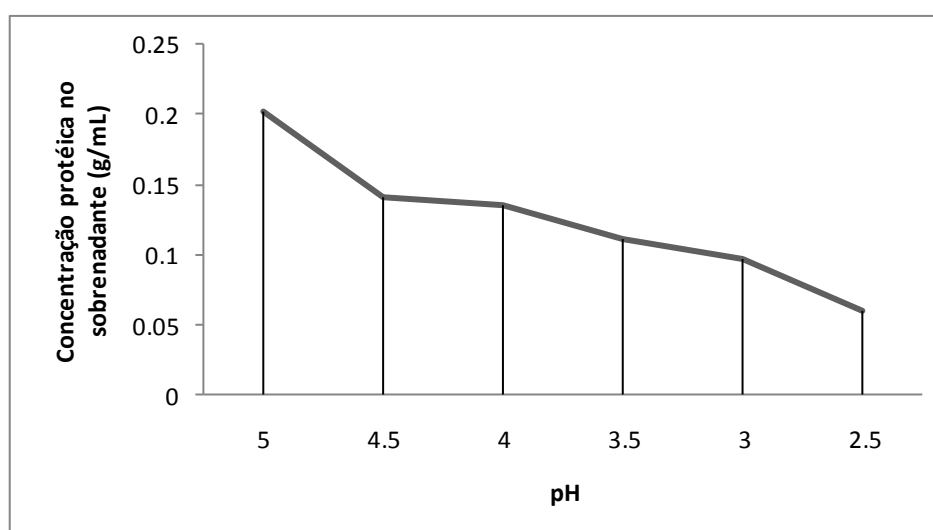


Figura 16. Concentração protéica do sobrenadante em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca.

Tabela 6. Média da concentração protéica do sobrenadante em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca

pH	PTN (g/100g)
5,0	0,202 ^e
4,5	0,140 ^d
4,0	0,136 ^d
3,5	0,110 ^c
3,0	0,097 ^b
2,5	0,060 ^a

Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Sabe-se que a extração da fração protéica de uma biomassa de folha é dependente da solução extratora que deve possuir um pH distante do ponto isoelétrico dessa fração. Por outro lado, durante a elaboração do extrato aquoso, enzimas proteolíticas podem ajudar na degradação dessa proteína. Por isso, faz-se necessário a utilização de soluções, cujo pH

variam de 7,0 a 11,0, para dificultar a ação dessas enzimas e também para facilitar a solubilização da fração protéica (GEORGE, 1996).

No pH 2,5 a concentração foi de 0,060 g de proteína/mL no sobrenadante, ou seja, 73,91% inferior ao conteúdo inicial. Observou-se, portanto diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos. Esses resultados deram suporte para a extração de proteínas de folhas dessa biomassa, que depois de parcialmente desidratado, o teor médio de proteína era de 34,94g/100g, enquanto que a concentração média de proteína das folha *in natura* era 11,27g/100g \pm 0,010. Esses dados demonstram que a acidificação da solução extratora torna-se necessária para a obtenção do CPMF.

Na Figura 17 e Tabela 7, estão apresentados os resultados do teor protéico do CPMF em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso de folhas de mandioca.

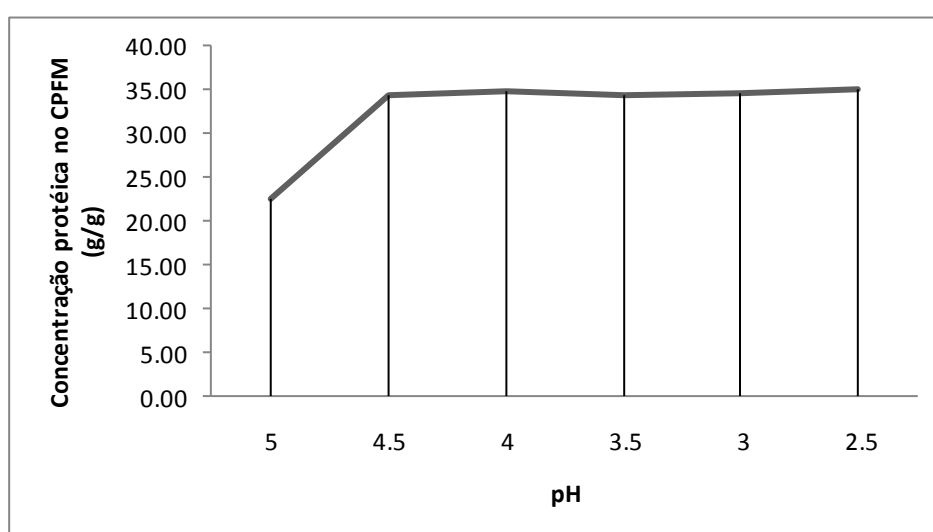


Figura 17. Concentração protéica do CPMF em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca.

Tabela 7. Média da concentração protéica do CPMF em relação ao pH de acidificação do extrato aquoso das folhas de mandioca.

pH	PTN (g/100g)
5,0	22,60 ^b
4,5	34,30 ^a
4,0	34,78 ^a
3,5	34,32 ^a
3,0	34,42 ^a
2,5	34,94 ^a

Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Observa-se diferença significativa ao nível de 5% entre o pH 5 e todos os outros pHs, no entanto não foram encontradas diferenças entre os demais pHs.

Com a diminuição do pH observa-se maior concentração protéica e diminuição do teor de proteína do sobrenadante, indicando maior rendimento de CPFM. Quando os valores do pH do meio estão acima do Ponto Isoelétrico (PI) da proteína, a superfície está predominantemente com carga negativa, ocorre repulsão eletrostática e aumenta a proporção de interações iônicas com o meio. Abaixo do PI, a carga global da proteína é positiva e ocorre o mesmo fenômeno de repulsão entre as moléculas. Enquanto, em valores de pH igual ou próximo ao PI ocorre a minimização da repulsão eletrostática entre proteínas e precipitação por interação entre zonas hidrófobas, denominadas precipitação isoeletrica (LUCARINI et al., 2005).

Sugere-se que esse concentrado possa ser utilizado para a suplementação de produtos tradicionalmente consumidos pelos brasileiros, como a própria farinha de mandioca ou de trigo.

Estudos sobre o valor nutricional de farinha de trigo combinada com CPFM já foram realizados e os dados mostraram que, a adição de CPFM promoveu um melhor aporte de aminoácidos nas misturas (HEINEMANN et al., 1998).

O CPFM apresenta elevada capacidade de absorção de óleo indicando boa aplicação industrial para a preparação de produtos como salsichas, massas de bolos, maionese e outros molhos (SALGADO e SANTOS, 1986).

4.2 Caracterização do CPFM

Após o estudo da cinética de caracterização do sobrenante obtido na elaboração do CPFM, O CPFM com maior concentração de proteínas foi produzido e sua composição química determinada, como mostra a Tabela 8, foi determinada e calculada segundo a metodologia do IAL (SÃO PAULO, 2008).

Tabela 8. Composição centesimal do CPFM

Determinações	CPFM
Umidade (g/100g)	7,26±0,26
Cinzas (g/100g)	9,73±0,37
Protéina (g/100g)	36,02±0,62
Lipideos (g/100g)	18,86±0,13
Carboidratos ¹ (g/100g)	28,13± 0,96

¹ carboidrato por diferença.

O nível de proteína do CPFM encontrado (36,02g/100g) foi menor do que os citados por Modesti et al., (2007) e Tangka (2003), no entanto, foi superior aos valores obtidos por Côrrea et al. (2004), Heinemann et al., (1998) e Salgado e Santos (1996), sem cultivar definida.

O teor de extrato etéreo do CPFM (18,86 g/100g matéria seca) foi superior a variação observada pela literatura, de 12,15 a 17,39 (MOLINA, 1989; HEINEMANN et al., 1998; MODESTI et al., 2006). Essas diferenças, provavelmente, devem-se a cultivar, idade da planta, maturidade das folhas, entre outros.

O teor de cinzas do CPFM foi superior (9,73 g/100g matéria seca) aos dados da literatura, 2,18 a 8,74g/100g matéria seca (MOLINA, 1989; HEINEMANN et al., 1998; MODESTI, 2006).

Embora a composição de aminoácidos da proteína seja importante, esta é apenas indicativa da qualidade nutricional, e não determina por si só, a qualidade do alimento. O perfil de aminoácidos de diferentes proteínas pode ser comparado de forma relativamente simples pelo método de cômputo químico, utilizando a proteína provisional da FAO ou de ovo como referência padrão.

Na Tabela 9 são mostrados os cômputos químicos de aminoácidos do CPFM em relação à proteína padrão da FAO (1985)

O CPFM pode ser considerado boa fonte de aminoácidos, pois possuem em sua maioria níveis superiores aos requeridos pela FAO (1985), apresentando cômputo químico superior a 100%, no entanto, é deficiente em histidina e aminoácidos sulfurados.

Os resultados obtidos nesse estudo estão de acordo com os valores obtidos Heinemann et al. (1998) para o CPFM e com os de Eggum (1970); Rogers e Milner (1963); Tupynamba e Vieira (1979); Ortega-Flores et al.(2003) para as folhas de mandioca.

Do ponto de vista nutricional, embora as proteínas provenientes de folhas não se equipararem às proteínas de animais, são melhores do que a maioria das proteínas de sementes, cereais e leguminosas (GUERROUÉ et al., 1996). O perfil de aminoácidos, no entanto, não nos mostra a qualidade de uma proteína, tendo que ser levada em consideração a digestibilidade da proteína e a biodisponibilidade de seus aminoácidos (ORTEGA-FLORES et al.,2003).

Com relação aos aminoácidos não essenciais, observaram-se teores mais elevados dos ácidos glutâmico e aspártico.

Lajolo et al. (1982) descreveram as vantagens e desvantagens do método do cômputo químico. As vantagens envolvem simplicidade e baixo custo, facilidade de identificação de fatores limitantes e previsão do valor nutricional ou efeito complementar de misturas. As desvantagens incluem erros na análise de aminoácidos e o fato de não ser considerado o possível excesso de aminoácidos, nem a presença de fatores tóxicos, que somente seria detectada em testes com animais.

Em relação ao rendimento do concentrado protéico, este foi de 3,07%. A partir de 700g de folhas frescas (179,41g de folhas secas) obteve-se 5,5g de CPFM seco.

Tabela 9. Teor de aminoácidos do CPFM, padrão de aminoácidos estabelecidos (g aa/100g de proteína) e cômputo químico de aminoácidos do CPFM em relação a proteína padrão da FAO (1985).

Aminoácido (g/100g de Proteína)	CPFM	FAO	Cômputo Químico ¹	Aminoácido (g/100g de Proteína)	CPFM	FAO	Cômputo Químico ¹
<i>Essenciais</i>				<i>Não Essenciais</i>			
Leucina	9,61	6,61	1,45	Ác. Glutâmico	8,70	-	-
Lisina	8,47	5,80	1,46	Arginina	7,40	-	-
Fenilalanina	5,60	6,3	1,85	Ác. Aspártico	8,70	-	-
Fenilalanina + Tirosina	11,60	2,20	5,27	Glicina	7,82	-	-
Tirosina	6,08	-	-	Alanina	8,02	-	-
Triptofano	-	0,90	-	Serina	4,87	-	-
Valina	4,78	3,50	1,37	Prolina	5,37	-	-
Histidina	1,74	1,90	0,91				
Isoleucina	2,89	2,80	1,03				
Metionina	1,24	2,2	0,56				
Sulfurados totais	2,12	3,40	0,62				

¹Cômputo químico = $\frac{\text{g de aminoácido essencial da proteína teste}}{\text{g de aminoácido essencial da proteína padrão}}$

4.3 Composição química e físico-química das farinhas elaboradas

De acordo com a Portaria n° 554, (BRASIL,1995), as farinhas de mandioca elaboradas são classificadas em farinha de mandioca seca, com granulometria média, ou seja, na peneira de n°10 vaza 100% de farinha, enquanto na peneira de n°18, ficam retida no máximo 3% de farinha. Cada peneira tem um número de aberturas por polegada linear denominado “mesh”. Logo, quanto maior o “mesh”, maior o número de aberturas e, conseqüentemente, mais fino deverá ser o grão para que passe por ela.

A composição química e físico-química proximal das farinhas de mandioca elaboradas encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10. Composição química e físico-química das farinhas de mandioca elaboradas.

	F ₀	F ₁	F ₂	F ₃
Umidade (g/100g)	3,39±0,18 ^c	4,88±0,21 ^b	5,82±0,12 ^a	4,83±0,20 ^b
Cinzas (g/100g)	1,77±0,07 ^c	2,13±0,07 ^b	2,72±0,12 ^a	2,75±0,12 ^a
Proteína (g/100g)	0,81±0,01 ^d	2,61±0,02 ^c	3,95±0,08 ^b	6,63±0,09 ^a
Lipídeos (g/100g)	1,63±0,04 ^c	2,37±0,09 ^b	2,41±0,12 ^b	3,31±0,17 ^a
Glicídeos em amido (g/100g)	87,57±0,51 ^a	81,91±0,91 ^a	77,82±0,72 ^a	75,04±0,78 ^a
Fibra Solúvel (g/100g)	1,08±0,01 ^c	2,29±0,19 ^b	2,40±0,15 ^b	3,14±0,03 ^a
Fibra Insolúvel (g/100g)	3,75±0,20 ^a	3,81±0,33 ^a	4,16±0,13 ^a	4,30±0,17 ^a
Acidez Total Titulável (meq NaOH%)	0,12±0,00 ^d	0,12±0,00 ^c	0,16±0,00 ^b	0,23±0,00 ^a

Letras iguais na mesma linha indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey. F₀ - 0% CPFM; F₁ - 2,5% CPFM; F₂ - 5,0% CPFM; F₃ - 10,0% CPFM.

4.3.1 Umidade

Dentre os itens mais frequentemente analisados na determinação de macronutrientes em alimentos está o teor de umidade, importante dado da composição centesimal e, em alguns casos é também um indicador da qualidade do produto. Sua determinação é normalmente feita por métodos gravimétricos, também conhecidos como dessecação até peso constante, que determinam a umidade através da diferença de massa entre o alimento úmido e o seco (GARCIA-AMOEDO, 2002).

A determinação de umidade em farinha de mandioca é importante para avaliar a qualidade do produto. Visto que o aumento de umidade favorece a multiplicação de microrganismos. Quanto mais baixa a umidade, menor será a probabilidade de deterioração da farinha (FRANCO e LANDGRAF, 0000)

O teor de umidade da farinha de mandioca está relacionado com o seu processo de fabricação (CHISTÉ et al., 2006), podendo variar, principalmente com o tempo e temperatura de tostagem.

A legislação brasileira estabelece os limites máximos de umidade de 10-13% em farinhas secas (BRASIL, 1995). As farinhas elaboradas neste estudo encontram-se dentro dos padrões estabelecidos. Houve diferença significativa ao nível de 5% entre as quatro amostras elaboradas (Figura 18 e Tabela 9, pág.44).

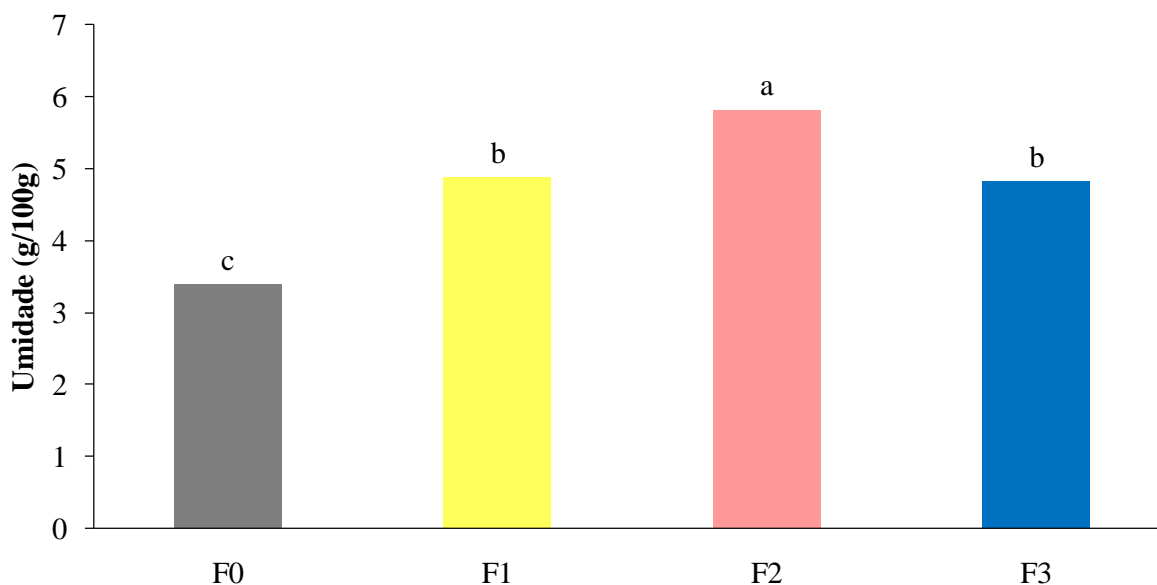


Figura 18. Teor de umidade das farinhas de mandioca elaboradas F₀ - 0% CPFM; F₁ - 2,5% CPFM; F₂- 5, 0% CPFM; F₃ - 10,0% CPFM.

Chisté et al. (2006) estudaram dez amostras de farinha de mandioca coletadas nos principais supermercados e feiras da cidade de Belém, PA. Todas as amostras apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela Portaria N° 554 de 30.08.1995, estando elas na faixa de 5,48 a 7,59%.

Souza et al. (2008) analisaram a variabilidade físico-química de 18 amostras de farinha de mandioca comercializada no município de Cruzeiro do Sul – AC, estas farinhas apresentaram teores de umidade 8,10 a 12,02%.

4.3.2 Cinzas

Cinzas são o resíduo mineral fixo obtido por um aquecimento de um produto a uma temperatura próxima a 550-570°C. Este resíduo representa quase toda a matéria inorgânica presente na amostra, pois alguns sais podem sofrer volatilização ou redução neste aquecimento (SÃO PAULO, 2008).

Em farinhas de mandioca o teor de cinzas acima do padrão exigido pela legislação, pode indicar possíveis fraudes ou processamento inadequado, principalmente durante as etapas de descascamento da mandioca (DIAS e LEONEL, 2006; CHISTÉ, 2006).

De acordo com Paiva (1991), valores maiores que a tolerância máxima permitida pode ser também um indicativo de teores significativos de Ca, P, Fe e Mg.

As farinhas de mandioca elaboradas apresentaram teores de cinzas superiores (1,77 a 2,71 g/100g) ao estabelecido pela Portaria N° 554 (BRASIL, 1995). Este fato pode ser atribuído ao descascamento da mandioca que foi realizado manualmente, permitindo a manutenção de parte da película, feloderma e fibra central; e/ou a adição de CPFM, pois a medida que o percentual do concentrado foi adicionado a farinha, o teor de cinzas aumentou significativamente ($p < 0,05$), como demonstrado na Tabela 10 (pág.44) e Figura 19.

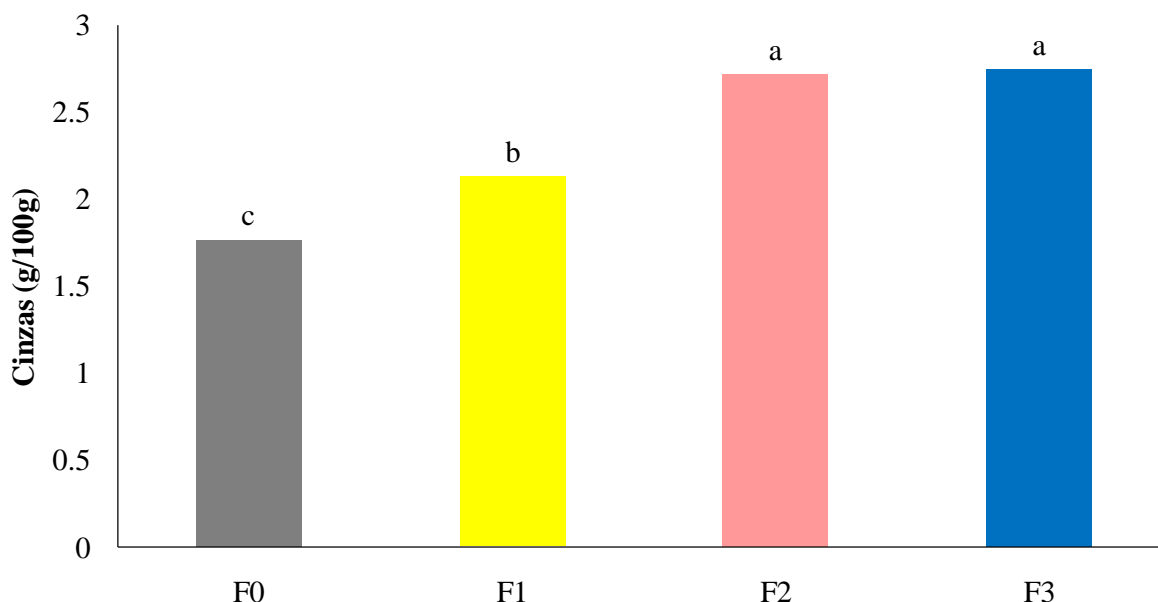


Figura 19. Teor de cinzas das farinhas de mandioca elaboradas F₀ - 0% CPFM; F₁ - 2,5% CPFM; F₂ - 5,0% CPFM; F₃ - 10,0% CPFM

Souza et al. (2008), avaliaram as características físico-químicas das farinhas oriundas de variedades de mandioca utilizadas no estado do Acre. Todas as amostras avaliadas foram inferiores aos valores médios de minerais encontrados por Ferreira Neto et al. (2003) de 1,70%, não sendo citado pelos autores se foram utilizados descascadores industriais e se houve remoção do feixe lenhoso ou cepa da raiz.

4.3.3 Proteína

As proteínas são polímeros de elevado peso molecular, composto de nitrogênio, carbono, oxigênio e algumas vezes, enxofre, fósforo, ferro e cobalto. Difere dos carboidratos e lipídeos pelo seu conteúdo de nitrogênio. É formada por complexos de aminoácidos, que podem estar ligados em formações peptídicas (WAITZBERG, 2004).

São fundamentais à vida, exercendo funções biológicas, que incluem as contráteis, estruturais do corpo, biocatalisadoras, hormonais, de transferência e de reserva (RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

De acordo com Oliveira e Salgado (1999) a mandioca é um alimento essencialmente energético, com baixo teor de proteínas, da ordem de 0,59 a 2,34g/100g de matéria fresca. Com relação à farinha de mandioca seca, segundo estudos ela apresenta um teor protéico na faixa de 0,15 a 0,93 g/100g (CHISTÉ et al, 2006; NEPA/UNICAMP, 2005; IBGE, 1999; EMBRAPA, 1994)

A composição centesimal dos alimentos evidenciou um teor significativamente ($p < 0,05$) maior de proteínas nas farinhas de mandioca com concentrado, quando comparada a comum, (F_0 , sem adição de CPFM). O CPFM foi, portanto, eficiente, pois aumentou a quantidade de proteínas presentes na farinha de mandioca, como demonstrado na Tabela 10 (pág. 44) e Figura 20.

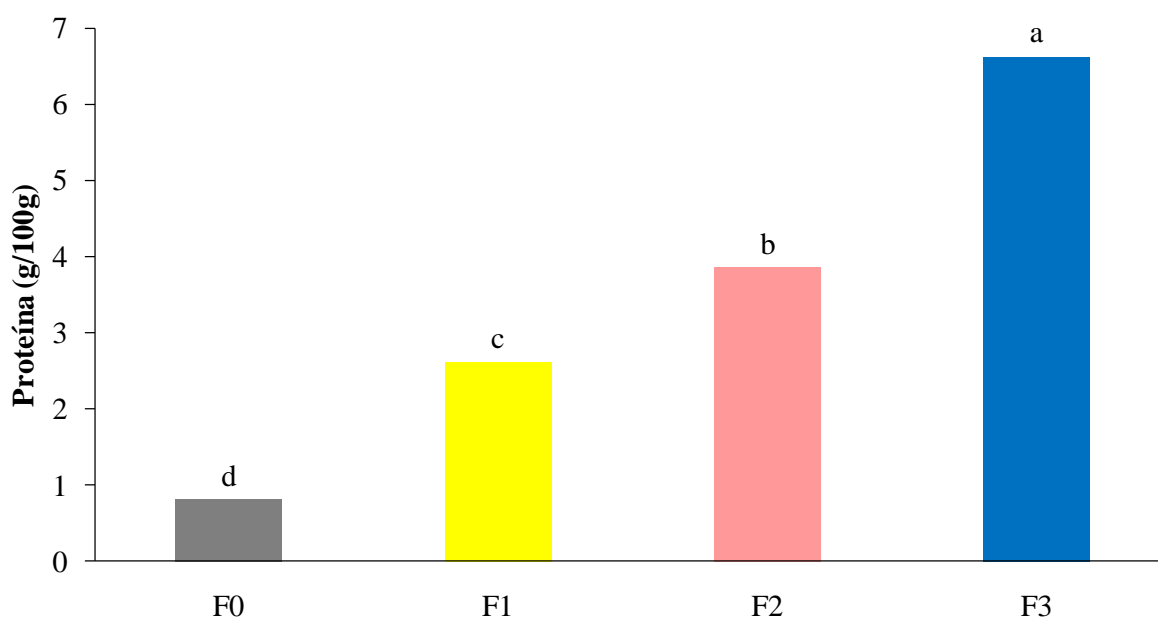


Figura 20. Teor de proteínas das farinhas de mandioca elaboradas F_0 - 0% CPFM; F_1 - 2,5% CPFM; F_2 - 5,0% CPFM; F_3 - 10,0% CPFM.

Houve um aumento no teor protéico de 322, 488 e 819%, F_1 , F_2 e F_3 , respectivamente, demonstrando ser viável suplementar a farinha de mandioca com proteína de folha de mandioca (Figura 21). As farinhas de mandioca elaboradas apresentam 1,01; 3,26; 4,94 e 8,94%, para as formulações F_0 , F_1 , F_2 e F_3 , respectivamente da ingestão recomendada para adultos (IDR) de proteínas (BRASIL, 2005), Figura 21.

Heinemann et al. (1998), avaliaram a qualidade protéica de misturas feitas à base de farinha de trigo e CPFM nos níveis de 5 e 10% em relação ao peso da farinha. Observaram que a adição de CPFM promoveu um aporte melhor de aminoácidos nas misturas.

Metri et al. (2003), avaliaram a eficiência protéica da farinha de mandioca enriquecida com bioproteínas (*Sacharomyces cerevisiae*), associada ao feijão e arroz, na manutenção do estado nutricional de ratos. Os dados obtidos nesse estudo levaram a concluir que a farinha de mandioca enriquecida com bioproteínas poderia ser utilizada como complemento alimentar de animais e humanos. Pois, fontes de proteínas, são de grande importância para consumo em adição à farinha de mandioca, componente indispensável e relevante da cesta básica do nordestino e um dos alimentos mais consumidos pela população de baixa renda, exatamente aquela que, por limitações econômicas, é submetida a uma dieta inadequada e, por isso, está quase sempre sujeita a carências nutricionais, em especial a desnutrição.

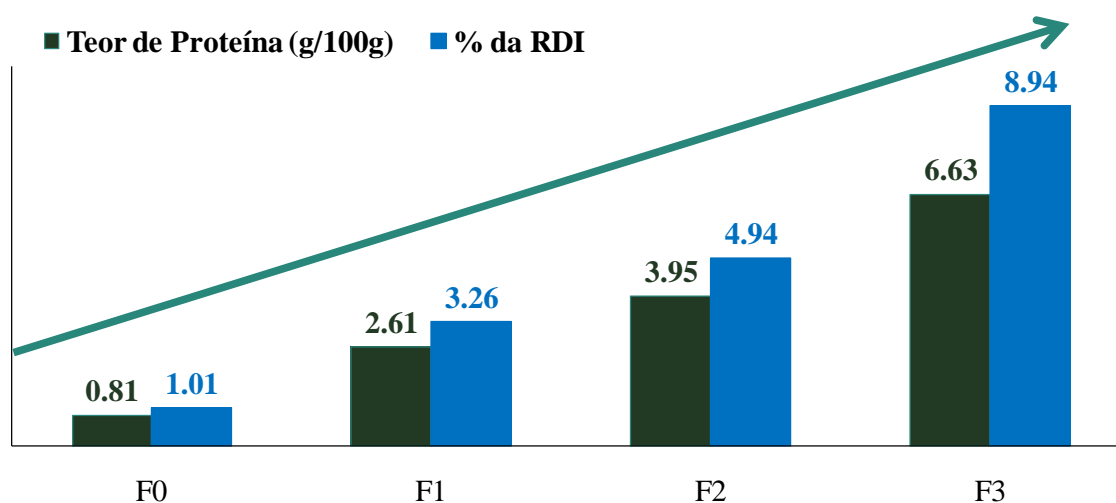


Figura 21. Comparação do teor protéico das farinhas de mandioca elaboradas F₀ - 0% CPFM; F₁ - 2,5% CPFM; F₂ - 5,0% CPFM; F₃ - 10,0% CPFM.

Um dos grandes problemas enfrentados pelas populações de baixa renda em todo o mundo e, principalmente, nos países em desenvolvimento é a inadequação da alimentação, a qual ocasiona quase sempre a desnutrição (ANGELIS, 1995). O perfil alimentar do brasileiro é simples, em termos de quantidade e qualidade dietética (ANGELIS, 1995; LEMOS et al., 1996; SGARBIERI, 1996). Portanto, a farinha de mandioca com CPFM pode ser uma alternativa no combate a desnutrição.

4.3.4 Lipídeos

Os lipídeos ou extratos etéreos abrangem um número muito vasto de substâncias, podendo ser definidos genericamente como uma classe de compostos solúveis em solventes orgânicos (acetona, éter e clorofórmio) e insolúveis em água. São classificados em simples (os óleos e gorduras), compostos (fosfolipídeos, ceras, entre outros) e derivados (como os ácidos graxos e esteróis) (SÃO PAULO, 2008).

Segundo Mahan e Escott-Stump (2005), os lipídeos da dieta são essenciais para a digestão, absorção e transporte de vitaminas e fitoquímicos lipossolúveis, como carotenóides e licopenos. A fração lipídica deprime as secreções gástricas, torna mais lento o esvaziamento gástrico e estimula o fluxo biliar e pancreático, facilitando a digestão.

O teor lipídico foi próximo entre todas as farinhas estudadas, no entanto, à medida que a quantidade de CPFM foi aumentada na massa de mandioca, maior teor de lipídeos foi encontrado nas amostras, cujos valores foram de 1,63; 2,37; 2,41 e 3,31%, respectivamente para as farinhas F₀, F₁, F₂ e F₃, como pode ser observado na Tabela 10 (pág.44) e Figura 22.

Este aumento de lipídeos com a adição do CPFM pode ser atribuído a quantidade de pigmentos lipossolúveis presentes nessa fração, como demonstrado na Tabela 9 (pág. 43), com a caracterização do CPFM.

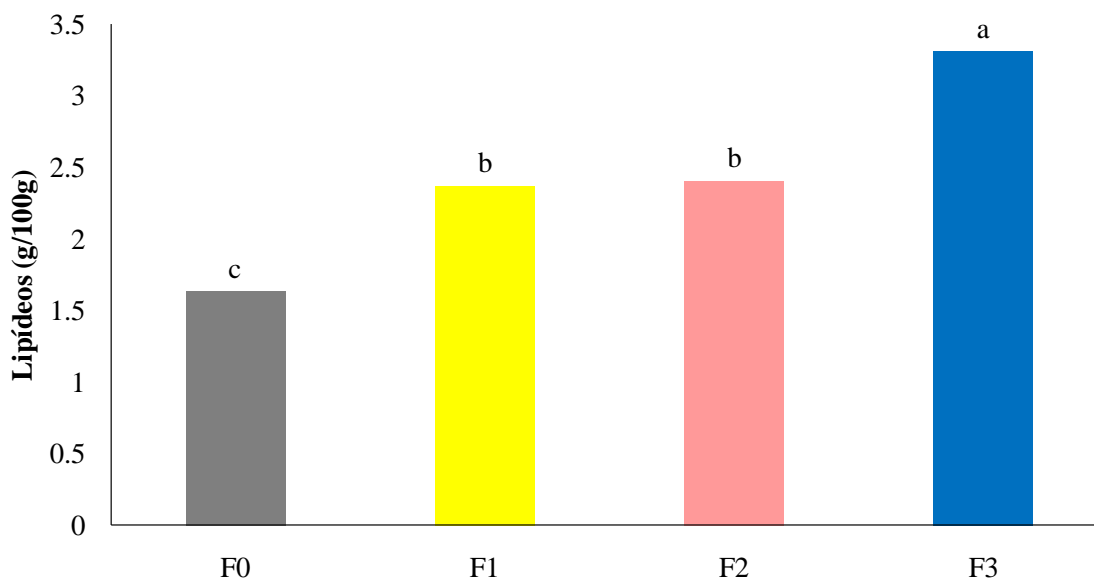


Figura 22. Teor de lipídeos das farinhas de mandioca elaboradas F₀ - 0% CPF M; F₁ - 2,5% CPF M; F₂- 5, 0% CPF M; F₃ - 10,0% CPF M.

Chisté et al. (2006) analisou diferentes amostras de farinhas de mandioca produzidas no estado do Pará e observaram baixo conteúdo lipídico nas amostras analisadas (0,11 a 0,31%), ou seja, valores superiores aos das farinhas elaboradas neste estudo.

Pesquisas revelam que o teor lipídico da raiz da mandioca é baixo. Podendo variar de 0,25 a 3,5% (CENI et al, 2003; FARIAS et al., 2005).

4.3.5 Glicídeos em amido

Estruturalmente, o amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$, formando uma estrutura ramificada. Embora a amilose seja definida como linear, atualmente se admite que algumas de suas moléculas tenha ramificações, semelhantes à amilopectina. Além disso, a presença de estruturas intermediárias entre amilose e amilopectina foi proposta para alguns amidos, como o de aveia (WANG e WHITE, 1994; ELIASSON, 1996).

O amido é o principal constituinte da farinha de mandioca. O teor de amido nas farinhas variou de 75,04 (F₃) a 87,57 (F₀), acima do valor mínimo preconizado pela legislação (mínimo de 70%) (BRASIL, 1998). Não houve diferença significativa para as farinhas elaboradas, no entanto, observa-se que a medida que o CPF M foi adicionado à massa de mandioca, o teor de amido diminuiu significativamente, como apresentado na Tabela 10 (pág.44) e Figura 23.

Dias e Leonel (2006) encontraram entre as farinhas d'água, teor de amido que variou de 81,92% (F4) a 91,56% (F5). Já Cereda e Vilpoux (2003) encontraram em farinhas de mandioca crua, grossa e beiju, percentuais de amido de 88,16 e 88,22%, respectivamente.

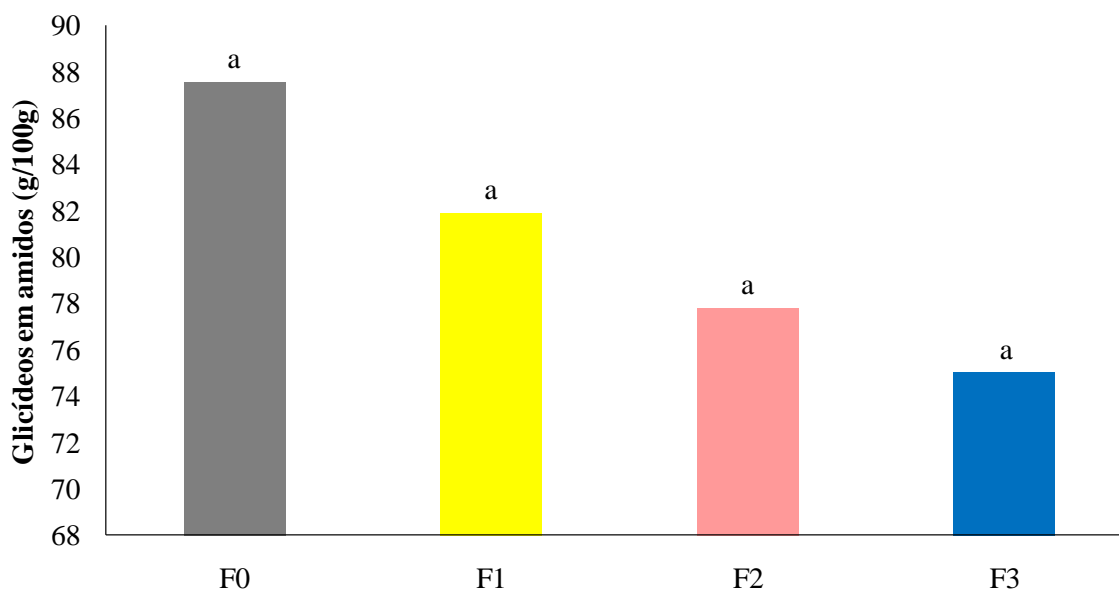


Figura 23. Teor de glicídios em amido das farinhas de mandioca elaboradas F₀ - 0% CPFM; F₁ - 2,5% CPFM; F₂- 5, 0% CPFM; F₃ - 10,0% CPFM.

4.3.6 Fibra solúvel e Fibra insolúvel

As fibras alimentares (FA) são derivadas em especial das paredes celulares de vegetais, e compreendem a celulose, hemicelulose, substâncias pectínicas e hidrocolóides – gomas e mucilagens. Outros componentes considerados como fibra alimentar são a lignina (componente não-carboidrato das paredes celulares), o amido e os oligossacarídeos resistentes. As FA são divididas em duas frações: solúvel com efeitos principalmente na absorção de glicose e lipídeos no intestino delgado; e a insolúvel, vagarosa e incompletamente fermentada e com efeitos mais pronunciados no intestino grosso (FAO, 1997; AACC, 2000).

Sabe-se que as FA são responsáveis pela melhora das funções do intestino grosso por meio da redução do tempo de trânsito, pelo aumento de peso e da frequência das fezes, pela diluição do conteúdo do intestino grosso, pelo fornecimento de substrato fermentável à microbiota, normalmente, presente no intestino. Por conseguinte, as características de fermentabilidade, massa/volume e capacidade de reter água contribuem para a capacidade da fibra de melhorar as funções do intestino grosso. Devido a essas propriedades as fibras previnem o câncer de cólon (CUPPARI, 2007).

As fibras são também importantes, pois apresentam como principal característica a viscosidade, que pode aumentar a excreção de ácidos biliares e promover a diminuição da absorção de lipídeos e glicose, sendo de suma importância para indivíduos diabéticos e os que apresentam dislipidemia (CUPPARI, 2007).

Com base na portaria nº 27 (BRASIL, 1998), do Ministério da Saúde, para um produto pronto, sólido, ser considerado fonte de fibras deve conter no mínimo 3g de fibra/100g do produto. Todas as farinhas elaboradas são, portanto consideradas fontes em fibras.

Em relação ao teor de fibra solúvel a adição de CPFM promoveu aumento desta fração. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as farinhas T₁ e T₂, no entanto, houve diferença significativa ($p < 0,05$) para as demais farinhas. Tabela 10 (pág.44) e Figura 24.

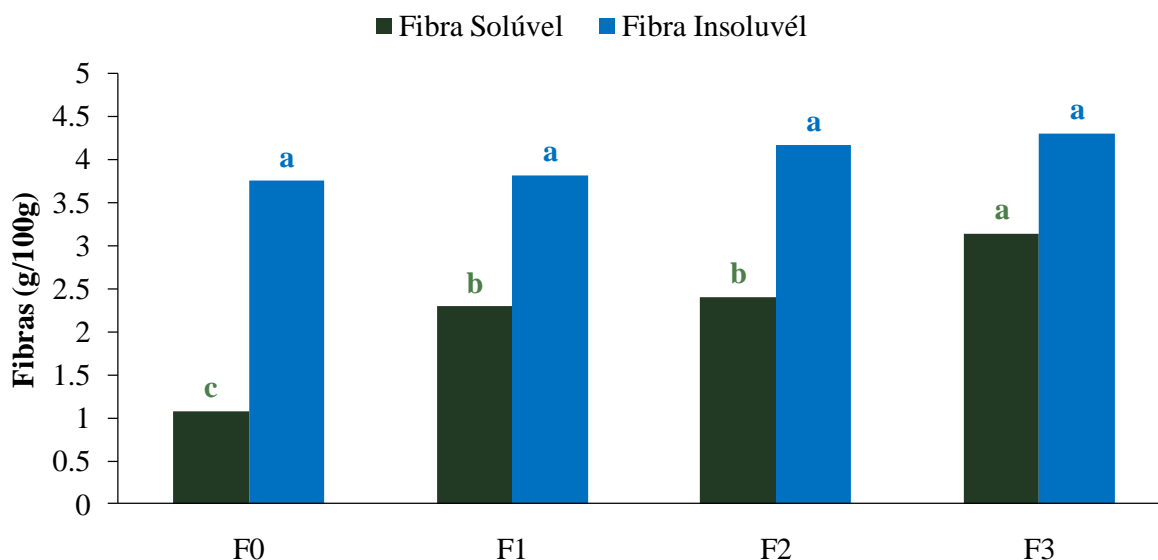


Figura 24. Teor de fibras solúveis e insolúveis das farinhas de mandioca elaboradas F₀ - 0% CPFM; F₁ - 2,5% CPFM; F₂ - 5, 0% CPFM; F₃ - 10,0% CPFM.

A adição de CPFM promoveu um aumento de concentração de fibras insolúveis nas farinhas de mandioca elaboradas, no entanto, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras.

4.3.7 Acidez total titulável

A acidez total titulável representa o somatório das concentrações dos ácidos presentes na amostra. É um importante parâmetro na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício. Geralmente um processo de decomposição do alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera a concentração dos íons de hidrogênio (SÃO PAULO, 2008).

A acidez é um parâmetro químico que pode ser relacionado com as condições de higiene durante o processo. Quando se trata de processamento de matérias-primas pode indicar o processo de fermentação, ou seja, presença de microrganismos contaminantes (CHISTÉ, 2006; DIAS e LEONEL, 2006).

A legislação brasileira estabelece os limites máximos de acidez de 3,0 meq NaOH% em farinhas secas (BRASIL, 1995). As farinhas elaboradas neste estudo encontram-se dentro dos padrões estabelecidos como pode ser visualizado na Tabela 10 (pág.44) e Figura 25.

Chisté et al. (2006) analisaram a qualidade de várias farinhas de mandioca seca e observaram que todas as amostras apresentaram-se acima do padrão exigido pela legislação que é de 3 meq NaOH% para acidez, encontrando-se na faixa de 4,11 a 7,10 % (meq NaOH/100 g).

Cereda e Vilpoux (2003) analisaram farinhas de mandioca coletadas em indústrias dos Estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina e observaram que a acidez das farinhas variou de 2,23 a 3,74 meq NaOH%.

Dias e Leonel (2006) observaram que o nível de acidez nas farinhas de mandioca por elas analisadas, não esteve de acordo com a Portaria 554 de 30 de agosto de 1995 para farinhas analisadas oriundas do vale do Juruá, Acre.

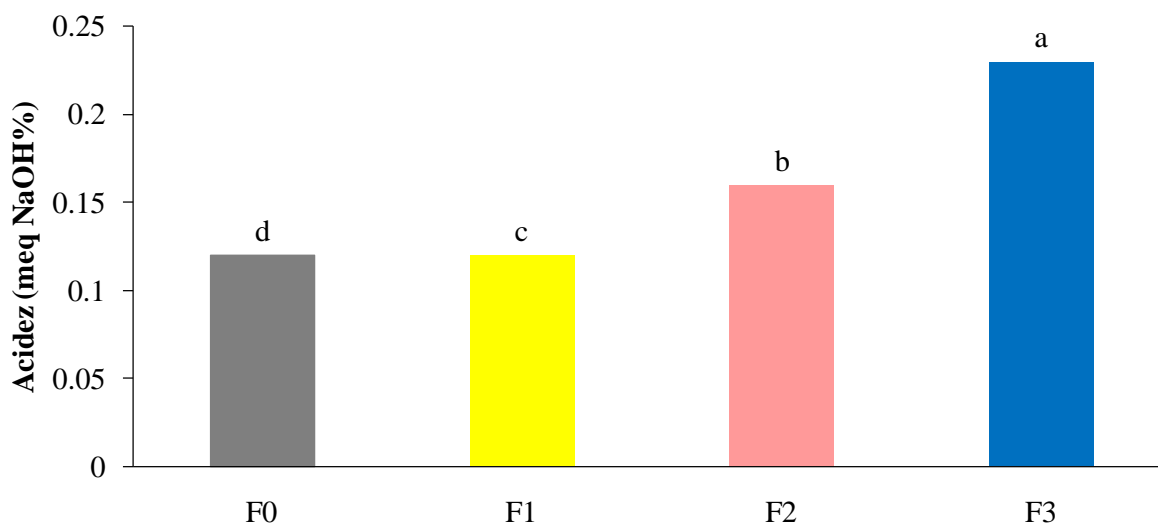


Figura 25. Teor de acidez das farinhas de mandioca elaboradas F₀ - 0% CPFM; F₁ - 2,5% CPFM; F₂ - 5,0% CPFM; F₃ - 10,0% CPFM.

4.4 Cianeto total

Em todas as amostras de farinha de mandioca não foram detectado (n.d.) presença de cianeto, considerando um limite de 10 mg/kg.

Chisté e Cohen (2008) determinaram a concentração de cianeto total presente nas farinhas de mandioca do grupo seca e d'água comercializadas na cidade de Belém, PA, sabendo que os efeitos tóxicos causados pela liberação de cianeto podem ser agudos ou crônicos. Após realização das análises verificou-se que as farinhas de mandioca apresentaram baixa concentração de cianeto total, variando de 7,68 a 20,57 mg HCN/Kg nas farinhas do grupo seca.

Cohen, Oliveira e Chité (2007) analisaram teor de compostos cianogênicos totais presente nas amostras de farinha de mandioca seca, os quais variaram de 7,75 mg HCN/Kg a 20,60 mg HCN/Kg. Para amostras de farinha de mandioca d'água verificou-se que os teores variaram de 3,45 mg HCN/Kg a 12,17 mg HCN/Kg. No caso específico da farinha d'água, segundo os autores, essa diferença também está relacionada, além da variedade da mandioca, a seu processo de obtenção. Há produtores que deixam as raízes de mandioca submersas em água por períodos que variam de 1 a 4 dias. Parte dos compostos cianogênicos se solubiliza na água. Assim, quanto maior o tempo em que as raízes ficam submersas, maior a redução dos compostos cianogênicos nas mesmas.

Segundo Cereda (2003), o processo de fabricação da farinha de mandioca, que consiste basicamente em ralar, prensar, esfregar e secar (torrefação), sob o aspecto da eliminação do cianeto, é efetivo, porque ao ralar coloca-se em contato enzima e substrato nas melhores condições de reação, pH entre 5,5 e 6,0 (pH natural da raiz) e temperatura ambiente. Após as condições ótimas de hidrólise, a prensagem carrega a linamarina que possa ter restado íntegra e a acetona cianoidrina, ambas solúveis em água. Por fim o cianeto livre na forma de HCN é eliminado pelo aquecimento do produto úmido, em forno aberto.

Após estudos da determinação do potencial de intoxicação em ratos, de linamarina extraída de mandioca, realizados por Cereda e Lopes (2003), conclui-se que a DL50 (dose

letal para 50% de ocorrência) oral de linamarina extraída foi $324,86 \pm 1,5$ mg/kg/peso, correspondendo a 35,35 mg de HCN/kg peso. A DL50 aceita pela OMS é de 10 mg/kg de peso, menor que a estabelecida até agora.

Confirmaram-se as informações da literatura de que a linamarina não é cumulativa e de que quando a DL50 não é alcançada, os animais se recuperam. De acordo com Cereda (2003), abaixo da dose letal existe um mecanismo de detoxificação na qual o cianeto é transformado em tiocianato, em presença de enzima rodanase e cisteína, um aminoácido doador de enxofre. O tiocianato formado não é mais tóxico e é eliminado pela urina. Por essa razão, uma forma de saber se a linamarina esteve presente na alimentação e foi metabolizada, é a detecção e dosagem de tiocianato na urina.

Como foi utilizado o CPFM na elaboração das farinhas, é importante conhecer o potencial cianogênico desta parte da maniva. Wobeto et al. (2004) determinaram os teores de cianeto nas folhas e nas FFM de cinco cultivares (Ouro do Vale, Maracanã, Mantiqueira IAC 24-2, IAC 289-70 e Mocotó), a fim de selecionar a cultivar com menores níveis desse antinutriente. Constatou-se que os teores de cianeto nas folhas e FFM variaram de 62,41 a 152,41 e 12,38 a 35,02 mg/100 g de matéria seca.

Ainda de acordo com Wobeto et al. (2004) os níveis de cianeto observados nas cultivares em estudo estão dentro da faixa relatada na literatura, por diferentes autores: 8,1 a 780 mg/100g matéria seca para as folhas frescas (RAVINDRAN e RAVINDRAN, 1988; AWOYINKA et al., 1995; CÂMARA e MADRUGA, 2001) e de 5,3 a 80 mg/100 g matéria seca para as FFM (GÓMEZ e VALDIVIESO, 1985; RAVINDRAN et al., 1987; PADMAJA, 1989; AWOYINKA et al., 1995).

4.5 Análises microbiológicas

De acordo com Farias et al., 2005, a contaminação microbiológica da farinha pode ser decorrente da raiz da mandioca, que é altamente perecível. No entanto, estes microrganismos podem ser facilmente eliminados durante as etapas de produção da farinha. Porém, se não houver no processamento condições higiênico-sanitárias adequadas nos equipamentos, ambiente e pessoal, outros microrganismos podem ser introduzidos, inclusive bactérias indicadoras de contaminação fecal e patógenos.

Oliveira e Rebouças (2008), realizaram um diagnóstico higiênico-sanitário direcionado às unidades de processamento da farinha de mandioca na região Sudoeste da Bahia, visando detectar áreas/condições de risco à saúde pública. A análise dos dados revelou deficiência em 100% das unidades de processamento da farinha de mandioca em todos os requisitos observados, comprovando a necessidade de medidas corretivas.

Com o objetivo de assegurar a saúde dos consumidores a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabeleceu Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos através da Portaria n° 451 (BRASIL, 1997) e através da RDC n° 12 (BRASIL, 2001).

A RDC n° 12 de 2001, estabeleceu os padrões microbiológicos sanitários para farinha e fécula de mandioca, cujos limites para coliformes a 45°C, *Bacillus cereus* e *Salmonella spp.* são de 10^2 NMP g⁻¹, 3×10^3 UFC g⁻¹ e ausência em 25g, respectivamente. Enquanto, a Portaria n° 451, descreve os limites para bolores e leveduras de 10^4 UFC/g.

Todas as amostras de farinha de mandioca elaboradas neste estudo apresentaram excelente qualidade microbiológica, atendendo às legislações brasileiras supracitadas, como apresentado na Tabela 11.

Tabela 11. Análise microbiológica das farinhas de mandioca elaboradas e padrão estabelecido pela legislação

Análises	F ₀	F ₁	F ₂	F ₃	Legislação
Coliformes a 35°C ⁽¹⁾ (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	-
Coliformes a 45°C ⁽¹⁾ (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	<10 ²
Bolores e leveduras ⁽²⁾ (NMP/g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	<10 ⁴
<i>Salmonella</i> ⁽¹⁾ (em 25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
<i>B. Cereus</i> (NMP/g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	<3 x 10 ³

(¹) Resolução RDC 12 (BRASIL, 2001).

(²)BRASIL, Portaria n.º 451, (BRASIL, 1997).

Considera-se a pesquisa de Coliformes Totais um procedimento presuntivo para a detecção de Coliformes Termotolerantes. Uma vez que o resultado para os Totais foi negativo, o resultado para Termotolerantes foi expresso com o mesmo valor < 3 NMP/100g.

Chisté et al. (2006), observaram que as 10 amostras de farinha de mandioca da região de Belém apresentaram-se dentro dos padrões aceitáveis de contaminantes microbiológicos, ou seja, estavam de acordo com a Resolução RDC n° 12 (BRASIL, 2001)..

A presença de coliformes é considerada como indicador de condições de higiene insatisfatórias na produção e/ou manipulação do alimento. O número elevado de coliformes pode não significar contaminação direta com material fecal, mas sim manipulação inadequada, como higiene do manipulador, transporte e acondicionamento inadequados (CHITÉ et al., 2006). Em todas as amostras, a presença de coliformes detectada foi inferior a 3 NMP/g, estando dentro do padrão exigido pela Resolução RDC n° 12 (BRASIL, 2001), que é de 10³ NMP/g para a farinha .

O *Bacillus cereus* é largamente distribuído na natureza, sendo o solo o seu reservatório natural. A contaminação por esses microrganismos constitui, não somente uma importante causa de deterioração, mas também está associada à ocorrência de dois tipos de síndrome, devido à ingestão de alimentos contaminados com cepas patogênicas produtoras de toxinas, uma emética e outra diarréica (FRANCO e LANDGRAF, 2007). No presente estudo todas as amostras apresentaram-se de acordo com a legislação vigente, em todas houve ausência desses microrganismos.

As *Salmonellas sp.* são bactérias gram-negativas, não esporuladas, patogênicas e não fermentadoras de lactose. As infecções causadas por *Salmonella spp.* ocorrem, geralmente, devido ao consumo de alimentos ou água contaminados com células viáveis (ROITMAM et al., 1998). Estudos destacam as bactérias do gênero *Salmonellas* entre os agentes patogênicos mais frequentemente encontrados em surtos de toxinfecção de origem alimentar, tanto em países desenvolvidos, como em países em desenvolvimento (AVILA e GALLO, 1997). Nas amostras em estudo, não foi detectada a presença de *Salmonella*.

A farinha e todos os produtos a base de mandioca são largamente consumidos, em especial pelas populações mais pobres, portanto, devem ser ausentes de fungos e leveduras, pois a intoxicação por micotoxinas pode torna-se um problema de saúde pública.

Todas as amostras de farinha de mandioca elaboradas neste estudo apresentaram ausência de bolores e leveduras, estando de acordo com a Portaria n°451 (BRASIL, 1997)

Eiroa et al. (1975), avaliaram 40 amostras comerciais de farinha de mandioca e encontram níveis altos de contaminação por leveduras (3×10^3 UFC/g). Um número elevado desses microrganismos é sempre indesejado independente de serem patogênicos ou não, pois indica o uso de matéria-prima de qualidade inadequada, falhas higiênicas e más condições de armazenamento (SOUZA et al., 2005).

Souza et al. (2003) avaliaram amostras de farinhas de mandioca comercializadas em feiras livres de João Pessoa, PB, e encontraram níveis de contaminação por fungos variando de $1,0 \times 10^1$ a $5,0 \times 10^2$ UFC, tendo identificado fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, os mais importantes relacionados a produção de micotoxinas.

De acordo com Souza et al. (2005), o consumo de farinha de mandioca já foi relacionado com caso de aflotoxicose aguda, com morte, em Uganda, e com vários casos de hepatite, também com morte, em habitantes das margens dos rios Puris e Juruá – Amazônia.

Obidoa e Obasi (1991), isolaram de farinhas de mandioca, a escopoletina, um composto semelhante à aflotoxina, potente hipotensivo e um grande espasmolítico não específico e tem sido relacionado à neuropatia atáxica tropical, doença comum entre as populações que tem a mandioca como base alimentar.

4.6 Avaliação sensorial

4.6.1 Teste de aceitação

As figuras 26 e 27 mostram o levantamento da frequência de consumo, da aceitação e dos principais produtos de mandioca consumidos pelos participantes da avaliação sensorial das farinhas de mandioca. A Figura 28 apresenta o perfil sócio-demográfico dos consumidores.

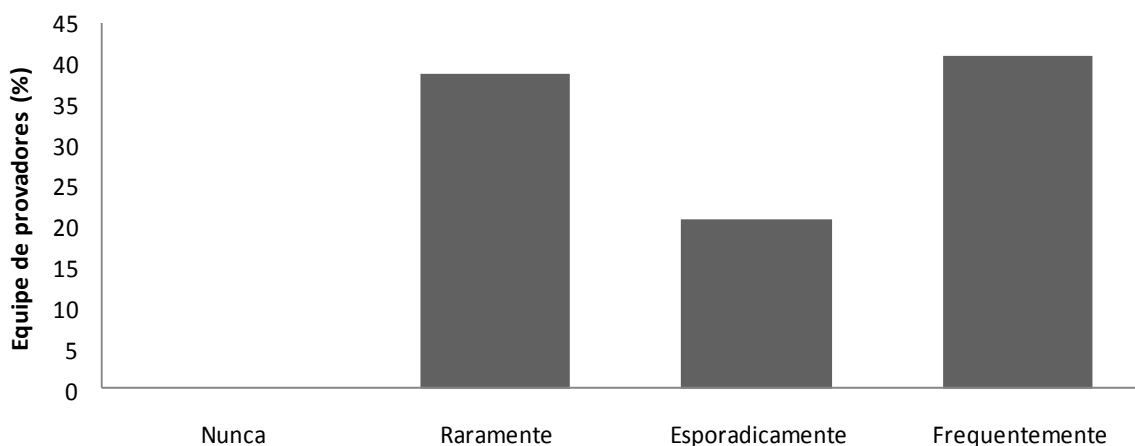


Figura 26. Levantamento da frequência de consumo de produtos de mandioca

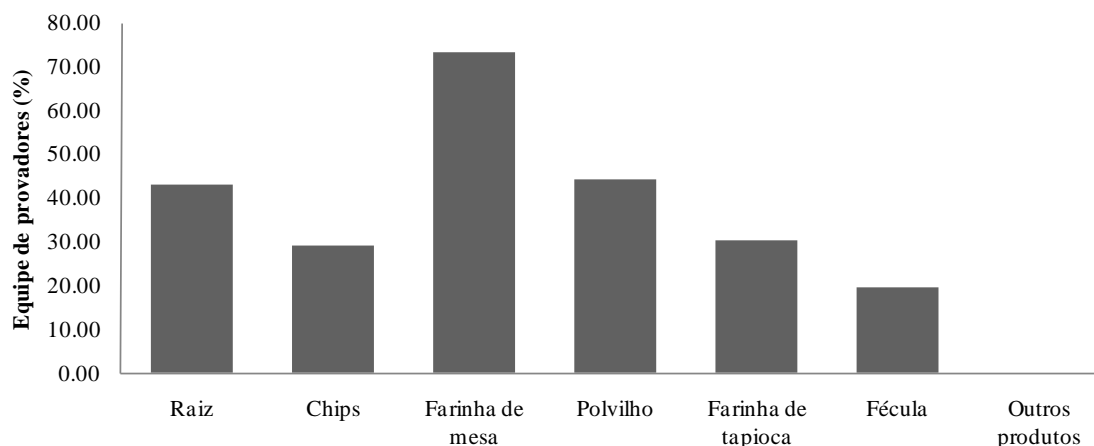


Figura 27. Levantamento dos principais produtos de mandioca consumidos pelos provadores.

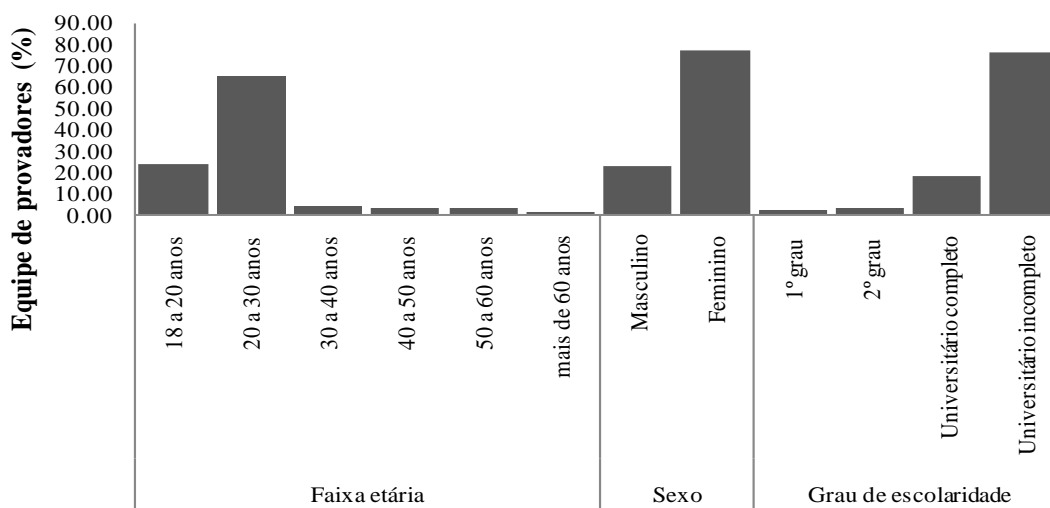


Figura 28. Perfil sócio-demográfico dos participantes da avaliação das farinhas de mandioca.

Dos 93 consumidores que responderam ao questionário de levantamento sobre consumo, frequência de consumo, produtos de mandioca, e outras informações, verificou-se que 77% eram do sexo feminino e 23% do sexo masculino; 2% eram fumantes. 92% dos provadores já consumiram algum produto de mandioca, no entanto 41% consomem frequentemente produtos de mandioca. O produto de mandioca mais indicado como consumido foi a farinha de mesa (73%), seguida pelo polvilho (44%) e pela raiz de mandioca (40%).

Quanto ao perfil sócio-demográfico 64% tinham entre 20 e 30 anos. A maioria dos provadores apresenta nível superior incompleto (71%).

Na Tabela 12 e na Figura 29 são mostradas as médias de impressão global das farinhas de mandioca elaboradas, para os seguintes atributos sensoriais: cor, aroma, sabor, amargor,

textura e nota global. Estas médias foram atribuídas segundo a escala hedônica estruturada com 7 pontos.

Tabela 12. Médias das notas dos provadores para os atributos sensoriais das farinhas de mandioca elaborada.

Atributos	F0 (0% CPFM)	F1 (2,5% CPFM)	F2 (5% CPFM)	F3 (10% CPFM)
Cor	5,18 ^{ab}	5,28 ^a	5,08 ^{ab}	4,83 ^b
Aroma	4,80 ^a	4,68 ^a	4,95 ^a	4,30 ^a
Sabor	4,25 ^{ab}	4,62 ^a	4,00 ^b	3,14 ^c
Amargor	4,10 ^a	4,41 ^a	4,08 ^a	3,02 ^b
Textura	4,57 ^{ab}	4,73 ^a	4,47 ^b	4,41 ^{ab}
Nota global	4,89 ^a	5,15 ^a	4,67 ^a	3,75 ^b

Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey. 7 - gostei muitíssimo, 6 - gostei muito; 5 - gostei regularmente, 4 - nem gostei e nem desgostei, 3 - desgostei regularmente, 2 - desgostei muito, 1 - desgostei muitíssimo

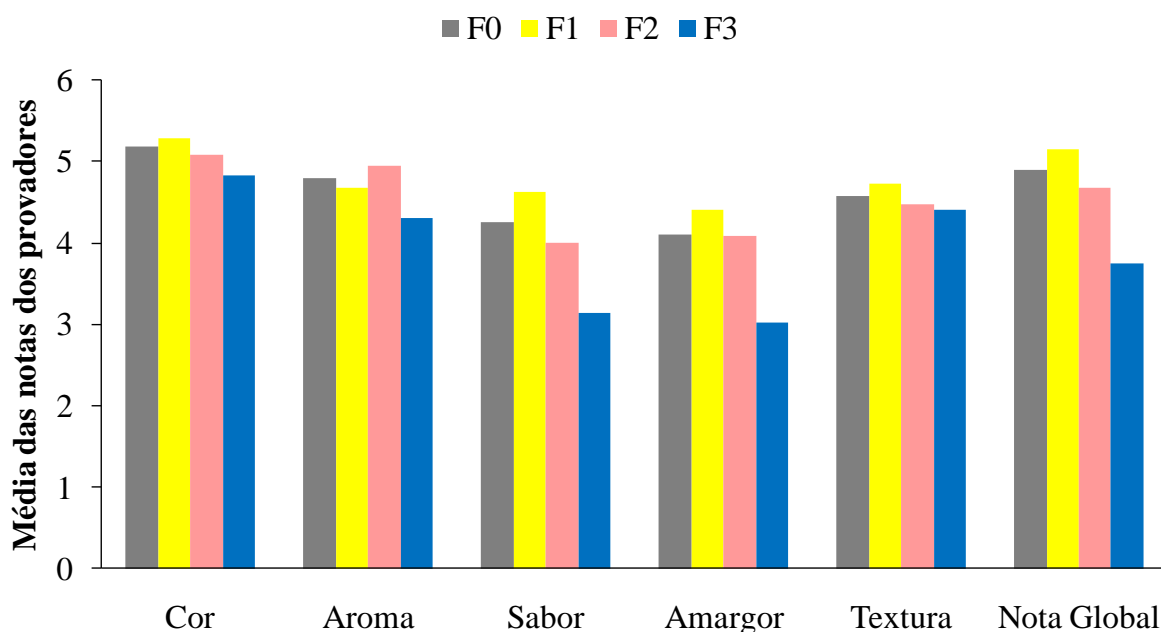


Figura 29. Médias das notas dos provadores para os atributos sensoriais das farinhas.

A farinha de mandioca adicionada com 2,5% de CPFM foi a mais apreciada pelos provadores, não havendo diferença significativa ao nível de 5% de significância para as farinhas com 0% e 5% de adição de CPFM.

As impressões em relação ao atributo cor para as farinhas F₀, F₁ e F₂ estiveram entre “gostei regularmente” a “gostei muito”, enquanto que para a farinha F₃, as impressões variaram de “me é indiferente” a “gostei regularmente”

Pode-se observar que a não houve diferença entre as farinhas para o atributo aroma, as impressões dos provadores variaram de “me é indiferente” a “gostei regularmente”.

O sabor esteve mais agradável para a farinha com 2,5% de CPFM, seguida pelas farinhas com 0% de CPFM, 5% de CPFM e 10% de CPFM.

Segundo Molina (1989), o consumo direto de folhas verdes está fortemente limitado, não só pelo alto teor de fibra, como pela presença, também, de substâncias tóxicas, fatores antinutricionais e pelo sabor. Portanto, a adição de CPFM torna-se uma alternativa.

O sabor amargo teve suas impressões variando nas farinhas de “desgostei regularmente” a “gostei regularmente”, tendo sua percepção aumentada à medida que a adição de CPFM foi realizada.

O sabor amargo advém de uma estrutura molecular complexa, com diversos componentes não bem definidos até o momento, no entanto, é uma característica sensorial reconhecida primariamente por células gustativas, cujo mecanismo de percepção ainda não é bem compreendido (LESSCHAEVE e NOBLE, 2005).

Quanto ao atributo textura, este apresentou impressões variando de “me é indiferente” a “gostei regularmente”.

4.6.2 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

4.6.2.1 Caracterização dos hábitos de consumo dos provadores

Responderam ao questionário de recrutamento 16 pessoas, sendo 15 mulheres e 1 homens. Destes 2 eram alunos de pós-graduação, 13 alunos de graduação em nutrição e 1 funcionário da universidade. A faixa etária predominante foi entre 20-30 anos (69%). Dentre os produtos mais consumidos de mandioca destacam-se a farinha de mesa (56%) e a raiz (43,75%). A frequência de consumo de farinha de mandioca pode ser definida como baixa (50%).

Dentre os que responderam ao questionário, todos foram escolhidos para participar dos testes de pré-seleção. Ao final das etapas de pré-seleção e treinamento, participaram da análise descritiva 8 provadores, 1 homem e 7 mulheres. Entre os provadores, a faixa etária predominante entre 20-30 anos (87,5%). A frequência de consumo de produtos de mandioca, em especial a farinha de mandioca, foi considerada baixa.

4.6.2.2 Pré-seleção dos candidatos

O teste de memória sensorial foi realizado pelos 16 provadores pré-selecionados. O objetivo da realização do teste foi verificar o desempenho dos provadores quanto ao reconhecimento de odores. Todos os participantes identificaram corretamente pelo menos 50% dos aromas.

100% dos provadores foram capazes de reconhecer a solução de cada gosto básico

4.6.2.3 Seleção da equipe final de provadores

Dos 16 provadores que participaram da pré-seleção, apenas 8 provadores demonstraram capacidade de discriminar no mínimo 80% dos atributos. Os que não alcançaram o mínimo foram dispensados.

4.6.2.4 Perfil sensorial das farinhas de mandioca

A Tabela 13 e as Figura 30 apresentam as médias dos escores da análise descritiva quantitativa (ADQ) de atributos sensoriais para as farinhas de mandioca elaboradas F₀ (0% CPFM), F₁ (2,5% CPFM), F₂ (5% CPFM), F₃ (10% CPFM).

Tabela 13. Médias dos descritores sensoriais das farinhas obtidos através da análise descritiva.

Atributos	F ₀ (0% CPFM)	F ₁ (2,5% CPFM)	F ₂ (5% CPFM)	F ₃ (10% CPFM)
Cor esbranquiçada	0,58 ^a	0,55 ^a	0,51 ^a	0,34 ^a
Cor esverdeada	0,30 ^c	2,59 ^b	2,46 ^b	8,06 ^a
Sabor de mandioca	3,66 ^a	5,49 ^b	1,31 ^c	1,43 ^c
Sabor amargo	1,31 ^b	5,09 ^a	6,93 ^c	8,28 ^c
Sabor característico	7,64 ^c	8,43 ^b	3,79 ^{ab}	1,70 ^a
Granulosidade	7,34 ^a	6,66 ^a	4,81 ^b	7,00 ^c
Textura crua	1,09 ^a	4,35 ^a	0,44 ^b	0,91 ^a
Odor de folha	0,33 ^b	0,44 ^a	9,03 ^b	8,78 ^b
Odor de mandioca	1,76 ^b	4,05 ^b	0,70 ^a	0,85 ^a

Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

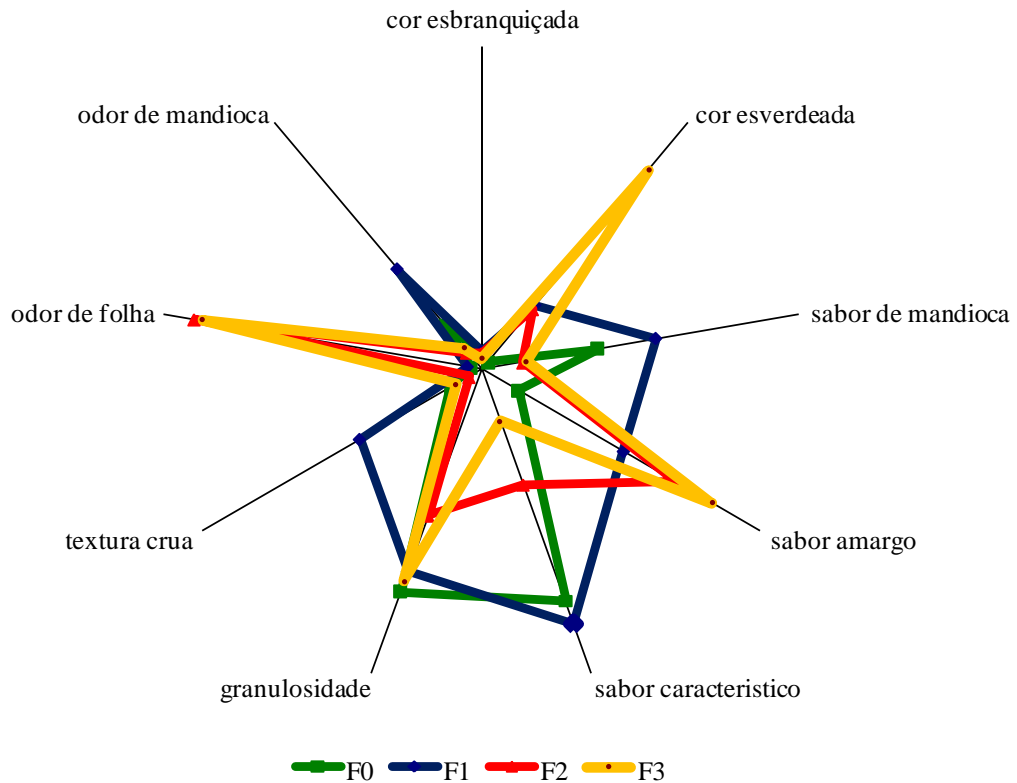


Figura 30. Configuração da análise descrita quantitativa (ADQ) para cor, sabor, textura e odor das farinhas de mandioca elaboradas. F₀ (0% CPFM), F₁ (2,5% CPFM), F₂ (5% CPFM), F₃ (10% CPFM).

Verifica-se pela Tabela 13 e pela Figura 21 que a farinha de mandioca mais esbranquiçada foi a F₀ (sem adição de CPFM), enquanto a farinha de mandioca mais esverdeada foi a adicionada com 10% de CPFM (F₃).

Em relação ao sabor (Tabela 13 e Figura 21), nota-se que o sabor de mandioca foi menos intenso nas farinhas F₂ e F₃. Quanto ao sabor amargo, este foi mais intenso nas amostras com maior proporção de CPFM (F₃, F₂, F₁ e F₀). O sabor característico de farinha de mandioca foi mais intenso nas farinhas F₁, F₀, F₂ e F₃, respectivamente.

Para o atributo textura, a granulosidade foi mais intensa na amostra F₀, enquanto a textura crua foi menos intensa na farinha F₂.

O odor de folha foi mais intenso nas amostras com maior conteúdo de CPFM, tendo sido mais percebida na farinha com 5% de CPFM. Quanto o odor de mandioca, este foi mais percebido nas amostras F₁, F₀, F₃ e F₂, respectivamente.

A amostra com melhor qualidade sensorial foi à farinha com 2,5% de CPFM (Tabela 12). Relaciona-se esta preferência a maior percepção pelos provadores para os atributos sabor de mandioca, sabor característico e odor de mandioca, e menor percepção do odor de folha e sabor amargo (Tabela 13).

A farinha F₃ (10% de CPFM) foi a que menos agradou aos provadores (Tabela 12), pois apresentou cor excessivamente esverdeada, sabor amargo e odor de folha (Tabela 13).

5 CONCLUSÕES

- Acidificação da solução extratora torna-se necessária para a obtenção do CPMF.
- Dos seis pH's analisados, o pH igual a 2,5, foi onde obteve-se uma maior concentração de proteínas precipitadas, 66,67% da fração protéica do extrato aquoso, e o teor de proteína da mesma foi de 34,94% podendo ser este o ponto isoelétrico da folha de mandioca cv Saracura.
- O estudo das folhas de mandioca, uma cultura nativa de grande importância social para o Brasil, é de suma importância em virtude do alto teor de proteínas oferecido.
- A adição de CPMF à farinha de mandioca proporcionou significativo aumento no teor protéico, melhorando assim o perfil nutricional deste alimento, no entanto, por ser uma proteína de origem vegetal, apresenta alguns aminoácidos limitantes: histidina e aminoácidos sulfurados.
- As farinhas suplementadas com CPMF apresentaram além do maior teor protéico, superiores quantidades de fibras solúveis, fibras insolúveis, lipídeos, cinzas e acidez.
- Todas as farinhas elaboradas apresentaram excelente qualidade microbiológica, atendendo a legislação brasileira vigente.
- Sensorialmente, a adição de 2,5% de CPMF foi à preferida pelos provadores, devido ao superior sabor e odor de mandioca, e a menor sensação de amargor. Não houve diferença significativa para a farinha controle (sem adição de CPMF), a com 2,5% de CPMF e com 5,0% de CPMF.
- A aplicação do CPMF foi efetiva por aumentar a qualidade protéica da farinha de mandioca, um produto essencialmente energético e base da alimentação dos brasileiros, em especial do norte e nordeste, onde a incidência de desnutrição protéica é maior.
- Estudos no que tange o processo de extração e aplicação do CPMF para o desenvolvimento de novos produtos devem ser realizados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the AACC. 10th ed. St. Paul, 2000.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists. Methods: 934.01, 923.03, 945.38, 942.15, 973.41 Ed. W. Horwitz, 18th ed. V.II, AOAC International, Gaithersburg, 2005.

ANGELIS, R.C. **Valor nutricional das proteínas; métodos de avaliação.** Cadernos de Nutrição, São Paulo, v.10, p.8-29, 1995.

ALMEIDA, K.O.L.; SANTANA, J.C.C.; SOUZA, R.R. Análise sensorial de alimentos funcionais enriquecidos com folha de *Manihot spp.* **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 127-131, set. 2003.

ARAÚJO, Júlio A. M. **Química de Alimentos: teoria e prática**, 2. ed., Viçosa: UFV, 1999. 416p.

ARIENTE, M.; GIULIANI, A.C.; FARAH, O.E.; PIZZINATTO, N.K; SPERS, E.E. Competitividade na indústria de fécula de mandioca: estudo exploratório. **Revista da FAE**, Curitiba, v. 8, n. 2, p. 53-60, jul./dez. 2005.

AVILA, C.R.; GALLO, C.R. Pesquisa de Salmonella spp. em Leite Cru, Leite Pasteurizado Tipo C e Queijo “Minas Frescal” Comercializados no Município de Piracicaba- SP. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 1, n. 53, p. 159-163, Jan/Abr, 1996.

BEHRENS, J. H. **Avaliação do perfil sensorial e aceitação de vinhos brancos varietais Riesling, Gewürztraminer e Chardonnay produzidos no Brasil.** 1998. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1998. 174p.

BORGES, M.F.; FUKUDA, W.M.G.; ROSSETI, A.G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 37, n. 11, p. 1559-1565, nov. 2002.

BRANDÃO, T.B.C. **Caracterização da qualidade da farinha de mandioca produzida no agreste alagoano.** 2007. Dissertação (mestrado) - Faculdade de nutrição da Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2007. 89p.

BRANDÃO, C.T. e BRANDÃO, R.F. **Alternativas alimentares.** CNBB, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. D.O.U.- *Diário Oficial da União*; Brasília, DF, 18 set. 2003a, Seção 1, Página 14.

_____. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria nº 554 de 30 de agosto de 1995. Aprovar Norma de Identidade, Qualidade, Acondicionamento, Armazenamento e Transporte da Farinha de Mandioca, para fins de comercialização. *Diário Oficial União*; Brasília, DF, 1 Set., Seção 1. Brasília, 01 set.1995.

_____. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997: Aprova o regulamento técnico princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para Alimentos e seus Anexos I, II e III. *Diário Oficial da União*; Brasília, DF, 22 set 1997.

_____. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998, Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria. *Diário Oficial da União*; Brasília, DF, 16 jan 1998.

_____. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001: Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 10 jan 2001.

_____. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC nº 344 de 13 de dezembro de 2002. Aprovar o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 18 dez 2002.

_____. . Ministério da Saúde. ANVISA. RDC n.º 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 23 de set. 2005.

CAMARA, G.M.S.; GODOY, O.P.; FILHO J.M.; LIMA, U.A. 1982. **Mandioca – produção, pré-processamento e transformação agroindustrial**. 1982. p. 1.

CARDOSO, C.E.L. **Competitividade e inovação tecnológica na cadeia agroindustrial de fécula de mandioca no Brasil**. 2003. Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2003. 188p.

CARDOSO, E.M.R.; MÜLLER, A. A.; SANTOS, A.I.M.; HOMMA, A. K.O.; ALVES, R. N.B.; Processamento e Comercialização de produtos derivados de mandioca no nordeste paraense. **EMBRAPA Amazônia Oriental**. Documentos nº 102 – 28p. Belém-PA. Junho 2001.

CARVALHO, L.J.C.B. Biodiversidade e biotecnologia em mandioca. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA. **Anais...** Campo Grande: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. Não paginado.

CÂMARA-CASCUDO, L. **História da Alimentação no Brasil**. 3. ed. São Paulo: Global, 2004. 254p

CENI, G.C; COLET, R.; PERUZZOLO, M.; WITSCHINSKI, F.; TOMICKI, L.; BARRIQUELLO, A.L.; VALDUGA, E. Avaliação de componentes nutricionais de cultivares de mandioca. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 107-111, jan./mar. 2009.

CEREDA, M. P.; **Processamento da Mandioca como mecanismo de detoxificação**. In Cd-rom. Série: Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas. V.3, cap.3 – Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas. Fundação Cargill. 2003.

CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F. Farinhas e derivados. In:_____. **Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. v. 3, p. 577-620.

CEREDA, M. P.; LOPES, A. M. In Cd-rom. **Determinação do potencial de intoxicação em ratos, de linamarina extraída de mandioca**. Anais do V SLACA, Campinas-SP, 2003.

CFN – Conselho Federal de Nutricionistas. **Posicionamento do CFN quanto à multimistura**. Brasília: [s.n], 1996.

- CHAVES, J.G. Extrato protéico das folhas de mandioca. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 13, n. 145, p. 47-52, jan. 1987.
- CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; MATHIAS, E. A.; RAMOS JÚNIOR, A. G. A. Qualidade da farinha de mandioca do grupo seca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 861-864, dez. 2006.
- CLEMENTE, E. Heat stability of soluble and ionically bound peroxidase from orange. **Revista Unimar**. Maringá, v.17, n.3, p.401-408, Oct. 1995.
- CLEMENTE, E.; PASTORE, G.M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 32, p. 167-171, 1998.
- CLEMENTE, E. Isolamento, purificação e termoestabilidade da isoperoxidase do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.16, n. 1, p.1-5, 1996.
- COHEN, K.O; OLIVEIRA, S.S. e CHITÉ, R.C. Quantificação de teores de compostos cianogênicos totais em produtos elaborados com raízes de mandioca. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2007. 23p.
- CONCEIÇÃO, A. J. **A mandioca**. Cruz das Almas: UFBA/Embrapa CNPMF/BNB/Brascan Nordeste, 1983. 823 p.
- CONCEIÇÃO, A. J. **A mandioca**. São Paulo: Nobel, 1987. 381 p.
- CORRÊA, A. D. **Farinha de folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz cv. Baiana)**: efeito de processamento sobre alguns nutrientes e antinutrientes. 2000. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000. 108 p.
- CORRÊA, A. D.; SANTOS, S. R.; ABREU, C. M. P.; JOKL, L.; SANTOS, C.D. Remoção de polifenóis da farinha de folhas de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 159-164, abr./jun. 2004.
- COUTINHO, J.G.; GENTIL, P.C.; TORAL, N. Malnutrition and obesity in Brazil: dealing with the problem through a unified nutritional agenda. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24 Sup. 2, p. 332-340, Jul. 2008.
- COOKE, R.D. An Enzymatic Assay for the Total Cyanide Content of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, USA v.29, n.1, p. 345-352, 1978.
- CUPPARI, L. **Guia de medicina ambulatorial e hospitalar: nutrição clínica no adulto**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2007, p. 288-299.
- DAMASIO, M. H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**: Valencia, v. 31, n. 2, p. 165-178. 1991.
- DANTAS-BARROS, A.M. 1984. **Variação de nitrogênio, aminoácidos, fatores antinutricionais e digestibilidade in vitro em leguminosas, durante fases de desenvolvimento e nos concentrados protéicos de folhas**. Exame de Qualificação (Mestre em Bioquímica) – Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 1984. 135 p.
- DUTCOSKY, S. D. Análise Sensorial de Alimentos. Curitiba: Champagnat, 1996. 123 p.
- DIAS, L.T.; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 692-700, jul./ago. 2006.

EGGUM, B.O. The protein quality of cassava leaves. **British Journal of Nutrition**, London, v. 24, p. 761-768, March 1970.

EL-DASH, A.; MAZZARI, M.R., GERMANI R. **Tecnologia de Farinhas Mistas – Uso de farinha mista de trigo e mandioca na produção de pães**. v. 1. p.9-23, Embrapa. 1994.

ELIASSON, A.C. **Carbohydrates in food**. New York : Marcel Dekker, 1996. 561p.

EMATER. Processamento artesanal da fabricação da farinha de mandioca. 2000. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/site_emater/Serv_Prod/Livraria/Agroind/>. Acesso em 5 jun. 2010.

EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL. Cultivo da Mandioca para o Estado do Pará - Clima. Disponível em: <<http://http://www.cnpmf.embrapa.br>>. Acesso em: 30 maio 2010.

EIROA, M.N.U.; LEITÃO, R.E.F.; VITTI, P. Caracterização microbiológica de farinhas e amido. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Amidos**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 459-473, jan. 1975.

ESSERS, A.J.A.; BOSVELD, M.; GRIFT, R.M.V.; VORAGEN, A.G.J. 1993. Studies on the quantification of specific cyanogens in cassava products and introduction of a new chromogen. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, USA, v. 63, n. 1, p. 287-296.

FAO. Food and Agriculture Organization. Energy and Protein Requirements. FAO Nutrition Meetings Report Series 724, and WHO Technical Report Series, 724. 1985.

_____. Year book production. v. 51. 1997

_____. A review of cassava in Latin América and the Caribbean with countries: case studies on Brazil and Colombia. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/007/y5271e/y5271e07.htm>>. Acesso em: 30 maio 2010.

_____. World Health Organization. **International conference on nutrition: Final report of the conference 1992**; Rome: FAO/WHO; 1992. Disponível em: <<http://www.who.int/nutrition/publications/policies/en/index.html>>. Acesso em: 2 fevereiro 2011.

FAOSTAT. Faostat database. Disponível em <<http://www.faostat.org/>>. Acesso em 2 fevereiro de 2011.

FASUYI, O. A.; ALETOR, V. A. Varietal composition and functional properties of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) leaf meal and leaf protein concentrates. **Pakistan Journal of Nutrition**, Faisalabad, v. 1, n. 1, p. 43-49, Jan. 2005.

FERRI, P. **Extração de proteínas de folhas de mandioca para obtenção do concentrado protéico**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel. 2006. 96p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2007. 182p.

FUCKNER, M; ZAWADZKI, J. CASAGRANDE, A. **Importância de cascas, talos e folhas na alimentação**. Curitiba: EMATER, 1996. 50p

GARCIA-AMOEDO, L. H.; ALMEIDA-MURDIAN, L. B. Comparação de metodologias para a determinação de umidade em Geléia Real. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p.676-679, jul. 2002.

- GARRUTI, D. S. **Composição de voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju**. 218 p. 2001. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2001.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Part. 2. The technology 2ed. Edington: Exegetos, 1996. 1361p.
- GÓMEZ, G.; VALDIVIESO, M. Cassava foliage: chemical composition, cyanide content and effect of drying on cyanide elimination. **Journal of the Science Food and Agricultural**, Chichester, v. 36, n. 6, p. 433-441, June 1985.
- GIDAMIS, A.B.; O'BRIEN, G.M.; POULTER, N.H. Cassava detoxification of traditional Tanzanian cassava foods. **International Journal Food Science Technology**, Oxford, v.28, n.2, p.211-218, April, 1993.
- GUERROUÉ, J.L; DOUILLARD, R.; CEREDA, M.P.; CHIARELLO, M.D. As proteínas de folhas de mandioca: aspectos fisiológicos, nutricionais e importância tecnológica. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 14, n. 2, p. 133-148, jul./dez. 1996
- HEINEMANN, R. B.; COSTA, N.M.B.; CRUZ, R.; PIROZI, M.R. Valor nutricional de farinha de trigo combinada com concentrado protéico de folha de mandioca. **Revista de Nutrição de Campinas**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 51-57, jul./set. 1998.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamento familiar (POF) 2002/2003**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 01 jun. 2010.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal (PAM)**. v. 32. Rio de Janeiro: 2005.(paginas)
- IGLESIAS, C., MAYER, J.A.L. CHÁVEZ, Y.; CALLE F.; Genetic potential and stability of carotene content in cassava roots. **Euphytica**. v. 94, p. 367-373, 1997.
- IGUTI, A.M. **Proteínas**. In: RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Blucher, 2007. p.94-107
- JACOBS, H. DELCOUR, J.A. Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 46, n. 8, p. 2895–2905, Jul. 1998.
- LAJOLO, F. M.; SANTOS, A. C.; WILSON, E. D. Proteínas e aminoácidos. In: OLIVEIRA, J.E.D.; SANTOS, A.C.; WILSON, E.D. **Nutrição básica**, cap. 4, p. 2965, São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos, 1982.
- LEMOS, L. B. et al. Características de cozimento e hidratação de grãos de genótipos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentação e Nutrição**, v. 7, p. 47-57, 1996.
- LEONEL M. **Desenvolvimento de produtos funcionais á base de mandioca**. Disponível em <<http://www.cerat.unesp.br/compendio/palestras/palestra8.pdf/>>. Acesso 1 de jun. 2010.
- LESSCHAEVE, I.; NOBLE, A. C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **The American Journal of Clinic Nutrition**, v.81, p. 330S-335S, 2005.
- LIMA, U. de A. **Manual técnico de beneficiamento e industrialização da mandioca**. (Série Tecnologia Agroindustrial – Programa Adequação, 2), São Paulo: Secretaria de Ciência e Tecnologia, 1982. 56 p.

- LIMA, F. E. L.; MENEZES, T. N.; TAVARES, M. P.; SZARFARC, S. C.; FISBERG, R. M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v.13, n.2, p.73-80, 2000.
- LORENZI, J. O.. **Mandioca**. (Boletim Técnico, 245), 1. ed. Campinas, CATI, 2003. 116p.
- LOPES, A.M. **Avaliação da dose letal (DL50) oral e efeitos metabólicos da linamarina extraída de mandioca, em ratos**. 2001. Tese (Doutorado em Agronomia em Energia na Agricultura). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001. 85p.
- MADRUGA, M. S.; CÂMARA, F. S. The chemical composition of multimistura as a food supplement. **Food Chemistry**, Oxford, v. 68, n. 1, p. 41-44, Jan. 2000.
- MACIEL, H.P.F.; GOUVÊA, C.M.C.P; PASTORE, G.M. Obtenção de nova fonte de peroxidase de folha de *copaifera langsdorffii desf.* com alta atividade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.4, p.735-739, out.-dez. 2006.
- MEDEIROS, R.M.L. **Processamento da Biomassa de Aguapé *Eichhornia crassipes* e sua Utilização como Suplemento Protéico em ração de Frango de Corte**. Seropédica,RJ. Exame de Qualificação (Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia Química –UFRRJ, 1999.
- METRI, A.C.; BION, F.M.; OLIVEIRA, S.R.P.; LOPES, S.M.L. Cassava flour enriched with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein, in association with beans and rice, in the diet of growing rats. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n.1, p.73-81, jan./mar., 2003.
- MODESTI, C.F. **Obtenção e caracterização de concentrado protéico de folhas de mandioca submetido a diferentes tratamentos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e bioquímica) Universidade Federal de Lavras, 2006. 73p.
- MODESTI, C.F.; CORRÊA, A.D.; OLIVEIRA, E.D.; ABREU, C.M.P.; SANTOS, C.D. Caracterização de concentrado protéico de folhas de mandioca obtido por precipitação com calor e ácido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.3, p. 464-469, jul.-set. 2007.
- MOLINA, C.R. **Caracterização bioquímica e nutricional de concentrado protéico de folhas de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) obtido por ultrafiltração**. 1989. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989. 199 p.
- NASSA, N.M.A. Mandioca. **Ciência hoje**. Rio de Janeiro. v. 39, n. 231, p. 30-39, out. 2006.
- NGUDI, D.D.; KUO, Y.H.; LAMBEIN, F. Cassava cyanogens and free amino acids in raw and cooked leaves. **Food and Chemical Toxicology**, Elmsford, v. 41, p. 1193-1197, Aug. 2003.
- OBIDOIA, O.; OBASI, S.C. Coumarin compounds in cassava diets: 2 health implications of scopoletin in gari. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 41, n. 3, p. 283-289, Jan. 1991.
- OLIVEIRA, A.R.G . **Avaliação e estudo da retenção de carotenóides totais e beta-caroteno em mandioca amarela mansa e brava**. 2006. Dissertação (Mestre em ciência e tecnologia de alimentos - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006. 62 p.
- OLIVEIRA, L.L.; REBOUÇAS, T. N. H. Profile of hygienicsanitary units of processing of cassava flour (*Manihot esculenta Crantz*) in the Southwest region of Bahia. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.4, p. 393-399, out./dez. 2008.

- OLIVEIRA, D.A.G.; SALGADO, J.M. Análise química de misturas à base de farinhas. de arroz, mandioca e banana suplementadas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 10, n.1. p.79-93. 1999
- ORTEGA-FLORES, C.I.; COSTA, M.A.I.; CEREDA, M. P.; PENTEADO, M. V. C. Avaliação da qualidade protéica da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 47-59, jun. 2003.
- PADMAJA, G. Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, London, v. 37, n. 3, p. 712-716, May/June 1989.
- PAIVA, F.F.A. Controle de qualidade da farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) produzida na região metropolitana de Fortaleza. 1991. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1991. 216f.
- PEREIRA, B.L.B.; LEONEL, M. Análise do teor de proteína em produtos comerciais à base de mandioca. In: VIII JORNADA DE NUTRIÇÃO DA UNESP DE BOTUCATU. 2008,. **Anais...** Botucatu: Instituto de Biociências da UNESP, São Paulo, 2008.
- PEREIRA, M.E.C.; SILVA, A.S.; BISPO, A.S.R.; SANTOS, D.B.; SANTOS, S.B.; SANTOS, V.J. Amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, dez. 2006.
- PEREZ, P. **Bancos de germoplasma garantem futuro da cultura: entrevista com Nivaldo Peroni.** Projeto Mandioca Brasileira. Disponível em: <<http://www.abam.com.br/not.php?id=80>>. Acesso em: 11 mai. 2010.
- PIRIE, N. W. **Leaf protein and its By-products on human and animal nutrition.** 2. ed. London: Cambridge University Press, 1987. 158p.
- RAMASWAMAMY, H. S.; VOORT, F. R. van de; GHAZALA, S. An analysis of TDT and Arrhenius methods for handling process and kinetic data. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, p. 1322-1326, Sept. 1989.
- REYNOSO-CAMACHO, R.; MEJIA, E.G.; LOARCA-PINA, G. Purification and acute toxicity of a lectin extracted from therapy bean (*Phaseolus acutifolius*). **Food and chemical toxicology**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 21-27, Jan. 2003.
- RIBEIRO, E. P. e SERAVALLI, E. A. G. **Proteínas. Química de alimentos.** 2. ed. , p. 85, São Paulo: Blucher 2007.
- ROGERS, D. J. e MILNER, M. Amino acid profile of manioc leaf protein in relation to nutritive value. **Society for Economic Botany**, v. 17, p. 211-216, Oct. 1963.
- ROLING, M.S.; MOURA, V.M.M.; CLEMENTE, E. Termoestabilidade da peroxidase extraída da folha de repolho. **Acta Scientiarum**, v. 22, n.5, p.1157-1160, jun. 2000.
- ROITMAM,I.; TRAVASSOS, L.R; AZEVEDO; J.L. **Tratado de Microbiologia**, v1. Ed.Manole LTDA, 1998.
- SAGRILO, E.; VIDIGAL FILHO, P. S.; PEQUENO, M. G.; SCAPIM, C. A.; VIDIGAL, M. C. G.; DINIZ, S. P. S. S.; MODESTO, E. C.; KVITSCHAL, M.V. Effect of harvest period on the quality of storage roots and protein content on the leaves in five cassava cultivars (*Manihot esculenta* Crantz). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 46, n. 2, p. 295-305, Apr./June 2003.

SALGADO, J. S.; SANTOS, A. C. Estudo do concentrado protéico de folhas de mandioca, obtenção, análise química e suplementação com aminoácidos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 36, n. 3, p. 483-494, set. 1986.

SANT'ANA; DOMENE, S.M. Teores de glicosídeos cianogênicos em derivados de mandioca determinados por protocolo adaptado ao laboratório de micronutrientes – IC PUC-CAMPINAS. In: XIII ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA PUC-CAMPINAS. 2008, Campinas. **Anais...PUC Campinas**, 2008.

SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020

SEBRAE. **Estudo de mercado sobre a mandioca - Relatório completo. 2008**. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/setor/mandiocultura/.../biblioteca-on-line>>. Acesso em: 30 de maio 2010.

SEBRAE. **Manual de referência para casas de farinha. 2006**. Disponível em: <<http://www.al.sebrae.com.br/>>. Acesso em 6 jun. 2010.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SOUZA, E., L.; SOUSA, C.P.; LIMA, E.O.; FREIRE, K.R.L. Isolamento e identificação de fungos filamentosos em farinha de mandioca e fubá de milho comercializados em feiras livres da cidade de João Pessoa, PB. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 109, p. 34-39, jun. 2003.

SOUZA, J.M.L.; ALVARES, V.S.; LEITE, F.M.N.; REIS, F.S; FELISBERTO, F.A.V. Caracterização físico-química de farinhas oriundas de variedades de mandioca utilizadas no vale do Juruá, Acre. **Acta Amazonica**, v.28, n.4, p.761-66, jun. 2008.

SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P; FUKUDA, W.M.G. **Processamento e utilização da mandioca**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, DF, 2005. 547p.

SILVA, H.A. **Mandioca, a Rainha do Brasil. Ascensão e queda da Manihot esculenta em São Paulo**. 2008. Dissertação (mestrado) – Faculdade de História da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008. 128p.

SILVA, J.L. **Obtenção de concentrado protéico de folhas e parte área da mandioca**. 2007. Dissertação (Mestre em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal do Paraná, Cascavel, 2007. 91 p.

SILVA, M.R., PEREIRA, S.M.A.A. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista de Nutrição**, Campinas v. 13, n. 1, p.3-9, jan./abr. 2000.

SILVA, T.P.L.; CABELLO, C. **Características viscográficas e concentração de amido resistente em amidos de quatro variedades de mandioca**. Disponível em <<http://www.cerat.unesp.br/revistarat/volume3/artigos/92%20Tania%20priscila.pdf>>. Acesso em 6 jun. 2010.

SIVIERO, C.I.A.; RAIMUNDO, C.F.E.; LESSA, S.; DELUNARDO, T.A.; PARDINAS, O.B. **Farinha mista de mandioca com castanha-do-brasil: uma alternativa agroecológica para a reserva extrativista**. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL. 2008, Rio Branco. **Anais...** Acre: Sociedade brasileira de economia, administração e sociologia rural, 2008. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/815.pdf/>>. Acesso em: 3 fev. 2011.

- STONE, H. et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology: Chicago*, v. 28, n. 11, p. 24-34. 1974
- STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory evaluation practices. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1992. 308 p.
- SUFRAMA (Superintendência da Zona Franca de Manaus). Potencialidades Regionais Estudos de Viabilidade Econômica – Amido mandioca. **Sumário executivo**. 2003. 12p.
- STUPAK, M.; VANDERSHUREN, H.; GRUISSEM, W.; ZHANG, P. Biotechnological approaches to cassava protein improvement. **Trends in food Science e Technology**, St Joseph, v. 17, nº 12, p. 634-641, Dec. 2006.
- TANGKA, J.K. Analysis of the thermal energy requirements for the extraction of leaf protein concentrate from some green plants. **Biosystems Engineering**, San Diego, v. 86, n. 4, p. 473-479, Dec. 2003.
- TASHIMA, A.K. **Estudos da precipitação isoelétrica da insulina suína em soluções aquosas com dióxido de carbono**. 2007. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2007, 288 p.
- TERNES, M. **Fisiologia da planta**. In: CEREDA, M. P. (coord.). Agricultura: tuberosas amiláceas latino-americanas (Série: culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, São Paulo: Fundação Cargill, 2002, 540p.
- TOPPING, D.L. CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological Reviews, USA**, v. 81, n.3, p. 1031- 1064, Jul. 2001.
- TUMA, R.B.; YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; MARQUES, H.O.L Impacto da farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato no nível de hemoglobina de pré-escolares. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n.1, p. 29-39, jan./mar. 2003.
- TUPYNAMBA, M. L. V. e VIEIRA, E. C. Isolation of cassava leaf protein and determination of its nutritive value. **Nutrition Reports International** , v. 19, p. 249-259, 1979.
- VILHENA, M.O.; SILVA, M.C. **Aproveitamento integral de alimentos orgânicos: arte culinária verde**. In: II Jornada Nacional da Produção Científica em Educação Profissional e Tecnológica São Luís/MA. Universidade Tecnológica Federal do Paraná; Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2007. Disponível em: <http://www.pessoal.utfpr.edu.br/macloviasilva/arquivos/arte_culinaria_verde.pdf>. Acesso em: 2 fev. 2011.
- WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and properties of amylose, amylopectin, and intermediate materials of oat starches. **Cereal Chemistry**, v.71, n.3, p.263-268, 1994.
- WAITZBERG, D.N. **Dieta, nutrição e câncer**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2004.
- WOBETO, C. **Nutrientes e antinutrientes da farinha de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em três idades da planta**. 2003. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2003. 82 p.
- WOBETO, C.; CORRÊA, A.D.; ABREU, C.M.P.; SANTOS, C.D. Cianeto na farinha e folhas de mandioca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1115-1118, 2004.

