



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

**CARLA ROSANE PAZ ARRUDA TEO**

**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, FUNCIONAIS E  
NUTRICIONAIS E APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DE  
CONCENTRADO PROTÉICO DE FOLHAS DE MANDIOCA**

---

Londrina  
2007

**CARLA ROSANE PAZ ARRUDA TEO**

**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, FUNCIONAIS E  
NUTRICIONAIS E APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DE  
CONCENTRADO PROTÉICO DE FOLHAS DE MANDIOCA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Doutor

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Helena Prudencio

Londrina  
2007

**CARLA ROSANE PAZ ARRUDA TEO**

**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, FUNCIONAIS E  
NUTRICIONAIS E APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DE  
CONCENTRADO PROTÉICO DE FOLHAS DE MANDIOCA**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Helena Prudencio

---

Prof. Dr. Luís Guilherme Sachs

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvia Renata Machado Coelho

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivone Yurika Mizubuti

---

Prof. Dr. Deonísio Destro

Londrina, 16 de março de 2007.

## DEDICATÓRIA

*A Gustavo e Giovanna,*

*por todas as ausências, pelas reuniões na escola às quais não fui, pelas brincadeiras das quais não participei, pela distância (mesmo quando estávamos tão próximos)...*

*E saibam que, sempre, distante ou ausente, aparentemente ou de fato, meu coração esteve o tempo todo com vocês.*

*A Marcos Antônio Téo,*

*pelo apoio em todas as horas e por estar na minha vida, o que tornou este caminho menos árduo.*

## **AGRADECIMENTOS**

### **A Deus, por tudo.**

À Orientadora Professora Dr<sup>a</sup>. Sandra Helena Prudencio, pela orientação competente e pela paciência.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, pela possibilidade de realizar este trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, pela excelência do programa de pós-graduação.

À Sandra Rezende, pela atenção dispensada e competente atendimento.

Aos colegas, pela agradável convivência e pelo apoio.

Aos colegas Ângela e Marcelo, pelo apoio logístico durante a realização dos experimentos.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Silvia Renata Machado Coelho, pela colaboração.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Simone Damasceno, pela disponibilização da estrutura laboratorial para a realização de parte dos experimentos.

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

TEO, C. R. P. A. **Propriedades físico-químicas, funcionais e nutricionais e aplicação tecnológica de concentrado protéico de folhas de mandioca.** Londrina. 2007. 220f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2007.

## RESUMO

As folhas verdes, e entre estas as de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), constituem fontes de nutrientes abundantes e de baixo custo ainda não completamente exploradas. O objetivo deste trabalho foi preparar produtos alimentares enriquecidos com concentrado protéico de folhas de mandioca. Para isto, foram avaliados procedimentos de obtenção de concentrados quanto às características de rendimento em massa, em proteína, recuperação protéica, conteúdo de taninos e cor do produto obtido. A partir desta avaliação, foram selecionados e modificados procedimentos de obtenção por termo-coagulação ácida e por etanol para a produção de dois concentrados, para os quais foram determinadas a composição centesimal, propriedades funcionais, densidade, conteúdo de taninos e ácido cianídrico, composição mineral, frações protéicas majoritárias e cor. Estes concentrados não diferiram quanto à recuperação protéica, conteúdo de taninos, cor, conteúdo de ácido cianídrico. A fração protéica majoritária em ambos foi a de globulinas, seguida pela de albuminas. Os dois concentrados apresentaram elevados conteúdos de fibra e minerais, além de adequada solubilidade no intervalo de pH avaliado (3 a 12), com os melhores resultados para o concentrado obtido por coagulação por etanol. Foram, ainda, observadas elevadas capacidades de absorção de água e de óleo, boas propriedades emulsificantes, e adequada propriedade de formação de gel para a aplicação em produtos de panificação, cárneos, sopas e molhos. As propriedades espumantes foram razoáveis e a densidade de ambos os concentrados foi maior, quando comparados às folhas de mandioca desidratadas e moídas. Devido aos melhores resultados gerais do concentrado obtido com a coagulação por etanol, foi investigada, por método biológico, a qualidade nutricional do mesmo, tendo sido observada equivalência à caseína quando as rações foram consumidas pelas cobaias em quantidades similares. Após, foram produzidos pães e bolos enriquecidos com os concentrados protéicos, os quais foram submetidos ao teste sensorial de grau de satisfação (aceitação) e avaliados quanto à cor, volume, peso, volume específico e aparência de textura. Os pães enriquecidos com os concentrados protéicos não diferiram entre si e apresentaram menor volume específico, aparência de textura menos uniforme e cor mais escura do que o pão não enriquecido. A aceitação dos pães enriquecidos, entretanto, foi elevada e a rejeição baixa. Os bolos enriquecidos apresentaram maior volume específico e aparência de textura menos uniforme do que o bolo não enriquecido. A aceitação dos bolos enriquecidos também foi elevada e a rejeição baixa. Os concentrados protéicos apresentaram bons conteúdos de nutrientes (especialmente proteína, fibra, cálcio, fósforo, ferro, magnésio e manganês), reduzidos teores de taninos e ácido cianídrico, além de qualidade nutricional comparável à da caseína e propriedades funcionais adequadas a um ingrediente alimentar, sendo potenciais suplementos alimentares.

**Palavras-chave:** Fatores antinutricionais. Toxicidade. Aporte de nutrientes.

TEO, C. R. P. A. **Physicochemical, functional and nutritional properties and technological application of cassava leaves protein concentrate. Londrina.** 2007. 220f. Tesis (Doctor Science in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2007.

## ABSTRACT

The green leaves, and among these the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) ones, constitute abundant and cheap sources of nutrients not yet completely explored. The objective of this work was to prepare an enriched food product with cassava leaves protein concentrate. For that, procedures had been evaluated in terms of mass and protein yield, protein recovery, tannins content and color of the obtained product. From this evaluation thermo-coagulation and ethanol coagulation procedures were selected and modified for producing two concentrates for which centesimal composition, functional properties, density, tannin and cyanic acid contents, mineral composition, mainly protein fractions and color were determined. These concentrates did not differed in terms of protein recovery, tannin and cyanic acid contents and color. The majority protein fraction was the globulins one in both concentrates, followed by the albumins one. The two concentrates presented high fiber and mineral contents, beyond good solubility in the pH interval evaluated (3 to 12), with the best results for the concentrate obtained by ethanol coagulation. High water and oil absorption capacities, good emulsifying and gelation properties for application in bakery, meat, soups and dressing products had still been observed. The foaming properties had been reasonable and the density of both concentrates was high when compared with the dried and milled cassava leaves one. Because of the best results in general of the concentrate obtained by ethanol coagulation, its nutritional quality was investigated through a biological method and it was observed an equivalence to casein when the diets had been consumed by the rats in similar amounts. After, enriched breads and cakes had been produced with the protein concentrates and had been submitted to sensorial analysis through a satisfaction degree test and analyzed in terms of color, volume, weight, specific volume and texture appearance. The enriched breads with the protein concentrates did not differ between themselves, presenting smaller specific volume, texture appearance less uniform and darker color than the not enriched bread. The acceptance of enriched breads, however, was high and the rejection low. The enriched cakes had presented greater specific volume and texture appearance less uniform than the not enriched cake. The acceptance of the enriched cakes was also high and the rejection low. The protein concentrates had presented good contents of nutrients (especially protein, fiber, calcium, phosphorus, iron, magnesium and manganese), reduced tannin and cyanic acid contents, beyond nutritional quality comparable to the casein one and appropriate functional properties for a food ingredient, being the both protein concentrates potential food supplements.

**Keywords:** Antinutritional factors. Toxicity. Nutrients offering.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	–	Representação gráfica dos parâmetros de cor .....	39
<b>Figura 2</b>	–	Ficha do teste de grau de satisfação (escala hedônica) .....	81
<b>Figura 3</b>	–	Cor média das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa I .....	93
<b>Figura 4</b>	–	Cor média das folhas de mandioca desidratadas moídas nas etapas I e II e dos concentrados protéicos antes e após modificações .....	104
<b>Figura 5</b>	–	Curvas de solubilidade protéica das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos $CE_M$ e $TCAII_M$ entre pH 3 e 12 .....	106
<b>Figura 6</b>	–	Curva ponderal dos grupos experimentais e controle no ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de $CE_M$ .....	124
<b>Figura 7</b>	–	Imagens dos pães das formulações A, B e controle .....	130
<b>Figura 8</b>	–	Aparência de textura dos pães das formulações A, B e controle .....	134
<b>Figura 9</b>	–	Imagens dos bolos das formulações A, B e controle .....	140
<b>Figura 10</b>	–	Aparência de textura dos bolos das formulações A, B e controle .....	142

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Teores de vitaminas e minerais em folhas de mandioca desidratadas, em alimentos-fonte e as respectivas RDA.....	22
<b>Quadro 2</b> – Procedimentos de obtenção dos concentrados protéicos (etapa I) .....	66
<b>Quadro 3</b> – Procedimentos modificados de obtenção dos concentrados protéicos (etapa II) .....	70
<b>Quadro 4</b> – Procedimento para fracionamento protéico .....	71
<b>Quadro 5</b> – Composição percentual da ração controle.....	75
<b>Quadro 6</b> – Composição da mistura vitamínica .....	76
<b>Quadro 7</b> – Composição da mistura mineral.....	76
<b>Quadro 8</b> – Formulação dos pães controle e teste .....	80
<b>Quadro 9</b> – Formulação dos bolos controle e teste .....	82

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	–	Composição das folhas de mandioca desidratadas e moídas .....	85
<b>Tabela 2</b>	–	Rendimento, umidade, conteúdo e recuperação protéica e teor de taninos dos concentrados protéicos na etapa I.....	89
<b>Tabela 3</b>	–	Luminosidade (L*) e tonalidade cromática (H*) das folhas desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa I .....	93
<b>Tabela 4</b>	–	Rendimento, umidade, conteúdo e recuperação protéica e teor de taninos dos concentrados protéicos antes e após modificações .....	97
<b>Tabela 5</b>	–	Composição centesimal e conteúdo de HCN dos concentrados protéicos na etapa II .....	99
<b>Tabela 6</b>	–	Composição mineral das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa II .....	101
<b>Tabela 7</b>	–	Frações protéicas das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa II .....	102
<b>Tabela 8</b>	–	Luminosidade (L*) e tonalidade cromática (H*) das folhas desidratadas moídas na etapa II e dos concentrados protéicos antes e após modificações .....	105
<b>Tabela 9</b>	–	Solubilidade protéica das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos CE <sub>M</sub> e TCAII <sub>M</sub> entre pH 3 e 12 .....	108
<b>Tabela 10</b>	–	Propriedades funcionais das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos CE <sub>M</sub> e TCA II <sub>M</sub> na etapa II .....	111
<b>Tabela 11</b>	–	Formulação das rações controle e teste empregadas no ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de CE <sub>M</sub> .....	122
<b>Tabela 12</b>	–	Composição centesimal das rações controle e teste empregadas no ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de CE <sub>M</sub> .....	123
<b>Tabela 13</b>	–	Ganho de peso, consumo de ração, consumo de proteína, coeficiente de eficácia alimentar (CEA), coeficiente de eficácia protéica (CEP), razão protéica líquida (NPR), coeficiente de digestibilidade aparente (CDap), coeficiente de digestibilidade verdadeira (CDv) e utilização protéica líquida verdadeira (NPUv) durante o ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de CE <sub>M</sub> .....	125

<b>Tabela 14</b> – Peso, volume e volume específico dos pães controle e teste (Formulações A e B).....	131
<b>Tabela 15</b> – Luminosidade (L*) e tonalidade cromática (H*) dos pães controle e teste (Formulações A e B) .....	135
<b>Tabela 16</b> – Grau de satisfação global dos pães controle e teste (Formulações A e B).....	136
<b>Tabela 17</b> – Aporte nutricional potencial de pão adicionado de CE <sub>M</sub> .....	138
<b>Tabela 18</b> – Peso, volume e volume específico dos bolos controle e teste (Formulações A e B).....	141
<b>Tabela 19</b> – Luminosidade (L*) e tonalidade cromática (H*) dos bolos controle e teste (Formulações A e B) .....	143
<b>Tabela 20</b> – Grau de satisfação global dos bolos das formulações A e B .....	144
<b>Tabela 21</b> – Aporte nutricional potencial de bolo adicionado de CE <sub>M</sub> .....	145

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>CA</b>	–	Coagulação ácida
<b>TCA I</b>	–	Termo-coagulação ácida I
<b>TC</b>	–	Termo-coagulação
<b>CE</b>	–	Coagulação por etanol
<b>TCA II</b>	–	Termo-coagulação ácida II
<b>CE<sub>M</sub></b>	–	Coagulação por etanol modificado
<b>TCA II<sub>M</sub></b>	–	Termo-coagulação ácida II modificado
<b>L*</b>	–	Luminosidade
<b>a*</b>	–	Componente vermelho-verde
<b>b*</b>	–	Componente amarelo-azul
<b>H*</b>	–	Tonalidade cromática ou coloração
<b>CEA</b>	–	Coeficiente de eficácia alimentar
<b>CEP</b>	–	Coeficiente de eficácia protéica
<b>CDap</b>	–	Coeficiente de digestibilidade aparente
<b>CDv</b>	–	Coeficiente de digestibilidade verdadeiro
<b>NPU</b>	–	Utilização protéica líquida
<b>NPUv</b>	–	Utilização protéica líquida verdadeira
<b>NPR</b>	–	Razão protéica líquida
<b>q.s.p.</b>	–	Quantidade suficiente para

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DA MANDIOCA .....	18
3.2 COMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE MANDIOCA E IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS .....	21
3.3 FATORES TÓXICOS E ANTINUTRICIONAIS DAS FOLHAS DE MANDIOCA .....	26
3.4 ALTERNATIVAS DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DAS FOLHAS DE MANDIOCA .....	32
3.5 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS DE MANDIOCA .....	34
3.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE NUTRICIONAL DA PROTEÍNA DE FOLHAS DE MANDIOCA .....	35
3.7 AVALIAÇÃO DA COR DE ALIMENTOS .....	37
3.8 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS .....	40
3.8.1 Solubilidade protéica .....	41
3.8.2 Capacidade de absorção de água e de óleo .....	46
3.8.3 Propriedades emulsificantes .....	51
3.8.4 Propriedades espumantes .....	54
3.8.5 Capacidade de formação de gel .....	57
3.8.6 Densidade .....	59
3.9 PÃES: FORMULAÇÃO, PROCESSAMENTO E INOVAÇÕES .....	60
3.10 BOLOS: PERSPECTIVAS E CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS .....	64
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	65
4.1 ETAPA I – EXPERIMENTO COM FOLHAS COLETADAS AOS 180 DIAS DE PLANTIO .....	65
4.1.1 Material .....	65
4.1.2 Metodologia .....	65
4.1.2.1 Preparo da amostra .....	65
4.1.2.2 Obtenção dos concentrados protéicos por diferentes procedimentos .....	65
4.1.2.3 Rendimento dos concentrados .....	66

4.1.2.4 Análises químicas e físicas das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos da etapa I .....	66
4.1.3 Delineamento experimental e análise estatística na etapa I .....	68
4.2 ETAPA II – EXPERIMENTO COM FOLHAS COLETADAS AOS 240 DIAS DE PLANTIO .....	68
4.2.1 Material .....	68
4.2.2 Metodologia .....	68
4.2.2.1 Preparo da amostra .....	68
4.2.2.2 Obtenção dos concentrados protéicos por procedimentos modificados .....	69
4.2.2.3 Rendimento dos concentrados .....	69
4.2.2.4 Análises químicas e físicas das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos da etapa II .....	69
4.2.2.5 Propriedades funcionais das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos da etapa II .....	71
4.2.2.5.1 Perfil de solubilidade das proteínas em diferentes pHs .....	71
4.2.2.5.2 Propriedades emulsificantes .....	71
4.2.2.5.3 Capacidade de absorção de água e de óleo .....	73
4.2.2.5.4 Propriedades espumantes .....	74
4.2.2.5.5 Propriedade de formação de gel .....	74
4.2.2.5.6 Densidade .....	75
4.2.2.6 Avaliação biológica da qualidade protéica do concentrado CEM – etapa II ...	75
4.2.2.7 Aplicação tecnológica dos concentrados protéicos de folhas de mandioca da etapa II .....	79
4.2.3 Delineamento experimental e análise estatística .....	83
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>84</b>
5.1 COMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE MANDIOCA DESIDRATADAS E MOÍDAS COLETADAS AOS 180 (ETAPA I) E AOS 240 (ETAPA II) DIAS DE PLANTIO .....	84
5.2 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS COLETADAS AOS 180 DIAS DE PLANTIO - ETAPA I .....	87
5.3 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS COLETADAS AOS 240 DIAS DE PLANTIO - ETAPA II .....	95
5.3.1 Rendimento e composição dos concentrados .....	95
5.3.2 Cor dos concentrados .....	104

5.3.3 Propriedades funcionais das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados na etapa II .....	105
5.3.3.1 Solubilidade protéica em diferentes pH .....	105
5.3.3.2 Capacidades de absorção de água e de óleo .....	110
5.3.3.3 Propriedade emulsificantes .....	114
5.3.3.4 Propriedades espumantes .....	116
5.3.3.5 Propriedades de formação de gel .....	119
5.3.3.6 Densidade .....	120
5.3.4 Avaliação biológica da qualidade protéica do concentrado CE <sub>M</sub> na etapa II ...	121
5.3.5 Aplicação tecnológica dos concentrados protéicos de folhas de mandioca na etapa II .....	129
5.3.5.1 Peso, volume e volume específico .....	130
5.3.5.2 Porosidade do miolo ou aparência de textura .....	132
5.3.5.3 Parâmetros de cor do miolo .....	134
5.3.5.4 Análise sensorial .....	136
5.3.5.5 Potencial aporte nutricional .....	137
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>147</b>
<b>7 PERSPECTIVAS .....</b>	<b>149</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>150</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em muitos países, especialmente nos não desenvolvidos, onde as dietas habituais são frequentemente deficientes em proteína, os índices de desnutrição protéico-calórica são elevados (TANGKA, 2003). No Brasil, os dados mais recentes fazem referência a 6,0% de desnutrição em menores de cinco anos, estando estabelecido o objetivo de reduzir este índice à metade até 2015 (ROCHA, 2006).

A desnutrição é definida como um estado mórbido secundário a uma deficiência ou excesso, relativo ou absoluto, de um ou mais nutrientes essenciais, que se manifesta clinicamente ou é detectado por meio de testes bioquímicos, antropométricos, topográficos ou fisiológicos (WAITZBERG, GAMA-RODRIGUES & CORREIA, 2000) e representa, especialmente na infância, um obstáculo a que os indivíduos e inclusive as sociedades desenvolvam plenamente seu potencial. Uma boa nutrição tem ainda importantes repercussões econômicas: a produtividade individual é mais alta, os custos de atenção em saúde são mais baixos e o rendimento econômico é maior (UNICEF, 2006).

Na dieta habitual, as proteínas, cuja ingestão diária recomendada é de 1 g/kg de peso corpóreo, são comumente supridas por carnes, ovos, leite, peixes e leguminosas. Uma vez que estes alimentos não estão amplamente disponíveis à população, devido ao seu custo, a pesquisa de fontes protéicas alternativas de baixo custo é considerada da maior relevância para a qualidade de vida das populações e para as projeções de desenvolvimento dos países. Neste sentido é que o valor nutricional das proteínas foliares tem sido extensamente revisado, uma vez que as folhas verdes são, potencialmente, a mais abundante e barata fonte de proteína comestível (TANGKA, 2003).

Dentre as folhas verdes estudadas, as de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) têm recebido destaque, em parte pela extensa área cultivada, principalmente nos países em desenvolvimento, e em parte devido à grande tolerância que a planta apresenta a condições ambientais desfavoráveis, associada a um baixo requerimento nutricional. Além disso, a produção anual de mandioca tem aumentado constantemente e, na última década, cresceu cerca de 20,0% (STUPAK et al., 2006). Entretanto, a despeito de seu alto valor nutricional, apenas

regionalmente as folhas de mandioca têm sido usadas como suplemento alimentar (CARTAY, 2004).

Entre os fatores limitantes para o consumo deste material estão alguns compostos antinutricionais e tóxicos, além de grande quantidade de fibra (CORRÊA et al., 2004). Um outro elemento que restringe a disseminação destas folhas na alimentação humana é o fato de que a planta é principalmente cultivada visando o consumo das raízes, cuja produção pode ser significativamente prejudicada por podas excessivas. Adicionalmente, as folhas apresentam vida útil curta, especialmente durante a estação seca, quando a disponibilidade de folhas é menor (STUPAK et al., 2006).

Embora, aparentemente, a maneira mais simples de explorar a potencialidade da proteína foliar pudesse ser a sua inserção massiva na dieta habitual da população, isto, além dos inconvenientes já referidos, ainda representaria um consumo excessivo e desnecessário de celulose. Desta forma, é consenso que a proteína de folhas deva ser extraída, a fim de eliminar ou minimizar os fatores limitantes de consumo mencionados, motivo pelo qual pesquisas multidisciplinares com este objetivo estão sendo conduzidas ao redor do mundo (TANGKA, 2003).

O presente trabalho, considerando este cenário mundial, estudou folhas de mandioca desidratadas e caracterizou concentrados protéicos obtidos por diferentes processamentos a partir das mesmas, bem como produziu, analisou e avaliou a aceitação de produtos alimentares enriquecidos com os concentrados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Preparar, a partir do estudo de propriedades físico-químicas, funcionais e nutricionais, produtos alimentares enriquecidos com concentrados protéicos de folhas de mandioca.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Determinar procedimentos adequados para a obtenção de concentrados protéicos de folhas de mandioca;
- b) Obter concentrados protéicos de folhas de mandioca por procedimentos adequados;
- c) Determinar propriedades físicas, químicas, funcionais e nutricionais dos concentrados protéicos obtidos de folhas de mandioca;
- d) Propor aplicação alimentar para concentrados protéicos de folhas de mandioca;
- e) Produzir, caracterizar e avaliar a aceitação de produtos alimentares contendo concentrados protéicos de folhas de mandioca.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DA MANDIOCA

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura de origem americana, provavelmente do Brasil Central, e sua difusão pela África e Ásia aconteceu a partir do século XVII, tendo se convertido em alimento de base de grandes populações a partir de então. A planta pertence à família das *Euphorbiaceae* e é um arbusto com 2 a 3 metros de altura, com caule arboresecente, de inflorescências paniculadas e com folhas largas e palmeadas que têm de 3 a 7 lóbulos. As raízes constituem a parte usualmente comestível da planta e irradiam do caule para o interior do solo, com seu número por planta variando em função da variedade e das condições climáticas do local de cultivo, entre outros fatores. A planta se adapta bem em distintas condições de umidade, cultivando-se em áreas que variam desde menos de 600 mm até 2000 mm de precipitação pluviométrica anual (EL-SHARKAWY, 2004), além de suportar bem temperaturas entre 15 e 35°C, com a faixa ideal situada entre 25-35°C (CARTAY, 2004).

A mandioca é um dos produtos agrícolas mais dinâmicos, embora ainda prevaleça o conceito de que seja uma cultura de subsistência (FELIPE & VAN DEN BROEK, 2006). Por ser uma planta tolerante a condições de seca e de baixa fertilidade do solo, é comumente cultivada por pequenos produtores rurais, muitas vezes em áreas onde o solo é pobre e as condições climáticas são desfavoráveis à exploração de outras culturas (SAGRILO, 2001).

A raiz também é empregada na alimentação animal, além de fornecer fécula, a qual representa importante matéria-prima utilizada em vários segmentos industriais, como o de alimentos, de plásticos, siderurgia, de extração de petróleo e de produção de álcool combustível, entre outros (FELIPE & VAN DEN BROEK, 2006). Além disso, a parte aérea da mandioca é utilizada parcialmente na alimentação animal (CARDOSO, 2003).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de mandioca, precedido pela Nigéria e seguido por Congo, Tailândia e Indonésia, o que evidencia

que a cultura é típica de países em desenvolvimento (GAMEIRO, 2002). A cadeia produtiva brasileira movimentada cerca de US\$ 2,5 bilhões ao ano e gera uma arrecadação de US\$ 150 milhões (FELIPE & VAN DEN BROEK, 2006). Segundo o IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, a produção brasileira de mandioca, correspondente a aproximadamente 14,0% da produção mundial, será de 27,5 milhões de toneladas na safra de 2006, em uma área plantada de 1.940.922 hectares (IBGE, 2006). No Brasil, a cultura se caracteriza por ser produzida em todas as unidades da Federação (GAMEIRO, 2002), sendo que o Estado do Paraná é o terceiro maior produtor brasileiro de mandioca raiz, com uma produção de 4 milhões de toneladas, e o maior produtor de fécula, fornecendo 352.640 toneladas de um total nacional de 546.460 toneladas (PEREZ, 2005). Além da vasta distribuição geográfica, outra característica da cultura da mandioca é a alta produtividade por área: enquanto a produtividade de soja, por exemplo, é de 2,5 toneladas por hectare, a de mandioca é de 14 toneladas por hectare (GAMEIRO, 2002) e com potencial de atingir até 30 toneladas por hectare (SAGRILLO, 2001).

Pelos motivos expostos, a mandioca constitui a base da alimentação de cerca de 600 milhões de pessoas no mundo, especialmente na África, Ásia e América Latina (STUPAK et al., 2006), representando importante fonte energética na dieta habitual dos países em desenvolvimento após o arroz, o açúcar e o milho (EL-SHARKAWY, 2004).

Apesar da relevante produção mundial de mandioca, de cerca de 195 milhões de toneladas (FAO, 2005), a parte aérea da planta ainda é considerada resíduo agrícola e não é convenientemente utilizada, mesmo sendo potencialmente aproveitável como alimentação animal e ou humana, dada a sua riqueza do ponto de vista nutricional (CARVALHO & KATO, 1987; PENTEADO & ORTEGA-FLORES, 2001). Assim, apenas em algumas regiões, particularmente na África, as folhas frescas também são colhidas para consumo humano como um vegetal da dieta ou como tempero para acompanhar as refeições principais, representando um suplemento protéico por apresentar um conteúdo de proteína entre 21,0 e 39,0% em base seca (b.s.) (EL-SHARKAWY, 2004). Também em algumas regiões da África, Angola e Brasil (Amazonas e Pará), as folhas de mandioca são consumidas, ainda que em pequena escala (CARTAY, 2004), particularmente por suas propriedades medicinais como calmante, analgésico (para cefaléia), anti-inflamatório e estimulante do sono (LOVERA, 1998). Ainda são citados alguns efeitos benéficos no tratamento

da diarreia (efeito adstringente) e da dermatite de contato causada pelo uso de fraldas em bebês (SOSA GÓMEZ, 1997).

Embora o uso das folhas de mandioca não tenha sido tão amplamente difundido quanto o das raízes, diversos autores têm, há décadas, salientado o valor nutritivo das mesmas em termos de proteínas, vitaminas e minerais, especialmente para as dietas habituais predominantemente energéticas observadas nos países em desenvolvimento (BROOKS & LANCASTER, 1983; CEREDA, 2001).

Inclusive, ADEWUSI, ORISADARE & OKE (1992) defenderam a utilização de fontes de proteína de baixo custo, como folhas de mandioca, em substituição a outras fontes protéicas mais caras, com o objetivo de diminuir a prevalência de desordens nutricionais como o *kwarshiorkor*, decorrente basicamente da pobre ingestão de proteína.

No Brasil, a folha da mandioca tem sido utilizada em formulações alimentares de baixo custo, denominadas *multimisturas*. Este é um suplemento alimentar que faz parte do Programa de Alimentação Alternativa da Pastoral da Criança (organização não governamental ligada à CNBB – Confederação Nacional dos Bispos do Brasil) com o objetivo precípua de reduzir a incidência da desnutrição infantil (VELHO & VELHO, 2002). Este suplemento emprega produtos alternativos de baixo custo e com alto teor de proteínas e minerais, especialmente porções normalmente descartadas dos alimentos, como folhas verdes (mandioca e batata doce), sementes e cascas. Diversos pesquisadores têm destacado, entre os minerais, os teores de cálcio, fósforo, magnésio, zinco e ferro (MADRUGA & CÂMARA, 2000; VIZEU, FEIJÓ & CAMPOS, 2005), o que tem contribuído para a disseminação do uso da *multimistura* como um dos recursos para o tratamento da desnutrição energético-protéica e de carências específicas de micronutrientes, como a anemia ferropriva (SIQUEIRA et al., 2003).

Considerando que apenas 20,0% do total de ramos de mandioca produzidas em uma área são aproveitadas para o replantio (manivas), apesar do potencial nutricional e econômico que representam, resta 80,0% deste subproduto alimentar no campo. Desta forma, é estimado que 16 milhões de toneladas de parte aérea de mandioca sejam desperdiçadas quando poderiam ser transformados, pelo menos parcialmente, em alimento (FAUSTINO et al., 2003), ou em ingrediente alimentar.

Neste sentido, CEREDA (2001) abordou as implicações do emprego do termo resíduo, alegando que o mesmo carrega uma imagem depreciativa e que, no atual contexto econômico e de necessidade premente de preservação ambiental, deve ser colocada em foco a possibilidade de aproveitamento integral das matérias-primas agro-industriais, de forma que os inevitáveis resíduos gerados em um processo sejam, sempre que possível, convertidos em matéria-prima de um novo processo. Para tanto, segundo a autora, é necessário caracterizar os subprodutos agrícolas da cultura da mandioca da forma mais completa possível, a fim de encontrar alternativas viáveis para o seu aproveitamento.

### **3.2 COMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE MANDIOCA E IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS**

A parte aérea da mandioca apresenta alta produtividade e o terço superior da planta (mais enfolhado e nutricionalmente mais rico) pode alcançar um rendimento de 5,0 toneladas de folhagem com elevado teor protéico, vitamínico e mineral por hectare (CARVALHO & KATO, 1987; CARVALHO et al., 1993; SAGRILO et al.; 2001; PENTEADO & ORTEGA-FLORES 2001). Considerando que a umidade das folhas varia entre 67,5% (CORRÊA et al., 2004) e 80,6% (AWOYINKA, ABEGUNDE & ADEWUSI, 1995), a produtividade, em termos de folhas desidratadas, corresponde a aproximadamente 1,0 a 1,5 tonelada/hectare. Entretanto, SAGRILO (2001) estimou que a produtividade potencial seja de 2,3 tonelada/hectare.

As folhas de mandioca são referidas como boas fontes de vitaminas, principalmente de vitamina C (CARVALHO & KATO, 1987) e betacaroteno (CARVALHO et al., 1989). Segundo LANCASTER & BROOKS (1983) e BOKANGA (1994), as folhas de mandioca contêm quantidades apreciáveis de riboflavina, niacina e tiamina. Estes teores são superiores aos encontrados em muitos alimentos considerados fontes destas vitaminas (FRANCO, 1999), o que reforça o potencial da folha de mandioca como suplemento vitamínico.

A folha de mandioca fresca é, também, uma boa fonte de minerais (CARVALHO & KATO, 1987), incluindo cálcio, ferro, manganês, magnésio e zinco,

sendo que os teores nas folhas desidratadas são ainda superiores devido ao efeito de concentração por retirada de umidade (ALETOR & ADEOGUN, 1995).

Uma comparação entre os teores de vitaminas e minerais de folhas de mandioca desidratadas e os encontrados em alimentos-fonte presentes na dieta brasileira habitual, bem como com as ingestões recomendadas destes nutrientes (quadro 1), evidencia o valor nutricional deste material.

Nutriente	Folha de Mandioca Desidratada (mg%)	Alimentos-fonte (mg%) <sup>(2)</sup>	RDA 1 a 10 anos (mg) <sup>(3)</sup>
Vitamina C	42,8 a 68,7 <sup>(4)</sup>	11,8 a 55,3	40,0 a 45,0 mg
Vitamina A	5,0 <sup>(5)</sup>	1,1	2,4 a 4,2 mg
Riboflavina	0,6 <sup>(6)</sup>	0,6	0,8 a 1,2 mg
Niacina	2,4 <sup>(6)</sup>	0,2	9,0 a 13,0 mg
Tiamina	0,3 <sup>(6)</sup>	0,2	0,7 a 1,0 mg
Cálcio	900,0 a 1090,0 <sup>(7)</sup>	95,0 a 513,0	800,0 mg
Fósforo	290,0 a 700,07 <sup>(6)</sup>	200,0 a 229,0	800,0 mg
Ferro	9,8 a 42,5 <sup>(7)</sup>	5,0 a 12,7	10,0 mg
Zinco	3,0 a 55,1 <sup>(7)</sup>	2,0 a 8,0	10,0 mg
Magnésio	320,0 a 700,0 <sup>(7)</sup>	30,0 a 200,0	80,0 a 170,0 mg
Manganês	18,8 a 26,3 <sup>(7)</sup>	*	1,0 a 3,0 mg
Cobre	1,0 a 5,0 <sup>(7)</sup>	0,8 a 9,0	0,7 a 2,0 mg <sup>(8)</sup>

<sup>(1)</sup> RDA – *Recommended Dietary Allowances*: a quantidade diária de ingestão de um nutriente capaz de atender às necessidades de 97,0 a 98,0% dos indivíduos saudáveis de um determinado grupo populacional (MARCHIONI, SLATER & FISBERG, 2004)

<sup>(2)</sup> FRANCO (1999); NEPA-UNICAMP (2004)

<sup>(3)</sup> DUTRA-DE-OLIVEIRA & MARCHINI, 1998

<sup>(4)</sup> CARVALHO & KATO, 1987

<sup>(5)</sup> CARVALHO et al., 1989

<sup>(6)</sup> LANCASTER & BROOKS (1983); BOKANGA (1994)

<sup>(7)</sup> ALETOR & ADEOGUN (1995); MADRUGA & CÂMARA (2000); MODESTI (2006)

<sup>(8)</sup> ingestão segura e adequada (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1999)

\* dado não disponível

**Quadro 1** – Teores de vitaminas e minerais em folhas de mandioca desidratadas, em alimentos-fonte e as respectivas RDA<sup>(1)</sup>

Para o teor de cinzas (ou resíduo mineral fixo), que reflete em algum grau o conteúdo mineral, são citados na literatura valores entre 2,0 e 6,9% b.s. nas folhas frescas de mandioca (LANCASTER & BROOKS, 1983; ALETOR & ADEOGUN, 1995), com 5,7 a 8,3% b.s. nas folhas desidratadas (CASTELLANOS,

ALTAMIRANO & MORETTI, 1994; ALETOR & ADEOGUN, 1995; AWOYINKA, ABEGUNDE & ADEWUSI, 1995; MADRUGA & CÂMARA, 2000; MODESTI, 2006).

Quanto ao teor de lipídeos, é de 1,0% b.s. nas folhas frescas (LANCASTER & BROOKS, 1983; ALETOR & ADEOGUN, 1995), enquanto os achados da literatura apresentam, para folhas desidratadas, variação entre 3,7 e 16,0% b.s. (ALETOR & ADEOGUN, 1995; AWOYINKA, ABEGUNDE & ADEWUSI, 1995; MADRUGA & CÂMARA, 2000; MODESTI, 2006).

O conteúdo de proteínas da folha de mandioca está entre 21,0 e 39,0% b.s., de acordo com a variedade, tempo de plantio e condições climáticas (EL-SHARKAWY, 2004), sendo este conteúdo comparável ou superior ao de algumas leguminosas, como feijão e grão-de-bico que apresentam, em média, 21,0% e 15,0% b.s. de proteína, respectivamente (FRANCO, 1999).

O teor de proteínas é maior em folhas jovens e decresce com o tempo de plantio (AWOYINKA et al., 1995), além de variar em função das condições climáticas, com baixas precipitações e temperaturas elevadas contribuindo para maiores conteúdos protéicos nas folhas de mandioca devido à intensificação da síntese protéica decorrente da exposição da planta à situação de estresse (CARVALHO et al., 1993).

Com relação ao perfil de aminoácidos, alguns autores relataram previamente que a proteína da folha de mandioca apresenta um balanço adequado em aminoácidos, deficiente apenas em metionina e triptofano, com altos valores de lisina (LANCASTER & BROOKS, 1983). Já RAVINDRAN & RAVINDRAN (1988) indicaram os aminoácidos sulfurados como sendo o maior fator limitante nesta proteína, seguido da fenilalanina, e sugeriram que a limitação em aminoácidos sulfurados se torna mais crítica na medida em que aumenta a idade da planta. Recentemente, STUPAK (2006) mencionou que os níveis de lisina, leucina e histidina são baixos na proteína de folhas de mandioca.

Por outro lado, ORTEGA-FLORES et al. (2003) relataram que a proteína da folha de mandioca não é deficiente em nenhum dos aminoácidos essenciais, apresentando um cômputo químico em que todos os aminoácidos atendem em 100,0% ou mais o padrão da FAO – Food and Agriculture Organization e da OMS – Organização Mundial de Saúde, com a lisina sendo o aminoácido de menor cômputo, seguida da histidina. Neste sentido, considerando referências mais recentes, as quais indicam a arginina como um aminoácido condicionalmente

essencial (WAIZTBERG & LOGULLO, 2000), cabe destacar os resultados citados por LANCASTER & BROOKS (1983), que evidenciam os altos níveis deste aminoácido na proteína da folha de mandioca.

Em síntese, é provável que fatores como a variedade e a idade da planta, bem como as condições de cultivo, sejam responsáveis pela divergência observada nos achados da literatura. Ou, como propuseram ORTEGA-FLORES et al. (2003), esta divergência na avaliação do conteúdo químico da proteína de folhas de mandioca pode ser devida à comparação da mesma com diferentes padrões da FAO/OMS, já que o adequado conteúdo químico referido por estes autores é decorrente da comparação com a proteína padrão da FAO/OMS de 1985, conforme recomendação destes órgãos desde 1991, e os trabalhos anteriores empregaram como padrão a referência da FAO/OMS de 1973.

A produtividade por hectare das folhas de mandioca, em proteína bruta, pode chegar a valores entre 500 e 1000 kg/ano, o que supera em quatro a seis vezes o rendimento de outras fontes importantes de proteína, tais como criação extensiva de bovinos de corte e leite (CEREDA & VILPOUX, 2003). As folhas, porém, apresentam fatores antinutricionais e substâncias tóxicas, que devem ser considerados em se tratando de emprego para consumo humano (AWOYINKA et al., 1995).

Entre os fatores antinutricionais, a folha de mandioca apresenta um conteúdo de fibras que varia entre 11,2 e 52,1% b.s., o que limita a sua utilização direta como alimentação para monogástricos, incluindo o homem, sendo responsável por irritação intestinal, diminuição de digestibilidade protéica e decréscimo na absorção de alguns nutrientes, particularmente os minerais (ALETOR & ADEOGUN, 1995; AWOYINKA, ABEGUNDE & ADEWUSI, 1995; MADRUGA & CÂMARA, 2000; ORTEGA-FLORES et al., 2003), e, dentre eles, especialmente cálcio, ferro e zinco (DAVIES, 1979). Dentre os carboidratos, o teor de amido nas folhas pode variar de 4,7 a 9,7% b.s., de acordo com a variedade, quando se utiliza o terço superior da planta (CARVALHO *et al.*, 1989).

ORTEGA-FLORES (1998), investigando a composição de folhas de mandioca desidratadas, encontrou um conteúdo de fibra total de 52,1% b.s., sendo que 48,6% correspondeu à fração de fibra insolúvel e 3,5% à de fibra solúvel. Alguns autores ainda mencionam que o significativo conteúdo de fibra nas folhas de mandioca, o qual aumenta com a idade da planta (RAVINDRAN & RAVINDRAN,

1988), pode ser responsável pelo reduzido consumo das mesmas observado em experimentos com animais (PENTEADO & ORTEGA-FLORES, 2001). Cabe, inclusive, salientar que o aumento do conteúdo de fibra com o avanço da idade da planta acontece como decorrência da lignificação, ou seja, representa um aumento da fração de fibra insolúvel (LIMA et al., 2006).

Porém, além dos efeitos indesejáveis, as fibras têm também efeitos fisiológicos benéficos associados especificamente às frações solúvel e insolúvel (CALLEGARO et al., 2005), motivo pelo qual não podem ser consideradas exclusivamente como fatores antinutricionais. Desta forma, a fibra solúvel (pectinas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses) apresenta um efeito metabólico no trato gastrintestinal, retardando o esvaziamento gástrico e intestinal e fornecendo saciedade, além de provocar diminuição da absorção de glicose e colesterol, alteração da composição da flora intestinal e de seu metabolismo, com aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta, de efeito protetor (COPPINI et al., 2000).

A redução da glicemia obtida com a fibra solúvel é devida à capacidade de absorção de água e formação de gel, com retardo do esvaziamento gástrico e diminuição da velocidade de absorção de nutrientes no intestino, já que esta fração da fibra da dieta constitui uma barreira que dificulta a ação enzimática e o acesso dos produtos da digestão à mucosa intestinal. A ação hipocolesterolemia da fibra solúvel também é creditada à sua elevada capacidade de formação de gel, que dificulta o transporte de colesterol exógeno pelos ácidos biliares até a mucosa absorptiva, sendo que ambos terminam excretados juntamente com este gel nas fezes, diminuindo a absorção intestinal de colesterol por meio deste mecanismo. Além disso, para compensar a perda fecal, as células hepáticas sintetizam mais sais biliares, tendo o colesterol como um precursor desta síntese e, conseqüentemente, ocorrendo uma redução da colesterolemia pelo seqüestro de colesterol endógeno para este fim (GONZÁLEZ-CANGA et al., 2004).

A fibra insolúvel (celulose, hemicelulose e lignina), por outro lado, apresenta efeito mecânico no trato gastrintestinal, uma vez que, pouco fermentável e capaz de adsorver água, aumenta o volume e a maciez do bolo fecal e acelera o trânsito intestinal pelo estímulo dos movimentos peristálticos (COPPINI et al., 2000), motivo pelo qual tem estado associada à prevenção de enfermidades como diverticulite e câncer de cólon (CALLEGARO et al., 2005).

A recomendação atual para o consumo dietético diário de fibra total é de 20,0 a 35,0 g/dia para adultos, em uma relação de 10,0 a 13,0 g/1000kcal ingeridas. Entre os dois e 20 anos de idade, a recomendação é igual à idade em anos mais 5,0 g/dia (COPPINI et al., 2000). Portanto, alternativas alimentares que apresentem o potencial de aumentar a oferta dietética de nutrientes nobres, como proteínas, vitaminas e minerais, além de fibras, devem ser consideradas, já que muitas vezes a concentração destes compostos nas porções descartadas dos alimentos é maior do que nas partes usualmente comestíveis.

### **3.3 FATORES TÓXICOS E ANTINUTRICIONAIS DAS FOLHAS DE MANDIOCA**

A mandioca é considerada uma planta cianogênica, que contém dois cianoglicosídeos, a linamarina, presente em maiores concentrações, e a lotaustralina. Estes compostos estão presentes em todas as partes da planta, como raízes e folhas, bem como nos produtos derivados (ELIAS, NAMBISAN & SUDHAKARAN, 1997; HAQUE & BRADBURY, 2002). Segundo CEREDA & MATTOS (1996), a linamarina corresponde a 80,0% dos glicosídeos cianogênicos da mandioca. Estes glicosídeos são compostos secundários com função fisiológica relacionada à proteção da planta, liberando, por hidrólise, ácido cianídrico (HCN), produto tóxico, quando o tecido é injuriado. Esta liberação ocorre pela ação da enzima linamarase por injúria mecânica ou fisiológica (murchamento da folha), ou pela ação da  $\beta$ -glicosidase no trato digestivo animal (CORRÊA et al., 2002).

O homem, como os animais em geral, apresenta um mecanismo de detoxificação do HCN pela conversão deste a tiocianato, através de uma reação catalisada pela enzima rodanase (ELIAS, NAMBISAN & SUDHAKARAN, 1997) na presença de um doador de enxofre, como um aminoácido sulfurado (OKE, 1968). Esta via metabólica promove uma redução da toxicidade em até 200 vezes (CORRÊA et al., 2002). O tiocianato é, então, eliminado na urina em uma razão de 30,0-60,0 mg/h (AKINTONWA, 1992), sendo a determinação do teor urinário desta substância um parâmetro para a avaliação da exposição ao HCN (RIBEIRO et al., 1996). O tiocianato interfere no metabolismo da glândula tireóide por meio de um mecanismo de competição com o iodo e doses subletais de HCN geram uma

concentração de tiocianato capaz de causar hipertireoidismo e cretinismo (DAVIES, 1979; AWOYINKA, ABEGUNDE & ADEWUSI, 1995; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1999).

Uma outra rota de detoxificação, menos relevante, depende da vitamina B<sub>12</sub> na forma de hidroxicobalamina, a qual, no fígado, é capaz de combinar com o cianeto para formar cianocobalamina, forma mais estável da vitamina e não tóxica (OKE, 1968).

A intoxicação intensa originada por doses massivas de HCN é manifesta por múltiplos sintomas que resultam da anóxia citotóxica causada pela combinação de íons cianeto com a enzima citocromo-C oxidase; a re-oxidação do citocromo-C é interrompida e, conseqüentemente, o fluxo de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial também, o que previne a utilização do oxigênio molecular pelas células e inibe a formação de ATP (adenosina trifosfato) (MONTGOMERY, CONWAY & SPECTOR, 1994). Uma alteração do ritmo respiratório é freqüentemente observada (aceleração e amplificação), bem como cefaléia, vertigens, distúrbios de consciência, coma e depressão respiratória, podendo ocorrer rapidamente o óbito (JONES, 1998). Também pode ocorrer reação do íon cianeto com a hemoglobina, formando cianohemoglobina, o que interfere com o transporte de oxigênio (OKE, 1968), caracterizando a cianose. A dose letal de HCN para a espécie humana varia entre 0,5 e 3,5 mg/kg de peso vivo (OKE, 1969; ARAÚJO, 1999).

Na mandioca, o tecido foliar apresenta a maior concentração de linamarina, na ordem de 470,0 µg/g de tecido fresco, enquanto que na raiz a concentração deste metabólito é de cerca de 30,0 µg/g de tecido fresco. Em termos de HCN, a folha fresca pode apresentar cerca de 630,0 mg/kg, dependendo da variedade utilizada, sendo que este conteúdo deve ser reduzido abaixo de níveis tóxicos para consumo (TELES, 1987). O conteúdo de HCN nas folhas de mandioca apresenta tendência de redução em função do aumento da idade da planta (GÓMEZ, VALDIVIESO & DE LA CUESTA, 1984) e é principalmente determinado pelas condições agro-ecológicas de cultivo, sendo menor para solos pouco férteis (CARTAY, 2004).

Tanto o maior conteúdo de HCN nas folhas quanto à tendência de redução deste conteúdo com o avançar da idade da planta são eventos que estão, provavelmente, relacionados à translocação de HCN das folhas para as raízes. A

linamarase, que apresenta maior atividade nas folhas, hidrolisa a linamarina à cianidrina, a qual, em condições fisiológicas, é convertida à  $\beta$ -cianoalanina. Esta substância, por ação da enzima  $\beta$ -cianoalanina hidrolase, rende asparagina, que se acumula na raiz, estando disponível para o *pool* de aminoácidos. Nas folhas, a asparagina é degradada preferencialmente a ácido aspártico e amônia por meio de uma reação catalisada pela asparaginase. Em condições de injúria, é significativa também a atividade da enzima  $\alpha$ -HNliase nas folhas, que hidrolisa a cianidrina, fornecendo íon cianeto. Este poderia ser detoxificado por ação da rodanase, mas a atividade desta enzima nos tecidos da mandioca é insignificante. Assim, o cianeto é convertido, por ação da  $\beta$ -cianoalanina sintase (de maior atividade na raiz), a  $\beta$ -cianoalanina, que fornece asparagina conforme seqüência de reações mencionada anteriormente. Portanto, a linamarina, continuamente, é mobilizada e utilizada na planta e os diferentes teores observados em variedades de mandioca diversas têm sido explicados por variações nas taxas de biossíntese, de degradação e de transporte deste composto (ELIAS, NAMBISAN & SUDHAKARAN, 1997).

Vários pesquisadores já avaliaram diferentes estratégias para redução do conteúdo de HCN de folhas de mandioca. CORRÊA et al. (2002) investigaram os efeitos de cinco tipos de secagem das folhas: sobre bancadas de madeira em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente por 14 horas durante a noite e, em seguida, ao sol sobre piso de concreto; à sombra sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente; ao sol sobre piso de concreto; em estufa a 30°C; em estufa a 40°C. Estes autores comprovaram que a secagem das folhas de mandioca à sombra reduz sensivelmente os níveis de ácido cianídrico, possibilitando sua utilização direta para consumo humano.

Anteriormente, GÓMEZ, VALDIVIESO & DE LA CUESTA (1984) sugeriram que a secagem à sombra seria mais eficiente na redução dos teores de HCN por possibilitar um tempo maior sob condições de temperatura e umidade ideais para a atividade da linamarase. Corroborando esta observação, GÓMEZ & VALDIVIESO (1985) observaram que a secagem ao sol eliminou cerca de 82,0 a 94,0% do cianeto de folhas de mandioca frescas, sendo mais eficiente quando comparada à secagem em estufa a 60°C. Entretanto, CORRÊA et al. (2002) observaram que a linamarase mantém atividade estável tanto em secagem ao sol quanto em estufa a 40°C por, pelo menos, 24 horas, em um nível superior ao da atividade enzimática encontrada quando as folhas de mandioca foram secas à

sombra, indicando que estas condições de secagem são viáveis para a redução do conteúdo de cianeto das folhas.

STUPAK et al. (2006) salientam que o cozimento prolongado das folhas de mandioca é essencial para minimizar as concentrações de cianeto. Porém, os autores afirmam que os aminoácidos essenciais podem ser degradados durante este processamento, o que é especialmente crítico quando são considerados os aminoácidos sulfurados (como cisteína), já que estes são requeridos como doadores de enxofre no mecanismo de detoxificação do cianeto dietético remanescente. Assim, a secagem adequada das folhas é um recurso que viabiliza a utilização das mesmas, seja na alimentação animal ou na humana.

As folhas de vegetais como mandioca, taioba e outros, apresentam também uma série de substâncias do metabolismo secundário que podem interferir no valor nutritivo das proteínas presentes, sendo os taninos os principais compostos envolvidos (PINTO et al., 2001).

Taninos são compostos fenólicos hidrossolúveis que contêm um grande número de grupos hidroxila, entre outros grupos funcionais, sendo, portanto, capazes de complexar proteínas e outras macromoléculas, como o amido, por exemplo, reduzindo o valor nutricional do alimento. Podem ser classificados em taninos hidrolisáveis e taninos condensados e os condensados são os responsáveis por um sabor adstringente em produtos ricos nestes compostos, característica cuja intensidade varia em função do peso molecular (VALVERDE, PERIAGO & ROS, 2000; SOARES, 2002).

Taninos também podem formar complexos com enzimas da microbiota intestinal que são responsáveis por processos fermentativos e com enzimas digestivas (amilase, lipase e enzimas proteolíticas), interferindo negativamente na absorção de outros nutrientes além das proteínas (CHIARADIA, COSTA & GOMES, 1999), principalmente os carboidratos (KATARIA, CHAUHAN & GANDHI, 1988). Os taninos ainda afetam a biodisponibilidade de vitaminas e minerais, particularmente vitamina A, ferro (CHUNG et al. 1998), cobre e zinco (VALVERDE, PERIAGO & ROS, 2000).

Os compostos fenólicos também reduzem a disponibilidade de aminoácidos específicos, como a lisina (KUMAR & SINGH, 1984) e a metionina (NELSON et al., 1975), agravando a deficiência de aminoácidos sulfurados relatada por alguns autores na proteína de folha de mandioca, já que este último aminoácido

é, além de doador de grupos metil, fonte de enxofre no mecanismo de detoxificação do cianeto (OKE, 1978).

Em síntese, experimentos com cobaias, visando avaliar o efeito antinutriente dos taninos, têm evidenciado que estes compostos intervêm negativamente sobre a ingestão de alimento, a taxa de crescimento, a digestibilidade da proteína e a disponibilidade de aminoácidos, de algumas vitaminas e minerais (VALVERDE, PERIAGO & ROS, 2000).

Além disso, durante a manipulação e processamento de alimentos ricos em taninos pode ocorrer uma reação de escurecimento regulada pelo teor dos polifenóis, pela presença de oxigênio e pela atividade da enzima polifenoxidase (RODRÍGUEZ-DELGADO et al., 2002).

Entretanto, taninos são compostos amplamente distribuídos em frutas e vegetais, não existindo um parâmetro considerado seguro ou adequado para o consumo ou para o seu conteúdo em alimentos. Além disso, está bem descrito um papel antioxidante benéfico destes e de outros compostos fenólicos da dieta (VALVERDE, PERIAGO & ROS, 2000; SOARES, 2002; LIMA et al., 2004).

s conteúdos de taninos observados em erva mate, por exemplo, estão entre 0,5 e 0,6% b.s. (DONADUZZI & CARDOZO, 2003). Em ervilhas e vagens estes compostos são encontrados na ordem de 2,0% e em feijão-preto foram encontrados conteúdos variando entre 0,4 e 2,0% b.s. (LIMA et al., 2004). Em feijão-da-Índia, KATARIA, CHAUHAN & GANDHI (1988) encontraram conteúdos de polifenóis entre 0,9 e 0,7% b.s., com os menores valores sendo obtidos como resultado do emprego de maceração. REHMAN & SHAH (2001), pesquisando o conteúdo de taninos desta mesma leguminosa, observaram teores entre 0,9 e 1,2% b.s. em função da variedade e concluíram também que a maceração por 3 horas foi capaz de promover remoções variáveis destes compostos: 18,5% de remoção com maceração em água a 30°C e 53,0% em solução salina a 1,0%. Os autores creditaram estas remoções, respectivamente, à penetração de água com lixiviação de taninos (o que é favorecido com o aumento de temperatura) e à formação de sais solúveis de taninos sob condições alcalinas.

MAYER-MIEBACH et al. (2003) desenvolveram pesquisa sobre a influência do branqueamento sob baixa temperatura no conteúdo de polifenóis em vegetais folhosos, empregando binômios de tempo-temperatura de 50°C/10 minutos, 52,5°C/10 minutos e 55°C/5 minutos, tendo concluído que, independentemente das

condições de processamento, esta operação promoveu reduções de cerca de 50,0% nos conteúdos de polifenóis em relação aos vegetais não processados.

SINHA & KAWATRA (2003) estudaram o efeito da maceração e do processamento sobre o conteúdo de polifenóis de feijão caupi, tendo observado um teor de 0,7% b.s. para a amostra *in natura*, o qual foi progressivamente reduzido com o aumento do tempo de maceração em água a 30°C: 11,0% de redução em 24 horas, 18,2% em 48 horas, 20,6% em 60 horas e 32,5% em 72 horas. Estas observações foram creditadas à solubilização destes compostos na água de maceração sob influência do gradiente de concentração. Os autores também observaram que o cozimento a 100°C resultou em redução dos polifenóis em 8,0% e que a maceração seguida de cozimento promoveu uma redução de 17,0%

Os dados de LIMA et al. (2004), entretanto, não são compatíveis com os citados acima. Os pesquisadores observaram que água em temperatura ambiente (28°C) solubilizou entre 1,0 e 1,3% de polifenóis de broto de feijão mungo, enquanto água fervente foi capaz de solubilizar apenas 0,9%, o que torna controversa a afirmação de REHMAN & SHAH (2001) de que o aumento da temperatura favoreça a solubilização de taninos.

NAG & MATAI (1994) encontraram conteúdos de taninos de 4,1% b.s. em folhas frescas de *Ailanthus excelsa* e de 0,6% b.s. no resíduo fibroso resultante da prensagem das folhas, tendo concluído que o teor observado no resíduo torna este material apropriado à alimentação humana. Da mesma forma, VISWANATHAN et al. (1999) consideraram baixo o conteúdo de taninos que observaram em farinha de *Teramnus labialis*, de 0,2% b.s.

SILVA et al (2006), pesquisando o conteúdo de taninos em folhas de oliveira, encontraram valores de 1,2% b.s., não tendo observado diferenças entre os teores de folhas frescas e desidratadas. Já para as folhas de mandioca os relatos da literatura apresentam os teores de tanino variando de 1,8% b.s. (VILHENA et al., 1996) a 4,6% b.s. (CORRÊA et al., 2002), sendo que CORRÊA et al. (2004) e MODESTI (2006) observaram conteúdos respectivos de 6,4% b.s. e 4,6% b.s. nas folhas desidratadas.

Embora CORRÊA et al. (2002) e RAVINDRAN & RAVINDRAN (1988) tenham relatado que o conteúdo de taninos aumente com a maturidade da planta, LIMA et al. (2006), estudando componentes fenólicos de leguminosas

arbóreas, postularam que taninos são encontrados em menores concentrações em folhas mais velhas, ao contrário de outros compostos fenólicos.

Com o objetivo de potencializar o uso das folhas de mandioca na alimentação humana, minimizando os efeitos deletérios dos taninos, PADMAJA (1989) estudou o efeito de alguns tratamentos na redução dos níveis destes compostos, constatando que a secagem das folhas a 60°C em estufa promoveu uma remoção significativa de taninos, mas que a folhagem de mandioca seca ao sol apresentou melhores resultados. Em pesquisa realizada com o mesmo objetivo, CORRÊA et al. (2002) estudou o efeito de diferentes solventes na remoção de polifenóis de folhas de mandioca desidratadas e moídas, observando que a água e o etanol foram capazes de remoções respectivas de 65,0% e 83,0%.

### **3.4 ALTERNATIVAS DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DAS FOLHAS DE MANDIOCA**

O consumo direto das folhas de mandioca é muito limitado, devido ao seu alto conteúdo de fibras, presença de substâncias tóxicas e ou fatores antinutricionais, além de sabor desagradável (VILHENA et al., 1996; SGARBIERI, 1996). Apesar disto, o uso de folhas de mandioca na alimentação humana tem sido muito difundido em países da África, principalmente na Nigéria, país que já incorporou entre seus hábitos o consumo de folhas frescas ricas em proteínas para o preparo de sopas (AWOYINKA et al., 1995). No Brasil, a utilização da *multimistura* tem sido contestada devido a pouca informação disponível sobre os ingredientes, uma vez que estes, como a folha de mandioca, apresentam substâncias tóxicas e fatores antinutricionais (FARFAN, 1998).

A utilização de concentrados protéicos de folhas é uma alternativa indicada por vários autores para o aproveitamento deste tipo de material vegetal, nutricionalmente rico. A produção de concentrados protéicos de folhas de mandioca, além de gerar um produto com maior teor de proteína, causa a diminuição do teor de fibra, a qual é referida como um dos inconvenientes do consumo da folha *in natura* (CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994; BEJOSANO & CORKE, 1999; ALETOR et al., 2002), ocorrendo também reduções variáveis dos conteúdos de HCN

e taninos (CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994; CORREA et al., 2002).

Vários métodos de obtenção de concentrado protéico de folhas são citados na literatura. Procedimentos empregando coagulação ácida da proteína foram estudados por ROSAS-ROMERO & ACOSTA (1986), ESCUDERO et al. (2004) e MODESTI (2006). A termocoagulação ácida foi avaliada por RUIZ-CARRERA & FRANCO-GOMES (1986), SALGADO & SANTOS (1986) e CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI (1994). Além destes, já foram testados os métodos de termocoagulação (SALGADO & SANTOS, 1986; ALETOR, OSHODI & IPIMOROTI, 2002; MODESTI, 2006), coagulação por etanol (PELUZIO et al., 1998), ultrafiltração (CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994) e fermentação (HEINEMANN et al., 1998).

Assim, métodos para obtenção de concentrados protéicos de alto valor nutricional têm sido desenvolvidos e testados, visando à incorporação dos mesmos como ingredientes em várias preparações alimentícias (ESCUDERO et al., 2004), especialmente aquelas ricas em carboidratos. A maior parte destes trabalhos tem sido realizada na África e na América Latina (VILHENA et al., 1996), com o objetivo de viabilizar a utilização de fontes protéicas não convencionais e de baixo custo no combate à desnutrição energético-protéica (HEINEMANN et al., 1998).

As massas alimentícias em geral são produtos que apresentam um baixo teor de proteína, sendo deficientes, principalmente, em lisina, uma vez que normalmente são elaboradas à base de trigo. A introdução de concentrados protéicos neste tipo de produto tem sido foco de estudo há décadas, representando uma alternativa para aumentar seu valor nutricional e, simultaneamente, dar destino à folhagem da mandioca, que hoje é resíduo agrícola (RUIZ-CARRERA & FRANCO-GOMES, 1986; VILHENA et al., 1996). Além disso, as proteínas de folhas de mandioca, mesmo apresentando digestibilidade mais baixa do que as de origem animal, têm apresentado resultados que as classificam como uma boa fonte protéica quando combinadas com outros alimentos na dieta habitual (HEINEMANN et al., 1998).

Adicionalmente, a produção de ingredientes à base de proteínas alimentares é importante, além do aspecto nutricional, pelas características funcionais favoráveis que poderão ser incorporadas ao produto final (ARÊAS, 1992). Porém, apesar das inúmeras pesquisas que têm sido desenvolvidas para viabilizar a

produção deste tipo de concentrado protéico, ainda são escassas as referências com relação à sua funcionalidade e às suas características de cor, embora estes sejam atributos importantes no estudo de potenciais aplicações tecnológicas destes produtos.

### **3.5 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS DE MANDIOCA**

Concentrados protéicos são definidos pela legislação brasileira como produtos protéicos contendo um mínimo de 68,0% de proteína em base seca, aplicado o fator de conversão 6,25 (ABIA, 1991). Entretanto, os diversos trabalhos de obtenção de concentrados protéicos de folhas de mandioca previamente realizados apontam concentrações de proteína entre 25,1% e 58,0% b.s. (SALGADO & SANTOS, 1986; MODESTI, 2006), sendo esta variação creditada a diferentes protocolos experimentais (CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994).

Da mesma forma, a avaliação biológica da proteína de concentrados de folhas de mandioca evidencia variações relevantes, com alguns autores classificando a qualidade protéica como pobre (ROSAS-ROMERO & ACOSTA, 1986; SALGADO & SANTOS, 1986), enquanto outros apontam esta proteína como de boa qualidade (RUIZ-CARRERA & FRANCO-GOMES, 1986), ou como boa fonte de proteína complementar da dieta (SILVA, 1990; CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994).

Com relação aos fatores tóxicos e antinutricionais, vários autores relatam redução significativa dos mesmos no concentrado protéico (RUIZ-CARRERA & FRANCO-GOMES, 1986; ADEWUSI, ORISADARE & OKE, 1992; NAG & MATAI, 1994; ALETOR et al., 2002), o que indica que o processamento das folhas é suficiente para que o produto final (concentrado) possa ser adicionado a preparações alimentícias sem risco de intoxicação pelo HCN e sem efeitos prejudiciais decorrentes do conteúdo de taninos (HEINEMANN et al., 1998; CORREA et al., 2002).

Quanto à cor, a despeito de sua importância, nenhuma avaliação está disponível na literatura e apenas RUIZ-CARRERA & FRANCO-GOMES (1986), SGARBIERI (1996) e HEINEMANN et al. (1998) mencionam que concentrados

protéicos de folhas de mandioca são verdes, como normalmente são os concentrados protéicos foliares. Porém, este atributo de qualidade apresenta tamanho impacto na avaliação do produto pelo consumidor que, não raramente, resulta em efeitos no juízo sobre o sabor, textura, umidade e validade do alimento, determinando, muitas vezes, a decisão sobre a aquisição ou rejeição do mesmo (GOOD, 2004). Inclusive, nos pontos de venda, é pouco comum o consumidor provar um alimento antes de adquiri-lo, exceto nos eventos de demonstração; por outro lado, quase sempre é possível avaliar a aparência global do produto, incluindo a cor. Por este motivo, a indústria de alimentos dá especial atenção à cor dos ingredientes de uma formulação e às mudanças que podem ocorrer quanto a este atributo durante as etapas de processamento (HUNTERLAB, 2004).

Apesar disso, a cor dos alimentos não tem sido freqüentemente avaliada em função da necessidade de equipamentos de custo elevado (OLIVEIRA et al., 2003). A câmera digital associada ao emprego de *softwares* específicos vem se consolidando como uma alternativa aos instrumentos tradicionais, permitindo análises a um custo mais baixo e com menor consumo de tempo.

### **3.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE NUTRICIONAL DA PROTEÍNA DE FOLHAS DE MANDIOCA**

A qualidade de uma proteína pode ser avaliada por métodos químicos, biológicos e microbiológicos (WAITZBERG & LOGULLO, 2000). Entretanto, a avaliação biológica permanece como o método preferido, pois permite determinar a biodisponibilidade da proteína (SILVA, 1990), uma vez que está fundamentado na resposta de um organismo à ingestão de uma proteína em estudo (WAITZBERG & LOGULLO, 2000).

Vários trabalhos já foram desenvolvidos visando avaliar a qualidade da proteína de folhas de mandioca. Os resultados, porém, são, em algum grau, conflitantes. RUIZ-CARRERA & FRANCO-GÓMEZ (1986), avaliando massas alimentícias suplementadas com concentrado protéico de folhas de mandioca, observaram que a qualidade protéica melhorou à medida que foi aumentado o nível de substituição do trigo por concentrado protéico, entre 0,0 e 20,0%. Estes autores concluíram que o concentrado protéico de folhas de mandioca poderia ser usado

para suplementar produtos elaborados à base de trigo em nível de 20,0%, com o qual foi alcançada a máxima qualidade protéica nas massas estudadas.

ROSAS-ROMERO & ACOSTA (1986) também avaliaram a qualidade de um concentrado protéico de folhas de mandioca por meio de ensaio biológico, tendo concluído que o concentrado apresentava um comportamento extremamente pobre como fonte protéica, uma vez que as cobaias perderam peso consistentemente durante o período experimental. Os autores creditaram estes resultados ao conteúdo de taninos do concentrado (2,1% b.s.), o qual teria também, prejudicado a ingestão da ração suplementada com 10,0% do concentrado.

SALGADO & SANTOS (1986) pesquisaram a qualidade de um concentrado de folhas de mandioca, concluindo que esta proteína era de baixo valor nutricional quando empregada como única fonte protéica da dieta, causando perda de peso das cobaias.

SILVA (1990) avaliou a qualidade nutricional de um produto extrusado à base de folhas e de farinha de mandioca e concluiu que a proteína de folhas de mandioca poderia ser utilizada como fonte protéica para a alimentação humana, desde que suplementada com outra proteína rica em metionina.

CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI (1994), investigando a qualidade de concentrados protéicos de folhas de mandioca, encontraram resultados ainda melhores do que os de RUIZ-CARRERA & FRANCO-GÓMEZ (1986) e afirmaram que as variações observadas entre os resultados de diversos autores podem ser explicadas por vários fatores, tais como variedade da planta, tratamento tecnológico, redução de substâncias tóxicas e antinutricionais e perda de nutrientes.

HEINEMANN et al. (1998) estudaram a qualidade uma mistura de farinha de trigo e concentrado protéico de folhas de mandioca e concluíram que a adição de concentrado em níveis de até 10,0% à farinha não melhorou a qualidade protéica da mesma, embora a presença de concentrado na dieta não tenha causado qualquer alteração no comportamento das cobaias, inclusive quanto à ingestão de alimento. Diferentemente, segundo os autores, ocorreu um aumento de consumo, indicando que a palatabilidade das rações era satisfatória. Entretanto, foi observado, neste estudo, que o aumento da adição de concentrado à farinha fazia diminuir a digestibilidade das rações.

ORTEGA-FLORES et al. (2003), em trabalho semelhante aos citados anteriormente, relataram que a folha poderia ser empregada na formulação

de produtos alimentares em percentuais inferiores a 50,0%, já que, acima desse percentual, poderia ocorrer o comprometimento do valor protéico do produto em função do elevado conteúdo de fibras observado (52,1% b.s.).

Apesar da divergência dos resultados destes diversos estudos, os autores são unânimes em afirmar que o conteúdo de cianeto nos produtos avaliados não é um interferente da qualidade protéica das rações, uma vez que os processos de obtenção dos derivados de folhas de mandioca causaram eliminação deste composto ou redução a níveis não tóxicos.

### **3.7 AVALIAÇÃO DA COR DE ALIMENTOS**

Cor é a definição da percepção visual que resulta da interação entre uma fonte iluminante, um objeto e um observador (WANDELL, 1996).

A luz incide sobre o objeto e, refletida pelo mesmo, alcança a retina do olho e é absorvida pela rodopsina (pigmento fotossensível), a qual é decomposta, excitando os receptores sensoriais denominados bastonetes, que enviam, então, sinais ao sistema nervoso central. A excitação dos bastonetes ocorre por redução da condutância elétrica de sua membrana aos íons sódio, o que provoca uma alteração no potencial de membrana, com aumento da eletronegatividade da mesma. Os cones, por outro lado, apresentam três diferentes tipos de pigmentos sensíveis à cor, o que os torna seletivamente sensíveis à cor azul, verde ou vermelho. Nos cones, primeiramente, a luz é absorvida pela iodopsina, semelhante à rodopsina, e, por um mecanismo embasado nos mesmos princípios citados anteriormente, a iodopsina é decomposta e os cones são estimulados, enviando sinais ao sistema nervoso central. A interpretação final da cor é um mecanismo complexo ainda não completamente esclarecido e ocorre, em parte, na própria retina e, em parte, no cérebro. Os cones são responsáveis pela visão das cores em geral e os bastonetes estão envolvidos com a visão em preto e branco ou claro-escuro (GUYTON, 1997).

As cores variam em três dimensões: luminosidade (L), a qual indica a relação entre a luz refletida e a luz absorvida; tonalidade cromática ou coloração (H), que é o aspecto da cor que pode ser descrito por palavras e croma (C), o qual

expressa o quanto uma cor difere do cinza de mesma intensidade (POMERANZ & MELOAN, 1994).

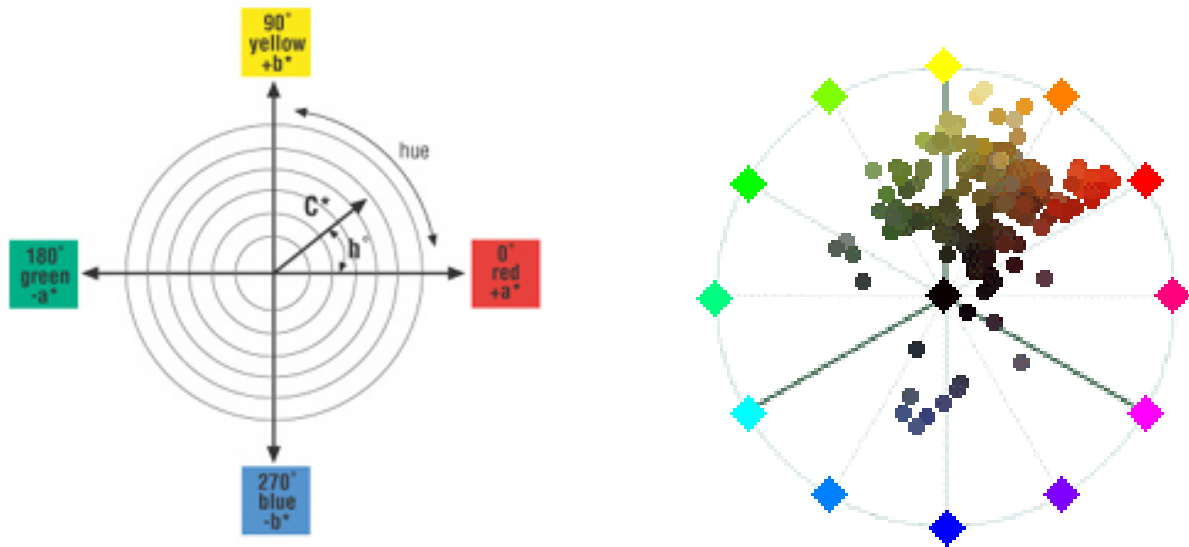
Estas dimensões são arranjadas no espaço físico de diversas maneiras, de acordo com o sistema de cor: CIE, Hunter, CIELAB, Munsell, entre outros. Estes sistemas foram padronizados e é possível, através de equações matemáticas, a interconversão dos dados entre todos eles (SOARES, 2000).

O sistema CIE especifica a cor em termos de três valores primários X (vermelho), Y (verde) e Z (azul), os quais representam as cores primárias (POMERANZ & MELOAN, 1994; PEREZ, 2001).

O sistema Hunter L, a, b, baseado na teoria de Hering das cores opostas, apresenta um espaço de cor onde a luminosidade é L e a porção cromática foi baseada nas coordenadas cartesianas retangulares a (componente vermelho-verde) e b (componente amarelo-azul) (SOARES, 2000).

O sistema CIELAB, derivado da transformação não linear do sistema CIE, define o espaço de cor (figura 1) dentro das coordenadas retangulares  $a^*$  e  $b^*$  junto com outro espaço nas coordenadas cilíndricas  $L^*$  (luminosidade),  $H^*$  (tonalidade cromática ou coloração) e  $C^*$  (croma ou saturação). As coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  definem os mesmos componentes L, a, b do sistema Hunter (SOARES, 2000). A luminosidade ( $L^*$ ) descreve a cor em termos de mais clara e mais escura e é expressa em uma escala de 0 a 100, onde o zero representa o preto absoluto e o 100 representa o branco absoluto (ABNT, 1992).

Outro modelo de espaço de cor denominado RGB é, provavelmente, o mais utilizado entre os modelos de cores, especialmente para dados digitalizados em 8 bits. A teoria do espaço RGB (vermelho-verde-azul), de Thomas Young, é baseada no princípio de que diversos efeitos cromáticos são obtidos pela projeção da luz branca através dos filtros vermelho, verde e azul e pela superposição de círculos nas cores projetadas (PEREZ, 2001).



**Figura 1** – Representação gráfica dos parâmetros de cor (HUNTERLAB, 2004).

O desenvolvimento tecnológico no processamento digital permitiu o aparecimento, dentre outros periféricos, dos digitalizadores de imagens (*scanners* e câmeras), possibilitando o processamento da luz e da cor tanto na forma visível, nos monitores, quanto na forma impressa. O processamento digital da imagem cria uma nova unidade de área, o *pixel*, o qual corresponde a um ponto no monitor, que pode estar aceso ou apagado, ou em intensidades intermediárias nos sistemas de escala de cinza ou em cores (PORTUGAL et al., 2001; SACHS et al., 2001).

Numa alternativa aos instrumentos tradicionais, a combinação de câmera digital, computador e *software* adequado pode permitir uma análise da cor de alimentos versátil e por um baixo custo (PAPADAKIS et al., 2000).

SACHS et al. (2002) desenvolveram um aplicativo para ler, *pixel a pixel*, cores de área pré-selecionada de imagem digitalizada, bastando escanear ou fotografar as amostras de interesse em condições padronizadas, gerando imagens digitais. O programa, então, converte as áreas selecionadas das imagens em conjuntos de valores médios RGB (SACHS et al., 2001).

### 3.8 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS

As proteínas são usualmente utilizadas como ingredientes alimentares não só pelo aspecto nutricional, mas também pela capacidade de conferir propriedades sensoriais e funcionais (RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al., 2005). A expressão propriedade funcional pode ser definida como qualquer propriedade físico-química que afeta o processamento e o comportamento da molécula no sistema alimentar (KINSELLA, 1976).

As propriedades químicas e físicas que determinam a funcionalidade das proteínas alimentares incluem tamanho, forma, composição e seqüência de aminoácidos, bem como carga líquida e distribuição de cargas, taxa de hidrofobicidade/hidrofilicidade, estruturas secundária, terciária e quaternária da proteína, características de mobilidade/rigidez da molécula e habilidade para reagir/interagir com outros componentes do sistema (DAMODARAN, 1996).

As várias propriedades funcionais exibidas pelas proteínas podem ser classificadas em a) propriedades hidrodinâmicas, tais como viscosidade e formação de gel e b) propriedades de superfície, como solubilidade, propriedades espumantes e emulsificantes. As primeiras dependem principalmente do tamanho, forma e flexibilidade molecular, enquanto as de superfície estão mais estreitamente relacionadas às características topográficas e químicas da superfície da molécula protéica (DAMODARAN & PARAF, 1997).

O emprego de proteínas vegetais na indústria de alimentos depende da versatilidade de suas propriedades funcionais, as quais são influenciadas por fatores intrínsecos, além das condições e método de concentração, sendo a precipitação isoelétrica o procedimento mais amplamente utilizado para este fim (RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al., 2005). Entretanto, apesar dos inúmeros estudos já desenvolvidos visando potencializar a utilização das proteínas das folhas de mandioca, ainda são poucas as referências na literatura sobre as propriedades funcionais de concentrados protéicos obtidos a partir deste material.

### 3.8.1 Solubilidade protéica

A solubilidade é um indicador útil da funcionalidade de proteínas em sistemas alimentares e também da extensão da desnaturação decorrente de tratamento térmico ou químico (ALOBO, 2003).

A principal vantagem de uma alta solubilidade é a de permitir uma eficiente e rápida dispersão das moléculas protéicas, facilitando a difusão da proteína na interface água-ar ou água-óleo, o que melhora sua atividade de superfície (DAMODARAN, 1996). A solubilidade protéica em meio aquoso também é útil na determinação das adequadas condições de extração e fracionamento das proteínas nos alimentos (MORR, 1985; LOURENÇO, 2000).

A solubilidade é uma propriedade físico-química fundamental das proteínas, dada a sua influência sobre a funcionalidade global destas macromoléculas, afetando particularmente as propriedades emulsificantes, espumantes, viscosidade e capacidade de formação de gel (SGARBIERI, 1996).

As principais interações que influenciam as características de solubilidade das proteínas são as de natureza hidrofóbica e iônica. As hidrofóbicas promovem interações proteína-proteína e resultam em decréscimo da solubilidade, enquanto as iônicas promovem interações proteína-água e resultam em solubilidade aumentada. As proteínas interagem com a água por meio de ligações dipolo-dipolo ou pontes de hidrogênio, ou ainda através de interações iônicas das cadeias laterais aminoacídicas (DAMODARAN, 1996).

DAMODARAN & PARAF (1997) salientam que a solubilidade protéica é afetada sensivelmente pelo balanço entre repulsões e atrações intermoleculares, forças que são definidas pelos grupos de aminoácidos em sua cadeia lateral. Neste sentido, os aminoácidos são classificados como hidrofóbicos (fenilalanina, triptofano, prolina, alanina, valina, metionina e isoleucina), hidrofílicos (cisteína, treonina, serina, asparagina, glutamina, glicina e tirosina), polares com carga positiva (histidina, lisina e arginina) e polares com carga negativa (ácido aspártico e ácido glutâmico).

A solubilidade supõe a separação das moléculas do solvente, a separação das moléculas da proteína e a dispersão destas com o solvente com máxima interação entre a proteína e o solvente através de ligações de hidrogênio,

ligações dipolo-dipolo e interações iônicas (DAMODARAN, 1996). Como nos sistemas alimentares o solvente é a água, a solubilidade das proteínas é classificada como uma propriedade hidrofílica (SGARBIERI, 1996).

Portanto, a solubilidade de uma proteína é o resultado do balanço entre a atração intermolecular das proteínas e a atração proteína-solvente, sendo ditada principalmente pela relação entre a hidrofílicidade e a hidrofobicidade da superfície da molécula que faz contato com a água circundante. Assim, quanto menor o número de trechos hidrofóbicos superficiais, maior a solubilidade (ZAYAS, 1997; CHEL-GUERRERO et al., 2002).

A solubilidade da proteína depende da composição e seqüência de aminoácidos, peso molecular, conformação da molécula e conteúdo de grupos de aminoácidos polares e apolares, o que determina a densidade e a distribuição de carga. Portanto, a solubilidade é afetada pelas condições do meio que interfiram com estas características físico-químicas, tais como pH, natureza e concentração de íons e força iônica, temperatura e presença de solventes orgânicos (ZAYAS, 1997), os quais, reduzem a constante dielétrica do meio e a hidratação das moléculas protéicas, provocam desnaturação e, conseqüentemente, reduzem a solubilidade protéica (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004). Assim, tratamentos que acarretem perda da estrutura nativa da proteína podem reduzir a solubilidade protéica (ROSSI & GERMONDARI, 1982), ou aumentá-la, dependendo de quão drásticos forem (RANGEL et al., 2003).

Abaixo e acima do ponto isoelétrico, as proteínas têm uma carga positiva ou negativa, a qual contribui para um aumento da solubilidade protéica pela hidratação dos resíduos carregados e pelas forças repulsivas eletrostáticas. No ponto isoelétrico, a carga líquida é zero, predominam as forças atrativas intermoleculares e as moléculas protéicas tendem à associação (BADIFU & AKUBOR, 2001) via interações hidrofóbicas (DAMODARAN, 1996), motivo pelo qual a solubilidade é mínima no pH correspondente ao ponto isoelétrico da proteína (ARAÚJO, 1999).

A desnaturação também altera o perfil de solubilidade protéica devido a um aumento na hidrofobicidade de superfície da proteína em conseqüência do seu desdobramento, que altera o balanço entre as interações proteína-proteína e proteína-solvente em favor das primeiras (DAMODARAN, 1996).

Com relação à presença de eletrólitos, geralmente, a solubilidade aumenta com o aumento moderado da concentração de sais devido ao efeito *salting-in* e em altas concentrações salinas a solubilidade não aumenta devido ao efeito *salting-out* (EL-ADAWY et al., 2001; BORA & RIBEIRO, 2004).

Em pH e força iônica constantes, a solubilidade da maioria das proteínas aumenta com o aumento da temperatura entre 0 e 40°C. Acima de 40°C, o grau de desnaturação atingido gera maior exposição de grupos não polares, agregação e precipitação, ou seja, é reduzida a solubilidade (DAMODARAN, 1996).

ORTIZ & WAGNER (2002), estudando a solubilidade em isolados protéicos de soja, relataram que quando estes produtos são tratados termicamente (90°C) em pH neutro ocorre uma agregação que reduz a solubilidade, mas quando o tratamento térmico é realizado em condições ácidas (90°C/pH 1,6) a desaminação e a hidrólise decorrentes contribuem para melhoria da solubilidade protéica.

YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) compararam solubilidade protéica de farinha de castanha crua e torrada na faixa de pH entre 3,5 e 10 e concluíram que tratamentos térmicos drásticos como a torrefação (100-120°C/15 minutos) prejudicam esta propriedade significativamente. Os autores atribuíram a perda de solubilidade ao tratamento térmico, que causa um aumento da hidrofobicidade de superfície decorrente do desdobramento das moléculas protéicas, além de um aumento do tamanho molecular através de interações hidrofóbicas e formação de pontes dissulfeto. A solubilidade, neste caso, foi maior nos extremos de pH, com o máximo em pH igual ou superior a 10.

BEJOSANO & CORKE (1999) estudaram a solubilidade de concentrados protéicos de amaranto e trigo sarraceno comparativamente com a de isolado protéico de soja, na faixa de pH de 3 a 9, tendo observado menor solubilidade da proteína de soja em todo o intervalo, exceto em pH 9. Os autores concluíram que a redução da solubilidade nestas condições reflete o efeito do processo de secagem (70°C) dos concentrados de amaranto e trigo sarraceno, o que provavelmente induziu maior desnaturação e reduziu sua solubilidade no extremo da alcalinidade.

BADIFU & AKUBOR (2001), avaliando a solubilidade de uma farinha de *Treculia africana* Decne (izaquente), um fruto indicado como potencial suplemento protéico na Nigéria, encontraram solubilidade de 50,0% em pH 2, 12,0% em pH 4 e 52,0% em pH 10. Os autores também observaram que baixas

concentrações de cloreto de sódio (0,2 a 1,0 mol/dm<sup>3</sup>) aumentaram a solubilidade na faixa de pH 4 a 6 (onde as proteínas foram menos solúveis em água), provavelmente devido ao efeito *salting-in*; as mesmas concentrações de sal reduziram a solubilidade em pH 2 e na faixa de 8 a 12, possivelmente pelo efeito *salting-out*.

RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al. (2005) observaram mínima solubilidade de isolado protéico de tremoço em pH 4 a 6, intervalo em que se situa, normalmente, o ponto isoelétrico de proteínas vegetais. Em pH 2, a solubilidade do isolado protéico foi de 91,0% e em pH 10 foi de 99,0%. Albuminas isoladas de amaranto também apresentaram um máximo de solubilidade em pH alcalino, especialmente pH 8 (SILVA-SÁNCHEZ et al., 2004), o que corrobora a afirmação de DAMODARAN (1996) de que a maioria das proteínas é significativamente solúvel em pH alcalino.

A mínima solubilidade do isolado de feijão-de-lima esteve ao redor do pH 5 (5,0%), sendo que em pH 7 a solubilidade foi maior (37,0%) e os valores máximos foram observados nos extremos de pH (50,0% em pH 2 e 70,0% em pH 10). Este perfil torna o isolado indicado para *babyfood*, produtos de panificação, sobremesas, bebidas carbonatadas e dietéticas (CHEL-GUERRERO et al., 2002). EL-ADAWY et al. (2001), investigando proteínas de farinha de tremoço, também observou mínima solubilidade em pH 4,5 (17,6%) e um aumento da mesma nos extremos de pH (2 e 11).

Segundo KINSELLA, DAMODARAN & GERMAN (1985), a precipitação isoelétrica é o método de recuperação protéica que causa menor desnaturação e, conseqüentemente, menores prejuízos às propriedades funcionais, embora a exposição prolongada ao ácido possa causar perda de solubilidade. Neste sentido, GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000) postularam que a solubilidade nula observada para um concentrado protéico de torta de castanha-do-Pará no ponto isoelétrico (pH 3) foi conseqüência da agitação da farinha de castanha em ácido durante 3 horas para extração da proteína. As autoras ainda acrescentam que a presença de polissacarídeos no concentrado, que apresentou 27,0% de carboidratos, também pode ter prejudicado sua solubilidade, uma vez que estes compostos competem com as proteínas pela água disponível. Fora do ponto isoelétrico, este concentrado apresentou alta solubilidade protéica (40,0% em pH 9 a 88,9% em pH 12), tendo sido sugerida sua aplicação em produtos cárneos e de panificação.

SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999) compararam dois isolados protéicos de grão-de-bico (um extraído em pH 12 e precipitado no ponto isoelétrico e outro extraído em pH 10,5 na presença de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  e precipitado no ponto isoelétrico), observando que o extraído em pH 10,5 apresentou maior solubilidade protéica (46,3% contra 26,2% do primeiro) e maior capacidade emulsificante, provavelmente devido às condições de extração das proteínas. Os autores sugerem que, neste caso, a extração em pH 10,5 permitiu manter a conformação nativa da proteína em maior extensão. O maior conteúdo de proteínas desnaturadas no isolado extraído em pH 12 teria se refletido em solubilidade mais pobre. Também um alto teor de lipídeos associados às proteínas neste último isolado pode ter reduzido a solubilidade.

RANGEL et al. (2003) estudaram um isolado protéico de feijão caupi obtido por precipitação isoelétrica e sua solubilidade protéica na faixa de pH entre 2 e 11, observando que a solubilidade foi reduzida entre pH 4 e 6 ( $\leq 50,0\%$ ), variando ao redor 80,0% nos extremos de pH (levemente superior na faixa alcalina). Segundo os autores, os resultados indicam que estes isolados protéicos podem ser usados na indústria de alimentos em processos conduzidos em pH abaixo ou acima do ponto isoelétrico (cerca de pH 5). Como a solubilidade foi alta em  $\text{pH} \geq 7$ , o isolado poderia facilmente ser incorporado em produtos de pH neutro ou básico. Possíveis usos, segundo os autores, incluem produtos de panificação, bebidas *diet* e sobremesas.

CHANDI & SOGI (2006) pesquisaram a solubilidade de concentrados protéicos de farelo de arroz e encontraram valores variando entre 47,7 e 73,1%, em função da variedade testada. Os autores referiram que estas solubilidades são maiores do que as relatadas para a caseína (27,5%) e sugeriram a aplicação dos concentrados estudados em produtos de panificação e molhos.

FONTANARI (2006) avaliou a solubilidade de farinha de sementes de goiaba e de dois isolados protéicos extraídos da mesma em pH 11,0 e 10,5 e precipitados no ponto isoelétrico (pH 4,5). Este autor observou menor solubilidade para a farinha (60,0 a 66,0% fora do ponto isoelétrico), com os isolados apresentando solubilidades semelhantes e variando, em média, entre 70,0% (pH 2) e 93,0% (pH 12), sendo a mesma nula no ponto isoelétrico.

MODESTI (2006) avaliou a solubilidade protéica em folhas de mandioca desidratadas e moídas e em dois concentrados protéicos obtidos destas

folhas, tendo encontrado maior solubilidade para as folhas (47,4% em pH 3 e 88,7% em pH 9). O concentrado obtido por termocoagulação apresentou solubilidade protéica entre 9,3 e 12,0%; a solubilidade do concentrado obtido por precipitação isoelétrica variou entre 6,7 e 11,0%. Tanto para as folhas desidratadas quanto para os dois concentrados protéicos, a menor solubilidade foi observada em pH 3 e a maior em pH 9. O autor explica a baixa solubilidade dos concentrados protéicos a partir do provável grau de desnaturação promovido pelos processos de extração e concentração da proteína. Dada a maior solubilidade das folhas desidratadas e moídas, o autor sugere que este material seria o mais indicado para aplicação em massas, sopas, produtos de panificação e confeitaria e bebidas carbonatadas.

### **3.8.2 Capacidade de Absorção de Água e de Óleo**

A capacidade de absorção de água é um indicador útil sobre a aplicabilidade em potencial de um concentrado protéico em sistemas alimentares aquosos, especialmente naqueles que envolvem a elaboração de massas (SILVA-SÁNCHEZ, et al., 2004), e está relacionada à capacidade de uma proteína embeber água e retê-la contra a força da gravidade dentro de uma matriz protéica, o que depende, em parte, da sua composição em aminoácidos: quanto maior o número de resíduos carregados, maior a capacidade de hidratação da proteína (DAMODARAN, 1996).

A interação proteína-água, que resulta em intumescimento, sorção, ligação e retenção de água, é importante na formulação de alimentos, sobretudo nos cárneos, de panificação e confeitaria, nos quais as proteínas devem embeber e reter água em dispersão e, simultaneamente, conferir corpo (espessamento) (HERMANSON, 1973; LORENÇO, 2000).

Vários fatores ambientais, como pH, força iônica, tipo de sal presente, temperatura e conformação da proteína, afetam a capacidade de absorção de água da proteína (DAMODARAN, 1996), além da concentração protéica na solução (SILVA-SÁNCHEZ et al., 2004).

As proteínas apresentam a menor hidratação no seu ponto isoelétrico, onde a máxima interação proteína-proteína resulta em mínima interação

com a água, sendo que, para grande parte das proteínas, a capacidade de absorção de água é maior na faixa de pH entre 9 e 10 do que em qualquer outro pH, em decorrência da ionização dos resíduos sulfidril e tirosina. Já acima do pH 10, a perda dos grupos amino dos resíduos de lisina carregados positivamente resulta em reduzida capacidade de absorção de água (DAMODARAN, 1996).

Em baixas concentrações ( $<0,2 \text{ mol/dm}^3$ ), os sais aumentam a hidratação de proteínas, porque íons hidratados ligam fracamente grupos carregados das moléculas protéicas; já em altas concentrações salinas, os íons competem com as proteínas pela água do meio, reduzindo a hidratação das moléculas protéicas (SGARBIERI, 1996; BADIFU & AKUBOR, 2001).

SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999) encontraram capacidades de absorção de água de 178,8% para a farinha de grão-de-bico contendo 24,7% b.s. de proteína e de 199,5% para um isolado protéico obtido desta farinha contendo 88,1% b.s. de proteína extraída em pH 10,5 na presença de sulfito de sódio e precipitada no ponto isoelétrico (4,3). Estes autores também observaram absorção de água de 343,7% para um isolado protéico preparado a partir da farinha de grão-de-bico com extração em pH 12 sem sulfito de sódio contendo 78,0% b.s. de proteína, tendo concluído que, nestas condições de extração, houve menor perda de proteínas solúveis. Devido à maior capacidade de absorção de água, indicaram este concentrado para aplicação em produtos cárneos ou de panificação.

EL-ADAWY et al. (2001) encontraram capacidade de absorção de água variando entre 209,6 e 225,7% para isolados protéicos de tremoço contendo, em média, 91,0% b.s. de proteína, e concluíram que a exposição de sítios hidrofílicos decorrente da desnaturação parcial promovida pelos procedimentos de obtenção foi a causa dos bons resultados observados. Os autores ainda sugeriram que estes podem ser vantajosos ingredientes em sistemas alimentares como produtos cárneos e de panificação, os quais requerem proteínas com boa absorção de água.

ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002), estudando as propriedades funcionais de concentrados protéicos de folhas diversas obtidos por termo-coagulação e com teor médio de proteína de 47,2% b.s., encontraram capacidades de absorção de água entre 149,1 e 471,5%, tendo afirmado que estes valores são úteis para a elaboração de produtos viscosos, tais como sopas e molhos. GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000) avaliaram as propriedades

funcionais de um concentrado protéico com 59,3% b.s. de proteína obtido de torta de castanha-do-Pará através de precipitação isoelétrica e observaram uma capacidade de absorção de água de 338,0%, o que os levou a destacar a adequação desta propriedade à aplicação em produtos cárneos, de confeitaria, pastelaria e massas em geral.

Mais recentemente, CHANDI & SOGI (2006) relataram capacidade de absorção de água de 3,8 a 5,6 g de água/g de proteína em concentrado protéico de farelo de arroz contendo 55,2% b.s. de proteína, em média, e concluíram que estes materiais apresentaram afinidade pela água suficiente para indicar sua aplicação em produtos que requeiram elevada absorção de água.

CHEL-GUERRERO et al. (2002) encontraram capacidade de absorção de água de 2,6 e 3,8 g de água/g de proteína para farinhas de feijão-de-lima (24,0% b.s. de proteína) e feijão-de-porco (26,9% b.s. de proteína), respectivamente. Para os isolados protéicos obtidos destas farinhas, os quais apresentaram 71,1 e 73,8% b.s. de proteína, respectivamente, foram observados valores de 3,5 e 2,5 g de água/g de proteína. As diferenças observadas entre os isolados foram explicadas pelos autores como consequência das diferentes frações protéicas, já que o isolado protéico de feijão-de-lima contém sete vezes mais albumina do que o isolado de feijão-de-porco, com um correspondente aumento da fração de globulina. Os mesmos autores relataram que o conteúdo de fibra das farinhas de feijão-de-lima e feijão-de-porco (5,1 e 13,6% b.s.) é baixo e assumiram que não afetou significativamente a capacidade de absorção de água.

YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006), investigando as capacidades de absorção de água de concentrados protéicos de farinha de castanha, com conteúdo protéico médio de 81,7% b.s., observaram valores entre 0,8 e 1,6 mL de água/g de proteína, mencionando que os mesmos são adequados ao emprego em produtos cárneos, de panificação e molhos, entre outros. Para a farinha de castanha (53,7% b.s. de proteína, em média), os autores citaram capacidade de absorção de água de 1,0 a 1,6 mL por grama de proteína, com os menores resultados tendo sido observados para a farinha torrada e seu concentrado. Por este motivo, os autores sugeriram que o tratamento térmico (175°C) causou intensa exposição de grupamentos hidrofóbicos com conseqüente redução da capacidade de absorção de água. RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al. (2005), estudando um isolado protéico de

tremoço, observaram resultados semelhantes para a capacidade de absorção de água (1,7 mL/g de proteína).

Resultados semelhantes também foram relatados por FONTANARI (2006) ao pesquisar as propriedades funcionais de um resíduo industrial com potencial para aplicação como ingrediente alimentar. O autor avaliou a capacidade de absorção de água de farinha de sementes de goiaba e observou valores entre 1,1 e 1,7 mL de água/g de proteína.

Já MODESTI (2006), encontrou 667,0% de absorção de água para folhas de mandioca desidratadas e moídas e 367,0% para dois concentrados protéicos, obtidos por termocoagulação e por precipitação isoelétrica, recomendando estes materiais para aplicação em produtos viscosos, tais como sopas e molhos, devido à alta absorção de água. O autor sugere que a maior capacidade de absorção de água das folhas desidratadas moídas seja devida à maior presença de grupamentos hidrofílicos neste material.

CHANDI & SOGI (2006) afirmam que uma elevada capacidade de absorção de água é particularmente interessante para ingredientes a serem aplicados em produtos de panificação que serão empacotados, pois previnem a perda de umidade e contribuem para a manutenção do frescor e palatabilidade de produtos assados. Da mesma forma, YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) referem que as interações proteína-água e proteína-óleo, em sistemas alimentares, são muito importantes devidos aos efeitos destas interações na retenção de sabor e na textura dos alimentos, salientando que os métodos de processamento têm significativo impacto na conformação e hidrofobicidade das moléculas protéicas e, portanto, afetam a capacidade de absorção de água e de óleo das proteínas.

Quanto à propriedade de absorção de óleo, esta pode, especialmente, determinar se um material protéico desempenhará satisfatoriamente em produtos cárneos, sendo que os mecanismos de absorção de óleo são principalmente atribuídos à hidrofobicidade das moléculas protéicas (SILVA-SÁNCHEZ et al., 2004). As proteínas, devido ao seu caráter anfifílico, têm a capacidade de envolver as gotículas de gordura, maximizando o contato dos grupos polares e minimizando o contato dos grupos hidrofóbicos com a água, evitando a separação das fases (MANGINO, 1994).

Uma elevada capacidade de absorção de óleo é essencial para a formulação de produtos como salsichas, massas de bolos, maionese e outros

molhos para saladas (CHANDI & SOGI, 2006), contribuindo para a palatabilidade e retenção de sabor destes produtos (RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al., 2005). SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999) indicam materiais com elevada capacidade de absorção de óleo para aplicação, especialmente, em alimentos nos quais a retenção de sabor seja desejável, tais como produtos cárneos e derivados do leite. Estes autores observaram 135,8% de capacidade de absorção de óleo em uma farinha de grão-de-bico, 409,4% em um concentrado protéico obtido desta farinha em pH 12 e de 125,7% para o concentrado obtido em pH 10,5, atribuindo o maior resultado citado às condições de extração em pH 12, as quais provavelmente acarretaram menor perda de proteínas solúveis.

GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000) encontraram uma capacidade de absorção de óleo de 145,0% para concentrado protéico de torta de castanha-do-Pará e EL-ADAWY et al. (2001) observaram resultados superiores (271,6 a 281,5%) em concentrados protéicos de tremoço. Por outro lado ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002), para concentrados protéicos de folhas diversas, citaram absorção de óleo média de 22,0%, concluindo que estes concentrados não desempenhariam satisfatoriamente em sistemas alimentares que exigissem boa retenção de sabor.

CHEL-GUERRERO et al. (2002) relataram para farinha de feijão-de-lima e de feijão-de-porco valores de 1,8 e 3,2 g de óleo/g de proteína, respectivamente, sendo que, para os concentrados protéicos obtidos destes materiais, as capacidades de absorção de óleo foram de 4,5 e 2,7 g de óleo/g de proteína. Os autores consideraram a absorção de óleo dos concentrados protéicos citada acima como elevada e a atribuem a altos níveis de resíduos não-polares nas moléculas protéicas, salientando que estes valores tornam os concentrados protéicos potencialmente úteis em sistemas alimentares, especialmente pela contribuição à retenção de sabor, melhoria da palatabilidade e extensão da vida de prateleira pelo retardo da perda de umidade e gordura.

YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) relataram absorção de óleo de 1,6 a 2,6 mL/g de proteína para farinha de castanha, e de 1,0 a 2,1 mL/g de proteína para concentrados protéicos obtidos desta farinha, sendo que os menores resultados foram encontrados para a farinha torrada a 175°C e seu concentrado derivado. Os autores sugerem que tenha ocorrido excessiva desnaturação protéica durante a torrefação da farinha, o que justifica a menor absorção de óleo.

FONTANARI (2006) referiu absorção de 1,7 a 2,3 mL de óleo/g de proteína para concentrados protéicos de farinha de semente de goiaba e CHANDI & SOGI (2006) observaram capacidade de absorção de óleo variando entre 3,7 e 9,2 g de óleo/g de proteína para concentrados protéicos de farelo de arroz, concluindo que estes valores caracterizam elevada habilidade de interação proteína-óleo.

MODESTI (2006) relatou capacidade de absorção de óleo de 107,2% para folhas de mandioca, de 53,6% para o concentrado protéico obtido por termo-coagulação e de 48,0% para o obtido por precipitação isoelétrica, concluindo que, dados estes resultados, os concentrados são adequados à formulação de sopas e produtos cárneos e de panificação, embora as folhas desidratadas e moídas sejam o material mais indicado para este fim. O mesmo autor afirma que o maior conteúdo de fibras das folhas desidratadas moídas pode ser o fator causal da maior absorção de óleo observada e salienta que diferenças destes resultados quando comparados aos de outros autores podem refletir uma variação normalmente esperada entre cultivares.

### **3.8.3 Propriedades Emulsificantes**

Uma emulsão é um sistema que contém duas fases líquidas imiscíveis, dispersas uma na outra (WALSTRA, 1996). Emulsões alimentares são misturas termodinamicamente instáveis de líquidos imiscíveis, tendo uma fase dispersante como fase contínua e uma fase dispersa na forma de gotículas. Geralmente, as emulsões alimentares são do tipo óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O) (PEARCE & KINSELLA, 1976).

As proteínas são compostas por aminoácidos carregados, aminoácidos polares não carregados e aminoácidos não polares, os quais atribuem a estas macromoléculas um potencial emulsificante, caracterizando-as como agentes surfactantes, possuidores de propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas e capazes de interagir tanto com a água quanto com o óleo em um sistema alimentar (YU, MOHAMEDNA & GOKTEPE, 2006).

As proteínas adsorvem na interface entre as gotículas de óleo dispersas e a fase aquosa contínua, conferindo espessamento, viscosidade,

elasticidade e rigidez, propriedades que determinam a resistência das gotículas à coalescência, tendo, portanto, função de facilitar a formação da emulsão, diminuir a tensão interfacial e contribuir para a estabilidade da emulsão, formando uma barreira física na interface (CHEFTEL, CUQ & LORIENT, 1989).

Assim como a solubilidade, as propriedades emulsificantes das proteínas são determinadas por um conjunto de características como peso molecular, flexibilidade e conformação estrutural, carga líquida e hidrofobicidade, além de interações com outros componentes alimentares. Diversos fatores afetam as propriedades emulsificantes das proteínas e, entre eles, a solubilidade, o pH, a hidrofobicidade de superfície e a flexibilidade molecular (DAMODARAN, 1996). Entretanto, embora uma correlação positiva entre solubilidade e propriedades emulsificantes de proteínas já tenha sido relatada (BEJOSANO & CORKE, 1999; EL-ADAWY et al., 2001), ela não é absoluta na faixa de solubilidade entre 25,0 e 80,0%, apesar de ser certo que algum grau de solubilidade é necessário para que uma proteína apresente estas propriedades. Quanto ao pH, as proteínas em geral apresentam pobres propriedades emulsificantes em seu ponto isoelétrico, embora possam ser eficientes emulsificantes fora deste pH. Da mesma forma, existe uma fraca correlação positiva entre as propriedades emulsificantes das proteínas e sua hidrofobicidade de superfície. Assim, a flexibilidade molecular na interface óleo-água parece ser o principal determinante destas propriedades das moléculas protéicas, podendo esta flexibilidade ser incrementada por desnaturação parcial da proteína (DAMODARAN, 1996).

As propriedades emulsificantes das proteínas são importantes para vários produtos alimentares, tais como creme de leite, glacês, manteiga, queijo fundido, maionese, produtos cárneos como salsichas e embutidos (CHEFTEL, CUQ & LORIENT, 1989). Alguns autores, inclusive, referem que uma estabilidade de emulsão de cerca de 90,0% indica que um material é efetivo emulsificante e útil para aplicação em molhos, como maionese, especialmente em produtos que requerem aquecimento, pois a interação proteína-lipídeo é favorecida pelo aumento de temperatura na faixa acima de 60°C, permitindo a formação da emulsão antes que ocorra a coalescência (CHEL-GUERRERO et al., 2002).

Para a atividade emulsificante, CHEL-GUERRERO et al. (2002) encontraram valores entre 41,8 e 56,0% quando avaliaram um isolado protéico de feijão-de-lima com 71,13% b.s. de proteína. Já SILVA-SÁNCHEZ et al. (2004)

observaram atividades emulsificantes variando entre 5,0 e 95,0% para albuminas isoladas de amaranto em função do pH e da variedade da planta. Estes autores, inclusive, sugeriram que a propriedade de estabilidade de emulsão pode ser influenciada pela natureza das proteínas, com as globulinas conferindo maior estabilidade às emulsões do que albuminas.

Quanto à estabilidade da emulsão, CHEL-GUERRERO et al. (2002) relataram resultados no intervalo de 20,0 a 100,0% para isolados protéicos de feijão-de-lima e de feijão-de-porco (com 71,1 e 73,8% b.s. de proteína), sugerindo a aplicação destes como estabilizadores na produção de sopas e bolos. Por outro lado, SILVA-SÁNCHEZ et al. (2004) observaram estabilidade de 10,0 a 71,0%, para albuminas isoladas de amaranto.

CHANDI & SOGI (2006) observaram máxima capacidade emulsificante de 40,0% para concentrados protéicos de farelo de arroz contendo entre 47,7 e 73,1% b.s. de proteína, relatando que os mesmos apresentaram elevada estabilidade de emulsão (entre 80,0 e 95% após 24 horas) sob condições de concentração de sal variando entre 0,5 a 1,5% e de concentração de açúcar entre 5,0 e 15,0%. Com base nestes resultados, os autores indicam os concentrados protéicos de farelo de arroz para formulação de alimentos infantis, misturas secas, produtos de panificação, glacês e molhos de saladas, entre outros.

SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999) encontraram capacidade emulsificante de 48,1% para isolado protéico de grão-de-bico (78,0% b.s. de proteína) e ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002) relataram capacidade emulsificante de 48,4% para concentrado protéico de amaranto (35,1% b.s. de proteína). EL-ADAWY et al. (2001) referiram uma capacidade emulsificante superior, de 164 a 169,4% para concentrados protéicos de tremoço (91,0% b.s. de proteína), que classificaram como sendo adequada para incorporação em produtos cárneos e similares.

YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) relataram capacidade emulsificante média de 87,5 mL/g de proteína para concentrados protéicos de farinha de castanha (81,7% b.s. de proteína em média). Os autores classificaram estes concentrados como bons agentes emulsificantes em função destes resultados, tendo-os atribuído ao elevado teor de proteína observado.

MODESTI (2006), pesquisando as propriedades funcionais de folhas de mandioca e de dois concentrados protéicos obtidos das mesmas por termo-

coagulação (54,5% b.s. de proteína) e precipitação isoelétrica (58,0% b.s. de proteína), afirmou que a estabilidade da emulsão destes materiais não é boa.

FONTANARI (2006) encontrou capacidade emulsificante de 37,0 a 140,0 g de óleo/g de proteína para isolados protéicos de farinha de sementes de goiaba em pH 6,6, tendo esta propriedade melhorado significativamente nos extremos de pH (365,0 g de óleo/g de proteína em pH 3 e 375,5 g de óleo/g de proteína em pH 8,5). A adição de cloreto de sódio em concentração de 2,0% diminuiu sensivelmente a capacidade emulsificante (35,5 g de óleo/g de proteína em pH 6,6 e 59,5 g de óleo/g de proteína em pH 8,5). O autor conclui que a elevada capacidade emulsificante nas regiões ácida e alcalina está associada à formação de microdomínios hidrofóbicos pelo ajuste do pH do meio, o que gerou melhoria do equilíbrio hidrofóbico/hidrofílico. O prejuízo observado com a adição de sal foi creditado à interação de íons com as cargas das proteínas, minimizando a solubilização da mesma e reduzindo a exposição de microdomínios hidrofóbicos. O mesmo autor encontrou atividade de emulsão variando entre 73,5 e 76,6%, além de estabilidade entre 74,9 e 78,9%, com ambas as propriedades apresentando leve aumento na região ácida.

Com relação ao efeito do pH na estabilidade da emulsão, MANGINO (1994) afirma que, em valores próximos ao ponto isoelétrico, as proteínas são capazes de formar filmes interfaciais mais coesos e mais viscosos, o que é benéfico para a estabilidade da emulsão. Entretanto, em algumas situações, esta estabilidade pode ser mais elevada em uma faixa de pH distante do ponto isoelétrico devido, particularmente, ao equipamento utilizado para a formação da emulsão, uma vez que maior fornecimento de energia pode levar à adsorção de moléculas mais carregadas, aumentando assim a repulsão de cargas e, portanto, a estabilidade da emulsão.

#### **3.8.4 Propriedades Espumantes**

Espumas consistem de uma fase contínua aquosa e uma fase gasosa (ar) dispersa. Muitos alimentos processados são formados à base de espumas, tais como sorvetes, bolos, merengues, pães, suflês, *mousses* e

*marshmallow*. As propriedades texturais únicas destes produtos derivam de diminutas bolhas de ar dispersas. A propriedade de formação de espuma de uma proteína diz respeito à habilidade da mesma em formar um tenaz e delgado filme na interface gás-líquido de forma que grandes quantidades de bolhas de gás possam ser incorporadas e estabilizadas (DAMODARAN, 1996).

A formação de espuma é análoga à formação de emulsão. No caso da espuma, as moléculas de água rodeiam as gotículas de ar e o ar é a fase não-polar. Teoricamente, o caráter anfipático das proteínas faz com que sejam bons agentes espumantes, trabalhando na interface ar-água para prevenir a coalescência das bolhas (YU, AHMEDNA & GOKTEPE; 2006). As propriedades espumantes das proteínas dependem de vários fatores, tais como a concentração e a solubilidade protéica, a presença de lipídeos e o grau de desnaturação da proteína. Além disso, algumas propriedades moleculares interferem com a habilidade das proteínas formarem espumas estáveis, entre elas a flexibilidade molecular, a hidrofobicidade e a densidade e distribuição de carga (DAMODARAN, 1996).

A relação entre hidrofiliidade e hidrofobicidade, o que depende da origem da proteína e das condições ambientais às quais a mesma é submetida, é fator chave para o equilíbrio das propriedades espumantes (CHEL-GUERRERO et al., 2002).

Muitos autores, investigando as propriedades funcionais de matérias-primas alimentares as mais diversas, encontraram resultados variáveis. ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002), pesquisando concentrados protéicos de folhas diversas, relataram capacidade de formação de espuma entre 4,1 e 18,0% e estabilidade (aos 30 minutos) de 2,0 a 2,9%. YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) citam formação de espuma de 6,0% para farinha de castanha e de 2,0% para o concentrado protéico da farinha, considerando estes valores muito baixos e concluindo que estes materiais não se aplicam aos sistemas alimentares que requeiram boa formação de espuma, tais como bolos e sorvetes.

Já GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000) referiram uma capacidade de formação de espuma de 59,9% para torta de castanha e 9,9% para o concentrado obtido dela, com ambos os materiais apresentando, respectivamente, estabilidades de 74,0% e 94,5%, as quais os autores consideraram baixas para aplicação em quaisquer sistemas alimentares.

Albuminas isoladas de amaranto apresentaram capacidade de formação de espuma entre 45,0 e 132,0%, sendo esta variação função do pH e da variedade da planta. Neste caso, os pesquisadores observaram que a capacidade de formação de espuma foi maior na região de pH ácido (SILVA-SÁNCHEZ et al., 2004). RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al. (2005) também observaram formação e estabilidade de espuma pH-dependentes, com valores entre 220,0 e 500,0% para formação e entre 70,0 e 85,0% para estabilidade da espuma de isolados protéicos de tremoço. Estes autores relataram a maior formação de espuma em pH ácido e a menor na faixa do ponto isoelétrico.

Para isolados protéicos de tremoço, EL-ADAWY et al. (2001) observaram formação de espuma entre 104,0 e 106,0% com estabilidade de 30,0 a 100,0%, atribuindo estes resultados à alta solubilidade protéica e à relevante fração de globulina na composição da proteína e concluindo que estes isolados podem ser úteis para aplicação em bebidas carbonatadas e produtos de panificação (bolos, biscoitos, pães).

CHEL-GUERRERO et al. (2002), trabalhando com isolado protéico de feijão-de-lima, também observaram formação de espuma dependente do pH e seguindo a mesma tendência do perfil de solubilidade protéica, com os melhores resultados ocorrendo nos extremos de pH devido à carga líquida da proteína estar próxima de zero no ponto isoelétrico. Entretanto, estes autores obtiveram as maiores formações de espuma em pH alcalino para o isolado protéico e justificaram este fato a um aumento da carga líquida da proteína nesta faixa de pH, o que enfraqueceria as interações hidrofóbicas e aumentaria a flexibilidade das moléculas, permitindo às mesmas se distribuírem pela interface ar-água mais rapidamente, encapsulando as partículas e aumentando a formação de espuma. Já para a farinha de feijão-de-lima, a formação de espuma foi baixa ao longo de toda a faixa de pH testada (2 a 10), especialmente na região alcalina, provavelmente devido ao seu baixo grau de desnaturação. Assim, os autores avaliaram o concentrado protéico como tendo alta capacidade de formação de espuma (22,5 e 147,0%) e baixa estabilidade (10,0 a 85,0%), ao passo que a farinha apresentou menor formação (30,0 a 60,0%) de espuma e maior estabilidade (64,0 a 92,0%).

Inclusive, segundo DAMODARAN (1996) e RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al. (2005), as propriedades moleculares das proteínas requeridas para formação e estabilidade de espuma são diferentes: a formação de espumas à base de proteínas

envolve a hidrofobicidade, a velocidade de difusão de proteínas solúveis em direção da interface ar-água e a taxa de adsorção na interface, além da rápida mudança conformacional e rearranjo na interface (dadas pela flexibilidade molecular), enquanto a estabilidade requer a formação de um espesso, coesivo e viscoelástico filme ao redor das bolhas de ar, o que depende de propriedades reológicas do filme protéico. Estas propriedades reológicas são dependentes da capacidade de hidratação da proteína, da concentração protéica e das interações intermoleculares favoráveis.

FONTANARI (2006), avaliando concentrados protéicos de farinha de sementes de goiaba, relatou que a formação de espuma foi maior na região de pH 7 a 8,5 (76,0 a 92,0%), e menor nas proximidades do ponto isoelétrico. O autor explicou as maiores capacidades de formação de espuma pelo aumento da carga das moléculas protéicas, o que, segundo LIN et al. (1974), enfraquece as interações hidrofóbicas e aumenta a flexibilidade da proteína.

### **3.8.5 Capacidade de Formação de Gel**

Um gel é uma fase intermediária entre um sólido e um líquido. É feito de polímeros unidos em ligações cruzadas covalentes ou não-covalentes para formar uma rede protéica tridimensional que é capaz de imobilizar água e outras substâncias de baixo peso molecular. A maioria dos géis protéicos alimentares é formada por aquecimento de soluções protéicas (DAMODARAN, 1996), sendo a formação de gel uma propriedade funcional de ampla aplicação em alimentos formulados (ZAYAS, 1997).

O processo de formação da matriz protéica tridimensional ocorre em duas etapas, sendo que na primeira, pela desnaturação (usualmente térmica), a proteína em solução é transformada em um pré-gel, que é um líquido viscoso no qual algum grau de polimerização já ocorreu. Neste estágio, ocorre um desdobramento da proteína e exposição de grupos funcionais, de forma que o segundo estágio, a formação da matriz protéica, possa ocorrer. Na segunda etapa, o alinhamento das cadeias peptídicas e a formação de agregados protéicos

constituem propriamente a matriz protéica cruzada capaz de reter água: este é o estado de gel (LOURENÇO, 2000).

Desta forma, a reação inicial do processo de formação de gel envolve o enfraquecimento e a quebra das pontes de hidrogênio e dissulfeto, desestabilizando a estrutura conformacional das proteínas. Posteriormente, ocorre polimerização das moléculas protéicas através de pontes dissulfeto intermoleculares, interações hidrofóbicas, iônicas e pontes de hidrogênio, produzindo uma estrutura tridimensional capaz de imobilizar fisicamente grande parte do solvente (MANGINO, 1994). O resfriamento, inclusive, incrementa a formação de pontes de hidrogênio (ALLEONI, 2006) e a integridade do gel, então, é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas de proteína e destas com o solvente circundante (ZIEGLER & FOEGEDING, 1990).

Vários fatores, tais como a concentração de proteína, o pH e a presença de sais, afetam esta propriedade das proteínas (MULVIHILL & KINSELLA, 1988). As proteínas podem formar gel dos tipos coágulo e transparente e o tipo de gel formado por uma proteína é primariamente influenciado pela sua composição em aminoácidos. Proteínas que contêm maior número de resíduos de aminoácidos não-polares tendem a formar géis do tipo coágulo, enquanto proteínas que contêm maior freqüência de resíduos de aminoácidos hidrofílicos formam géis transparentes (DAMODARAN & PARAF, 1997). Entretanto, no ponto isoelétrico, ou próximo a ele, as proteínas normalmente formam gel do tipo coágulo. Nos extremos de pH, géis fortes são formados devido à forte repulsão eletrostática. O pH ótimo para a formação de gel é de cerca de 7 a 8 para a maioria das proteínas (DAMODARAN, 1996).

A propriedade de formação de gel é, usualmente, investigada em termos da menor concentração de um material capaz de formar gel em condições experimentais padronizadas. Para a farinha de soja (46,1% b.s. de proteína), UKWURU (2003) relatou 6,0% como a menor concentração formadora de gel e referiu que variações quanto a esta propriedade são atribuídas a diferentes conteúdos de proteínas, carboidratos e lipídeos no material testado.

ALOBO (2003) observou formação de gel a partir da concentração de 10,0% para uma farinha desengordurada de semente de mamão papaia com 32,4% b.s. de proteína. ONIMAWO et al. (2003) encontrou formação de gel em 8,0% de concentração para farinhas de sementes de abóbora contendo entre 28,0 e

39,4% b.s. de proteína. YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) referiram que um concentrado protéico de farinha de castanha com conteúdo protéico médio de 81,7% b.s. apresentou formação de gel em concentrações iguais ou superiores a 10,0% e RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al. (2005) observaram formação de gel em concentrações a partir de 6,0% para suspensões de isolado protéico de tremoço com 92,3% b.s. de proteína.

FONTANARI (2006) observou que a propriedade de formação de gel de isolados protéicos de farinha de sementes de goiaba foi afetada pelo pH, o qual influenciou a natureza das cargas dos aminoácidos das proteínas e sua solubilidade, sendo necessárias maiores concentrações protéicas para formar gel nas regiões ácida e alcalina. A menor concentração capaz de formar gel, neste estudo, foi de 8,0% para o isolado extraído em pH 10,0 e de 10,0% para aquele extraído em pH 11,5. O mesmo autor também relatou que a adição progressiva de cloreto de sódio até  $1,0 \text{ mol/dm}^3$  causou um aumento na concentração de material necessário para a formação de gel devido ao efeito *salting-out*.

### 3.8.6 Densidade

A densidade é um reflexo do conteúdo que uma amostra pode carregar, sendo um parâmetro importante no planejamento do tipo de embalagem de um produto. A densidade indica o comportamento de um produto em misturas secas (ONIMAWO et al., 2003; CHANDI & SOGI, 2006) e é uma função do tamanho das partículas, sendo que baixas densidades são úteis para a formulação de alimentos complementares para o desmame (UKWURU, 2003) e altas densidades são particularmente interessantes na formulação de suplementos alimentares para o atendimento de carências nutricionais específicas.

ALOBO (2003) relatou que a densidade de uma farinha desengordurada de sementes de mamão papaia (32,4% b.s. de proteína) foi de  $0,5 \text{ g/cm}^3$ , sugerindo que este material seria vantajoso para preparação de suplementos alimentares e de alimentos infantis para a fase de desmame. UKWURU (2003) citou densidade de 0,5 a  $0,9 \text{ g/cm}^3$  para farinha de soja com conteúdo médio de 46,1% b.s. de proteína. ONIMAWO et al. (2003) observou densidade de 0,6 a  $0,7 \text{ g/cm}^3$

para farinhas de semente de abóbora contendo entre 28,0 e 39,4% b.s. de proteína. CHANDI & SOGI (2006) relataram densidade variando entre 0,1 e 0,2 g/cm<sup>3</sup> para concentrados protéicos de farelo de arroz com 52,5% b.s. e 54,1% b.s. de proteína, respectivamente, valores bastante inferiores aos observados pelos mesmos autores para a caseína, de 0,8 g/cm<sup>3</sup>.

### **3.9 PÃES: FORMULAÇÃO, PROCESSAMENTO E INOVAÇÕES**

O pão, consumido na forma de lanches ou acompanhando as principais refeições, é um produto bastante popular, uma vez que constitui parte relevante da dieta habitual e apresenta preço relativamente baixo, motivos pelos quais tem sido considerado um potencial alimento para veicular ingredientes desejáveis e não usualmente presentes na sua formulação (FLANDER et al., 2006). No Brasil, o consumo per capita médio é de 33,1kg/ano, embora existam variações entre as regiões brasileiras: 10 kg/ano na região Norte, 18 a 20 kg/ano na Nordeste, entre 25 e 30 kg/ano para a região Centro-Oeste, 40 kg/ano na região Sudeste e 45 kg/ano na região Sul. Este consumo é considerado ainda baixo, já que a OMS recomenda que seja de 60 kg/ano (ABIP, 2006).

Por definição, pão é o produto obtido pela cocção, em condições tecnológicas adequadas, de uma massa, fermentada ou não, preparada com farinha de trigo e ou outras farinhas que contenham naturalmente proteínas formadoras de glúten, ou adicionadas das mesmas, e água, podendo ainda conter outros ingredientes (BRASIL, 2000).

Segundo SCANLON & ZGHAL (2006), o pão é um sólido suave constituído por duas fases, uma fluida (ar) e uma sólida, sendo que a fase sólida aparenta ser completamente conectada, com as células de ar estando isoladas umas das outras. Os autores destacam que o volume de cada uma destas frações e a natureza das suas conexões determinam a estrutura e, conseqüentemente, as propriedades mecânicas do pão.

As matérias-primas básicas para a produção de pão são farinha de trigo, água e fermento (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994), embora outros

ingredientes possam estar presentes na formulação, cada um com uma função específica.

Assim, a farinha deve conferir quantidade adequada de proteínas e de amido, sendo que as proteínas, ao serem hidratadas, formam a rede de glúten que permitirá a retenção dos gases da fermentação e a expansão da massa (PHILIPPI, 2003) e o amido absorve água e gelatiniza, contribuindo para a estrutura do produto (GHIASI, HOSENEY & VARRIANO-MARSTON, 1982).

A água é essencial como meio dispersante para os demais ingredientes da formulação, para a formação do glúten e para a atuação do fermento. A utilização de leite, de caráter opcional, confere sabor, valor nutricional, coloração e contribui para a maciez (PHILIPPI, 2003) e para a umidade, devido ao seu conteúdo em proteínas, gorduras e sais minerais (COCUP & SANDERSON, 1987).

Gorduras diversas podem ser empregadas na preparação de pães, tais como óleo vegetal, margarina ou manteiga, favorecendo a retenção de gás, o aumento de volume, a propriedade de expansão da massa, conferindo maciez e prevenindo a perda de umidade. Porém, um excesso de gordura pode prejudicar a ação do fermento (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994; PHILIPPI, 2003).

Os ovos desempenham várias funções quando adicionados (opcionalmente) às formulações para pães, dadas as propriedades que apresentam em termos de coagulação, formação de espuma e emulsificação, além da contribuição nutricional. Portanto, os ovos atuam como agentes de aroma, sabor e cor (PEREIRA et al., 2004), além de tornarem mais suave a textura do miolo e contribuir para o volume do pão (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994).

A adição de sal às massas atende aos propósitos de retenção de água, controle de fermentação (por manipulação da atividade de água), fortalecimento da rede de glúten, realce de sabor e conservação. Entretanto, sal em excesso pode interferir com a velocidade de crescimento do fermento e, conseqüentemente, com o volume do produto final (PEREIRA, 1998; PHILIPPI, 2003), além de escurecer excessivamente a crosta durante o forneamento. Por outro lado, ausência de sal na massa permite que o fermento atue muito rapidamente e esgote os açúcares presentes, resultando em um pão de crosta muito clara (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994).

O açúcar também confere sabor e cor, contribui para a retenção de umidade e para a maciez, sendo responsável pelo aumento da velocidade de fermentação. Em excesso, pode resultar em pão esfarelado. Finalmente, a função do fermento é provocar, a partir da fermentação dos açúcares presentes, uma produção de gás carbônico suficiente para aumentar o volume da massa (PHILIPPI, 2003), conferindo ao pão uma estrutura porosa e leve. O álcool produzido nesta fermentação contribui para a expansão da massa durante o forneamento e é responsável por grande parte do aroma do pão (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994).

Para converter estes ingredientes em pão, diversas operações são necessárias. A fase de mistura e desenvolvimento da massa requer energia mecânica e um determinado grau de modificações de natureza química, envolvendo hidratação dos polímeros da farinha, formação da rede de glúten pela fração protéica insolúvel e retenção de ar/gás incorporado à massa pela mistura propriamente dita e pela fermentação. A moldagem e o tempo de crescimento contribuem para a formação da estrutura de espuma e para a redistribuição dos agentes de fermentação e das células de gás na massa, melhorando sua aparência. O forneamento conduz à estabilização da estrutura porosa pela alteração da configuração molecular dos componentes poliméricos mediante a aplicação de calor, ou seja, é apenas no forno que a estrutura final do pão é estabelecida, por meio da conversão da fase líquida em sólida, de forma que, em nível macroscópico, o pão é um sistema de duas fases contendo gás randomicamente disperso em uma matriz de maior volume (SCANLON & ZGHAL, 2006).

A temperatura de forneamento para a maioria dos pães está situada entre 190 e 250°C, sendo que no centro geométrico do produto a temperatura, usualmente, atinge 98°C. A presença de açúcares na formulação acelera as reações de caramelização e Maillard, com o escurecimento progressivo da crosta e do miolo, o que pode ser desejável ou não (ESTELLER & LANNES, 2005). Inicialmente, no forno, ocorre a evaporação da água de condensação formada na câmara de fermentação (crescimento final), a volatilização de compostos orgânicos e etanol, a expansão do gás carbônico e vapor de água do miolo, resultando em grande expansão da massa (HAYMAN, HOSENEY & FAUBION, 1998). Conforme aumenta progressivamente a temperatura interna até 98°C, ocorre a inativação do fermento e das enzimas, a gelatinização do amido e modificações das proteínas. Finalmente,

uma crosta fina é formada e uma cor característica castanho-dourada é desenvolvida, devido às reações de caramelização e Maillard (HUG-ITEN, ESCHER & CONDE-PETIT, 2001).

A interação entre os diversos ingredientes e as condições de processamento (panificação) são fatores primordiais para a obtenção de um produto de boa qualidade (FLANDESRS et al., 2006), sendo que, entre os produtos de panificação, o pão é o menos tolerante à adição de outros ingredientes porque depende mais da rede de glúten do que qualquer outro (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994).

Suplementação da farinha de trigo com proteínas do tipo albuminas e globulinas afeta adversamente as propriedades viscoelásticas e a qualidade de forneamento da massa, podendo ocorrer redução do volume do pão por prejuízos na formação da rede de glúten (DAMODARAN, 1996). A adição de outros ingredientes pode alterar favorável ou desfavoravelmente estas e outras propriedades, pelo efeito de diluição do conteúdo protéico formador de glúten. Desta forma, podem ser afetadas características como a capacidade de absorção de água, tempo de mistura, de fermentação e de crescimento, elasticidade, extensibilidade e resistência da massa, além do volume do produto final (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994).

Assim, toda inovação deve ser cuidadosamente avaliada, necessitando, invariavelmente, de ajustes de formulação (ESTELLER et al., 2004) cujo impacto na qualidade do pão poderá ser dimensionado através de análise sensorial e testes físicos (BATTOCHIO et al., 2006).

Portanto, características sensoriais de pães, como sabor, aroma, ressecamento e crocância podem ser adequadamente avaliadas por equipes de provadores treinados (ESTELLER et al., 2004), sendo que a aceitação global (grau de satisfação e ou intenção de compra) pode ser dimensionada por meio de equipes de provadores não treinados (SOARES JÚNIOR et al., 2006). Outros atributos de qualidade que devem ser avaliados são: porosidade aparente do miolo, cor, volume, volume específico e ou densidade (LOPEZ, PEREIRA & JUNQUEIRA, 2004). Entretanto, a aparência e o sabor são dois dos mais relevantes interferentes nas escolhas alimentares feitas pelos consumidores (QUÍLEZ et al., 2006).

### 3.10 BOLOS: PERSPECTIVAS E CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS

Assim como os pães, os bolos são produtos de panificação bastante apreciados, especialmente na composição de lanches. Entretanto, no Brasil, este produto ainda é basicamente preparado em nível doméstico, sendo que os bolos industriais e as pré-misturas, surgidas no país em 1989, são produtos ainda com grandes possibilidades de expansão de mercado consumidor (ABITRIGO, 2004).

Neste sentido, o mercado de alimentos industrializados, no Brasil, tem apresentado uma dinâmica tendência para os produtos de fácil e rápido preparo, acompanhando as transformações no estilo de vida da população (NANTES, KANESIRO & OLIVEIRA, 2002). Além disso, a relação entre alimentação e saúde tem apresentado inúmeras possibilidades para o desenvolvimento de produtos, especialmente os destinados a situações específicas, como alimentação de adolescentes, gestantes e nutrízes, idosos, desnutridos, etc. (BARONI et al., 2003).

Os bolos surgem, portanto, como uma promissora alternativa para a veiculação de insumos tecnologicamente viáveis e dotados de propriedades nutricionais (NANTES, KANESIRO & OLIVEIRA, 2002), por serem produtos que permitem a adição de uma ampla variedade de ingredientes em sua formulação, já que sua estrutura depende menos da formação da rede de glúten do que os pães. Na formulação de bolos, a farinha é o principal ingrediente responsável pela estrutura, mas com maior influência do amido do que do glúten. Inclusive, a gelatinização do amido é considerado o evento de maior influência sobre a estrutura do produto final (EL-DASH & GERMANI, 1994).

Entre os demais ingredientes, o açúcar confere sabor, aroma, maciez e coloração da crosta; a gordura confere maciez, previne a perda de umidade e a dissipação de aromas voláteis, e, ao ser batida, incorpora ar na forma de pequenas bolhas que são grandemente responsáveis pela expansão da massa e pela textura o produto final (ORNELLAS, 2001). Os ovos agem como agentes umectantes, formadores de estrutura e amaciadores e o fermento tem a função de aerar a massa, deixando-a leve e porosa, sendo que da porosidade depende o volume, a maciez e a textura do produto final (PHILIPPI, 2003).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 ETAPA I – EXPERIMENTO COM FOLHAS COLETADAS AOS 180 DIAS DE PLANTIO**

#### **4.1.1 Material**

Folhas do terço superior de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) da variedade Fécula Branca foram colhidas 180 dias após plantio, em Toledo, no Estado do Paraná. O plantio aconteceu em novembro de 2003 e a coleta em maio de 2004. As condições climáticas durante o período compreendido entre o plantio e a colheita das folhas foram monitoradas por dados fornecidos pelo SIMEPAR – Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR, 2005).

#### **4.1.2 Metodologia**

##### **4.1.2.1 Preparo da amostra**

As folhas frescas, após a retirada dos pecíolos, foram lavadas em água destilada, secas em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 48 horas, moídas, peneiradas em peneira de 20 mesh, acondicionadas em frascos de vidro e guardadas ao abrigo de luz e umidade.

##### **4.1.2.2 Obtenção dos concentrados protéicos por diferentes procedimentos**

Concentrados protéicos foram obtidos a partir das folhas desidratadas e moídas, empregando cinco procedimentos citados na literatura (quadro 2).

Fase Procedimento	Extração da Proteína		Concentração da Proteína	
	Solubilização Protéica <sup>(6)</sup>	Remoção da Porção Fibrosa	Precipitação Protéica <sup>(6)</sup>	Separação do Precipitado <sup>(7)</sup>
CA <sup>(1)</sup>	Homogeneização em água destilada 1:20 (p/v) em pH 10 por 5 minutos	Filtração em gaze	pH 5	Filtração
TCA I <sup>(2)</sup>	Maceração em sulfito de sódio 5% 1:10 (p/v) por 2 horas	Filtração em gaze	pH 4 85°C	Filtração
TC <sup>(3)</sup>	Homogeneização em água destilada 1:20 (p/v) por 5 minutos	Filtração em gaze	60°C	Repouso em temperatura ambiente <i>overnight</i> Filtração
CE <sup>(4)</sup>	Homogeneização em água destilada 1:20 (p/v) por 5 minutos	Filtração em gaze	30% etanol (v/v)	Filtração
TCA II <sup>(5)</sup>	Homogeneização em água destilada 1:20 (p/v) em pH 7 por 5 minutos	Filtração em gaze e repetição do tratamento com as fibras residuais	pH 4 50°C	Repouso a 4°C <i>overnight</i> Filtração

<sup>(1)</sup> Coagulação ácida (ROSAS-ROMERO & ACOSTA, 1986)

<sup>(2)</sup> Termo-coagulação ácida I (CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994)

<sup>(3)</sup> Termo-coagulação (ROSAS-ROMERO & ACOSTA, 1986)

<sup>(4)</sup> Coagulação por etanol (PELUZIO et al., 1998)

<sup>(5)</sup> Termo-coagulação ácida II (ROSAS-ROMERO & ACOSTA, 1986)

<sup>(6)</sup> Os ajustes de pH foram feitos com NaOH 0,1N ou HCl concentrado

<sup>(7)</sup> Em papel filtro Whatman® n° 2

Após os procedimentos descritos acima, todos os precipitados foram secos em estufa de circulação de ar forçada a 60°C/24h

## Quadro 2 – Procedimentos de obtenção dos concentrados protéicos (etapa I)

### 4.1.2.3 Rendimento dos concentrados

Foi determinado pelo cálculo da quantidade de concentrado em relação à de folhas desidratadas e moídas.

### 4.1.2.4 Análises químicas e físicas das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos da etapa I

**Composição centesimal aproximada:** os conteúdos de proteína, lipídeos, cinzas, umidade e fibra nas folhas desidratadas moídas foram determinados pelos métodos-

padrão da AOAC (1990) e o teor de carboidratos foi obtido por diferença. Nos concentrados protéicos desta etapa foi determinado o teor protéico (AOAC, 1990).

**Recuperação de proteína nos concentrados protéicos:** foi determinada como a quantidade de proteína em gramas contida no concentrado obtido a partir de 100 g de folhas desidratadas e moídas. Ou seja:

*100 g de folhas desidratadas moídas renderam x g de concentrado protéico contendo y g de proteína.*

**Conteúdo de taninos:** o conteúdo de taninos nas folhas desidratadas e moídas e nos concentrados foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Denis, segundo a AOAC (AOAC, 1990), a partir de um extrato metanólico das amostras (PINTO, 2001).

**Conteúdo de ácido cianídrico:** o conteúdo de ácido cianídrico (HCN) nas folhas desidratadas e moídas foi determinado pelo método de Liebig-Denigés (COSTA, 2000), embasado em arraste de vapor e titulação.

**Parâmetros de cor:** as folhas desidratadas moídas e os concentrados foram dispostos em vidros de relógio sobre fundo branco em uma câmara escura com sistema de iluminação para simular luz do dia (duas fontes D65, incidindo em ângulo de 45° sobre a amostra) e imagens digitais obtidas utilizando câmera fotográfica Sony® (Mavica/MVC-FD75, lente de 5,5mm e abertura de diafragma de 50,0%) posicionada perpendicularmente à amostra a uma distância de 20 cm. As imagens digitais em extensão bmp foram convertidas para valores RGB médios pelo programa SH2.0 (SACHS, 2002) e, através do programa MSPAINT ® 4.9, foram obtidas as cores médias dos concentrados. Os valores RGB foram convertidos para o sistema CIELAB pelo programa Munsell Conversion 6.5.5 (COLORPRO, 2004), fornecendo os valores de L\*, a\* e b\*. O parâmetro H\* foi calculado segundo CAMELO & GÓMEZ (2004), os quais referem que  $H^* = [\arctang(b^*/a^*)]$ , sendo que, quando  $a^* < 0$ , então  $H^* = 180 + [\arctang(b^*/a^*)]$ .

### **4.1.3 Delineamento experimental e análise estatística na etapa I**

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três repetições e as análises realizadas em triplicata. Os resultados foram testados por análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias. O nível de significância utilizado foi igual ou menor do que 5,0%.

## **4.2 ETAPA II – EXPERIMENTO COM FOLHAS COLETADAS AOS 240 DIAS DE PLANTIO**

### **4.2.1 Material**

Folhas do terço superior de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) da variedade Fécula Branca foram colhidas 240 dias após plantio, em Toledo, no Estado do Paraná. O plantio aconteceu em novembro de 2003 e a coleta em julho de 2004. As condições climáticas durante o período compreendido entre o plantio e a colheita das folhas foram monitoradas por dados fornecidos pelo SIMEPAR – Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR, 2005).

### **4.2.2 Metodologia**

#### **4.2.2.1 Preparo da amostra**

As folhas frescas, após a retirada dos pecíolos, foram lavadas em água destilada, secas em estufa de circulação forçada de ar a 40°C por 48 horas, moídas, peneiradas em peneira de 20 mesh, acondicionadas em frascos de vidro e guardadas ao abrigo de luz e umidade.

#### **4.2.2.2 Obtenção dos concentrados protéicos por procedimentos modificados**

Os procedimentos que resultaram, na etapa I, em concentrados com maior rendimento, conteúdo e recuperação protéica e coloração mais clara foram modificados e testados novamente (quadro 3), com o objetivo de melhorar estas características.

#### **4.2.2.3 Rendimento dos concentrados**

Foi determinado pelo cálculo da quantidade de concentrado em relação à de folhas desidratadas e moídas.

#### **4.2.2.4 Análises químicas e físicas das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos da etapa II**

**Composição centesimal aproximada:** os conteúdos de proteína, lipídeos, cinzas, umidade e fibra nas folhas desidratadas moídas e nos concentrados foram determinados pelos métodos-padrão da AOAC (1990) e o teor de carboidratos foi obtido por diferença.

Fase	Extração da Proteína		Concentração da Proteína	
	Procedimento	Solubilização Protéica <sup>(3)</sup>	Remoção da Porção Fibrosa	Precipitação Protéica <sup>(3)</sup>
<b>CE<sub>M</sub></b> <sup>(1)</sup>	Agitação em sulfito de sódio 5% 1:10 (p/v) por 20 minutos Adição de água 1:10 (p/v) e ajuste para pH 10 Homogeneização por 10 minutos	Filtração em gaze e repetição do tratamento com as fibras residuais	30% etanol (v/v)	Repouso a 4°C <i>overnight</i> Filtração
<b>TCA<sub>M</sub></b> <sup>(2)</sup>	Agitação em sulfito de sódio 5% 1:10 (p/v) por 20 minutos Adição de água 1:10 (p/v) e ajuste para pH 10 Homogeneização por 10 minutos	Filtração em gaze e repetição do tratamento com as fibras residuais	pH 4 50°C	Repouso a 4°C <i>overnight</i> Filtração

<sup>(1)</sup> Coagulação por etanol modificado

<sup>(2)</sup> Termo-coagulação ácida II modificado

<sup>(3)</sup> Os ajustes de pH foram feitos com NaOH 0,1N ou HCl concentrado

<sup>(4)</sup> Em papel filtro Whatman<sup>®</sup> n° 2

Após os procedimentos descritos acima, todos os precipitados foram secos em estufa de circulação de ar forçada a 60°C/24h

### Quadro 3 – Procedimentos modificados de obtenção dos concentrados protéicos (etapa II)

**Recuperação de proteína nos concentrados protéicos:** foi determinada como a quantidade de proteína em gramas contida no concentrado obtido a partir de 100 g de folhas desidratadas e moídas. Ou seja:

*100 g de folhas desidratadas moídas renderam x g de concentrado protéico contendo y g de proteína.*

**Conteúdo de taninos:** o conteúdo de taninos nas folhas desidratadas e moídas e nos concentrados foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Denis, segundo a AOAC (AOAC, 1990), a partir de um extrato metanólico das amostras (PINTO, 2001).

**Conteúdo de ácido cianídrico:** o conteúdo de ácido cianídrico (HCN) nas folhas desidratadas e moídas e nos concentrados foi determinado pelo método de Liebig-Denigés (COSTA, 2000), embasado em arraste de vapor e titulação.

**Fracionamento protéico:** a proporção de diferentes frações protéicas nas folhas desidratadas moídas e nos concentrados protéicos da etapa II foi determinada de

acordo com sua solubilidade em diferentes solventes, conforme LANDRY & MOUREAUX *apud* EL FIEL et al. (2003). Amostras de 3,5g foram mantidas em suspensão com 35,0 mL de solvente sob agitação magnética. O tempo e o número de extrações com cada solvente estão descritos no quadro 4. O resíduo sólido foi isolado por centrifugação a 3000 x g em centrífuga marca BIOENG – modelo BE 6000 para cada solvente. Os sobrenadantes foram reunidos para a obtenção do extrato total de cada fração protéica. O conteúdo de nitrogênio de cada uma destas frações foi determinado pelo método de LOWRY et al. (1951) e a leitura foi realizada a 660nm, utilizando espectrofotômetro marca FEMTO – modelo 700. O resíduo resultante das extrações foi analisado quanto ao conteúdo de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990).

Etapa	Solvente	Tempo de Extração (minutos)	Fração Protéica
1	NaCl, 0.5M (4°C)	60, 30, 30	Globulinas
2	Água (4°C)	15, 15	Albuminas
3	Etanol, 60% (20°C)	30, 30	Prolaminas
	Etanol, 60% (60°C)	30	Prolaminas
	Isopropanol 55% (20°C)	60, 30, 15	Prolaminas

Fonte: EL FIEL et al. (2003)

#### **Quadro 4** – Procedimento para fracionamento protéico

**Composição mineral:** a composição mineral das folhas de mandioca desidratadas e dos concentrados protéicos foi determinada em termos do conteúdo de cálcio, fósforo, ferro, zinco, magnésio, manganês e cobre, por espectrofotometria de absorção atômica, com as análises tendo sido realizadas na Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon.

**Parâmetros de cor:** os parâmetros de cor das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos da etapa II foram determinados como descrito no item 4.1.2.4 para as amostras da etapa I.

#### **4.2.2.5 Propriedades funcionais das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos da etapa II**

Foram estudadas as propriedades funcionais das folhas de mandioca com 240 dias de plantio desidratadas moídas e dos respectivos concentrados protéicos.

##### **4.2.2.5.1 Perfil de solubilidade das proteínas em diferentes pHs**

Foi misturado 0,5 g de amostra em água e ajustado o pH entre 3 e 12 com HCl ou NaOH 1M sob agitação mecânica em haste agitadora marca FISABR – modelo 710, em velocidade média. Posteriormente, foi completado o volume da mistura para 50,0 mL e esta foi centrifugada a 3700 x g por 25 minutos em centrífuga marca BIOENG – modelo BE 6000, sendo após retirada uma alíquota do sobrenadante e medido o teor de proteína pelo método de LOWRY et al. (1951). A leitura foi realizada a 660nm, utilizando espectrofotômetro marca FEMTO – modelo 700. A solubilidade da proteína foi calculada como:

$$\% \text{ de Proteína Solúvel} = \frac{\text{proteína solúvel no sobrenadante}}{\text{proteína total na amostra}} \times 100$$

##### **4.2.2.5.2 Propriedades emulsificantes**

A atividade emulsificante e a estabilidade da emulsão foram determinadas pelo método descrito por Yasumatsu, modificado por DONADEL & PRUDÊNCIO-FERREIRA (1999). Foi preparada uma suspensão contendo 1,0 g de amostra em 10,0 mL de água destilada e 10,0 mL de óleo de milho. A suspensão foi emulsificada em agitador de haste marca FISABR – modelo 700 por 1 minuto em velocidade média. A emulsão foi dividida em tubos graduados de 12,0 mL e

centrifugada a 3700 x g por 5 minutos em centrífuga marca BIOENG – modelo BE 6000. A atividade emulsificante foi calculada como:

$$\text{Atividade Emulsificante} = \frac{\text{volume da camada emulsificada}}{\text{volume total no tubo}} \times 100$$

Para determinação da estabilidade, a emulsão, preparada conforme procedimento descrito anteriormente, foi aquecida em banho-maria a 80°C por 30 minutos e resfriada em água corrente por 15 minutos. A emulsão foi dividida em tubos graduados de 12,0 mL e centrifugada a 3700 x g por 5 minutos em centrífuga marca BIOENG – modelo BE 6000. A estabilidade da emulsão foi expressa como:

$$\text{Estabilidade da Emulsão} = \frac{\text{volume da camada emulsificada remanescente}}{\text{volume total da camada emulsificada}} \times 100$$

A capacidade emulsificante foi medida pela homogeneização de 2,0 g de amostra em 100,0 mL de água destilada em liquidificador à velocidade baixa. Após 30 segundos em dispersão, foi adicionado óleo de milho à mistura em agitação, utilizando bureta com vazão de 2,0 mL/minuto. O ponto de inversão de fase foi registrado através de um aumento na resistência elétrica da emulsão, utilizando um voltímetro. A capacidade emulsificante foi calculada como a quantidade de óleo emulsificado por grama de amostra.

#### **4.2.2.5.3 Capacidade de absorção de água e de óleo**

A capacidade de absorção de água e de óleo foi medida segundo o método descrito por OKEZIE & BELLO (1988). Suspensões com 1,0 g de amostra e 50,0 mL de água e ou de óleo foram preparadas em tubos de centrífuga, agitadas em agitador de tubos por 1 minuto e centrifugadas a 3700 x g por 20 minutos em centrífuga marca BIOENG – modelo BE 6000, desprezando-se o sobrenadante. A

diferença entre o peso da amostra antes e após a absorção de água e ou de óleo foi a quantidade de água ou de óleo absorvida. A capacidade de absorção de água e de óleo foi expressa como a quantidade de água ou de óleo absorvida por 100,0 g de amostra.

#### **4.2.2.5.4 Propriedades espumantes**

A capacidade de formação de espuma foi medida de acordo com o procedimento apresentado por COFFMANN & GARCIA (1977). Foi preparada uma suspensão com 100,0 mL de água destilada e 2,0 g de amostra. A suspensão foi agitada em agitador de haste marca FISABR – modelo 700 por 5 minutos em velocidade média. A dispersão foi transferida para uma proveta graduada e a capacidade de formação de espuma expressa como a porcentagem de aumento de volume baseando-se nos volumes inicial e final após a formação de espuma.

A estabilidade da espuma foi determinada pela aferição da redução do volume após 30 minutos em repouso sob temperatura ambiente.

#### **4.2.2.5.5 Propriedade de formação de gel**

A formação de gel foi determinada conforme método descrito por COFFMANN & GARCIA (1977). Tubos de ensaio contendo dispersões com diferentes concentrações de amostra em água destilada foram aquecidos a 90°C por 30 minutos, resfriados à temperatura ambiente e refrigerados a 4°C por 12 horas. As concentrações de amostra variaram entre 4,0 e 12,0% e o resultado foi expresso como a menor concentração da amostra capaz de formar gel.

#### 4.2.2.5.6 Densidade

A densidade foi determinada segundo OKAKA & POTTER (1977), utilizando 25,0 g de amostra. As amostras foram pesadas em provetas graduadas e, após, foram dadas diversas batidas com as pontas dos dedos nas mesmas, a fim de que a amostra fosse acomodada em seu interior. O volume da amostra foi medido e a densidade calculada como g/cm<sup>3</sup>.

#### 4.2.2.6 Avaliação biológica da qualidade protéica do concentrado CE<sub>M</sub> - etapa II

##### Preparo das rações

As rações controle, experimentais e aprotéica foram preparadas segundo recomendações do American Institute of Nutrition – AIN (REEVES, NIELSEN & FAHEY, 1993) e seguiram a composição básica apresentada nos quadros 5, 6 e 7 referente à ração controle. Todas as rações tiveram composição centesimal aproximada analisada pelos métodos-padrão da AOAC (1990).

As rações experimentais para a avaliação da qualidade protéica foram formuladas a partir da substituição da caseína pelo concentrado protéico em diferentes proporções (conforme protocolo experimental); a ração aprotéica foi formulada pela eliminação da caseína e do suplemento de L-Cistina.

Componentes	Percentual (%)
Caseína ( $\geq$ 85,0% proteína)	10,0
Amido de Milho	63,0
Mistura Vitamínica <sup>(a)</sup>	1,0
Mistura Mineral <sup>(b)</sup>	3,5
Óleo de Soja	7,0
Fibra	5,0
Bitartarato de Colina (41,1% colina)	0,2
L-Cistina	0,3
Sacarose	10,0

Fonte: American Institute of Nutrition – AIN (REEVES, NIELSEN & FAHEY 1993)

(a) Composição apresentada no quadro 6

(b) Composição apresentada no quadro 7

**Quadro 5** – Composição percentual da ração controle

<b>Componentes</b>	<b>g/kg de Mistura</b>
Ácido Nicotínico	3,0
Pantotenato de Cálcio	1,6
Piridoxina-HCl	0,7
Tiamina-HCl	0,6
Riboflavina	0,6
Ácido Fólico	0,2
Vitamina K (filoquinona)	0,075
D-Biotina	0,020
Vitamina B12 (cianocobalamina, 0,1% em manitol)	2,5
Vitamina A (palmitato retinil todo-trans, 500 UI/g)	0,8
Vitamina D3 (colecalfiferol, 400 UI/g)	0,25
Vitamina E (acetato de $\alpha$ -tocoferol, 500 UI/g) <sup>1</sup>	15,0
Sacarose em pó	q.s.p.

Fonte: American Institute of Nutrition – AIN (REEVES, NIELSEN & FAHEY 1993)

### **Quadro 6 – Composição da mistura vitamínica**

Todas as rações foram preparadas peletizadas para o período do experimento e acondicionadas em sacos de polietileno, em porções de 100g, sendo os mesmos selados e refrigerados (4°C).

<b>Componentes</b>	<b>g/Kg de Mistura</b>
Carbonato de Cálcio Anidro (40,04% Ca)	357,0
Fosfato de Potássio Monobásico (22,76% P e 28,73% K)	196,0
Citrato de Potássio tri-potássio Monohidratado (36,16% K)	70,78
Cloreto de Sódio (39,34% Na e 60,66% Cl)	74,0
Sulfato de Potássio (44,87% K e 18,39% S)	46,6
Óxido de Magnésio (60,32% Mg)	24,0
Citrato Férrico (16,5% Fe)	6,06
Carbonato de Zinco (52,14% Zn)	1,65
Carbonato de Manganês (47,79% Mn)	0,63
Carbonato Cúprico (57,47% Cu)	0,30
Iodato de Potássio (59,3% I)	0,01
Selenato de Sódio Anidro (41,79% Se)	0,01025
Paramolibdato de Amônio Tetra hidratado (54,34% Mo)	0,00795
Meta-silicato de Sódio Nonahidratado (9,88% Si)	1,45
Cromo Sulfato de Potássio Dodeca hidratado (10,42% Cr)	0,275
Cloreto de Lítio (16,38% Li)	0,0174
Ácido Bórico (17,5% B)	0,0815
Fluoreto de Sódio (45,24% F)	0,0635
Carbonato de Níquel (45,0% Ni)	0,0318
Vanadato de Amônio (43,55% V)	0,0066
Sacarose em pó	q.s.p.

Fonte: American Institute of Nutrition – AIN (REEVES, NIELSEN & FAHEY 1993)

### **Quadro 7 – Composição da mistura mineral**

## Ensaio biológicos

Os ensaios biológicos foram conduzidos de acordo com a metodologia descrita por SILVA (1990), por meio da utilização de 36 ratos machos da linhagem Wistar, provenientes do biotério da Universidade Paranaense – Campus Toledo.

Cada grupo experimental foi constituído por seis animais com peso variando entre 45,0 e 48,0 gramas, recém desmamados, aos 21 dias. Para determinação dos parâmetros biológicos foram formados seis grupos de animais, que receberam os seguintes tratamentos:

- a) Grupo I: ração controle à base de caseína *ad libitum*;
- b) Grupo II: ração experimental à base de concentrado protéico de folha de mandioca;
- c) Grupo III: ração experimental cujo componente protéico continha 80,0% de caseína e 20,0% da proteína proveniente do concentrado protéico de folha de mandioca;
- d) Grupo IV: ração controle à base de caseína *pair feeding* (com base no consumo de ração do grupo III);
- e) Grupo V: ração aprotéica;
- f) Grupo VI: grupo zero, sacrificado no início do experimento para análise de carcaça (determinação de nitrogênio total).

Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, recebendo água e alimentação *ad libitum*, exceto o grupo controle de caseína *pair feeding*, que recebeu ração diária baseada na média de consumo do grupo III.

O consumo de alimento foi controlado diariamente e o peso dos animais medido uma vez a cada sete dias. As fezes foram coletadas diariamente e conservadas em estado seco para análise posterior de nitrogênio total.

Durante o experimento, a temperatura ambiente do biotério foi mantida em  $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , com ciclo claro/escuro de 12 horas. Após o período experimental de 28 dias, os animais foram sacrificados por inalação de éter etílico e suas carcaças foram pesadas, secas em estufa a  $80^{\circ}\text{C}$ , trituradas e desengorduradas (AOAC, 1990) para análise de nitrogênio total. O grupo aprotéico foi sacrificado no 14º dia de experimento.

### **Análise do valor biológico das rações**

Para análise do valor biológico das rações, foram considerados os cálculos dos seguintes índices:

*Coeficiente de eficácia alimentar (CEA)*: índice determinado pela relação entre o ganho de peso dos animais em gramas e o consumo de ração em gramas.

$$CEA = \frac{\text{ganho de peso dos animais (g)}}{\text{consumo de ração (g)}}$$

*Coeficiente de eficácia protéica (CEP)*: índice determinado pela relação entre o ganho de peso dos animais em gramas e o consumo de proteína em gramas.

$$CEP = \frac{\text{ganho de peso dos animais (g)}}{\text{consumo de proteína (g)}}$$

*Coeficiente de digestibilidade da proteína (CD)*: índice resultante da relação entre o nitrogênio absorvido (NA) e o nitrogênio ingerido (NI) pelo animal, sendo que o NA é obtido pela diferença entre o NI e o nitrogênio fecal (NF) eliminado (PELLET & YOUNG, 1980). Foram calculados o CD aparente (CDap) e o CD verdadeiro (CDv).

$$CDap = \frac{NI - NF}{NI} \times 100 \quad \text{ou} \quad CDap = \frac{NA}{NI} \times 100 \quad \text{Onde } NA = NI - NF$$

$$CDv = \frac{NI - (NF - NE)}{NI} \times 100 \quad \text{Onde } NE = N \text{ endógeno (fecal do grupo aprotéico)}$$

*Utilização protéica líquida (UPL ou NPU)*: índice dado pela relação percentual do nitrogênio retido (NR) pelo animal e o nitrogênio ingerido (NI) (PELLET & YOUNG, 1980). Foi determinado o NPU verdadeiro (NPUv).

$$NPUv = \frac{NR - N0}{NI} \times 100$$

Onde

NR = nitrogênio da carcaça do grupo teste

N0 = nitrogênio da carcaça do grupo zero

*Razão protéica líquida (RPL ou NPR):* índice determinado pela somatória do ganho de peso do grupo teste e a perda de peso do grupo aprotéico com relação ao consumo de proteína do grupo teste (PELLET & YOUNG, 1980).

$$NPR = \frac{\text{ganho de peso do grupo teste (g)} + \text{perda de peso do grupo aprotéico (g)}}{\text{consumo de proteína do grupo teste (g)}}$$

#### **4.2.2.7 Aplicação tecnológica dos concentrados protéicos de folhas de mandioca da etapa II**

A partir dos resultados obtidos pela avaliação das propriedades funcionais dos concentrados protéicos, foi proposta e avaliada uma aplicação alimentar para os mesmos. Foram desenvolvidas três formulações de pães do tipo caseiro, sendo uma formulação controle e duas formulações-teste.

Os pães foram elaborados conforme formulação apresentada no quadro 8, com os produtos teste recebendo adição de 20,0% de concentrado protéico em relação à quantidade de farinha e sendo denominados Formulação A (CE<sub>M</sub>) e Formulação B (TACII<sub>M</sub>).

Os pães foram preparados em equipamento próprio para este fim, marca Fun Kitchen, pelo método de massa direta (ciclos misturar, amassar, crescer, assar), em condições padronizadas.

Ingrediente	Quantidade		
	Controle	Formulação A	Formulação B
Farinha de trigo especial Flor® (g)	280,0	250,0	250,0
Concentrado protéico CE <sub>M</sub>	---	50,0	---
Concentrado protéico TCAll <sub>M</sub>	---	---	50,0
Fermento biológico seco Fleischmann® (g)	3,0	3,0	3,0
Melhorador de farinha Fleischmann® (g)	3,0	3,0	3,0
Sal refinado iodado Cisne® (g)	6,0	6,0	6,0
Açúcar refinado União® (g)	10,0	10,0	10,0
Gordura – margarina Qualy® (g)	22,0	22,0	22,0
Leite integral em pó Molico® (g)	10,0	10,0	10,0
Ovos (unidades)	2,0	2,0	2,0
Água (mL)	155,0	165,0	165,0

Fonte: Fun Kitchen – Manual de instruções (2004)

### Quadro 8 – Formulação dos pães controle e teste

Uma hora após o término do forneamento, os pães produzidos conforme as formulações descritas foram submetidos à seguinte avaliação:

**Peso, volume e volume específico:** cada amostra foi pesada (aferição de massa) em balança semi-analítica digital e o volume foi determinado pelo método do deslocamento de sementes de painço (ESTELLER & LANNES, 2005). O volume específico foi determinado pela relação volume/massa e expresso como cm<sup>3</sup>/g (LÓPEZ, PEREIRA & JUNQUEIRA, 2004).

**Porosidade do miolo ou aparência de textura:** foram preparadas fatias de cada pão, com espessura de 12,5 mm (padrão de corte), sendo as fatias, cada uma separadamente, comprimidas em almofada de carimbo e, após, sobre uma folha de papel branco, a fim de registrar a porosidade do miolo (LÓPEZ, PEREIRA & JUNQUEIRA, 2004).

**Parâmetros de cor do miolo:** os parâmetros de cor para as três diferentes formulações de pão avaliadas foram determinados conforme método descrito no item 4.1.2.4 para as amostras da etapa I com uma modificação: para a aquisição das imagens digitais dos pães, as fatias foram dispostas sobre folhas de papel branco.

**Análise sensorial:** pães das diferentes formulações foram submetidos à análise sensorial por meio da prova afetiva de grau de satisfação (ANZALDÚA-MORALES, 1994). Para tanto, 30 provadores não treinados consumidores habituais de pão participaram do teste (BATTOCHIO et al., 2006), realizado em laboratório de análise sensorial em condições adequadas para este fim. Os pães foram fatiados com espessura padrão de corte (12,5 mm) e as pontas foram desprezadas, sendo utilizadas as fatias centrais. Cada provador recebeu uma fatia de cada formulação (controle, formulação A e B), tendo sido as amostras apresentadas em ordem aleatória, seqüencialmente e com casca, em pratos brancos codificados com algarismos aleatórios de três dígitos (STONE & SIDEL, 1985). O grau de satisfação com cada amostra foi expresso pelo emprego de escala hedônica de nove pontos, apresentada na figura 2, conforme, ROCHA et al. (2003). O índice de satisfação foi calculado como uma expressão percentual da média do grau de satisfação, considerando que média 9,0 corresponde a 100,0% de índice de satisfação.

Data: ___/___/___ Por favor, avalie a amostra apresentada, utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou da mesma. Marque na escala a opção que melhor represente o seu julgamento.	
<p><b>Amostra nº _____</b></p> <p>( )Gostei extremamente          ( )Gostei muito          ( )Gostei moderadamente          ( )Gostei ligeiramente</p> <p>( )Não gostei nem desgostei</p> <p>( )Desgostei ligeiramente          ( )Desgostei moderadamente          ( )Desgostei muito          ( )Desgostei extremamente</p>	<p><b>Comentários:</b></p> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>

**Figura 2** – Ficha do teste de grau de satisfação (escala hedônica)

A partir dos resultados observados na avaliação dos pães produzidos, foi proposta e avaliada uma nova aplicação alimentar para os concentrados protéicos. Foram, assim, desenvolvidas três formulações de bolos,

sendo uma formulação controle e duas formulações-teste. Os bolos foram elaborados conforme formulação apresentada no quadro 9, com os produtos teste recebendo adição de 30,0% de concentrado protéico em relação à quantidade de farinha e sendo denominados também como Formulação A (CE<sub>M</sub>) e Formulação B (TCAII<sub>M</sub>).

Os bolos foram preparados pelo método da mistura direta, em batedeira doméstica, com batimento em velocidade baixa por 2 minutos, seguido de batimento em velocidade alta por 4 minutos. Após, os bolos foram levados a assar em forno elétrico FISCHER pré-aquecido por 15 minutos a 250°C (EL-DASH & GERMANI, 1994). Durante os primeiros 5 minutos de forneamento, os bolos foram submetidos à temperatura de 250°C, sendo, então, a mesma ajustada para 180°C e o forneamento mantido por mais 55 minutos.

Ingrediente	Quantidade		
	Controle	Formulação A	Formulação B
Ovos (unidades)	1,0	1,0	1,0
Açúcar refinado União® (g)	150,0	150,0	150,0
Farinha de trigo especial Flor® (g)	150,0	150,0	150,0
Óleo de soja Soya® (mL)	60,0	60,0	60,0
Água (mL)	66,5	66,5	66,5
Concentrado protéico CE <sub>M</sub>	---	45,0	---
Concentrado protéico TCAII <sub>M</sub>	---	---	45,0
Fermento químico Royal® (g)	5,0	5,0	5,0

Fonte: NESTLÉ (2005)

#### **Quadro 9** – Formulação dos bolos controle e teste

Uma hora após o término do forneamento, os bolos produzidos conforme as formulações descritas foram submetidos à mesma avaliação realizada para os pães quanto a peso, volume, volume específico, porosidade e parâmetros de cor do miolo.

Para a análise sensorial, apenas os bolos das formulações A e B foram submetidos à prova afetiva de grau de satisfação (ANZALDÚA-MORALES, 1994), sendo avaliados por 18 provadores não treinados consumidores habituais de bolo (BATTOCHIO et al., 2006), em laboratório de análise sensorial sob condições adequadas para este fim. Os bolos foram fatiados com espessura padrão de corte (12,5 mm) e as pontas foram desprezadas. Cada provador recebeu uma fatia de cada formulação (formulação A e B), tendo sido as amostras apresentadas em

ordem aleatória, seqüencialmente e com a crosta, em pratos brancos codificados com algarismos aleatórios de três dígitos (STONE & SIDEL, 1985). O grau de satisfação com cada amostra foi expresso pelo emprego de escala hedônica de nove pontos, apresentada na figura 2, conforme, ROCHA et al. (2003).

#### **4.2.3 Delineamento experimental e análise estatística na etapa II**

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três repetições em triplicata e os resultados testados por análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias. O nível de significância utilizado foi igual ou menor do que 5,0%.

Para a análise sensorial, o delineamento foi em blocos completos casualizados, onde os tratamentos foram as diferentes formulações para o preparo dos pães e bolos e os provadores foram os blocos.

Para a avaliação biológica da qualidade protéica, o delineamento foi inteiramente casualizado, com seis grupos-teste de animais e seis repetições por grupo. Para a análise estatística foram empregadas análise de variância, teste de Tukey para comparação de médias e nível de significância igual ou menor que 5,0%.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COMPOSIÇÃO DAS FOLHAS DE MANDIOCA DESIDRATADAS E MOÍDAS COLETADAS AOS 180 (ETAPA I) E AOS 240 (ETAPA II) DIAS DE PLANTIO

As folhas de mandioca desidratadas e moídas, coletadas na etapa I, apresentaram um conteúdo de proteína em base seca (tabela 1), superior aos resultados relatados por SALGADO & SANTOS (1986), VILHENA et al. (1990), CARVALHO et al. (1993), CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI (1994), BOAVENTURA et al. (2000), MADRUGA e CÂMARA (2000) e CORRÊA et al. (2004), de 27,7% b.s., 28,7 a 30,6% b.s., 24,2% b.s., 23,5% b.s., 33,2% b.s., 30,4% b.s. e 27,0% b.s., respectivamente.

Entretanto, o teor de proteína obtido no material coletado na etapa II, 60 dias mais tarde, foi compatível com o resultado de alguns daqueles autores. Estas variações poderiam ser explicadas pelo emprego de variedades de mandioca diferentes para estes estudos, ou pela utilização de plantas com idades diversas, já que, segundo CARVALHO et al. (1993), os teores protéicos de folhas de mandioca decrescem com o avanço da idade da planta. SAGRILLO (2001), estudando a produtividade da cultura no Noroeste do Estado do Paraná, obteve teores de proteína em folhas variando de 37,9 a 23,2%, sendo que estes valores correlacionaram-se negativamente com a idade da planta. Os achados deste autor condizem com o resultado observado no presente trabalho.

Outro fator a ser considerado como interferente no teor protéico de folhas de mandioca diz respeito às condições climáticas prevalecentes durante o período de experimento. Neste caso, durante o período de crescimento e desenvolvimento das plantas, a média mensal de precipitação pluvial foi de 233,8 mm na etapa I e de 224,7 mm na etapa II.

**Tabela 1** - Composição das folhas de mandioca desidratadas e moídas<sup>(1)</sup>

	Proteína <sup>(2),(3)</sup>						HO Totais <sup>(2),(4)</sup>	CN <sup>(5)</sup>	anino <sup>(6)</sup>
	midade	ipídeo <sup>(2)</sup>	inza <sup>(2)</sup>	ibra <sup>(2)</sup>					
	7,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	3 7,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	6,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	31,98 ± 0,5 <sup>b</sup>					
<b>tapa I</b>	8,5 ± 0,5 <sup>a</sup>						7,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	6,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	,6 ± 0,1 <sup>b</sup>
	9,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	2 6,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	38,2 ± 0,2 <sup>a</sup>					
<b>tapa II</b>	9,0 ± 0,5 <sup>b</sup>						4,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	,2 ± 0,2 <sup>a</sup>

(1) Valores médios de três determinações ± desvio padrão

(2) Resultados expressos em g/100g de amostra (base seca)

(3) N x 6,25

(4) Carboidratos totais (incluindo fibras) calculados por diferença

(5) Ácido cianídrico, com resultados expressos em mg/100g de amostra (base seca)

(6) Resultados expressos como g de ácido tânico/100g de amostra (base seca)

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Quanto às condições climáticas durante o período de desenvolvimento das plantas, as temperaturas mensais médias foram de 24,3°C (com extremos de 17,4°C e 29,3°C) e de 24,1°C (com extremos de 12,1°C e 29,1°C), nas etapas I e II, respectivamente (SIMEPAR, 2005). Baixas precipitações pluviométricas e temperaturas elevadas podem contribuir para maiores teores protéicos nas folhas de mandioca, pela intensificação da síntese protéica decorrente da exposição da planta à situação de estresse (CARVALHO et al., 1993); porém, considerando que o volume ideal de chuvas para a cultura da mandioca é de 1000 a 1500 mm bem distribuídos, especialmente nos primeiros 180 dias após o plantio (CONCEIÇÃO, 1981; LORENZI & DIAS, 1993), pode ser concluído que não houve caracterização de estresse hídrico em nenhum dos dois tempos de plantio avaliados no presente trabalho.

Com relação às temperaturas, LORENZI & DIAS (1993) citaram como ideal a faixa de 23 a 25°C e CARTAY (2004) mencionou o intervalo entre 25 e 35°C. Logo, segundo estes autores, as plantas também não foram expostas à situação de estresse térmico. Além disso, CARVALHO et al. (1993), observaram teores de proteína inferiores aos deste estudo em condições de precipitação pluvial média variando entre 147,5 e 177,8 mm, em temperaturas médias de 20,9 a 21,9°C, para tempos de plantio de 11 a 18 meses.

Assim, parece correto concluir que o maior determinante do alto conteúdo protéico observado nas folhas de mandioca desidratadas da etapa I, neste trabalho, tenha sido o tempo de plantio ou idade da planta, o que é reafirmado pela

diminuição do conteúdo protéico na etapa II do estudo, para a mesma variedade de mandioca e em condições climáticas semelhantes.

O teor de lipídeos das folhas de mandioca desidratadas e moídas, nas etapas I e II, é compatível com as referências da literatura para este material, as quais variam entre 3,7 e 16,0% b.s. (ALETOR & ADEOGUN, 1995; AWOYINKA, ABEGUNDE & ADEWUSI, 1995; MADRUGA & CÂMARA, 2000; MODESTI, 2006).

Com relação ao teor de cinzas, pesquisadores observaram valores entre 5,7 e 8,3% b.s. (CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994; ALETOR & ADEOGUN, 1995; MADRUGA & CÂMARA, 2000; BOAVENTURA et al., 2000; ORTEGA-FLORES et al., 2003; MODESTI, 2006), estando o conteúdo encontrado no presente trabalho dentro desta faixa de variação.

As folhas coletadas em ambas as etapas apresentaram um conteúdo de fibra condizente com achados anteriores, que indicam uma variação entre 11,2 e 52,1% b.s. (MADRUGA & CÂMARA, 2000; ORTEGA-FLORES et al., 2003). Na etapa II, o conteúdo de fibra das folhas foi mais elevado em função do aumento da idade da planta (EL-SHARKAWY, 2004).

O conteúdo de HCN das folhas de mandioca desidratadas e moídas, nas duas etapas de estudo, foi superior ao observado anteriormente por AWOYINKA, ABEGUNDE & ADEWUSI (1995), de 10,5 mg% b.s. Entretanto, CORRÊA et al. (2002), investigando o efeito das condições de secagem de folhas de mandioca da variedade Baiana sobre o conteúdo de HCN das mesmas, encontraram um teor de 56,5 mg% com a secagem em estufa a 40°C e de 19,4 mg% com a secagem das folhas à sombra. Recentemente, MODESTI (2006) observou um conteúdo de 32,7 mg% de HCN em folhas desidratadas moídas de mandioca da variedade Pão da China com secagem mista (por seis dias à sombra e mais quatro horas em estufa sob 30°C).

A variação quanto ao teor de cianeto entre os achados da literatura e os resultados deste trabalho pode ser creditada a diferenças relativas aos cultivares utilizados, aos tempos de plantio, às condições agro-ecológicas de cultivo e ou à metodologia analítica (CARTAY, 2004). Neste trabalho também foi observada redução no teor de HCN nas folhas de mandioca com o aumento da idade da planta, o que está de acordo com relatos prévios de GÓMEZ, VALDIVIESO & DE LA CUESTA (1984).

Quanto à presença de taninos, VILHENA et al. (1996), CORRÊA et al. (2004) e MODESTI (2006) citaram, para folhas de mandioca desidratadas moídas, conteúdos de 1,8% b.s., 2,2 a 6,4 b.s. e 4,6% b.s., respectivamente, o que permite classificar como baixos os teores encontrados neste trabalho.

RAVINDRAN & RAVINDRAN (1988) referiram que a concentração de taninos em folhas de mandioca diminui com o tempo de plantio, fato não confirmado neste trabalho, quando na etapa II foi obtido um conteúdo equivalente ao dobro do encontrado na etapa I. Neste sentido, os dados deste estudo são compatíveis com a afirmação de LIMA et al. (2006) de que taninos são encontrados em menores concentrações em folhas mais velhas, ao contrário do que acontece com outros compostos fenólicos. Ainda com relação a estes compostos, a variação observada entre os dados referidos por diferentes autores pode ser decorrente, também, de metodologias diversas empregadas para a determinação dos mesmos e ou para a expressão dos resultados.

## **5.2 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS COLETADAS AOS 180 DIAS DE PLANTIO – ETAPA I**

A partir das folhas desidratadas e moídas coletadas na etapa I, foram obtidos concentrados protéicos através de cinco métodos citados na literatura (ROSAS-ROMERO & ACOSTA, 1986; SALGADO & SANTOS, 1986; CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994; PELUZIO et al., 1998), a fim de avaliá-los quanto ao rendimento, conteúdo e recuperação protéica, teor de taninos e cor. Estes parâmetros foram selecionados para uma avaliação preliminar, a partir da qual foram planejadas modificações com o objetivo de obter um concentrado protéico adequado a futuras aplicações tecnológicas.

O rendimento de concentrado a partir das folhas desidratadas moídas (tabela 2) pelo procedimento TCA II foi o que apresentou o maior resultado, diferindo dos demais e seguido de CE, CA e TC, com TCA I apresentando o menor rendimento, também diferente de todos os demais.

O maior rendimento de TCA II pode ser explicado pela dupla homogeneização da amostra neste procedimento, já que o rendimento depende, em

grande parte, do grau de desintegração celular e, conseqüentemente, da quantidade de proteína solubilizada (PIRIE, 1987). Quanto ao método TCA I, o rendimento inferior aos demais, provavelmente, foi devido à ausência de uma etapa de homogeneização da amostra, com menor solubilização da proteína das folhas, que foram apenas maceradas, o que resultou também em um menor conteúdo protéico. Além disso, o método TCA I foi o único em que, na fase de extração (solubilização protéica) foi empregada a relação 1:10 (p/v) para amostra e solução extratora e, segundo YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006), a relação que promoveu uma solubilização mais eficiente das proteínas de farinha desengordurada de castanha foi a de 1:20, a qual foi utilizada neste trabalho para os demais procedimentos.

**Tabela 2** – Rendimento, umidade, conteúdo e recuperação protéica e teor de taninos dos concentrados protéicos na etapa I<sup>(1)</sup>

Procedimento	Rendimento dos Concentrados <sup>(2)</sup>	Umidade	Conteúdo Protéico <sup>(3)</sup>	Recuperação de Proteína <sup>(4)</sup>	Taninos <sup>(5)</sup>
<b>CA</b>	14,0 ± 2,1 <sup>c</sup>	5,4 ± 0,1 <sup>b</sup>	57,2 ± 2,6 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,9 <sup>c</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>TCA I</b>	2,9 ± 0,3 <sup>e</sup>	5,1 ± 0,3 <sup>c</sup>	53,3 ± 1,8 <sup>d</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>e</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>TC</b>	11,4 ± 2,1 <sup>d</sup>	5,5 ± 0,2 <sup>ab</sup>	57,3 ± 0,3 <sup>b</sup>	6,5 ± 1,1 <sup>d</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>CE</b>	18,1 ± 0,3 <sup>b</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>c</sup>	60,9 ± 3,2 <sup>a</sup>	11,0 ± 0,4 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>TCA II</b>	25,3 ± 4,3 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	55,9 ± 0,5 <sup>c</sup>	14,1 ± 2,3 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>a</sup>

<sup>(1)</sup> Resultados expressos como valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão

<sup>(2)</sup> Expresso em base seca como g de concentrado/100g de folhas desidratadas

<sup>(3)</sup> Expresso em base seca como g de proteína/100g de concentrado com N x 6,25

<sup>(4)</sup> Expresso em base seca como g de proteína no concentrado/100g de folhas desidratadas

<sup>(5)</sup> Expresso em base seca como g de ácido tânico/100g de concentrado

**CA:** coagulação ácida; **TCA I:** termo-coagulação ácida I; **TC:** termo-coagulação; **CE:** coagulação por etanol;

**TCA II:** termo-coagulação ácida II

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Foram observadas diferenças quanto ao conteúdo de proteína (tabela 2) entre os procedimentos testados, exceto entre CA e TC. O maior conteúdo no concentrado CE indica que a operação de extração da proteína por solvente orgânico resultou em menor perda da proteína presente no extrato bruto. Assim, o ambiente mais ácido, com pH 4, independentemente da temperatura fornecida (85°C para TCA I e 50°C para TCA II), não ofereceu vantagens na precipitação das proteínas em relação ao emprego de etanol (CE), de temperatura (TC) ou de pH 5 sem aquecimento (CA). Quanto ao pH, pode ser inferido, neste caso, que o ponto isolétrico da proteína de folha de mandioca está situado mais próximo de 5, como geralmente ocorre com as proteínas vegetais (DAMODARAN, 1996).

Os conteúdos protéicos dos concentrados TC e CA não diferiram e foram os maiores, após o de CE. Quanto ao procedimento CA, o conteúdo protéico obtido é justificado pelo pH de extração, uma vez que a faixa alcalina promove maior solubilização das proteínas (CHAVES, 1987; DERENZO & ALDEIA, 2000; YU, AHMEDNA & GOKTEPE; 2006). Por outro lado, o conteúdo protéico obtido com o procedimento TC confirma os achados de ESPÍNDOLA (1987), que obteve maior eficiência de precipitação da proteína presente no extrato bruto quando empregou calor (85°C) para este fim.

Outros autores, estudando o conteúdo de proteína de concentrados obtidos por diferentes métodos encontraram resultados inferiores ao deste estudo. ROSAS-ROMERO & ACOSTA (1986) citaram 46,8% b.s. de proteína em concentrado obtido de folhas de mandioca pelo método CA, CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI (1994) relataram um teor de proteína de 42,9% b.s. em concentrado obtido pelo método TCA I e PELUZIO et al. (1998) obtiveram 51,9% b.s. de proteína em um concentrado produzido pelo método CE. SALGADO & SANTOS (1986) relataram 32,5% a 37,1% b.s. de proteína em concentrados obtidos pelo método TC e 25,1% a 27,9% b.s. pelo método TCA II. Os maiores conteúdos protéicos obtidos neste trabalho com os mesmos procedimentos podem ser devidos, além dos fatores mencionados anteriormente, à quantidade superior de água utilizada para homogeneização da amostra, com maior interação entre solvente e amostra, menor perda da mesma e maior solubilização das proteínas. Os concentrados TCA II e CE também apresentaram os maiores percentuais de recuperação da proteína contida nas folhas desidratadas (tabela 2), de 36,6 e 25,2%, respectivamente.

Quando são consideradas as folhas frescas, as quais apresentaram 66,7% de umidade, os resultados encontrados significam uma recuperação protéica de 36,7 e 28,9%, respectivamente, para TCA II e CE. Estes são valores bastante superiores aos relatados por HEINEMANN et al. (1998), que observaram recuperação protéica de 6,8% quando produziram um concentrado a partir de fermentação de folhas de mandioca frescas, e por PELUZIO et al. (1998), que obtiveram uma recuperação de 0,70% em concentrado obtido de folhas frescas pelo procedimento CE. Entretanto, MODESTI (2006) obteve recuperações protéicas ainda maiores em relação às folhas frescas, de 50,8% para um concentrado produzido pelo método TC e de 57,0% quando empregou o método CA.

Os concentrados protéicos obtidos pelos diferentes procedimentos apresentaram conteúdos de taninos semelhantes (tabela 2), tendo sido observadas reduções de 37,7% a 50,8% em relação às folhas desidratadas, em conformidade com MODESTI (2006) que mencionou redução média de 48,7% em concentrados protéicos de folhas de mandioca desidratadas. Este autor encontrou um teor médio de taninos de 2,4% b.s. ao empregar os métodos TC e CA, resultado bastante superior aos deste estudo. O fato da redução do conteúdo de taninos ter sido semelhante à do presente trabalho e o teor de taninos, entretanto, ter sido muito superior pode ser explicado pelo uso de variedades de mandioca e tempos de plantio diferentes.

Por outro lado, ROSAS-ROMERO & ACOSTA (1986) encontraram um conteúdo de taninos de 2,1% b.s. em concentrado protéico obtido pelo método CA a partir de folhas frescas de mandioca. Os resultados destes autores podem indicar que a secagem das folhas e sua trituração antes das operações de concentração da proteína contribuíram para a redução do conteúdo destes compostos (PADMAJA, 1989). Na fase de extração da proteína, a homogeneização da farinha de folhas em água também influenciou a redução dos taninos, uma vez que estes compostos são hidrossolúveis, principalmente sob agitação (LIMA et al., 2004). No caso do método TCA I, apesar da ausência de agitação, a redução dos taninos deveu-se, provavelmente, à maceração em sulfito de sódio (CHIARADIA, COSTA & GOMES, 1999).

Não existe limitação para o conteúdo de taninos em alimentos e, além disso, está bem descrito o papel antioxidante benéfico destes e de outros compostos fenólicos na dieta (VALVERDE, PERIAGO & ROS, 2000), sendo útil,

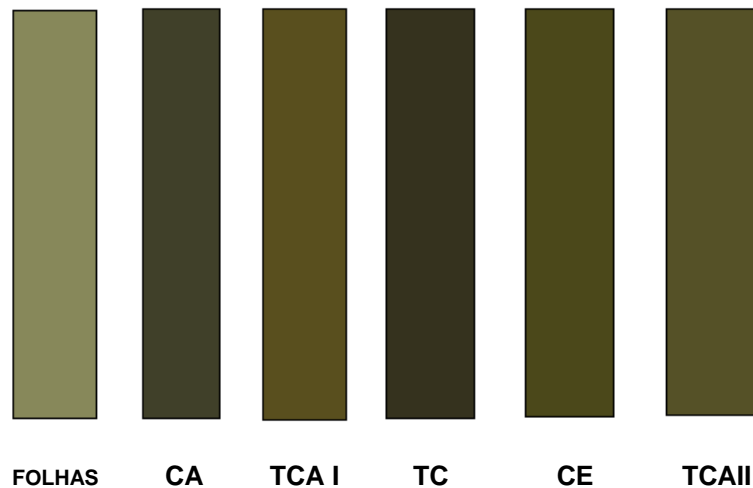
portanto, comparar os resultados deste trabalho com os conteúdos observados em outros alimentos e bebidas. Pesquisadores de erva mate citaram teores de taninos entre 0,5 e 0,6% b.s. (DONADUZZI & CARDOZO, 2003). Em ervilhas e vagens estes compostos são encontrados na ordem de 2,0% (VALVERDE, PERIAGO & ROS, 2000) e em feijão-preto foram encontrados conteúdos variando entre 0,4 e 2,0% b.s. (CORRÊA et al., 2004; LIMA et al., 2004). Considerando estas referências, os teores de taninos dos concentrados protéicos obtidos neste estudo são compatíveis com os valores normalmente observados em outros alimentos e bebidas de consumo usual, o que indica que os concentrados obtidos não oferecem risco adicional à biodisponibilidade protéica e mineral da dieta.

As operações empregadas na concentração da proteína implicam reações químicas diversas que podem resultar em características de cor mais ou menos desejáveis nos concentrados obtidos. Porém, as referências a esta característica de qualidade de concentrados protéicos de folhas de mandioca são escassas. Apenas HEINEMANN et al. (1998) mencionaram que a cor do concentrado obtido por fermentação é verde-musgo e SGARBIERI (1996) citou que concentrados protéicos de folhas apresentam coloração verde escura.

Mais recentemente, MODESTI (2006) referiu que o concentrado protéico de folhas de mandioca desidratadas é um pó verde e que quando obtido por termo-coagulação apresenta coloração verde mais clara do que pelo emprego de precipitação isoelétrica, sendo que a lavagem destes concentrados com etanol, éter etílico, acetona e hexano, em diversas condições experimentais, acarretou algumas alterações de cor.

Assim, visando a utilização do concentrado protéico de folhas de mandioca como ingrediente alimentar e considerando que a cor escura pode prejudicar a aceitação de determinados alimentos pelo consumidor, é importante o estudo desta característica. Portanto, com a finalidade de investigar o impacto dos diferentes procedimentos de obtenção na cor dos concentrados protéicos resultantes, esta característica foi avaliada na etapa I.

É possível identificar visualmente, através da cor média (figura 3), as diferenças de cor entre os concentrados e entre estes e as folhas desidratadas moídas, todos variando em tons de verde.



**CA:** coagulação ácida; **TCA I:** termo-coagulação ácida I; **TC:** termo-coagulação;  
**CE:** coagulação por etanol; **TCA II:** termo-coagulação ácida II

**Figura 3** – Cor média das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa I.

Os concentrados obtidos pelos procedimentos TCA I, TCA II e CE não diferiram quanto à luminosidade, apresentando os maiores valores de  $L^*$  (tabela 3), ou seja, possuíam as cores mais claras, uma vez que  $L^*$  varia de zero (preto) a cem (branco) (CAMELO & GÓMEZ, 2004). As folhas desidratadas moídas apresentaram  $L^*$  superior aos dos concentrados e cor mais clara; entretanto, as folhas apresentam o inconveniente de não poderem ser adicionadas, na mesma quantidade que os concentrados, a alimentos (como ingrediente) para resultar em um produto com maior conteúdo protéico.

**Tabela 3** – Luminosidade ( $L^*$ ) e tonalidade cromática ( $H^*$ ) das folhas desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa I<sup>(1)</sup>

Material	$L^*$ <sup>(2)</sup>	$H^*$ <sup>(3)</sup>
<b>Folhas Desidratadas Moídas</b>	56,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	107,9 ± 1,1 <sup>a</sup>
<b>CA</b>	25,5 ± 1,2 <sup>c</sup>	106,0 ± 2,6 <sup>ab</sup>
<b>TCA I</b>	33,1 ± 1,2 <sup>b</sup>	94,9 ± 1,8 <sup>c</sup>
<b>TC</b>	18,9 ± 3,1 <sup>d</sup>	100,9 ± 2,6 <sup>b</sup>
<b>CE</b>	29,3 ± 1,8 <sup>bc</sup>	101,9 ± 1,8 <sup>b</sup>
<b>TCA II</b>	33,4 ± 0,9 <sup>b</sup>	101,1 ± 0,5 <sup>b</sup>

<sup>(1)</sup> Valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão

<sup>(2)</sup> L: 0 = preto absoluto; 100 = branco absoluto

<sup>(3)</sup> Resultados expressos em graus para  $H^*$  (tonalidade cromática), calculado como  $H^* = 180 + [\arctang(b^*/a^*)]$   
Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Os valores de  $H^*$  observados (tabela 3) situam as colorações dos concentrados e das folhas desidratadas no quadrante compreendido entre  $90^\circ$  e  $180^\circ$  no espaço físico de cor do sistema CIELAB, composto por maiores intensidades de verde e amarelo (HUNTERLAB, 2004). Para este parâmetro, apenas o concentrado TCA I diferiu dos demais, apresentando uma coloração *plotada* no plano equatorial da esfera de cor em um ângulo menor, mais próximo de  $90^\circ$ , o qual representa teoricamente o amarelo puro (FERREIRA & MINAMI, 2000).

Desta forma, quanto menor o valor de  $H^*$ , neste quadrante, mais amarela a cor correspondente. Portanto, apesar de TCA I, TCA II e CE não diferirem quanto a  $L^*$ , a aparência de cor mais clara de TCA I é dada em função de seu menor valor de  $H^*$  e pode ser explicada pela utilização de sulfito de sódio na fase de extração da proteína, já que esta substância inibe irreversivelmente a enzima polifenoloxidase, além de interagir com intermediários precursores do pigmento escuro (formando sulfoquinonas) e de atuar como agente redutor, prevenindo, através destes mecanismos, a oxidação dos taninos e, conseqüentemente, o escurecimento (ARAÚJO, 1999). A cor mais clara das folhas desidratadas em relação aos concentrados, apesar do maior valor de  $H^*$ , é devida ao maior valor de  $L^*$ .

Há que ser considerada a influência da degradação da clorofila na cor dos concentrados protéicos. Assim, os procedimentos empregados para extração e precipitação protéica provavelmente promoveram transformação da clorofila em feofitina (TCA I, TCA II) e feoforbídeo (CA), ou clorofilida (TC). A cor obtida com o procedimento CE pode ser justificada pelo uso de etanol para precipitação protéica, com alguma remoção e alomerização do pigmento clorofila (STREIT et al., 2005). Mas, a despeito das diferenças observadas, todos os concentrados apresentaram uma tendência à cor escura, o que pode ser explicado como efeito do calor empregado durante a secagem das folhas (reação de Maillard), ou a secagem dos concentrados protéicos (degradação adicional da clorofila). Também podem contribuir para o escurecimento dos concentrados reações entre proteínas e lipídeos oxidados (SGARBIERI, 1996; ARAÚJO, 1999).

### **5.3 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS COLETADAS AOS 240 DIAS DE PLANTIO – ETAPA II**

Nesta etapa foram propostas e testadas modificações nos procedimentos utilizados na etapa I que resultaram em concentrados protéicos de maior rendimento, conteúdo e recuperação protéica, além de cor mais clara. Como não foram observadas diferenças entre os concentrados da etapa I quanto ao teor de taninos, este aspecto não interferiu na seleção dos procedimentos a serem modificados.

As modificações implementadas visaram incrementar os resultados obtidos na etapa I, tendo sido selecionados os procedimentos TCA II e CE para a avaliação destas modificações. Devido à cor média mais clara do concentrado TCA I, creditada ao emprego de sulfito de sódio, esta substância foi associada às modificações e os procedimentos modificados foram denominados TCAII<sub>M</sub> e CE<sub>M</sub>.

Os concentrados, nesta etapa II, foram também submetidos às análises de conteúdo de HCN, composição mineral, propriedades funcionais, fracionamento protéico e avaliação biológica da qualidade protéica, além daquelas referentes a rendimento, composição centesimal, recuperação protéica, teor de taninos e cor. Para efeitos de comparação com os concentrados, as folhas desidratadas moídas, nesta etapa, também foram analisadas quanto à composição mineral e fracionamento protéico.

#### **5.3.1 Rendimento e composição dos concentrados**

Não foram observadas diferenças entre os dois procedimentos modificados (TCAII<sub>M</sub> e CE<sub>M</sub>) quanto ao rendimento de concentrado (tabela 4), tendo os mesmos apresentado rendimento superior ao dos concentrados na etapa I. O maior rendimento era esperado, uma vez que foi empregada dupla homogeneização da amostra, tratamento repetido com as fibras residuais, permitindo maior interação da mesma com o solvente e maior desintegração celular (PIRIE, 1987). Esta modificação também resultou em maior solubilização das proteínas das folhas

desidratadas moídas, o que refletiu em maior teor protéico dos concentrados e maior recuperação da proteína das folhas do que na etapa anterior, apesar do menor conteúdo de proteína nas folhas nesta etapa.

A recuperação protéica (considerada em termos da relação entre a quantidade de proteína no concentrado obtido a partir de 100 g de folhas de mandioca desidratadas moídas e aquela inicialmente presente em 100 g das folhas desidratadas moídas antes dos procedimentos de concentração protéica) não diferiu entre os dois procedimentos modificados e foi, respectivamente, de 63,7 e 62,4% para  $CE_M$  e  $TCAII_M$ . O conteúdo de proteína de  $CE_M$  foi maior do que o de  $TCAII_M$  (tabelas 4 e 5), confirmando a menor perda da proteína presente no extrato bruto pelo emprego de concentração protéica por solvente orgânico, conforme observado na etapa I deste trabalho.

**Tabela 4** – Rendimento, umidade, conteúdo e recuperação protéica e teor de taninos dos concentrados protéicos antes e após modificações<sup>(1)</sup>

Procedimento	Rendimento dos Concentrados <sup>(2)</sup>	Umidade	Conteúdo Protéico <sup>(3)</sup>	Recuperação de Proteína <sup>(4)</sup>	Taninos <sup>(5)</sup>
<b>CE</b>	18,1 ± 0,3 <sup>c</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	60,9 ± 3,2 <sup>c</sup>	11,0 ± 0,4 <sup>c</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>TCA II</b>	25,3 ± 4,3 <sup>b</sup>	5,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	55,9 ± 0,5 <sup>d</sup>	14,1 ± 2,3 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>CE<sub>M</sub></b>	28,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	65,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	18,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>TCA II<sub>M</sub></b>	28,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	63,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	18,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>

<sup>(1)</sup> Resultados expressos valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão

<sup>(2)</sup> Expresso em base seca como g de concentrado/100g de folhas desidratadas

<sup>(3)</sup> Expresso em base seca como g de proteína/100g de concentrado com N x 6,25

<sup>(4)</sup> Expresso em base seca como g de proteína no concentrado/100g de folhas desidratadas

<sup>(5)</sup> Expresso em base seca como g de ácido tânico/100gde concentrado

**CE:** coagulação por etanol; **TCA II:** termo-coagulação ácida II; **CE<sub>M</sub>:** coagulação por etanol modificado;

**TCA II<sub>M</sub>:** termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Quanto ao conteúdo de taninos, não houve diferença entre os concentrados protéicos obtidos pelos procedimentos modificados (tabela 4), ou entre os concentrados nas duas etapas. Entretanto, foram observadas reduções de 68,9 e 70,6% em relação aos taninos das folhas desidratadas nos concentrados obtidos na etapa II, as quais foram superiores às reduções observadas na etapa I. Esta diferença ocorreu provavelmente devido a uma maior solubilização/lixiviação, com posterior remoção, dos taninos das folhas desidratadas pela agitação em sulfito de sódio e pela homogeneização aumentada em água nesta etapa.

Estes resultados condizem com os relatos de outros pesquisadores (VILHENA et al., 1996; CORRÊA et al., 2004) e, inclusive, LIMA et al. (2004) observaram que a água foi tão eficiente quanto o etanol na remoção de taninos de brotos de feijão-mungo, o que justifica as reduções nos conteúdos destes compostos observadas neste estudo.

Com relação à composição centesimal (tabela 5), os concentrados diferiram nos teores de proteína e lipídeo.

O teor de lipídeos (tabela 5) dos concentrados protéicos, na etapa II, foi maior para TCA II<sub>M</sub>, sugerindo que alguma remoção tenha ocorrido em CE<sub>M</sub> pelo contato prolongado com etanol na etapa de precipitação protéica. O concentrado CE<sub>M</sub> apresentou um conteúdo de lipídeo em base seca semelhante ao observado por ROSAS-ROMERO & ACOSTA (1986), de 5,2%, quando estudaram um concentrado obtido pelo procedimento CA. Por outro lado, RUIZ-CARRERA & FRANCO-GÓMEZ (1986), SALGADO & SANTOS (1986), CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI (1994), HEINEMANN et al. (1998) e MODESTI (2006), encontraram conteúdos de lipídeos variando entre 12,3 e 38,0%, empregando os vários procedimentos testados neste trabalho.

**Tabela 5** - Composição centesimal e conteúdo de HCN dos concentrados protéicos na etapa II<sup>(1)</sup>

	P					HO Totais <sup>(2),(4)</sup>	CN <sup>(5)</sup>
	midade	roteína <sup>(2),(3)</sup>	ipídeo <sup>(2)</sup>	inza <sup>(2)</sup>	ibra <sup>(2)</sup>		
<b>EM</b>	,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	,5 ± 0,5 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	8,5 ± 0,7 <sup>a</sup>	,7 ± 0,4 <sup>a</sup>
<b>CA II<sub>M</sub></b>	,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	,3 ± 0,7 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	8,4 ± 0,8 <sup>a</sup>	,0 ± 0,2 <sup>a</sup>

(1) Valores médios de três determinações ± desvio padrão

(2) Resultados expressos em g/100g de amostra em base seca

(3) N x 6,25

(4) Carboidratos totais (incluindo fibras) calculados por diferença

(5) Resultados expressos em mg/100g de amostra em base seca

**CE<sub>M</sub>**: coagulação por etanol modificado; **TCA II<sub>M</sub>**: termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Com relação ao teor de cinzas (tabela 5) não foram observadas diferenças entre os dois concentrados e os resultados obtidos na etapa II são superiores aos achados da literatura, os quais variam entre 2,2 e 8,6% b.s. (ROSAS-ROMERO & ACOSTA, 1986; RUIZ-CARRERA & FRANCO-GÓMEZ, 1986; SALGADO & SANTOS, 1986; CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994; HEINEMANN et al., 1998; MODESTI, 2006) e superiores, inclusive, ao das folhas de mandioca desidratadas e moídas, o que indica que os procedimentos de obtenção dos concentrados protéicos causaram também uma concentração de elementos minerais.

Diversos autores, pesquisando concentrados protéicos de folhas de mandioca, encontraram teores de fibra entre 1,1 e 4,6% (RUIZ-CARRERA & FRANCO-GÓMEZ, 1986; SALGADO & SANTOS, 1986; CASTELLANOS, ALTAMIRANO & MORETTI, 1994; HEINEMANN et al., 1998; MODESTI, 2006), o que evidencia que os achados do presente estudo correspondem a teores elevados destes elementos, o que pode ter implicações indesejáveis na biodisponibilidade protéica e mineral da dieta (DAVIES, 1979). Entretanto, com relação às folhas desidratadas, houve uma relevante redução do conteúdo de fibras nos concentrados, devido à etapa de filtração que seguiu a solubilização protéica.

Por outro lado, conforme mencionado anteriormente, a fibra da dieta tem efeitos fisiológicos altamente benéficos (CALLEGARO et al., 2005), sendo que a

recomendação atual para o consumo diário de fibra é de 20 a 35g/dia para adultos (COPPINI et al., 2000). Para crianças, a ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária recomenda uma oferta diária de fibras de 7,0g na faixa etária de 1 a 3 anos, 10,0g entre os 4 e 6 anos, e 13g entre 7 e 10 anos (BRASIL, 2003).

São considerados alimentos fontes de fibra a aveia em flocos (9,1%), feijão (21, 1%) e lentilha (16,9%). Alimentos usualmente sugeridos como boas fontes de fibra, como alface e agrião, apresentam apenas 1,6 e 2,1% de fibra, respectivamente (NEPA – UNICAMP, 2004). Portanto, os teores de fibra encontrados nos concentrados protéicos neste estudo sugerem que os mesmos apresentam um bom potencial para o enriquecimento de alimentos aos quais sejam acrescentados, não só em relação à proteína, mas também à quantidade de fibra.

Com relação ao conteúdo de HCN (tabela 5), os resultados obtidos na etapa II deste trabalho evidenciam que os concentrados não diferiram e são compatíveis com os relatados por ROSAS-ROMERO & ACOSTA (1986) e MODESTI (2006), de 5,0 e 5,8 mg% b.s., respectivamente. MODESTI (2006), que produziu concentrados protéicos por termo-coagulação e por coagulação ácida, tendo os mesmos sido lavados com diferentes solventes, observou que o agente precipitante da proteína não influenciou no conteúdo de HCN do concentrado resultante. Entretanto, o mesmo autor encontrou maiores remoções de cianeto quando ambos os concentrados foram lavados com etanol 50% do que com éter.

Considerando que a dose letal de HCN para a espécie humana varia entre 0,5 e 3,5 mg/kg de peso vivo (ARAÚJO, 1999), seria necessária uma ingestão diária de 100,0 a 700,0 g dos concentrados protéicos obtidos neste estudo para levar a óbito uma criança de 12 kg, por exemplo. Entretanto, este consumo é improvável, uma vez que a proposta de aplicação tecnológica de concentrados protéicos, geralmente, indica o emprego dos mesmos como ingredientes alimentares e, nesta lógica, o consumo *per capita* diário não se aproximaria daquelas quantidades. Assim, podem ser avaliados como não tóxicos os níveis de HCN observados nos concentrados protéicos obtidos na etapa II. CORRÊA et al. (2002) fizeram afirmação semelhante quando obtiveram teores de cianeto entre 19,4 e 56,5 mg% em folhas de mandioca desidratadas em diferentes condições de tempo e temperatura.

Com relação à composição mineral na etapa II (tabela 6), foram avaliados os conteúdos de cálcio (Ca), fósforo (P), ferro (Fe), zinco (Zn), magnésio

(Mg), manganês (Mn) e cobre (Cu). O concentrado CE<sub>M</sub> apresentou maior conteúdo de cálcio, fósforo, magnésio e manganês, com os teores de zinco e cobre sendo maiores em TCA II<sub>M</sub>. Quanto ao conteúdo de ferro, os concentrados não diferiram.

**Tabela 6** - Composição mineral das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa II<sup>(1)</sup>

	a	e	n	g	n	u	
<b>folhas</b>	$4 \times 10^3 \pm 0,2^a$	$30,0 \pm 0,1^a$	$8 \pm 0,5^b$	$1,4 \pm 0,5^a$	$90,0 \pm 0,4^a$	$1,8 \pm 0,2^a$	$2 \pm 0,3^a$
<b>CE<sub>M</sub></b>	$3 \times 10^3 \pm 0,1^b$	$02,0 \pm 0,3^b$	$5,8 \pm 0,5^a$	$4 \pm 0,3^c$	$70,0 \pm 0,5^b$	$9,5 \pm 0,7^b$	$5 \pm 0,4^c$
<b>CA II<sub>M</sub></b>	$2 \times 10^3 \pm 0,1^c$	$15,0 \pm 0,2^c$	$5,9 \pm 0,7^a$	$0,5 \pm 0,6^b$	$24,0 \pm 0,3^c$	$7,9 \pm 0,8^c$	$8 \pm 0,2^b$

<sup>1</sup>valores médios de três determinações  $\pm$  desvio padrão, com resultados expressos em mg/100g de amostra em base seca

CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado; TCA II<sub>M</sub>: termo-coagulação ácida II modificado  
Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Para todos os minerais analisados, apesar das diferenças entre as folhas e os concentrados protéicos, todos apresentaram conteúdo igual ou superior ao dos respectivos alimentos-fonte presentes na dieta brasileira habitual. Além disso, considerando as RDA para a faixa etária de 1 a 10 anos (800,0 mg para cálcio e fósforo, 10,0 mg para ferro e zinco, 80,0 a 170,0 mg para magnésio, 1,0 a 3,0 mg para manganês e 0,7 a 2,0 mg de ingestão segura e adequada para o cobre) (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1999), a composição mineral observada pode representar contribuição relevante para a oferta destes nutrientes na dieta.

MODESTI (2006) encontrou conteúdos médios de 375,0 mg% b.s. de cálcio, 270,0 mg% b.s. de fósforo, 17,1 mg% b.s. de ferro, 6,6 mg% b.s. de zinco, 55,0 mg% b.s. de magnésio, 4,4 mg% b.s. de manganês e 1,3 mg% b.s. de cobre para concentrados protéicos de folhas de mandioca da variedade Pão da China. Para as folhas desidratadas, o mesmo autor observou teores de 1.090,0 mg% b.s. de cálcio, 290,0 mg% b.s. de fósforo, 9,8 mg% b.s. de ferro, 9,3 mg% b.s. de zinco, 320,0 mg% b.s. de magnésio, 18,8 mg% b.s. de manganês e 1,1 mg% b.s. de cobre. Os resultados observados no presente estudo foram superiores aos deste autor, exceto para o ferro (nos concentrados e nas folhas) e o cobre (nos concentrados), o

que sugere que a variedade, o tempo e as condições agro-ecológicas de cultivo interfiram com o conteúdo mineral deste material (LANCASTER & BROOKS, 1983).

Em relação à composição mineral das folhas desidratadas moídas, todos os minerais avaliados foram reduzidos nos concentrados protéicos, exceto o ferro, cujo conteúdo nos concentrados é equivalente ao dobro do das folhas. Este fato, associado ao maior teor de cinzas dos concentrados, pode significar que, durante os procedimentos para concentração da proteína, alguns outros elementos minerais não avaliados neste trabalho foram os responsáveis pelo aumento da fração mineral.

Neste sentido, MODESTI (2006) encontrou um teor de enxofre em concentrados protéicos correspondente ao dobro da quantidade deste mineral observada nas folhas desidratadas de mandioca. Este autor também relatou que o resíduo fibroso da extração protéica apresentou as maiores concentrações de cálcio, magnésio, manganês e zinco.

No presente trabalho, portanto, os concentrados protéicos obtidos, além de um maior teor protéico em relação às folhas desidratadas moídas, apresentam a vantagem de um maior conteúdo de ferro, o que representa um efeito benéfico adicional da introdução destes ingredientes em sistemas alimentares.

Os concentrados protéicos, na etapa II, foram submetidos à análise de fracionamento protéico por extração seqüencial e, para efeito de comparação, as folhas desidratadas e moídas desta etapa também foram caracterizadas (tabela 7).

**Tabela 7** - Frações protéicas das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos na etapa II<sup>(1)</sup>

	<b>A</b>	<b>G</b>	<b>P</b>	<b>Glutelin</b>	<b>Pr</b>
	<b>Ibumina</b>	<b>Ibulina</b>	<b>rolamina</b>	<b>a + Resíduo</b>	<b>oteína Total Recuperada</b>
	1	2	1	35,0 ±	75
<b>olhas</b>	1,6 ± 0,1 <sup>c</sup>	7,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	,6 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,1 <sup>a</sup>	,3 ± 0,2 <sup>c</sup>
	2	3	2	28,3 ±	89
<b>E<sub>M</sub></b>	6,2 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,3 <sup>b</sup>	,5 ± 0,3 <sup>a</sup>
	2	3	2	28,0 ±	88
<b>CA II<sub>M</sub></b>	7,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	,0 ± 0,4 <sup>b</sup>	0,2 <sup>b</sup>	,7 ± 0,4 <sup>b</sup>

<sup>(1)</sup> Valores médios de três determinações ± desvio padrão, com resultados expressos em g/100g de proteína em base seca

**CE<sub>M</sub>**: coagulação por etanol modificado; **TCA II<sub>M</sub>**: termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

A fração protéica majoritária nos concentrados e nas folhas foi a de globulina, sendo que albuminas e globulinas juntas constituem relevante fração da proteína total recuperada. As diferenças observadas entre os concentrados e entre estes e as folhas desidratadas são devidas, provavelmente, a diferentes graus de desnaturação com impacto na solubilidade destes materiais (BEJOSANO & CORKE, 1999). De acordo com SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999), o preparo de concentrados protéicos com extração em meio alcalino, com ou sem sulfito de sódio, e a subsequente precipitação isoelétrica, como no presente trabalho, gera concentrados protéicos constituídos principalmente pela fração globulina.

A fração glutelina não foi quantificada, tendo sido apresentada incluída na proteína residual e a maior solubilidade dos concentrados e das folhas desidratadas em pH ácido e alcalino pode ser, pelo menos em parte, uma função desta fração protéica (FONTANARI, 2006).

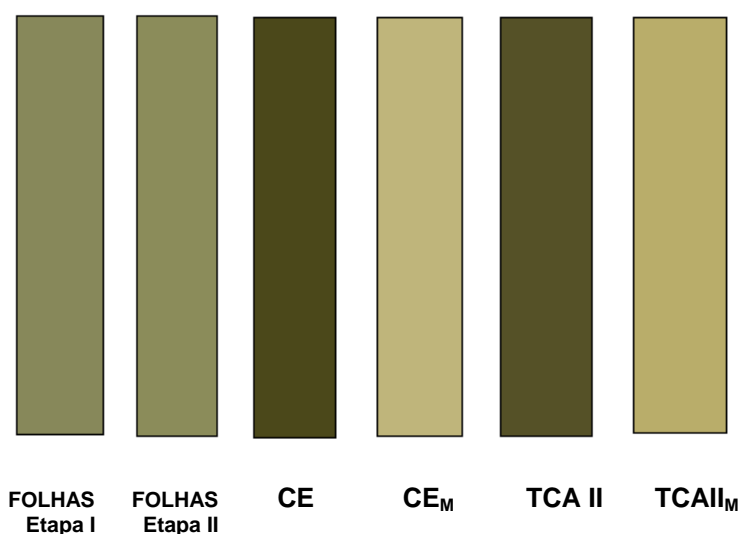
Quanto à influência da composição da proteína, em termos das frações analisadas, sobre as propriedades funcionais, EL-ADAWY et al. (2001) afirmaram que o bom desempenho de uma proteína com relação à propriedade de estabilização de espuma está relacionado à fração globulina, o que pode ser o fator causal da maior estabilidade de espuma observada em  $CE_M$  neste trabalho. No mesmo sentido, SGARBIERI (1996) afirmou que a solubilidade das globulinas é grandemente favorecida pela adição de um sal neutro, como NaCl, o que não foi avaliado neste trabalho. Quanto às albuminas, DAMODARAN (1996) afirmou que as mesmas são altamente solúveis em água em pH 6,6.

Considerando estas referências e o fato de que albuminas e globulinas foram as frações protéicas principais neste estudo, uma potencial aplicação para estes materiais seriam os produtos de panificação, os quais incluem em suas formulações uma razoável quantidade de água e baixas concentrações de sal, com a massa apresentando, nos estágios iniciais, um pH próximo de 6,0. Embora as proteínas solúveis não contribuam para as propriedades de formação de massa à base de trigo (DAMODARAN, 1996), a solubilidade contribui para propriedades funcionais importantes em produtos de panificação, como as emulsificantes (YU, AHMEDNA & GOKTEPE, 2006). Além disso, a fração de glutelinas identificada neste trabalho reforça a potencial aplicação dos concentrados protéicos em produtos de panificação, já que estas são proteínas que, segundo COULTATE (2004), contribuem para o volume destes produtos.

### 5.3.2 Cor dos concentrados

Para avaliar o impacto, na cor, das modificações introduzidas nos procedimentos de obtenção dos concentrados protéicos, foram comparados quanto a este atributo os concentrados originais e os correspondentes modificados, bem como as folhas de mandioca desidratadas e moídas em ambas as etapas.

A cor média dos concentrados da etapa II (figura 4) foi mais clara do que a daqueles da etapa I e esta diferença foi confirmada pelos valores do parâmetro  $L^*$ , iguais para  $TCA_{II_M}$  e  $CE_M$  e superiores aos observados para todos os procedimentos na etapa I (tabela 8). A cor média das folhas desidratadas não diferiu entre as duas etapas e, na etapa II, os concentrados foram mais claros do que as folhas.



**CE:** coagulação por etanol; **CE<sub>M</sub>:** coagulação por etanol modificado; **TCA II:** termo-coagulação ácida II; **TCA II<sub>M</sub>:** termo-coagulação ácida II modificado

**Figura 4** – Cor média das folhas de mandioca desidratadas moídas nas etapas I e II e dos concentrados protéicos antes e após modificações.

As tonalidades cromáticas dos concentrados modificados foram iguais e apenas  $TCA_{II_M}$  diferiu quanto a  $H^*$  dos concentrados da etapa I. Portanto, a diferença observada na cor média destes concentrados quando comparados aos da etapa I foi devida aos maiores valores de  $L^*$  obtidos após as modificações dos procedimentos de obtenção.

A cor mais clara dos concentrados na etapa II resultou do uso de sulfito de sódio, procedimento ausente em TCA II e CE e cuja eficiência na remoção de taninos e na prevenção do escurecimento foi aumentada pelo emprego de agitação (ARAÚJO, 1999).

**Tabela 8** – Luminosidade ( $L^*$ ) e tonalidade cromática ( $H^*$ ) das folhas desidratadas moídas na etapa II e dos concentrados protéicos antes e após modificações<sup>(1)</sup>

Procedimento	$L^{*(2)}$	$H^{*(3)}$
<b>FOLHAS DESIDRATADAS</b>	$57,5 \pm 0,4^b$	$107,6 \pm 0,2^a$
<b>CE</b>	$29,3 \pm 1,8^d$	$101,9 \pm 1,8^b$
<b>TCA II</b>	$33,4 \pm 0,9^c$	$101,1 \pm 0,5^b$
<b>CE<sub>M</sub></b>	$73,8 \pm 1,2^a$	$99,8 \pm 0,5^{bc}$
<b>TCA II<sub>M</sub></b>	$70,8 \pm 0,4^a$	$98,3 \pm 0,6^c$

<sup>(1)</sup> Valores médios de três repetições com três determinações cada  $\pm$  desvio padrão

<sup>(2)</sup> L: 0 = preto absoluto; 100 = branco absoluto

<sup>(3)</sup> Resultados expressos em graus para  $H^*$  (tonalidade cromática), calculado como  $H^* = 180 + [\arctang(b^*/a^*)]$   
Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

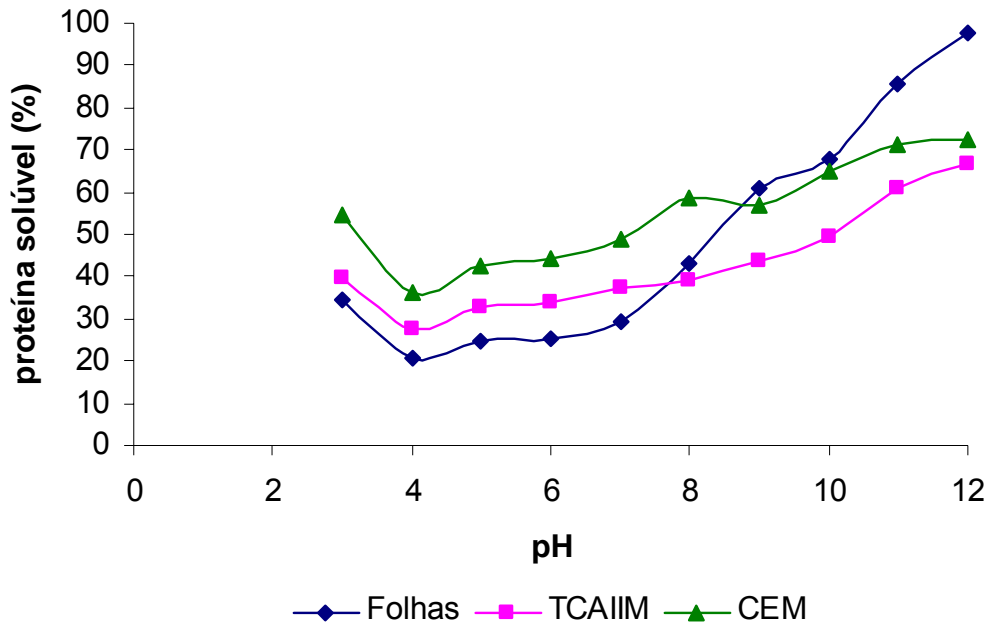
### 5.3.3 Propriedades funcionais das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados na etapa II

As folhas e os dois concentrados obtidos através de procedimentos modificados (CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub>) foram avaliados quanto às seguintes propriedades funcionais: solubilidade protéica na faixa de pH entre 3 e 12 (tabela 9; figura 5), capacidades de absorção de água e de óleo, propriedades emulsificantes (capacidade, atividade e estabilidade), propriedades espumantes (formação e estabilidade), propriedade de formação de gel, densidade aparente (tabela 10).

#### 5.3.3.1 Solubilidade protéica em diferentes pH

O perfil de solubilidade protéica das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub> (figura 5; tabela 9) foi determinado no intervalo entre pH 3 e 12. Tanto as folhas quanto os concentrados apresentaram solubilidade mínima entre pH 4 e 6, intervalo em que está situado o

ponto isoelétrico da maioria das proteínas vegetais (DAMODARAN, 1996; RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al., 2005).



**Figura 5** – Curvas de solubilidade protéica das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos  $CE_M$  (coagulação por etanol modificado) e  $TCA II_M$  (termo-coagulação ácida II modificado) entre pH 3 e 12.

Entre os concentrados, a solubilidade foi maior para  $CE_M$  em toda a faixa avaliada, o que sugere que a desnaturação protéica causada pelo emprego de etanol possa ter sido menos intensa do que a causada pelo emprego de ácido, já que a exposição prolongada ao ácido durante o repouso *overnight* pode causar acentuada perda de solubilidade (GLÓRIA E REGITANO-d'ARCE, 2000). Outro fator que pode explicar a menor solubilidade protéica de  $TCA II_M$  é o seu conteúdo maior de lipídeos, uma vez que estes compostos podem ter se associado às proteínas, reduzindo sua solubilidade (SÁNCHEZ-VIOQUE et al., 1999).

Considerando os dois concentrados e as folhas, na faixa de pH entre 3 e 7,  $CE_M$  apresentou a maior solubilidade, seguido por  $TCAII_M$  e pelas folhas. Entretanto, em pH 8 a solubilidade da proteína das folhas foi maior do que a de  $TCAII_M$ , com  $CE_M$  apresentando a maior solubilidade entre os três materiais. Já no

intervalo de pH entre 9 e 12, a solubilidade protéica das folhas superou a dos dois concentrados, provavelmente devido a um menor grau de desnaturação.

Segundo DAMODARAN (1996), a desnaturação térmica muda o perfil de solubilidade protéica porque aumenta a hidrofobicidade de superfície da proteína como uma consequência de seu desdobramento, o qual altera o balanço entre as interações proteína-proteína e proteína-solvente em favor das primeiras. Em pH e força iônica constantes, a solubilidade da maioria das proteínas aumenta com a temperatura até 40°C, temperatura máxima a que foram submetidas as folhas de mandioca neste trabalho.

Ainda de acordo com o mesmo autor, acima de 40°C, o aumento da energia cinética térmica causa um desdobramento da proteína e uma exposição de grupos não-polares que resultam em diminuição da solubilidade. Esta pode ser a razão pela qual ambos os concentrados apresentam menor solubilidade do que as folhas na faixa em que a maioria das proteínas é altamente solúvel (próximo de pH 9). Também este pode ser o motivo da menor solubilidade do concentrado TCA II<sub>M</sub>, tanto em relação a CE<sub>M</sub> (pH 3 a 12) quanto em relação às folhas (pH 8 a 12), já que foi submetido à uma etapa adicional com emprego de temperatura superior a 40°C na etapa de precipitação protéica.

**Tabela 9** – Solubilidade protéica das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos CE<sub>M</sub> e TCAI<sub>M</sub> entre pH 3 e 12 <sup>(1)</sup>

pH		Solubilidade (%)		
		Folhas	CE <sub>M</sub>	TCAI <sub>M</sub>
3		34,77 ±	54,50 ±	39,81 ±
	0,3 <sup>c</sup>		0,3 <sup>a</sup>	0,7 <sup>b</sup>
4		20,47 ±	35,94 ±	27,87 ±
	0,5 <sup>c</sup>		0,8 <sup>a</sup>	0,7 <sup>b</sup>
5		24,72 ±	42,29 ±	32,57 ±
	0,2 <sup>c</sup>		0,5 <sup>a</sup>	0,6 <sup>b</sup>
6		25,49 ±	44,45 ±	34,16 ±
	0,8 <sup>c</sup>		0,7 <sup>a</sup>	0,5 <sup>b</sup>
7		29,36 ±	48,83 ±	37,40 ±
	0,5 <sup>c</sup>		0,7 <sup>a</sup>	0,5 <sup>b</sup>
8		43,01 ±	58,40 ±	39,29 ±
	0,4 <sup>b</sup>		0,9 <sup>a</sup>	0,8 <sup>c</sup>
9		60,68 ±	57,11 ±	43,52 ±
	0,7 <sup>a</sup>		0,2 <sup>b</sup>	0,6 <sup>c</sup>
10		68,02 ±	65,04 ±	49,38 ±
	0,8 <sup>a</sup>		0,5 <sup>b</sup>	0,9 <sup>c</sup>
11		85,80 ±	71,02 ±	60,80 ±
	0,6 <sup>a</sup>		0,4 <sup>b</sup>	0,8 <sup>c</sup>
12		97,50 ±	72,46 ±	66,79 ±
	0,6 <sup>a</sup>		0,4 <sup>b</sup>	0,7 <sup>c</sup>

<sup>(1)</sup> Valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão. Médias na linha acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

MODESTI (2006) observou a menor solubilidade protéica (47,4 a 48,2%) entre pH 3 e 4 para folhas de mandioca desidratadas moídas, estando a maior em pH 9 (88,7%). Para o concentrado protéico obtido das folhas por termo-coagulação, o autor observou a menor solubilidade (9,3 a 9,5%) entre pH 3 e 5; para o concentrado obtido por precipitação isoelétrica o autor encontrou a menor solubilidade (6,7 a 9,6%) entre pH 3 e 6. As solubilidades máximas observadas pelo autor para os concentrados foram inferiores a 20,0% e em pH 9. Portanto, comparados aos resultados de MODESTI (2006), é possível afirmar que os do presente trabalho evidenciam maior solubilidade dos concentrados, o que pode ser decorrência de variações nos procedimentos de obtenção dos mesmos.

Outros autores (ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI, 2002) encontraram solubilidades variáveis em concentrados protéicos de folhas diversas obtidos por termo-coagulação, com solubilidades máximas variando entre pH 3 e 11,

dependendo da folha de origem. Para amaranto, a solubilidade mínima esteve em pH 2 e a máxima em pH 11.

GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000) relataram solubilidade mínima (10,0 a 15,0%) da proteína de torta de castanha do Pará entre pH 3 e 4, com a máxima (98,7%) em pH 12. Já para o concentrado protéico obtido da torta, a solubilidade máxima foi de 88,9% em pH 12. A baixa solubilidade em pH ácido (cerca de 10,0%) levou os autores a concluir que este concentrado não teria aplicação em bebidas, podendo, entretanto, ser utilizado em pães e massas em geral.

No mesmo sentido, CHEL-GUERRERO et al. (2002) afirmaram que um isolado protéico de feijão-de-lima com alta solubilidade em pH ácido (50,0%) e alcalino (70,0%) é potencialmente útil para aplicação em *babyfood*, produtos de panificação, sobremesas, bebidas carbonatadas e dietéticas.

RANGEL et al. (2003) observaram solubilidade reduzida ( $\leq 50,0\%$ ) de um isolado protéico de feijão-caupi entre pH 4 e 6, chegando ao redor 80,0% nos extremos de pH, tendo os autores considerado estes resultados adequados a processos de produção de alimentos conduzidos em pH abaixo ou acima do ponto isoelétrico. Devido à alta solubilidade em pH  $\geq 7$ , também indicaram o isolado para incorporação em produtos de pH neutro ou básico.

Assim, neste trabalho, considerando o perfil de solubilidade protéica (figura 5), ambos os concentrados CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub> podem ser potenciais ingredientes para produtos alimentares de pH ácido ou neutro, com CE<sub>M</sub> sendo, entre todos os materiais, a primeira escolha.

Já as folhas de mandioca desidratadas moídas seriam os materiais mais adequados para alimentos de pH alcalino. Entretanto, o pH da maior parte dos alimentos é inferior a 8 (JAY, 2000), o que evidencia que os concentrados são mais adequados ao emprego como ingrediente em formulações alimentares do que as folhas, já que o intervalo de pH no qual as folhas apresentaram maior solubilidade (9 a 12) não é de aplicabilidade relevante na área da produção de alimentos.

### 5.3.3.2 Capacidades de absorção de água e de óleo

A capacidade de absorção de água é uma propriedade que depende de fatores como composição em aminoácidos, conformação das moléculas protéicas, pH, temperatura e solubilidade protéica. Já os mecanismos de absorção de óleo são atribuídos à hidrofobicidade das moléculas protéicas (SILVA-SÁNCHEZ et al., 2004).

Nesta pesquisa, a capacidade de absorção de água, quando expressa como g de água/100 g de amostra, foi maior para o concentrado TCA II<sub>M</sub>, seguido pelo CE<sub>M</sub> e pelas folhas desidratadas moídas (tabela 10). Estes resultados são maiores do que os encontrados por SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999), de 178,8% para a farinha de grão-de-bico e de 199,5 e 343,7% para dois isolados protéicos obtidos desta farinha, respectivamente em pH 10,5 com sulfito de sódio e em pH 12 sem sulfito de sódio. Os autores concluíram que o isolado com maior absorção de água, semelhante à de TCA II<sub>M</sub> neste estudo, era adequado para aplicação em produtos cárneos ou de panificação.

Por outro lado, MODESTI (2006) relatou capacidade de absorção de água bastante superior para folhas de mandioca desidratadas moídas (667,0%), sendo que para os concentrados protéicos obtidos destas folhas foram observados resultados semelhantes ao de TCA II<sub>M</sub> (367,0%). A partir destes achados, o autor sugeriu aplicação, tanto das folhas quanto dos concentrados, para produtos viscosos, como sopas e molhos.

ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002) encontraram capacidades de absorção de água entre 149,1 e 471,5% para concentrados protéicos de folhas diversas com teor médio de proteína de 47,2% b.s., sendo os resultados do presente trabalho compatíveis com os daqueles autores, os quais os levaram a afirmar que os concentrados protéicos eram úteis para a elaboração de produtos viscosos, tais como sopas e molhos.

**Tabela 10** – Propriedades funcionais das folhas de mandioca desidratadas moídas e dos concentrados protéicos CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub> na etapa II

Propriedade	Folhas	CE <sub>M</sub>	TCA II <sub>M</sub>
Capacidade de Absorção de Água (g de H <sub>2</sub> O/100g de amostra)	260,0 ± 0,8 <sup>c</sup>	270,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	300,0 ± 0,8 <sup>a</sup>
Capacidade de Absorção de Água (g de H <sub>2</sub> O/g de proteína)	10,4 <sup>a</sup>	4,0 <sup>c</sup>	4,8 <sup>b</sup>
Capacidade de Absorção de Óleo (g de óleo/100g de amostra)	181,0 ± 0,8 <sup>b</sup>	298,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	299,0 ± 0,8 <sup>a</sup>
Capacidade de Absorção de Óleo (g de óleo/g de proteína)	6,9 ± 0,8 <sup>a</sup>	4,58 ± 0,5 <sup>c</sup>	4,73 ± 0,8 <sup>b</sup>
Atividade Emulsificante (%)	ND	6,3 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,5 <sup>b</sup>
Estabilidade da Emulsão (%)	NR	66,8 ± 0,8 <sup>a</sup>	67,1 ± 0,8 <sup>a</sup>
Capacidade Emulsificante (mL de óleo/g de amostra)	ND	99,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	81,0 ± 0,7 <sup>a</sup>
Capacidade Emulsificante (mL de óleo/g de proteína)	ND	152,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	128,6 ± 0,7 <sup>b</sup>
Formação de Espuma (%)	21,4 ± 0,8 <sup>b</sup>	30,9 ± 0,8 <sup>a</sup>	31,5 ± 0,8 <sup>a</sup>
Estabilidade da Espuma (%)	0,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	75,0 ± 0,9 <sup>a</sup>	54,6 ± 0,7 <sup>b</sup>
Formação de Gel (%)	ND	10,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	9,0 ± 0,9 <sup>a</sup>
Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> )	0,4 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,2 <sup>b</sup>

ND: não detectado      NR: não realizado      CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado  
Médias na linha acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

TCA II<sub>M</sub>: termo-coagulação ácida II modificado

GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000) observaram uma capacidade de absorção de água de 338,0% (também próxima da de TCA II<sub>M</sub>) em um concentrado protéico com 59,3% b.s. de proteína obtido de torta de castanha do Pará, tendo concluído que esta propriedade tornava o concentrado próprio para a aplicação em produtos cárneos, de confeitaria, pastelaria e massas em geral.

EL-ADAWY et al. (2001), ao encontrarem valores inferiores (209,6 e 225,7%) para a capacidade de absorção de água em isolados protéicos de tremoço com 91,0 % b.s. de proteína, em média, afirmaram que os isolados eram adequados à aplicação em produtos cárneos e produtos de panificação assados devido às altas taxas de absorção de água.

Por outro lado, quando a capacidade de absorção de água é expressa como g de água/g de proteína presente na amostra, os resultados são maiores para as folhas desidratadas, seguidas do concentrado TCA II<sub>M</sub> e do CE<sub>M</sub>. Estes resultados podem indicar que os procedimentos empregados para a concentração da proteína, tenham causado uma desnaturação parcial adicional que resultou em menor capacidade das moléculas protéicas interagirem com a água (YU, AHMEDNA & GOKTEPE, 2006).

Outros autores, observaram valores de 1,0 a 1,7mL de água/g de proteína para farinha de castanha e de 0,8 a 1,6mL de água/g de proteína para o seu concentrado protéico (YU, AHMEDNA & GOKTEPE, 2006). Para farinha de feijão-de-lima e feijão-de-porco, CHEL-GUERRERO et al. (2002) encontraram absorção 2,6 e 3,8g de água/g de proteína, com os isolados protéicos destas farinhas apresentando absorção de 3,5 e 2,5g de água/g de proteína, respectivamente. Todos estes autores referiram que, dadas as capacidades de absorção de água, estes ingredientes eram próprios para aplicação em produtos cárneos, de panificação e molhos, entre outros.

Quanto à capacidade de absorção de óleo (tabela 10), foi observada a mesma tendência: maior para os concentrados quando expressa como g de óleo/100 g de amostra e maior para as folhas quando expressa como g de óleo/g de proteína, o que indica que a proteína nas folhas foi mais eficiente na absorção. Porém, a maior concentração de proteína nos concentrados leva a uma maior absorção percentual de óleo nestes materiais, não sendo, neste caso, observadas diferenças entre CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub>.

No primeiro caso, os valores encontrados neste trabalho são superiores aos relatados por ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002) para concentrados protéicos de folhas diversas (22,0%) e por GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000) para concentrado protéico de torta de castanha do Pará (145,0%). Já EL-ADAWY et al. (2001) encontraram resultados semelhantes (271,6 a 281,5%) em concentrados protéicos de tremoço.

Considerando a absorção de óleo por grama de proteína da amostra, os resultados deste trabalho foram superiores aos referidos por YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) para farinha de castanha (1,6 a 2,6 mL/g) e por CHEL-GUERRERO et al. (2002) para farinha de feijão-de-lima e feijão de-porco (1,8 e 3,2 g/g) e para seus respectivos concentrados protéicos (4,5 e 2,7 g/g). Os resultados mencionados levaram CHEL-GUERRERO et al. (2002) a salientarem a aplicabilidade dos concentrados estudados em sistemas alimentares, particularmente pela potencial contribuição à retenção de sabor, melhoria da palatabilidade e extensão da vida de prateleira.

MODESTI (2006) relatou capacidade de absorção de óleo de 107,2% para folhas de mandioca desidratadas e moídas, de 53,6% para o concentrado protéico obtido por termo-coagulação e de 48,0% para o obtido por precipitação isoelétrica, valores inferiores ao do presente estudo. A partir destes resultados, o autor concluiu que as folhas desidratadas moídas são mais adequadas à formulação de sopas e produtos cárneos e de panificação do que os concentrados protéicos.

Neste trabalho, os resultados de absorção de água e de óleo evidenciam, portanto, que a proteína das folhas é mais apta para a absorção de água e de óleo, provavelmente por ter sofrido apenas tratamentos de secagem (40°C) e desintegração, com menor desnaturação. Por outro lado, dado o conteúdo protéico nos concentrados e o fato de que a desnaturação parcial adicional provocada pelos procedimentos de obtenção dos mesmos melhorou sua solubilidade no intervalo de pH entre 3 e 8, as capacidades percentuais de absorção de água e de óleo destes materiais superaram as das folhas, o que os qualifica como potenciais ingredientes para produtos cárneos, de panificação, sopas e molhos.

### 5.3.3.3 Propriedades emulsificantes

As propriedades emulsificantes avaliadas neste trabalho foram: atividade emulsificante, estabilidade da emulsão e capacidade emulsificante. A atividade emulsificante é a medida da emulsão formada a partir de uma quantidade conhecida de proteína, água e óleo. A estabilidade da emulsão é a medida da capacidade de uma proteína em manter uma emulsão previamente formada quando submetida à ação de força e ou calor. A capacidade emulsificante é a medida da quantidade de lipídeo que uma solução de proteína ou uma suspensão de alimento protéico é capaz de emulsificar antes que a inversão de fase ocorra (SGARBIERI, 1996).

Para a atividade emulsificante, o concentrado  $CE_M$  foi superior ao TCA  $II_M$  e as folhas de mandioca desidratadas moídas não apresentaram esta propriedade nas condições experimentais.

Os concentrados protéicos não diferiam quanto à estabilidade da emulsão e capacidade emulsificante quando esta última propriedade foi expressa como mL de óleo/g de amostra. Entretanto, quando a capacidade emulsificante foi expressa como mL de óleo/g de proteína  $CE_M$  foi mais eficiente, provavelmente devido à maior solubilidade protéica apresentada por este concentrado.

Estes resultados (tabela 10) foram, de forma geral, compatíveis ou superiores aos de outros autores, exceto para a atividade emulsificante, propriedade para a qual CHEL-GUERRERO et al. (2002) encontraram valores entre 41,8 e 56,0% quando avaliaram um isolado protéico de feijão-de-lima e 51,0 a 54,0% para um isolado protéico de feijão-de-porco.

Também SILVA-SÁNCHEZ et al. (2004) observaram atividades emulsificantes variando entre 5,0 e 95,0% para albuminas isoladas de amaranto em função do pH e da variedade da planta.

Para a estabilidade da emulsão, os resultados observados neste estudo são compatíveis com os relatados por CHEL-GUERRERO et al. (2002), os quais estão no intervalo de 20,0 a 100,0% e se referem a isolados protéicos de feijão-de-lima e feijão-de-porco, contendo, respectivamente 71,1 e 73,8% b.s. de proteína. Também são compatíveis com os observados por SILVA-SÁNCHEZ et al. (2004), de 10,0 a 71,0%, para albuminas isoladas de amaranto.

Por outro lado, os presentes resultados são superiores aos achados de ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002), que encontraram estabilidade média de 48,0% para concentrados protéicos de folhas diversas com 47,2% b.s. de proteína em média. Ou seja, os dados do presente trabalho foram compatíveis ou superiores aos achados da literatura mesmo quando estes últimos apresentaram uma concentração protéica maior, o que corrobora a afirmação de DAMODARAN (1996) de que as propriedades emulsificantes não são diretamente dependentes da concentração de proteína.

Para folhas de mandioca desidratadas e dois concentrados protéicos obtidos destas, MODESTI (2006) afirmou que a estabilidade da emulsão foi boa; porém, por usar outra metodologia para esta avaliação, não é possível comparar os resultados daquele autor com os deste trabalho.

Quanto à capacidade emulsificante dos concentrados protéicos, os presentes resultados são também superiores aos relatados por diversos autores. SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999) encontraram capacidade emulsificante de 48,1% para isolado protéico de grão-de-bico; ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002) relataram capacidade emulsificante de 48,4% para concentrados de amaranto. Apenas EL-ADAWY et al. (2001) referiram uma capacidade emulsificante superior, de 164 a 169,4% para concentrados protéicos de tremoço, tendo os autores classificado esta propriedade como adequada para incorporação em produtos cárneos e similares.

Os resultados encontrados neste estudo indicam que as condições de obtenção dos concentrados protéicos podem ter causado uma desnaturação parcial das proteínas, favorecendo sua hidrofobicidade de superfície e sua flexibilidade molecular, o que melhorou sua capacidade de sofrer rearranjos na interface água-óleo, explicando a capacidade e a estabilidade de emulsão observadas, as quais são comparáveis às de outras proteínas vegetais consideradas eficientes agentes emulsificantes, como as de isolados protéicos de feijão-de-lima, feijão-de-porco, de folhas diversas, de grão-de-bico, de farinha de castanha e albuminas de amaranto.

As diferenças observadas entre os concentrados com relação à atividade e capacidade emulsificante podem ser decorrentes de uma maior desnaturação da proteína de TCA II<sub>M</sub>, especialmente de origem térmica, com uma

maior insolubilização protéica, o que teria prejudicado estas propriedades (YU, AHMEDNA & GOKTEPE; 2006).

Por outro lado, o grau de desnaturação da proteína de  $CE_M$  provavelmente tenha possibilitado uma maior exposição dos grupamentos hidrofóbicos melhorando a hidrofobicidade de superfície das moléculas protéicas com reflexos na melhora de sua atividade e capacidade emulsificante (DAMODARAN, 1996), o que também pode ter sido influenciado pelo desdobramento parcial das moléculas, aumentando sua flexibilidade (EL-ADAWY, 2000).

Além disso,  $CE_M$  e  $TCAIIM$  apresentaram, em solução aquosa, pH de 8,9 e 6,1, respectivamente. Nestes pH, a solubilidade de  $CE_M$  foi praticamente o dobro da de  $TCAIIM$ , o que pode justificar, pelo menos em parte, as melhores propriedades emulsificantes de  $CE_M$ , já que alguma relação está estabelecida entre estas propriedades (BEJOSANO & CORKE, 1999; EL-ADAWY et al., 2001). Inclusive, especificamente quanto à capacidade emulsificante, SÁNCHEZ-VIOQUE et al. (1999) afirmaram que esta propriedade é grandemente dependente da solubilidade protéica.

Desta forma, as propriedades emulsificantes apresentadas pelos concentrados protéicos de folhas de mandioca, especialmente a capacidade emulsificante e a estabilidade da emulsão formada, os caracterizam, apesar das diferenças entre ambos, como potenciais ingredientes para produtos como salsichas, lingüiças, sopas, cremes, sopas-creme, bolos e outros produtos de panificação (SÁNCHEZ-VIOQUE et al., 1999; ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI, 2002; RANGEL et al., 2003; YU, AHMEDNA & GOKTEPE, 2006).

#### **5.3.3.4 Propriedades espumantes**

As propriedades espumantes avaliadas neste trabalho foram a capacidade de formação de espuma e a estabilidade da espuma formada. A capacidade de formação de espuma refere-se à expansão de volume da dispersão protéica com a incorporação de ar por batimento, agitação ou aeração; a

estabilidade da espuma diz respeito à retenção do volume de espuma formada em função do tempo de repouso (SGARBIERI, 1996).

Os resultados obtidos (tabela 10) para estas propriedades evidenciam que os concentrados protéicos não diferem quanto à capacidade de formação, mas a estabilidade da espuma formada por  $CE_M$  é maior. As folhas desidratadas moídas apresentaram menor capacidade de formação de espuma, com nenhuma estabilidade da mesma, o que pode ser justificado pela menor concentração e solubilidade das proteínas nas folhas e pelo menor grau de desnaturação protéica (DAMODARAN, 1996).

Entretanto, resultados discordantes foram encontrados por MODESTI (2006), que relatou que a capacidade de formação e a estabilidade da espuma das folhas de mandioca desidratadas moídas foi mais elevada do que a dos concentrados protéicos, sendo que aquele obtido por precipitação isoelétrica não apresentou capacidade de formação de espuma. O autor creditou estas observações ao alto conteúdo lipídico daqueles concentrados protéicos, de 17,4%, superiores aos encontrados no presente trabalho.

Segundo DAMODARAN (1996), a presença de lipídeos em concentrações maiores do que 0,5% prejudica o desempenho da proteína quanto às propriedades espumantes, uma vez que eles apresentam maior atividade de superfície do que as proteínas e rapidamente são adsorvidos na interface ar-água, inibindo a adsorção das moléculas protéicas durante a formação da espuma.

Comparados aos resultados observados por ALETOR, OSHODI & IPINMOROTI (2002), entretanto, as propriedades espumantes dos concentrados protéicos no presente estudo são melhores. Aqueles autores, pesquisando concentrados protéicos de folhas diversas, relataram capacidade de formação entre 4,1 e 18,0% e estabilidade (aos 30 minutos) de 2,0 a 2,9%. YU, AHMEDNA & GOKTEPE (2006) obtiveram resultados semelhantes para a farinha de castanha e o correspondente concentrado protéico, com valores respectivos de 6,0 e 2,0% de capacidade de formação de espuma, o que os levou a concluir que estes ingredientes não são bons agentes espumantes.

Já GLÓRIA & REGITANO-d'ARCE (2000), quando observaram capacidade de formação de espuma de 59,9% para torta de castanha e 9,9% para o concentrado obtido dela, com estabilidades respectivas de 74,0% e 94,5%,

classificaram os resultados como insuficientes para aplicação destes materiais em sistemas alimentares.

Albuminas isoladas de amaranto apresentaram capacidade de formação de espuma entre 45,0 e 132,0% com estabilidade entre 29,0 e 151,0% (SILVA-SÁNCHEZ et al.; 2004). RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al. (2005) observaram formação e estabilidade de espuma, respectivamente, de 220,0 a 500,0% e 70,0 a 85,0% em isolados protéicos de tremoço.

CHEL-GUERRERO et al. (2002) relataram que farinha de feijão-de-lima apresentou menor formação de espuma e melhor estabilidade, ao passo que o concentrado protéico obtido desta farinha teve alta formação de espuma e baixa estabilidade, o que condiz com os achados do presente estudo e com a afirmação de RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al. (2005), quando relataram que as propriedades moleculares das proteínas requeridas para formação e estabilidade de espuma são diferentes, sendo que a estabilidade depende de propriedades reológicas do filme protéico, as quais são dependentes da capacidade de hidratação da proteína, da concentração protéica e das interações intermoleculares favoráveis (DAMODARAN, 1996). Isto explicaria a melhor estabilidade da espuma formada por CE<sub>M</sub> neste trabalho.

Neste trabalho, apesar da menor capacidade de hidratação do concentrado CE<sub>M</sub>, o que prejudicaria sua habilidade para estabilizar a espuma formada (DAMODARAN, 1996), o menor conteúdo lipídico, maior concentração protéica e solubilidade deste material, associada a uma relevante fração protéica correspondente à globulina, explicam sua melhor propriedade de estabilização de espuma.

O fato de os concentrados CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub> não diferirem quanto à formação de espuma, a despeito de CE<sub>M</sub> apresentar melhor solubilidade e concentração protéica e menor teor de lipídeos, sugere que estas diferenças foram compensadas, em TCA II<sub>M</sub>, pela maior flexibilidade molecular, provavelmente decorrente de um grau maior de desnaturação e de melhores características de hidrofobicidade média da proteína (RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al., 2005).

Em síntese, é possível inferir que as propriedades espumantes dos concentrados protéicos de folhas de mandioca, neste trabalho, são apenas razoáveis, com melhor estabilidade do que capacidade de formação de espuma, o que está em acordo com DAMODARAN (1996), quando menciona que, usualmente,

as proteínas com boa capacidade de formação de espuma não apresentam habilidade de estabilizar a espuma, e vice-versa.

Já as propriedades espumantes das folhas de mandioca desidratadas e moídas são pobres, provavelmente em função do seu conteúdo, da solubilidade e do menor grau de desnaturação protéica, conforme mencionado anteriormente.

### **5.3.3.5 Propriedade de formação de gel**

A propriedade de formação de gel, medida como a menor concentração de um material capaz de formar gel (UKWURU, 2003), não foi detectada, neste trabalho, para as folhas de mandioca desidratadas moídas. Por outro lado, a formação de gel foi observada para os dois concentrados avaliados, CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub>, os quais não apresentaram diferenças.

A menor concentração formadora de gel dos concentrados CE<sub>M</sub> e TCA II<sub>M</sub> foi superior aos achados de ONIMAWO et al. (2003), que observaram gelatinização em concentrações iguais ou superiores a 8,0% quando estudaram sementes de abóbora submetidas ou não à fermentação.

Já UKWURU (2003) relatou que a menor concentração de formação de gel foi de 6,0 a 10,0% para farinha de soja submetida a diferentes tratamentos, o que condiz com os resultados encontrados neste estudo para os concentrados de folhas de mandioca. Aqueles autores também concluíram que o tratamento térmico pode causar desnaturação protéica capaz de levar a uma maior agregação das moléculas, o que eleva a concentração mínima de um material capaz de formar gel.

ALOBO (2003), avaliando as propriedades de uma farinha desengordurada de sementes de mamão, também obteve a menor concentração de formação de gel em 10,0% e destacou que diferenças quanto a esta propriedade devem estar relacionadas à composição de um ingrediente em termos de proteínas, carboidratos e lipídeos, sendo a capacidade de formação de gel uma importante propriedade reológica das proteínas. Da mesma forma, FONTANARI (2006) relatou formação de gel em concentrações iguais ou superiores a 8,0-10,0% para isolados

protéicos de farinha de semente de goiaba, concluindo que o mesmo pode conferir funcionalidade a alimentos processados.

Portanto, os resultados encontrados no presente trabalho, quanto à formação de gel, sugerem que os concentrados  $CE_M$  e  $TCA II_M$  podem ser ingredientes úteis em produtos cárneos e de panificação.

### 5.3.3.6 Densidade aparente

Em se tratando de um potencial ingrediente alimentar, a análise da densidade das folhas de mandioca desidratadas moídas e de ambos os concentrados protéicos foi realizada, com todos os materiais diferindo entre si.

O concentrado  $CE_M$  apresentou a maior densidade, próxima à da caseína ( $0,8g/cm^3$ ), segundo CHANDI & SOGI (2006), e à de farinha de sementes de abóbora, de  $0,6$  a  $0,7g/cm^3$  (ONIMAWO et al., 2003). Por outro lado, UKWURU (2003) encontrou densidade variando entre  $0,5$  e  $0,9g/cm^3$  para farinhas de soja submetidas a diferentes tratamentos.

$TCA II_M$  foi o material com a segunda maior densidade, também compatível com os dados de UKWURU (2003) e com os de ALOBO (2003), que relatou densidade de  $0,5g/cm^3$  para uma farinha desengordurada de sementes de mamão, concluindo que o ingrediente seria vantajoso para formulação de suplementos alimentares.

A baixa densidade observada para as folhas de mandioca desidratadas moídas pode inviabilizar seu emprego como ingrediente alimentar, uma vez que grandes quantidades precisariam ser adicionadas para que fosse atingido um nível de suplementação nutricional que justificasse o emprego deste material. Porém, adicionadas em grandes quantidades, as folhas provavelmente alterariam características sensoriais e funcionais importantes do produto final, além do inconveniente de carregarem maiores quantidades de fibra, cianeto e taninos.

Desta forma, neste trabalho, pela maior densidade e maior conteúdo protéico e de ferro, os concentrados protéicos são os materiais mais adequados para aplicação como ingrediente alimentar e, entre estes,  $CE_M$  é a primeira escolha.

#### 5.3.4 Avaliação biológica da qualidade protéica do concentrado CE<sub>M</sub> na etapa II

Em função dos melhores resultados de CE<sub>M</sub>, em geral, quanto às propriedades funcionais, este concentrado foi selecionado para os ensaios de avaliação biológica da qualidade protéica.

Para esta avaliação a formulação das rações (tabela 11) seguiu as recomendações do AIN (REEVES, NIELSEN & FAHEY, 1993), com níveis protéicos de 10,0%, e tendo a caseína como proteína de referência. As variações observadas na composição centesimal das rações (tabela 12) eram esperadas e são devidas ao efeito técnico operacional durante sua formulação (SILVA, 1990).

Os grupos experimentais foram denominados, nesta discussão, conforme a ração que receberam: grupo Caseína *ad libitum* (alimentado com ração controle à base de caseína em livre demanda), grupo RCE<sub>M</sub> (grupo alimentado, em livre demanda, com ração teste cuja única fonte protéica foi o concentrado CE<sub>M</sub>), RCE<sub>M</sub>Cas (grupo alimentado, em livre demanda, com ração teste em que 20,0% da proteína foi fornecida pelo concentrado CE<sub>M</sub> e 80,0% da proteína foi fornecida pela caseína), grupo Caseína *pair feeding* (alimentado com ração controle à base de caseína em quantidade limitada àquela consumida pelo grupo RCE<sub>M</sub>Cas).

O objetivo da introdução, no experimento, do grupo Caseína *pair feeding* foi o de eliminar a variável “consumo de ração em gramas” como interferente dos resultados encontrados para os índices biológicos avaliados, conforme recomendação de SILVA (1990).

**Tabela 11** – Formulação das rações controle e teste empregadas no ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de  $CE_M$

Componentes	Quantidade (g/100g)				
	Caseína	$CE_M$	$E_MCas$	RC	A
Caseína	1,5 <sup>(1)</sup>	--	1)	9,5 <sup>(</sup>	--
Amido de Milho	1,5	6,0	0	60,	7
Mistura Vitamínica	,0	,0		1,0	3,00
Mistura Mineral	,0	,0		3,5	,0
Óleo de Soja	,5	,5		7,0	,5
Fibra	,0	,0		5,0	,0
Bitartarato de Colina (41,1% colina)	,0	,0		0,2	,0
L-Cistina	,2	,2		0,3	,2
	,3	,3			,3
Sacarose	,0	,0		10,	,0
Concentrado Protéico	0,0	0,0	0	3,5 <sup>(</sup>	--
<b><math>CE_M</math></b>	--	7,0 <sup>(2)</sup>	2)		-
<b>Total</b>	<b>00,0</b>	<b>00,0</b>	<b>,0</b>	<b>100</b>	<b>00,0</b>

<sup>(1)</sup> Equivalente a 85,0% de proteína em base úmida

<sup>(2)</sup> Equivalente a 61,9% de proteína em base úmida

**$RCE_M$** : ração cuja única fonte protéica é  $CE_M$  (coagulação por etanol modificado)

**$RCE_MCas$** : ração contendo 20,0% da proteína proveniente de  $CE_M$  e 80,0% proveniente da caseína

A composição centesimal das rações está apresentada na tabela 12. As rações teste ( $RCE_M$  e  $RCE_MCas$ ) apresentaram maior quantidade de fibra do que as rações controle (*Caseína ad libitum* e *Caseína pair feeding*) devido ao conteúdo deste elemento no concentrado protéico. Como a quantidade de concentrado utilizada na formulação da ração  $RCE_MCas$  foi menor do que a empregada para a  $RCE_M$ , o conteúdo de fibra da primeira foi também inferior.

Com relação ao teor de cinzas acontece o mesmo; porém, como a quantidade de concentrado utilizada para o preparo da ração  $RCE_MCas$  é pequena, o conteúdo de cinza desta ração não diferiu dos conteúdos das rações controle.

**Tabela 12** – Composição centesimal das rações controle e teste empregadas no ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de CE<sub>M</sub><sup>(1)</sup>

	midade	roteína <sup>(2)</sup>	lipídeo	inza	ibra	HO Totais <sup>(3)</sup>	Valor Energético <sup>(4)</sup>
Caseína	8,3 ± 0,1	10,2 ± 0,1	7,1 ± 0,2	2,5 ± 0,1	4,7 ± 0,2	71,9 ± 0,1	373,5 ± 0,1
RCE <sub>M</sub>	7,9 ± 0,3	10,5 ± 0,2	7,8 ± 0,1	3,9 ± 0,1	6,7 ± 0,1	69,9 ± 0,3	365,0 ± 0,2
RCE <sub>M</sub> Cas	7,5 ± 0,2	10,3 ± 0,1	7,7 ± 0,2	2,4 ± 0,2	5,4 ± 0,3	72,1 ± 0,2	377,3 ± 0,2
Aprotéico	8,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1	7,7 ± 0,1	2,5 ± 0,2	4,6 ± 0,2	80,3 ± 0,3	372,6 ± 0,2

(1) Valores médios de três determinações ± desvio padrão expressos em g/100g em base úmida

(2) N x 6,25

(3) Carboidratos totais (incluindo fibra) calculados por diferença

(4) Calculado com os fatores de Atwater: g de proteína x 4 + g de lipídeo x 9 + g de carboidratos (- g de fibra) x 4; expresso como kcal/100g em base úmida

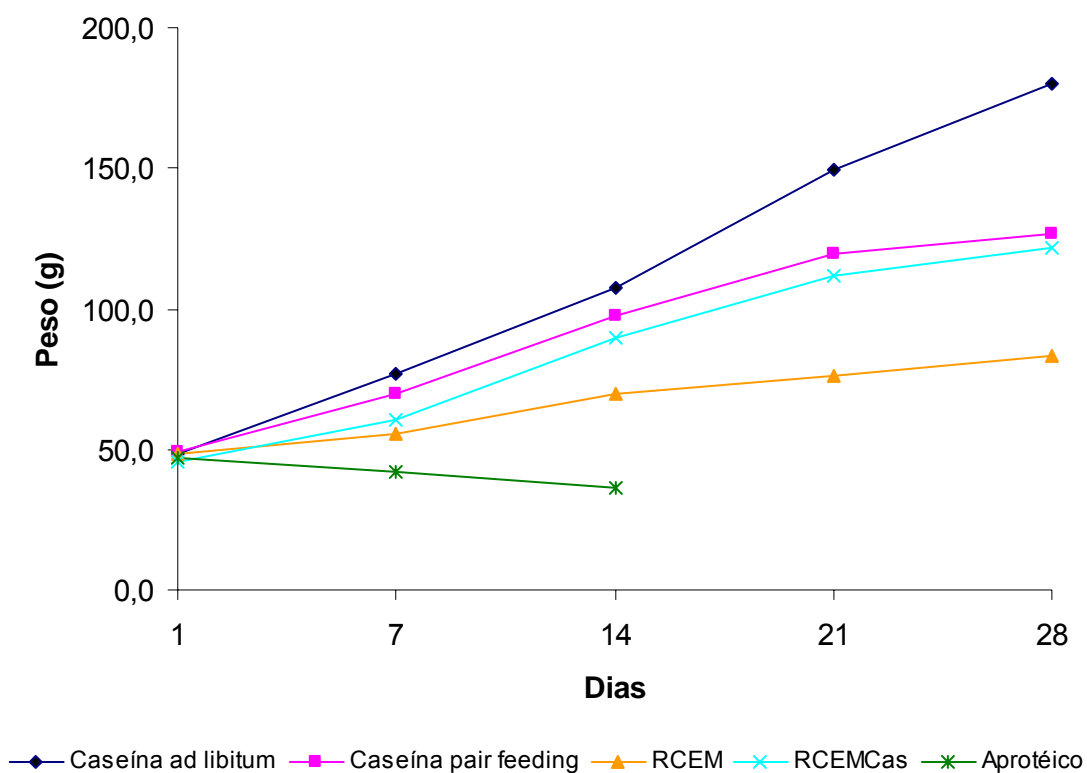
RCE<sub>M</sub>: ração cuja única fonte protéica é CE<sub>M</sub> (coagulação por etanol modificado)

RCE<sub>M</sub>Cas: ração contendo 20,0% da proteína proveniente de CE<sub>M</sub> e 80,0% proveniente da caseína

Com relação ao valor energético das rações (tabela 12), todas atendem às recomendações mínimas do AIN (REEVES, NIELSEN & FAHEY, 1993), de 360,1 kcal/100g de ração.

Quanto ao crescimento das cobaias, mensurado como ganho ponderal durante o período experimental (tabela 13), o grupo alimentado com a ração controle à base de caseína *ad libitum* apresentou o melhor desempenho, o que era esperado em função da excelência nutricional desta proteína. O grupo alimentado com a mesma ração em sistema *pair feeding*, ou seja, em quantidade limitada àquela consumida pelo grupo teste que recebeu ração RCE<sub>M</sub>Cas, teve o segundo melhor desempenho.

Para as rações teste, especialmente a RCE<sub>M</sub>Cas, o ganho ponderal foi mais intenso durante a segunda e a terceira semana do experimento (figura 6), o que, segundo SILVA (1990) sugere uma adaptação das cobaias ao consumo destas rações. Por este motivo, este foi o período selecionado para a avaliação dos índices de digestibilidade aparente e verdadeira.



**Figura 6** – Curva ponderal dos grupos experimentais e controle no ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de  $CE_M$ .

**Tabela 13** – Ganho de peso, consumo de ração, consumo de proteína, coeficiente de eficácia alimentar (CEA), coeficiente de eficácia protéica (CEP), razão protéica líquida (NPR), coeficiente de digestibilidade aparente (CDap), coeficiente de digestibilidade verdadeira (CDv) e utilização protéica líquida verdadeira (NPUv) durante o ensaio biológico de avaliação da qualidade protéica de CE<sub>M</sub><sup>(1)</sup>

Grupos	Ganho de Peso (g)	Consumo de Ração (g)	Consumo de Proteína (g)	CEA	CEP	NPR	CD <sub>ap</sub> (%) <sup>(2)</sup>	CD <sub>v</sub> (%) <sup>(2)</sup>	NPU <sub>v</sub> (%)
Caseína <i>ad libitum</i>	131,7 ± 2,58 <sup>a</sup>	327,8 ± 6,65 <sup>a</sup>	33,4 ± 0,70 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,10 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,21 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,16 <sup>a</sup>	92,1 ± 0,7 <sup>a</sup>	94,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	75,9 ± 0,3 <sup>a</sup>
Caseína <i>pair feeding</i>	78,1 ± 6,74 <sup>b</sup>	253,0 ± 5,33 <sup>b</sup>	25,8 ± 0,53 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,33 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,49 <sup>b</sup>	3,4 ± 0,44 <sup>b</sup>	87,3 ± 0,5 <sup>b</sup>	90,5 ± 0,3 <sup>b</sup>	59,1 ± 0,3 <sup>b</sup>
RCE <sub>M</sub> <sup>(3)</sup>	34,7 ± 6,94 <sup>c</sup>	165,2 ± 3,03 <sup>c</sup>	17,4 ± 0,30 <sup>d</sup>	0,2 ± 0,50 <sup>c</sup>	2,0 ± 0,47 <sup>c</sup>	2,6 ± 0,31 <sup>c</sup>	64,3 ± 0,2 <sup>d</sup>	69,3 ± 0,2 <sup>d</sup>	36,6 ± 0,3 <sup>d</sup>
RCE <sub>M</sub> Cas <sup>(4)</sup>	75,6 ± 6,24 <sup>b</sup>	252,0 ± 5,40 <sup>b</sup>	25,9 ± 0,73 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,20 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,39 <sup>b</sup>	3,3 ± 0,40 <sup>b</sup>	82,6 ± 0,8 <sup>c</sup>	85,7 ± 0,4 <sup>c</sup>	58,7 ± 0,3 <sup>c</sup>
Aprotéico <sup>(5)</sup>	-10,9 ± 4,00 <sup>d</sup>	61,2 ± 2,14 <sup>d</sup>	0,42 ± 0,56 <sup>e</sup>						

<sup>(1)</sup> Resultados expressos como médias de seis repetições ± desvio padrão

<sup>(2)</sup> Índices calculados a partir dos dados da segunda e terceira semanas experimentais

<sup>(3)</sup> Concentrado protéico CE<sub>M</sub> como única fonte protéica da ração

<sup>(4)</sup> Concentrado protéico CE<sub>M</sub> fornecendo 20,0% da proteína da ração e a caseína fornecendo 80,0% da proteína da ração

<sup>(5)</sup> Grupo sacrificado no 14º dia de experimento e para o qual não se aplica o cálculo dos índices avaliados

CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado

Médias nas colunas acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente (p ≤ 0,05).

O ganho ponderal do grupo alimentado com a ração RCE<sub>M</sub>Cas, ao final do experimento, não diferiu do ganho apresentado pelo grupo Caseína *pair feeding*. Já o ganho ponderal médio do grupo alimentado com ração RCE<sub>M</sub> foi de cerca de 66,5% do apresentado pelos grupos Caseína *pair feeding* e RCE<sub>M</sub>Cas, diferindo destes, o que indica que o concentrado protéico de folhas de mandioca, quando empregado como única fonte protéica da dieta, não promove o crescimento adequado das cobaias. Entretanto, o mesmo concentrado, quando utilizado como fonte protéica complementar, constituindo 20,0% da proteína da dieta, promoveu crescimento semelhante ao da caseína consumida em mesma proporção.

ORTEGA-FLORES et al. (2003), encontrou resultados semelhantes quando avaliou a qualidade de proteína de folhas desidratadas de mandioca, relatando que o ganho ponderal das cobaias foi maior na mesma medida em que aumentou o conteúdo de caseína da ração entre 50,0 e 75,0%. Estes resultados levaram os autores a concluir que a folha de mandioca desidratada poderia ser empregada em misturas protéicas, sem comprometer o valor nutricional das mesmas, desde em que em percentuais menores do que 50,0%.

O grupo aprotéico, obviamente, apresentou perda ponderal ao longo de 14 dias de experimento, sendo, então, sacrificado.

O consumo de ração pelos grupos experimentais (tabela 13) apresentou a mesma tendência. Ou seja, o maior consumo foi o do grupo Caseína *ad libitum*, seguido por Caseína *pair feeding* e RCE<sub>M</sub>Cas (foram propositadamente equilibrados), RCE<sub>M</sub> e aprotéico. O menor consumo de ração pelo grupo RCE<sub>M</sub> sugere que a palatabilidade da ração possa ter sido o principal fator causal, já que a quantidade de concentrado empregada na formulação desta ração foi cerca de cinco vezes maior do que a utilizada na RCE<sub>M</sub>Cas. Já para o grupo aprotéico o menor consumo foi devido, principalmente, ao menor período experimental (metade da duração dos demais grupos) e ao desequilíbrio nutricional da ração, o que também afeta negativamente o consumo da mesma (ORTEGA-FLORES et al., 2003).

HEINEMANN et al. (1998) estudaram a qualidade protéica de misturas à base de farinha de trigo e concentrado protéico de folhas de mandioca obtido por fermentação e observaram que a adição do concentrado, em níveis de 5,0 e 10,0%, não causou alterações no comportamento de consumo alimentar das cobaias, o que os levou a concluir que o sabor da ração não interferiu na aceitação das mesmas nestes níveis de oferta.

Por outro lado, ORTEGA-FLORES et al. (2003), ao avaliarem a adição de folhas de mandioca desidratadas e moídas à ração de cobaias, observaram que o consumo diminuiu à medida em que foi aumentada a quantidade de folhas adicionadas, provavelmente devido à redução da palatabilidade da ração, uma vez que as folhas precisam ser adicionadas em quantidades maiores do que concentrados protéicos às rações para que seja atingido um mesmo nível de conteúdo protéico.

O consumo de proteína pelos grupos experimentais apresentou diferenças na mesma ordem daquelas observadas para o consumo de ração, já que depende deste.

O CEA - coeficiente de eficácia alimentar (tabela 13), que expressa a eficiência de um alimento em promover ganho ponderal, foi superior para o grupo alimentado com ração Caseína, seguido pelos grupos que receberam as rações Caseína *pair feeding* e RCE<sub>M</sub>Cas, não tendo havido diferenças entre estes últimos. O menor CEA foi observado para o grupo alimentado com ração à base de RCE<sub>M</sub>.

O CEP - coeficiente de eficácia protéica (tabela 13), que expressa a eficiência de uma proteína em promover ganho ponderal, foi superior para o grupo Caseína, seguido pelos grupos Caseína *pair feeding* e RCE<sub>M</sub>Cas (não diferiram), e, após, RCE<sub>M</sub>.

O NPR - Net protein ratio (tabela 13), também denominado razão protéica líquida, expressa a eficiência de uma proteína em promover ganho ponderal, levando em conta a perda de peso do grupo aprotéico que uma proteína em teste teoricamente é capaz de prevenir. Neste estudo, o NPR foi melhor para a Caseína *ad libitum* e pior para a ração RCE<sub>M</sub>. O grupo alimentado com a ração Caseína *pair feeding* apresentou o segundo melhor NPR e não diferiu daquele alimentado com a ração RCE<sub>M</sub>Cas.

Para os índices de digestibilidade aparente (CDap) e verdadeira (CDv), apresentados na tabela 13, os quais estimam a retenção protéica, os melhores resultados foram os do grupo Caseína *ad libitum*, seguidos por Caseína *pair feeding*, RCE<sub>M</sub>Cas e RCE<sub>M</sub>. A mesma tendência foi observada para o índice utilização protéica líquida (tabela 13), ou Net Protein Utilization verdadeiro (NPUv), que também estima a retenção protéica, mas o faz considerando o nitrogênio da carcaça do grupo zero.

Resultados inferiores aos observados para o grupo alimentado com a ração  $RCE_M$ , neste trabalho, foram previamente observados por VILHENA et al. (1996), quando estudaram a qualidade nutricional de misturas extrusadas de folhas e farinha de mandioca. Os autores concluíram que a inferioridade da ração testada em relação à caseína foi em parte devida ao elevado teor de taninos (0,8%).

Da mesma forma, SALGADO & SANTOS (1986) relataram que, quando a folha de mandioca desidratada moída ou seu concentrado protéico foram utilizados como única fonte protéica da dieta, as cobaias perderam peso, concluindo que o valor nutricional desta proteína é pobre. Relato semelhante foi feito por ROSAS-ROMERO & ACOSTA (1986) ao avaliarem a qualidade de um concentrado protéico de folhas de mandioca adicionado à ração em nível de 10,0%, creditando os resultados ao conteúdo de taninos (2,1%), o que impactou também em baixo consumo alimentar. Como o conteúdo de cianeto, neste caso, era baixo (menor do que 5,0 mg%), ROSAS-ROMERO & ACOSTA afirmaram que a pobre qualidade nutricional daquele concentrado protéico não poderia ser atribuída a este componente.

Neste trabalho, o conteúdo de taninos teoricamente adicionado às rações teste foram de 0,1% para  $RCE_M$  e 0,01% para  $RCE_{MCas}$ , bastante inferiores aos relatados previamente, o que, provavelmente, não interferiu com a palatabilidade das mesmas. Quanto ao teor de cianeto, também teoricamente, foram adicionados apenas 1,0 mg% e 0,2 mg%, respectivamente, às rações  $RCE_M$  e  $RCE_{MCas}$ , o que, segundo as referências apontadas, também não teve efeitos negativos sobre a avaliação da qualidade protéica.

ORTEGA-FLORES et al. (2003) adicionaram folhas de mandioca desidratadas à ração de cobaias em níveis de 25,0 a 100,0%, encontrando para o nível de adição de 50,0% de folhas resultados semelhantes aos deste trabalho para a ração à base de  $CE_M$  adicionado em nível de 17,0% ( $RCE_M$ ), o que evidencia que o concentrado protéico é a melhor opção para o aproveitamento desta proteína. Entretanto, quando adicionado em nível complementar (ração  $RCE_{MCas}$ ), os resultados do presente trabalho foram superiores a todos os citados anteriormente, reforçando a potencial aplicação da proteína da folha de mandioca como suplemento alimentar e não como única fonte protéica da dieta.

Neste sentido, HEINEMANN et al. (1998) relataram que a adição de concentrado protéico de folhas de mandioca à farinha de trigo representou uma

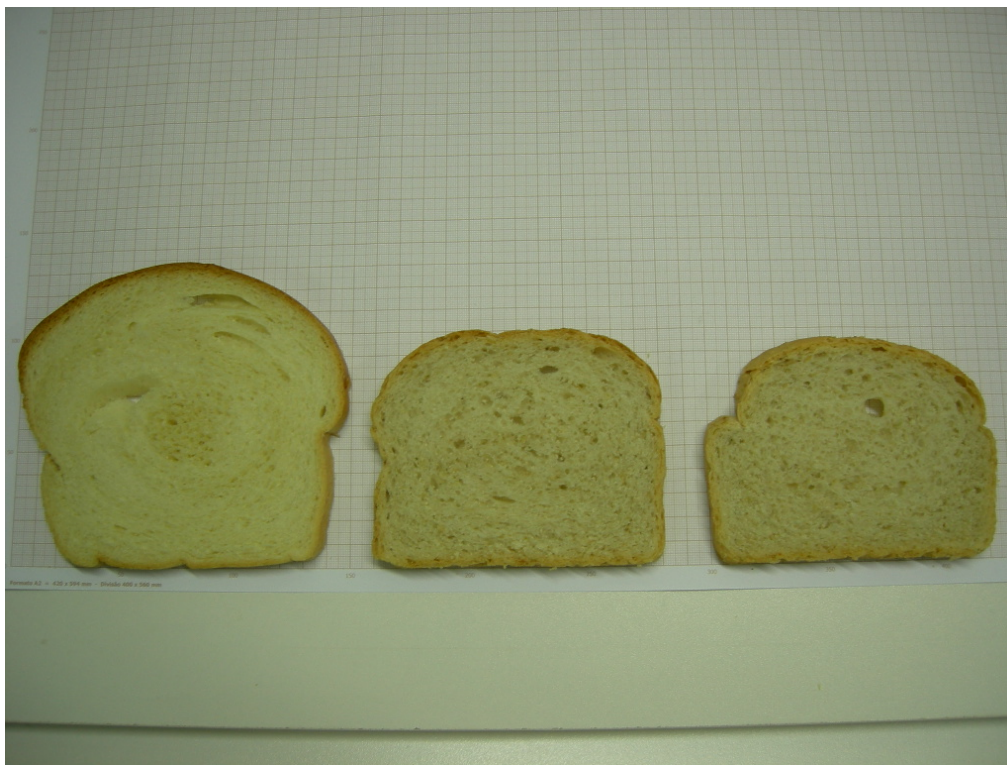
contribuição ao conteúdo aminoacídico desta. Estes autores observaram digestibilidade verdadeira de 88,2% para a mistura de farinha de trigo com 10,0% de concentrado protéico, a qual consideraram alta, tendo creditado à perda de solubilidade protéica esta redução de digestibilidade em relação à caseína. Inclusive, CARVALHO & KATO (1987) referem que o teor relativamente alto de lisina na folha de mandioca possibilita a formulação de dietas em que este material melhora a qualidade protéica de cereais.

ORTEGA-FLORES et al. (2003) também observaram que a digestibilidade verdadeira diminuiu na mesma proporção em que foi aumentada a quantidade de fibra proveniente das folhas de mandioca na dieta. BOAVENTURA et al. (2000) relataram que a adição de folhas de mandioca desidratadas à ração de cobaias não melhorou a qualidade da mesma quanto à sua capacidade de promover recuperação ponderal e crescimento. Entretanto, os autores adicionaram folhas à ração em níveis inferiores aos empregados em outros trabalhos citados na literatura.

Portanto, as pesquisas realizadas previamente sugerem que concentrados protéicos de folhas de mandioca são potencialmente mais adequados ao emprego como ingrediente na produção de alimentos, com a finalidade de suplementação, do que propriamente as folhas. Recentemente, FASUYI (2006), avaliando por meio de método biológico a qualidade nutricional de folhas diversas como única fonte protéica na dieta, reafirmou a necessidade de suplementação das mesmas. Os resultados encontrados no presente trabalho para o grupo RCE<sub>M</sub>Cas, próximos aos observados para o grupo Caseína *pair feeding*, reforçam esta indicação.

### **5.3.5 Aplicação tecnológica dos concentrados protéicos de folhas de mandioca na etapa II**

A aparência geral dos pães produzidos é apresentada na figura 7, tendo os mesmos recebido as denominações de pão controle (sem adição de concentrado protéico), formulação A (com adição de CE<sub>M</sub>) e formulação B (com adição de TCAII<sub>M</sub>).



**Figura 7** – Imagens dos pães produzidos: controle, formulação A e B, da esquerda para a direita.

#### 5.3.5.1 Peso, volume e volume específico

O volume específico de pães é determinado a partir das medidas de volume (em  $\text{cm}^3$ ) e de peso (em g), representando a relação entre o teor de sólidos e a fração de ar existente na massa assada. Baixos valores de volume específico desagradam o consumidor e são, geralmente, associados a elevados teores de umidade, falhas no batimento e cocção, pouca aeração e baixa conservação (ESTELLER & LANNES, 2005). Inclusive, a capacidade de reter gás pode ser expressa em termos do volume de pães (LÓPEZ, PEREIRA & JUNQUEIRA, 2004).

Neste trabalho, os pães produzidos diferiram quanto ao peso e ao volume (tabela 14). Para o volume específico, o maior resultado foi encontrado para o pão controle e os dois pães teste não diferiram entre si. O menor volume específico dos pães das formulações A e B pode ser explicado por uma diluição do glúten devida à adição de 20,0% de concentrado protéico em relação à quantidade de farinha de trigo (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994), uma vez que a adição

deste ingrediente significou, majoritariamente, acréscimo de albuminas e globulinas, proteínas solúveis não relacionadas às propriedades viscoelásticas de interesse na formação de massas. Segundo DAMODARAN (1996), a adição de albuminas e globulinas, como no presente estudo, pode afetar a formação da rede de glúten e provocar redução do volume do pão. Por outro lado, o conteúdo de glutelinas dos concentrados protéicos pode ter prevenido um maior prejuízo do volume dos pães.

A supressão de volume de pães pela adição de fibra também já foi relatada por FLANDER et al. (2006) e está provavelmente relacionada à inibição da força do glúten. Nos pães das formulações A e B, portanto, a diminuição do volume pode estar, em algum grau, relacionada também ao conteúdo de fibra carregado pelo concentrado protéico adicionado.

**Tabela 14** – Peso, volume e volume específico dos pães controle e teste (Formulações A e B)<sup>(1)</sup>

Material	Peso (g)	Volume (cm <sup>3</sup> )	Volume específico (cm <sup>3</sup> /g)
Pão controle	496,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	3600,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	7,2 ± 0,5 <sup>a</sup>
Formulação A (CE <sub>M</sub> )	472,0 ± 0,8 <sup>b</sup>	2640,0 ± 0,6 <sup>b</sup>	5,5 ± 0,6 <sup>b</sup>
Formulação B (TCA II <sub>M</sub> )	456,0 ± 0,5 <sup>c</sup>	2565,0 ± 0,3 <sup>c</sup>	5,6 ± 0,3 <sup>b</sup>

<sup>(1)</sup> Valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão

CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado

TCA II<sub>M</sub>: termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Segundo DELLA GATTA & PIERGIOVANNI (1996), quando estudaram as propriedades tecnológicas e nutricionais de pães hiperprotéicos preparados com diferentes níveis de adição de farinha de girassol, os menores volumes específicos observados para aqueles pães podem ser explicados pela maior capacidade de absorção de água das proteínas do girassol, pois uma vez assados os pães, a maior perda de peso (cerca de 25,0%) foi observada para aqueles formulados com 20,0% de farinha de girassol, contra apenas 6,0% de perda com 100,0% de farinha de trigo. No presente trabalho, as capacidades de absorção de água dos concentrados protéicos foram relevantes, o que pode, segundo aqueles autores, ter impactado também no volume dos pães teste.

Entretanto, segundo LÓPEZ, PEREIRA & JUNQUEIRA (2004), alguns pães apresentam baixos volumes específicos, ou seja, são densos e compactos, sem que estas características interfiram com sua aceitabilidade pelo consumidor.

De qualquer forma, o volume específico dos pães, neste trabalho, foi superior aos relatos de outros autores, ao estudarem misturas alternativas. SOARES JÚNIOR et al. (2006), avaliando diferentes proporções de farinha de trigo, fécula de mandioca e *okara* na formulação de pães de forma, encontraram volume específico máximo de 4,5cm<sup>3</sup>/g, tendo considerado este valor viável em termos de aceitação pelo consumidor.

Também TEDRUS et al. (2001) investigaram o efeito da adição de vital glúten às farinhas de arroz e de aveia, observando volumes específicos de 2,7 e 3,1, respectivamente. Os autores referiram que estas formulações eram tecnicamente viáveis e, apesar dos pães obtidos serem inferiores ao produto padrão, os mesmos foram avaliados como aceitáveis. Para o produto padrão, elaborado com 100,0% de farinha de trigo, os autores observaram um volume específico de 5,2cm<sup>3</sup>/g, ainda inferior aos produtos teste neste trabalho.

Segundo FERREIRA (2002), pães com volume específico entre 6,5 e 8,0 são classificados como “ótimos” e aqueles com volume específico entre 5,5 e 6,5 estão na categoria “muito bons”. Portanto, de acordo com este autor, os resultados encontrados no presente trabalho permitem classificar o pão controle como ótimo e os pães das formulações A e B como muito bons. Estes achados sugerem que a adição de concentrado protéico à massa resulte em pães de aceitação adequada e de produção viável.

### **5.3.5.2 Porosidade do miolo ou aparência de textura**

A porosidade do miolo, ou aparência de textura, segundo MACHADO (1996), é considerada uma das características mais importantes para a qualidade de pães, sendo definida pela granulação ou estrutura do miolo.

SCANLON & ZGHAL (2001) afirmaram que a expressão aparência de textura é empregada para descrever a estrutura celular/alveolar do miolo, atributo

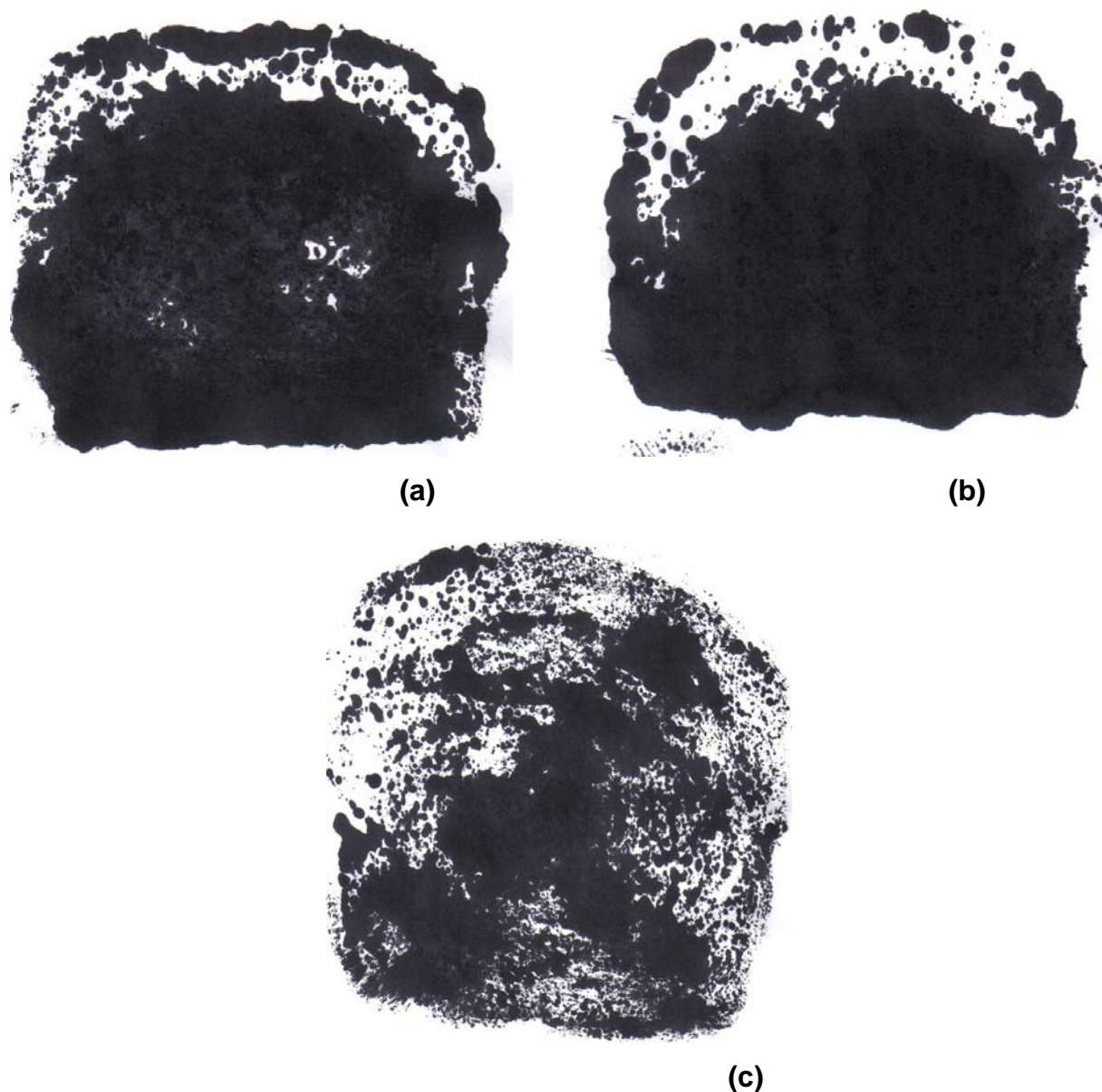
que tem um peso de cerca de 20,0% no julgamento global sobre qualidade de pães e é avaliada como porosidade (alvéolos abertos ou fechados), uniformidade da forma dos alvéolos e espessura de suas paredes.

Massas com grande quantidade de alvéolos tendem a criar, após assadas, produtos com alvéolos de grandes dimensões (largos e profundos). Massas cilindradas ou que passam por outro processo que expulsa o ar da massa durante a modelagem tendem à formação de produtos com miolo mais homogêneo, com maior número de alvéolos e com volumes menores (ESTELLER & LANNES, 2005).

Neste estudo, a aparência de textura (figura 8) dos pães apresenta diferenças: o pão controle tem miolo com granulosidade mais fina e uniforme, de alvéolos menores e alongados; os pães teste apresentam estrutura mais compacta, alvéolos maiores, de formato menos uniforme, principalmente concentrados logo abaixo da casca. Estas observações são compatíveis com os resultados encontrados para volume específico, uma vez que volumes específicos menores estão relacionados a massas mais compactas (SCANLON & ZGHAL, 2001).

Em síntese, foi observada uma tendência geral à uniformidade, embora todos os pães tenham apresentado alguns buracos no miolo, o que não é desejável (ESTELLER & LANNES, 2005). Estas diferenças de estrutura podem ser também explicadas pela diluição do conteúdo de glúten após a adição de concentrado protéico, pois, segundo FLANDER et al. (2006), as propriedades do miolo são principalmente afetadas pelo conteúdo de glúten e de água da massa.

Da mesma forma, volumes específicos menores estão associados com paredes alveolares mais espessas, aumento da firmeza e diminuição da elasticidade do miolo, o que impacta nas propriedades mecânicas do pão (SCANLON & ZGHAL, 2001).



**Figura 8** – Aparência de textura dos pães: (a) formulação A, (b) formulação B, (c) controle.

### 5.3.5.3 Parâmetros de cor do miolo

É possível identificar, visualmente, a diferença de cor do miolo entre o pão controle e os pães teste (figura 7), o que é confirmado pelo maior valor de  $L^*$  (tabela 15) para o controle, o que indica maior reflectância da luz e foi traduzido em pão com coloração mais clara (ESTELLER & LANNES, 2005).

FLANDER et al. (2006) referem que as condições de processamento (tempo, temperatura) são os fatores que mais interferem nas características de cor de pães, juntamente com o conteúdo de açúcares e água (ESTELLER & LANNES, 2005).

Neste estudo, as condições de processamento foram idênticas e a adição de concentrados protéicos às formulações A e B foi, provavelmente, o fator responsável pelas diferenças observadas na cor dos pães. O fato de não terem sido encontradas diferenças quanto à cor dos pães das formulações A e B corrobora esta indicação, já que os concentrados protéicos adicionados, respectivamente CE<sub>M</sub> e TCAII<sub>M</sub>, também não diferiram quanto a este atributo.

**Tabela 15** – Luminosidade (L\*) e tonalidade cromática (H\*) dos pães controle e teste (Formulações A e B)<sup>(1)</sup>

Material	L <sup>*(2)</sup>	H <sup>*(3)</sup>
<b>Pão controle</b>	89,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	110,6 ± 2,6 <sup>a</sup>
<b>Formulação A (CE<sub>M</sub>)</b>	83,3 ± 0,5 <sup>b</sup>	108,2 ± 1,8 <sup>ab</sup>
<b>Formulação B (TCA II<sub>M</sub>)</b>	82,0 ± 1,9 <sup>b</sup>	106,1 ± 2,6 <sup>b</sup>

<sup>(1)</sup> Valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão

<sup>(2)</sup> L: 0 = preto absoluto; 100 = branco absoluto

<sup>(3)</sup> Resultados expressos em graus para H\* (tonalidade cromática), calculado como  $H^* = 180 + [\arctang(b^*/a^*)]$

**CE<sub>M</sub>**: coagulação por etanol modificado

**TCA II<sub>M</sub>**: termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Para a tonalidade cromática (H\*), as colorações dos três pães (tabela 15) estão situadas no quadrante compreendido entre 90° e 180° no espaço físico de cor do sistema CIELAB de maiores intensidades de verde e amarelo (HUNTERLAB, 2004).

Para este parâmetro, o pão da formulação B diferiu apenas do pão controle e apresentou uma coloração *plotada* no plano equatorial da esfera de cor em um ângulo menor, mais próximo de 90°, que representa, em tese, o amarelo puro (FERREIRA & MINAMI, 2000). Assim, quanto menor o valor de H\*, neste quadrante, mais amarela a cor correspondente.

Já o pão da formulação A, não diferiu do controle e nem da formulação B, sendo que o controle apresentou o maior valor de H\*, devido à sua

coloração composta por igual intensidade de amarelo e maior de verde do que as formulações em teste.

Estes resultados indicam que as diferenças de cor percebidas visualmente, com o pão controle mais claro, são devidas principalmente aos valores de  $L^*$  e devem estar associadas à composição dos concentrados protéicos adicionados. Finalmente, a diferença de cor do pão controle contra os testados pode estar relacionada com o grau de aeração da massa, o qual determina mudanças da luz que incide na superfície do material (ESTELLER & LANNES, 2005), o que se confirma pela avaliação da aparência de textura (item 5.3.5.2).

#### 5.3.5.4 Análise sensorial

De acordo com os resultados da análise sensorial (tabela 16), os três pães diferiram entre si quanto ao grau de satisfação global, embora as médias obtidas para cada amostra avaliada indiquem boa aceitação. Inclusive, o índice de satisfação com as formulações padrão e teste são elevados, evidenciando a viabilidade da aplicação alimentar sugerida para os concentrados protéicos, com maior grau de satisfação para a adição de  $CE_M$ .

**Tabela 16** – Grau de satisfação global dos pães controle e teste (Formulações A e B)

Amostra	Média de Grau de Satisfação <sup>(1)</sup>	Índice de Satisfação (%)
Pão controle	8,3 <sup>a</sup>	92,2
Formulação A ( $CE_M$ )	7,6 <sup>b</sup>	84,4
Formulação B ( $TCA II_M$ )	7,0 <sup>c</sup>	77,7

<sup>(1)</sup> Valores médios de 30 provadores (9 = gostei extremamente, 1 = desgostei extremamente)

$CE_M$ : coagulação por etanol modificado

$TCA II_M$ : termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Os pães produzidos apresentaram rejeição (% de notas entre 1 e 4) nula para o controle, de 3,3% para a formulação A e de 6,7% para a formulação B. Os percentuais de indiferença (% de nota 5) às amostras foram de 3,3% para a formulação A, de 6,7% para a formulação B e nulo para o controle. Já os percentuais

de aprovação (% de notas entre 6 e 9) foram de 100,0% para a formulação controle, 93,4% para a formulação A e de 86,6% para a formulação B, o que indica que, apesar de terem diferido entre si e em relação ao controle, as formulações em teste apresentaram elevada aprovação.

MOSCATTO, PRUDENCIO-FERREIRA & HAULY (2004), ao avaliarem a aceitação de bolo de chocolate produzido com dois níveis de adição de farinha de yacon, encontraram índices de 6,0% e 17,0% para rejeição em conjunto com a indiferença, índices que os autores consideraram baixos. Logo, também este indicador sugere a viabilidade da aplicação alimentar proposta para os concentrados protéicos, com menor rejeição, maior aprovação, maior grau médio de satisfação e maior índice de satisfação para o produto formulado com adição de  $CE_M$ .

O menor grau de satisfação observado para a formulação B em relação à formulação A, provavelmente, é devido ao menor volume e à aparência de textura de miolo do produto, já que quanto ao volume específico e à cor não foram detectadas diferenças.

As diferenças, em termos de satisfação, entre a formulação controle e as formulações A e B podem ser decorrentes do menor volume específico, da aparência de textura do miolo e da cor mais escura dos produtos teste. Embora o índice de satisfação da formulação A (84,8%) seja considerado muito bom, uma perspectiva futura seria uma nova avaliação, tendo como controle um pão rico em fibras, pois a coloração e a textura podem ter sido os principais responsáveis pela baixa rejeição observada. Entretanto, como foi avaliada apenas a satisfação global, não é possível fazer esta afirmação, uma vez que os provadores não registraram comentários na ficha de análise sensorial.

### **5.3.5.5 Potencial aporte nutricional**

Considerando a viabilidade da aplicação dos concentrados protéicos, é pertinente uma avaliação do potencial aporte nutricional que a adição dos concentrados protéicos pode representar (tabela 17). Partindo da adição de 50,0 g de concentrado à formulação da massa para o preparo de um pão de 500g e considerando as recomendações nutricionais para uma criança hipotética de 10

anos, do sexo masculino e de peso saudável (cerca de 32,0 kg), o consumo diário de quatro fatias do pão enriquecido (em média, 25 g cada fatia) poderia suprir relevantemente, em particular, as necessidades de proteína, cálcio, fósforo, ferro, magnésio e manganês, além de oferecer uma contribuição importante ao consumo de fibra.

Inclusive, o concentrado protéico atende aos critérios da ANVISA para a denominação de fonte de fibra, proteína, cálcio, fósforo, ferro, zinco, magnésio, manganês e cobre. Entretanto, como ingrediente no pão proposto, em nível de 50,0g por pão, o alimento final pode ser considerado fonte de proteína, cálcio, fósforo, ferro, magnésio e manganês (BRASIL, 2003).

Dentre estes nutrientes, particularmente abundantes no pão enriquecido com CE<sub>M</sub>, proteína e ferro são de especial interesse, dada a prevalência de desnutrição protéico-calórica e de anemia ferropriva na população infantil brasileira (BRASIL, 2006).

**Tabela 17** – Aporte nutricional potencial de pão adicionado de CE<sub>M</sub>

Alimento	Elemento	CE <sub>M</sub> (50g)	Pão <sup>(2)</sup> + CE <sub>M</sub> (500 g)	Pão Padrão (500g) <sup>(1)</sup>	Quatro Fatias do Pão + CE <sub>M</sub> (100 g de pão)	DA/Ingestão Segura <sup>(3)</sup>	Adequação (%)
Proteína (g)	Prot	1,0	6,9	5,9	5,4	2,0	8,2
Lipídeo (g)	Lipí	,6	2,1	,5	,4	*	*
Fibra (g)	Fibr	,9	,9		,0	5,0 <sup>(4)</sup>	,7
Carboidrato (g)	Car	,9	20,8	12,0	4,2	*	*
HCN (mg%)	HCN	,7	,7		,5	6,0 <sup>(5)</sup>	,1
Tanino (g)	Tani	,2	,2		,04	,0 <sup>(6)</sup>	,0
Calcio (mg)	Cálc	13,6	08,6	95,0	61,7	00,0	0,2
Fósforo (mg)	Fósf	89,8	74,8	85,0	95,0	00,0	4,4
Ferro (mg)	Ferr	,5	3,5	,0	,7	0,0	7,0
Zinco (mg)	Zinc	,5	,5		,9	0,0	,0
Magnésio (mg)	Mag	74,7	74,7		4,9	70,0	0,5

	<b>Man</b>					6
<b>ganês (mg)</b>	,2	,2	,8	,0	0,0	3
	<b>Cob</b>					
<b>re (mg)</b>	,3	,3	,06	,0	,0	

(1) FRANCO (1999)

(2) Pão com 20 fatias, em média

(3) MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1999

(4) COPPINI et al., 2000

(5) Ingestão diária mínima potencialmente tóxica

(6) Conteúdo usual em outros alimentos, como ervilhas

\* Informação não disponível

\*\* RDA dependente da necessidade energética diária

CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado

Além disso, a toxicidade, dada pela oferta de HCN, é insignificante, já que o conteúdo desta substância na porção sugerida é aproximadamente 32 vezes menor do que a dose mínima com potencial tóxico (OKE, 1969; ARAÚJO, 1999). Da mesma forma, a oferta de taninos atinge apenas 2,0% do que seria ingerido por meio do consumo de 100g de ervilha, o que sugere a inexistência de risco adicional aquele da dieta habitual.

Portanto, a aplicação alimentar dos concentrados protéicos de folhas de mandioca, principalmente CE<sub>M</sub>, representa uma alternativa viável para o aproveitamento de um material que hoje é considerado resíduo agrícola, com potenciais benefícios tecnológicos e nutricionais.

Tendo em vista os resultados obtidos com a aplicação dos concentrados protéicos de folhas de mandioca na formulação de pães e considerando que bolos são produtos de panificação cuja estrutura depende menos da rede de glúten (EL-DASH & GERMANI, 1994), foi testada a introdução de CE<sub>M</sub> e TCAI<sub>M</sub> no preparo deste produto. Pelos motivos expostos, neste caso foi testada uma adição maior dos concentrados protéicos, em nível de 30,0% em relação à quantidade de farinha.

A aparência geral dos bolos produzidos, controle (sem adição de concentrado protéico) e formulações A (com adição de CE<sub>M</sub>) e B (com adição de TCAI<sub>M</sub>), é apresentada na figura 9.



**Figura 9** – Imagens dos bolos das formulações A, B e controle, da direita para a esquerda.

Os bolos das três formulações diferiram quanto ao peso e ao volume (tabela 18), com a formulação A apresentando os maiores resultados e a formulação controle os menores. Entretanto, as formulações A e B não diferiram entre si quanto ao volume específico, que foi maior do que o do bolo controle. Estes resultados confirmam a maior tolerância deste produto de panificação à introdução de ingredientes diversos (EL-DASH, CABRAL & GERMANI, 1994).

Além disso, as propriedades funcionais apresentadas pelos concentrados protéicos, neste tipo de produto de panificação, podem ter contribuído para as melhores características de peso, volume e, conseqüentemente, de volume específico.

**Tabela 18** – Peso, volume e volume específico dos bolos controle e teste (Formulações A e B)<sup>(1)</sup>

Material	Peso (g)	Volume (cm <sup>3</sup> )	Volume específico (cm <sup>3</sup> /g)
Bolo controle	451,0 ± 0,5 <sup>c</sup>	767,3 ± 0,4 <sup>c</sup>	1,7 ± 0,5 <sup>b</sup>
Formulação A (CE <sub>M</sub> )	460,0 ± 0,8 <sup>a</sup>	836,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,6 <sup>a</sup>
Formulação B (TCA II <sub>M</sub> )	455,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	820,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,8 ± 0,3 <sup>a</sup>

<sup>(1)</sup> Valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão

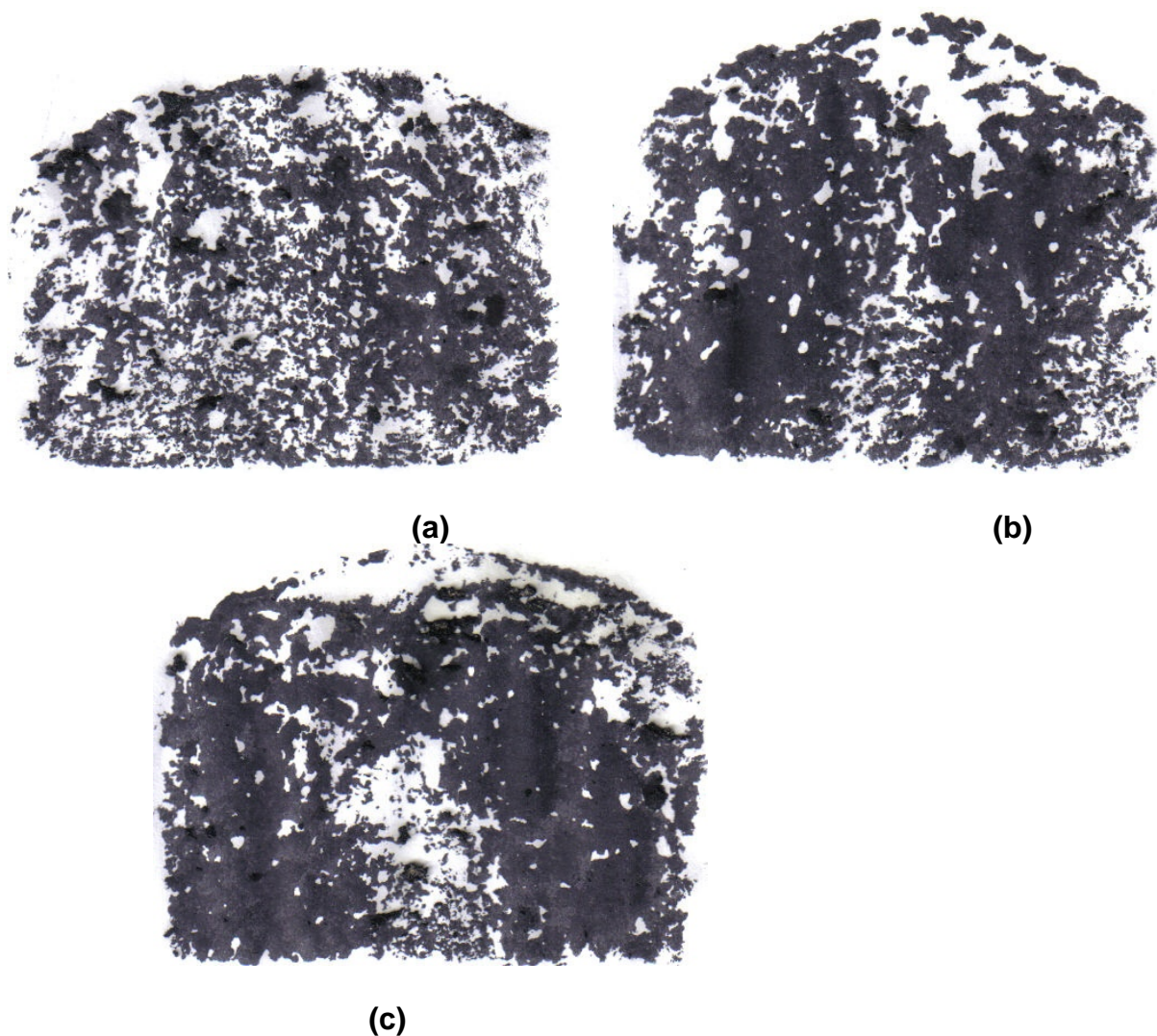
CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado

TCA II<sub>M</sub>: termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

A porosidade ou aparência de textura dos bolos (figura 10) seguiu a mesma tendência daquela apresentada pelos pães, com o bolo controle apresentando miolo de granulosidade mais fina e uniforme. Os bolos das formulações A e B, por outro lado, de estrutura mais compacta, apresentaram buracos e rachaduras, o que pode ser devido à maior capacidade de absorção de óleo dos concentrados. Ou seja, é provável que uma maior quantidade de gordura deva ser adicionada à massa quando é acrescentado concentrado à formulação, já que esta, ao ser batida, contribui para a expansão da massa e a textura do produto final (ORNELLAS, 2001). Entretanto, esta hipótese só poderia ser confirmada a partir do estudo de otimização do processo de produção dos bolos, o que não foi feito neste trabalho.

No entanto, é possível afirmar, por meio da observação das imagens dos bolos (figura 10), que as diferenças quanto à aparência de textura entre as formulações A, B e controle foram menores do que as observadas entre as diferentes formulações de pão (figura 8), o que também corrobora a menor influência da adição dos concentrados sobre a estrutura dos bolos e, portanto, sugere que esta seja uma aplicação mais conveniente para estes ingredientes.



**Figura 10** – Aparência de textura dos bolos: (a) controle, (b) formulação A, (c) formulação B.

Por outro lado, com relação à cor dos três bolos produzidos as diferenças são claramente perceptíveis pela observação da figura 9, sendo atribuídas exclusivamente à adição dos concentrados protéicos às formulações A e B, já que as condições de processamento foram idênticas.

As diferenças de cor observadas são explicadas pelos diferentes valores de  $L^*$  encontrados (tabela 19), com o maior valor (cor mais clara) correspondendo ao bolo controle e com as formulações A e B não diferindo entre si.

**Tabela 19** – Luminosidade ( $L^*$ ) e tonalidade cromática ( $H^*$ ) dos bolos controle e teste (Formulações A e B)<sup>(1)</sup>

Material	$L^*$ <sup>(2)</sup>	$H^*$ <sup>(3)</sup>
<b>Bolo controle</b>	89,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	102,9 ± 2,6 <sup>o</sup>
<b>Formulação A (CE<sub>M</sub>)</b>	71,8 ± 0,5 <sup>b</sup>	114,9 ± 1,8 <sup>a</sup>
<b>Formulação B (TCA II<sub>M</sub>)</b>	71,5 ± 1,9 <sup>b</sup>	114,7 ± 2,6 <sup>a</sup>

<sup>(1)</sup> Valores médios de três repetições com três determinações cada ± desvio padrão

<sup>(2)</sup> L: 0 = preto absoluto; 100 = branco absoluto

<sup>(3)</sup> Resultados expressos em graus para  $H^*$  (tonalidade cromática), calculado como  $H^* = 180 + [\arctang(b^*/a^*)]$

**CE<sub>M</sub>**: coagulação por etanol modificado

**TCA II<sub>M</sub>**: termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

Da mesma forma como foi observado pela avaliação dos parâmetros de cor dos pães (tabela 15), as tonalidades cromáticas ( $H^*$ ) dos bolos estão situadas no quadrante entre 90° e 180° no espaço físico de cor do sistema CIELAB, não tendo sido observadas diferenças entre as duas formulações em teste. Entretanto, estas diferiram quando comparadas ao controle, que apresentou coloração *plotada* na esfera de cor em um ângulo mais próximo de 90°, o que representa uma maior proximidade do amarelo puro (FERREIRA & MINAMI, 2000). Portanto, as diferenças de cor percebidas visualmente entre o bolo controle e aqueles em teste são explicadas pelo maior valor de  $L^*$  e menor de  $H^*$  do primeiro e são devidas à adição de concentrado protéico às formulações A e B.

Para a avaliação sensorial os provadores receberam apenas amostras dos bolos das formulações A e B, uma vez que a diferença de cor entre estes e o controle seria um interferente relevante, o qual poderia, inclusive, invalidar o julgamento.

De acordo com os resultados da análise sensorial (tabela 20), apesar do número de provadores ser considerado baixo (STONE & SIDEL, 1985), os bolos não diferiram entre si quanto ao grau de satisfação global, com a média obtida indicando boa aceitação. Os índices de satisfação com as formulações em teste são iguais ou maiores do que 80,0% e considerados elevados, evidenciando a viabilidade também desta aplicação alimentar para os concentrados protéicos e em um nível maior.

Ambos os bolos produzidos apresentaram rejeição (% de notas entre 1 e 4) de 11,1%, sendo que metade da rejeição foi atribuída pelos provadores a um sabor amargo dos bolos e metade a um sabor que “lembra erva-mate”, segundo os

comentários registrados nas fichas do teste de grau de satisfação. Os percentuais de indiferença (% de nota 5) foram nulos e os de aprovação (% de notas entre 6 e 9) foram de 88,9% também para ambas as amostras. Comparados novamente aos resultados encontrados por MOSCATTO, PRUDENCIO-FERREIRA & HAULY (2004), ao avaliarem a aceitação de bolo de chocolate adicionado de farinha de yacon, os índices de rejeição observados para os bolos acrescidos de concentrados protéicos de folhas de mandioca podem ser considerados baixos, reforçando a viabilidade desta aplicação alimentar, sem diferenças entre CE<sub>M</sub> e TCAII<sub>M</sub>.

**Tabela 20** – Grau de satisfação global dos bolos das formulações A e B

Amostra	Média de Grau de Satisfação	Índice de Satisfação (%)
Formulação A (CE <sub>M</sub> )	7,3 <sup>a</sup>	81,1
Formulação B (TCA II <sub>M</sub> )	7,2 <sup>a</sup>	80,0

CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado

TCA II<sub>M</sub>: termo-coagulação ácida II modificado

Médias na coluna acompanhadas por letras diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )

O percentual de rejeição observado para ambas as formulações, provavelmente, é devido ao sabor conferido pelo nível de adição de concentrado protéico (30,0%), já que os provadores referiram sabor amargo, o que é creditado ao conteúdo de taninos. A referência a sabor de erva-mate, também associada à rejeição das amostras, pode ser devida ao conteúdo de taninos ou de outros componentes não avaliados neste trabalho, como clorofila, por exemplo.

A cor dos bolos, provavelmente, não interferiu na rejeição dos mesmos, uma vez que não houve registro de comentários neste sentido e, ainda, devido aos mesmos não terem sido apresentados aos provadores em conjunto com o bolo controle, mais claro. Além disso, não houve diferenças quanto à cor dos bolos em avaliação, a qual está próxima da de bolos de chocolate.

Considerando que os bolos receberam maior adição percentual de concentrado protéico, além dos resultados mencionados anteriormente, foi avaliado o potencial aporte nutricional de um bolo de 450g preparado com a adição de 45,0g de CE<sub>M</sub> (tabela 21). A avaliação comparou as recomendações nutricionais para uma criança hipotética de 10 anos, do sexo masculino e de peso saudável (cerca de 32,0 kg), com o consumo diário de três fatias do bolo enriquecido (em média, 34 g cada fatia). Nestas condições, o consumo proposto poderia contribuir relevantemente, em

particular, para o atendimento das necessidades de proteína, cálcio, fósforo, ferro, magnésio e manganês, além de oferecer um aporte importante ao consumo de fibra.

Conforme já mencionado, o concentrado protéico é fonte de fibra, proteína, cálcio, fósforo, ferro, zinco, magnésio, manganês e cobre. Uma vez adicionado como ingrediente no bolo proposto, em nível de 45,0g por bolo, o alimento final pode ser considerado fonte de proteína, fósforo, magnésio e manganês, além de atender aos critérios legais para a denominação de alimento com alto teor de ferro (BRASIL, 2003).

A toxicidade do bolo, dada pela oferta de HCN, é insignificante (OKE, 1969; ARAÚJO, 1999) e a oferta de taninos atinge apenas 1,0% do que seria ingerido por meio do consumo de 100g de ervilha.

**Tabela 21** – Aporte nutricional potencial de bolo adicionado de CE<sub>M</sub>

Elemento	CE <sub>M</sub> (45g)	Bolo <sup>(2)</sup> + CE <sub>M</sub> (450 g)	Bolo (450g) <sup>(1)</sup>	Fatias do Bolo + CE <sub>M</sub> (100 g de bolo)	DA/Ingestão Segura <sup>(3)</sup>	Adequação (%)
Proteína (g)	7,9	4,7	6,8	2,2	2,0	8,1
Lipídeo (g)	,2	6,6	5,4	7,0	*	*
Fibra (g)	,4	,4		,0	5,0 <sup>(4)</sup>	,7
Carboidrato (g)	,0	70,1	62,1	0,0	*	*
HCN (mg%)	,4	,4		,5	6,0 <sup>(5)</sup>	,1
Tanino (g)	,1	,1		,02	,0 <sup>(6)</sup>	,0
Cálcio (mg)	76,1	74,1	8,0	3,1	00,0	0,4
Fósforo (mg)	70,8	40,8	70,0	86,8	00,0	3,3
Ferro (mg)	,8	3,4	,6	,0	0,0	0,0
Zinco (mg)	,1	,1		,9	0,0	,0
Magnésio (mg)	57,2	57,2		4,9	70,0	0,5
Manganês (mg)	,3	,3		,8	,0	0,0
Cobalto (mg)	,3	,3		,06	,0	,0

(1) FRANCO (1999)

(2) Bolo com 13 fatias, em média

(3) MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1999

(4) COPPINI et al., 2000

(5) Ingestão diária mínima potencialmente tóxica

(6) Conteúdo usual em outros alimentos, como ervilhas

\* Informação não disponível

\*\* RDA dependente da necessidade energética diária

CE<sub>M</sub>: coagulação por etanol modificado

Assim, esta aplicação alimentar representa mais uma alternativa viável para o aproveitamento das folhas de mandioca, reforçando a proposta de que a obtenção de concentrados protéicos é um processo tecnológico adequado para este material.

## 6 CONCLUSÕES

**6.1** As modificações introduzidas nos procedimentos originais (etapa I) para obtenção de concentrado protéico de folhas de mandioca resultaram em produtos mais adequados ao emprego como ingrediente alimentar, isto é, mais claros, com maior rendimento e maior conteúdo protéico (etapa II), além de apresentarem baixos conteúdos de taninos e cianeto.

**6.2** Os concentrados protéicos obtidos,  $CE_M$  e  $TCAII_M$ , são fontes de nutrientes, especialmente proteína, fibra, cálcio, fósforo, ferro, magnésio, manganês, zinco e cobre.

**6.3** A fração protéica majoritária dos concentrados obtidos é a de globulina, seguida pela albumina, o que tem impacto nas propriedades funcionais dos mesmos.

**6.4** Os concentrados protéicos obtidos após as modificações não diferiram quanto à cor, sendo mais claros do que os obtidos pelos procedimentos não modificados e do que as folhas desidratadas moídas de mandioca, o que os torna mais indicados para aplicação como ingrediente alimentar.

**6.5** Dada a solubilidade dos concentrados protéicos obtidos, os mesmos são potenciais ingredientes para produtos alimentares na faixa de pH ácido ou neutro.

**6.6** As capacidades de absorção de água e de óleo dos concentrados protéicos foram elevadas e os indicam para a aplicação em produtos cárneos, de panificação, sopas e molhos.

**6.7** As propriedades emulsificantes dos concentrados protéicos os caracterizam como potenciais ingredientes para produtos como salsichas, lingüiças, sopas, sopas-creme, bolos e outros produtos de panificação.

**6.8** As propriedades espumantes dos concentrados protéicos são apenas razoáveis, com melhor estabilidade de espuma do que formação.

**6.9** A capacidade de formação de gel dos concentrados é compatível com a de outros materiais vegetais, tornando-os aptos à aplicação em produtos cárneos e de panificação.

**6.10** A densidade dos concentrados protéicos, maior do que a das folhas desidratadas e moídas, é mais adequada ao emprego como ingrediente alimentar, por permitir a adição de menor quantidade dos mesmos às formulações, sendo que  $CE_M$  é o de primeira escolha.

**6.11** A qualidade nutricional do concentrado protéico  $CE_M$  o caracteriza como um adequado suplemento alimentar.

**6.12** A aplicação dos concentrados protéicos  $CE_M$  e  $TCAII_M$  em produtos de panificação (pão e bolo) resultou em alimentos de elevada aceitação, adequadas propriedades tecnológicas e enriquecidos nutricionalmente.

**6.13** O concentrado  $CE_M$ , pelas propriedades físicas, químicas, funcionais e nutricionais apresentadas, é o mais adequado ao emprego como ingrediente alimentar em produtos de panificação.

## **7 PERSPECTIVAS**

Permanecem, ao término do desenvolvimento deste trabalho, algumas perspectivas futuras, tais como:

**7.1** Os procedimentos de obtenção podem ser otimizados, com modificações dos tempos de extração e da quantidade de solução extratora.

**7.2** As propriedades funcionais dos concentrados protéicos podem ser avaliadas em função das variáveis pH e concentração salina e de açúcar do meio.

**7.3** Os concentrados protéicos podem ser melhor caracterizados quanto às frações protéicas componentes, inclusive por eletroforese.

**7.4** Os concentrados protéicos também podem ser avaliados quanto ao conteúdo vitamínico.

**7.5** Futuros estudos sobre a biodisponibilidade vitamínica e mineral são pertinentes.

**7.6** O pão desenvolvido pode ter aceitação avaliada em comparação com um padrão mais similar, como um pão rico em fibras.

**7.7** O bolo desenvolvido pode ter chocolate acrescido à sua formulação, sendo comparado a bolo de chocolate controle, o que poderá minimizar o efeito do concentrado no sabor do produto final.

**7.8** A avaliação sensorial das aplicações alimentares pode ser mais detalhada, pelo uso de outros métodos, como os descritivos.

**7.9** A aplicação dos concentrados protéicos pode ser investigada em produtos como sopas de vegetais, principalmente devido à sua cor.

**7.10** Será conveniente uma análise econômica do processo de obtenção dos concentrados protéicos.

## REFERÊNCIAS

ABIA – Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. **Compêndio da legislação de alimentos**. v. 2/A, p. 7-33. São Paulo, SP, 1991.

ABIP – Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria. **Análise do mercado de pães**. Disponível em <<http://www.abip.org.br>>. Acesso em 24. nov.2006.

ABITRIGO – Associação Brasileira da Indústria do Trigo. **Derivados do trigo**. 2004. Disponível em <<http://www.abitrigo.com.br>>. Acesso em 02. jan.2007.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Especificações de cores de acordo com o sistema de notação Munsell – NBR 12694**. Rio de Janeiro, 1992.

ADEWUSI, S. R. A.; ORISADARE, B. O.; OKE, O. L. Studies on weaning diets in Nigeria: 2 protein sources. **Plant Food for Human Nutrition**, v. 42, p. 183-192, 1992.

AKINTONWA, A.; TUNWASHE, O. L. Fatal cyanide poisoning from cassava-based meal. **Human Experimental Toxicology**, v. 11, p. 47-49, 1992.

ALETOR, V. A.; ADEOGUN, O. A. Nutrient and anti-nutrient components of some tropical leafy vegetables. **Food Chemistry**, v. 53, p. 375-379, 1995.

ALETOR, O.; OSHODI, A. A.; IPINMOROTI, K. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. **Food Chemistry**, v. 78, p. 63-68, 2002.

ALLEONI, A. C. C. Albumen protein and functional properties of gelation and foaming. **Scientia Agricola**, v. 63, n; 3, p. 291-298, 2006.

ALOBO, A. P. Proximate composition and selected functional properties of defatted papaya (*Carica papaya* L.) kernel flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p. 1-7, 2003.

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Madrid: Editorial Acribia S. A., 1994.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 15<sup>th</sup> ed. Washington: AOAC, 1990.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2<sup>a</sup>. ed. Viçosa: Editora UFV, 1999.

ARÊAS, J. A. G. Extrusion of food protein. **CRC Critical Reviews on Food Science and Nutrition**, v. 32, p. 365-392, 1992.

AWOYINKA, A. F.; ABEGUNDE, V. O.; ADEWUSI, S. R. A. Nutrient content of young cassava leaves and assessment of their acceptance as a green vegetable in Nigeria. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 47, p. 21-28, 1995.

BADIFU, G. I. O.; AKUBOR, P. I. Influence of pH and sodium chloride on selected functional and physical properties of African breadfruit (*Treculia Africana* Decne) kernel flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 56, p. 105-115, 2001.

BARONI, C. F. S. C.; PENTEADO, P. T. P. S.; GEMIN, C. A. B.; BORGET, L. D.; WILLE, G. M. F. C. Desenvolvimento de mistura em pó para bolo ingles *light* com frutas. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 2, p. 113-120, 2003.

BATTOCHIO, J. R.; CARDOSO, J. M. P.; KIKUCHI, M.; MACCHIONE, M.; MODOLO, J. S.; PAIXÃO, A. L.; PINCHELLI, A. M.; SILVA, A. R.; SOUSA, V. C.; WADA, J. K. A.; WADA, J. K. A.; BOLINI, H. M. A. Perfil sensorial de pão de forma integral. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 428-433, 2006.

BEJOSANO, F. P.; CORKE, H. Properties of protein concentrates and hydrolysates from *Amaranthus* and buckwheat. **Industrial Crops and Products**, v. 10, p. 175-183, 1999.

BOAVENTURA, G. T.; CHIAPPINI, C. C. J.; ASSIS FERNANDES, N. R.; OLIVEIRA, E. M. Avaliação da qualidade protéica de uma dieta estabelecida em Quissamã, Rio de Janeiro, adicionada ou não de multimistura e de pó de folha de mandioca. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 3, p. 201-209, 2000.

BOKANGA, M. Processing of cassava leaves for human consumption. **Acta Horticulture**, v. 375, p. 203-207, 1994.

BORA, P. S.; RIBEIRO, D. Note. Influence of pH on the extraction yield and functional properties of macadamia (*Macadamia integrofolia*) protein isolates. **Journal of Food Science**, v. 10, n.4, p. 263-267, 2004.

BRASIL. Portaria RDC nº 90, de 18 de outubro de 2000. Aprova regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do pão. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis>>. Acesso em 01.out.2005.

BRASIL. Portaria RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis>>. Acesso em 28.dez.2006.

BRASIL. Informações de saúde. **Ministério da Saúde**. Disponível em <<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/>>. Acesso em 28.dez.2006.

CALLEGARO, M. G. K.; DUTRA, C. B.; HUBER, L. S.; BECKER, L. V.; ROSA, C. S.; KUBOTA, E. H.; HECKTHEUR, L. H. Determinação da fibra alimentar insolúvel, solúvel e total de produtos derivados do milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 271-274, 2005.

CÂMARA, F. S.; MADRUGA, M. S. Cyanic acid, phytic acid, total tannin and aflatoxin contents of a brazilian (Natal) multimistura preparation. **Revista de Nutrição**, v. 14, n. 1, p. 33-36, 2001.

CAMELO, A. F. L.; GÓMEZ, P. A. Comparison of color indexes for tomato ripening. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 534-537, 2004.

CARDOSO, C. E. L. **Competitividade e inovação tecnológica na cadeia agroindustrial de fécula de mandioca no Brasil**. Piracicaba, 2003, 188p. Tese (Doutor em Ciências), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (USP).

CARTAY, R. Difusión y comercio de la yuca (*Manihot esculenta*) em Venezuela y em el mundo. **Agroalimentaria**, n. 18, p. 13-22, 2004.

CARVALHO, V. D.; KATO, M. S. A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p. 23-27, 1987.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R.; MORAIS, A. R.; DE PAULA, M. B. Efeito da época de colheita na produtividade e teores de vitamina C e  $\beta$ -caroteno da parte aérea de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Revista Brasileira da Mandioca**, v. 8, n. 1, p. 25-35, 1989.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R.; BOTREL, N.; JUSTE JÚNIOR, E. S. G. Teores de proteína na parte aérea de cultivares de mandioca em diferentes épocas de colheita. **Revista Brasileira da Mandioca**, v. 12, n. ½, p. 13-20, 1993.

CASTELLANOS, R.; ALTAMIRANO, S. B.; MORETTI, R.H. Nutritional characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf protein concentrates obtained by ultrafiltration and acidic thermocoagulation. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 45, p. 357-363, 1994.

CEREDA, M. P. Valorização de subprodutos como forma de reduzir custos de produção. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. Cap. 24, p. 305-320.

CEREDA, M. P.; MATTOS, M. C. Y. Linamarin – the toxic compound of cassava. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, 2001v. 2, n. 1, p. 6-12, 1996.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. Potencialidades das proteínas de folhas de mandioca. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latinoamericanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. Cap. 24, p. 683-693.

CHANDI, G. K.; SOGI, D. S. Functional properties of rice bran protein concentrates. **Journal of Food Engineering**. 2006 (no prelo).

CHAVES, J. G. Extrato protéico das folhas de mandioca. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p. 47-52, 1987.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Acribia, 1989.

CHEL-GUERRERO, L.; PÉREZ-FLORES, V.; BETANCUR-ANCONA, D.; DÁVILA-ORTIZ, G. Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 584-591, 2002.

CHIARADIA, A. C. N.; COSTA, N. M. B.; GOMES, J. C. Retirada do tegumento e extração dos pigmentos na qualidade protéica do feijão-preto. **Revista de nutrição**, v. 12, n. 2, p. 131-136, 1999.

CHUNG, K. T.; WONG, T. Y.; WEI, C. I.; HUANG, Y. W.; LIN, Y. Tannins and human health: a review. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 421-464, 1998.

COCUP, R. O.; SANDERSON, W. B. Functionality of dairy ingredients in bakery products. **Food Technology**, v. 41, n. 9, p. 86-90, 1987.

COFFMANN, C. N.; GARCIA, V. V. Functional properties and amino acid content of a protein isolated from mung bean flour. **Journal of Food Technology**, v. 12, p. 473, 1977.

COLORPRO. **Munsell conversion v. 6.5.5**. Disponível em <<http://www.colorpro.com/info/software/munsell.htm>>. Acesso em 10.ago.2004.

CONCEIÇÃO, A. J. **A mandioca**. 3ª.ed. São Paulo, SP: Nobel, 1981.

COPPINI, L. Z.; WAITZBERG, D. L.; CAMPOS, F. G.; HABR-GAMA, A. Fibras alimentares e ácidos graxos de cadeia curta. In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. V.1. 3ª.ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2000. Cap. 5, p. 79-94.

CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D.; NATIVIDADE, M. A. E.; ABREU, C. M. P.; XISTO, A. L. R. P.; CARVALHO, V. D. Farinha de folhas de mandioca I – Efeito da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 2, p. 368-374, 2002.

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**, v. 24, n. 2, p. 159-164, 2004.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3ª.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3ª.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

DAMODARAN, S. Amino acids, peptides and proteins. In: FENNEMA, O. R. (Ed). **Food Chemistry**. 3<sup>rd</sup>.ed. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 6, p. 321-429.

DAMODARAN, S.; PARAF, A. **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1997.

DAVIES, N. T. Anti-nutrient factors affecting mineral utilization. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 38, p. 121-128, 1979.

DERENZO, S.; ALDEIA, W. Estudo das condições operacionais da etapa de extração de proteína do capim elefante (*pennisetum prpureum schum*), utilizado como fonte energética. **Anais do Encontro de Energia do Meio Rural**, p.3, 2000.

DONADEL, M. E.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, p. 380-386, 1999.

DONADUZZI, C. M.; CARDOZO, E. L. Variação nos teores de polifenóis totais e taninos em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) cultivadas em três municípios do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 7, n. 2, p.129-133, 2003.

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo, SP: Sarvier, 1998.

EL-ADAWY, T. A.; RAHMA, E. H.; EL-BEDAWEY, A. A.; GAFAR, A. F. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. **Food Chemistry**, v. 74, p. 455-462, 2001.

EL-DASH, A.; CABRAL, L. C.; GERMANI, R (ed). **Tecnologia de farinhas mistas: uso de farinha mista de trigo e soja na produção de pães**. V. 3. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.

EL-DASH, A.; GERMANI, R (ed). **Tecnologia de farinhas mistas: uso de farinhas mistas na produção de bolos**. V. 7. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.

ELIAS, M.; NAMBISAN, B.; SUDHAKARAN, P. R. Catabolism of linamarin in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant Science**, v. 126, p. 155-162, 1997.

EL FIEL, H. E. A.; EL TINAY, A. H.; ELSHEIKH, E. A. E. Effect of cooking on protein solubility profiles of faba beans (*Vicia faba* L.) grown using different nutritional regimes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p. 63-74, 2003.

EL-SHARKAWY, M. A. Cassava biology and physiology. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 56, p. 481-501, 2004.

ESCUADERO, N. L.; ARELLANO, M. L.; LUCO, J. M.; GIMÉNEZ, M. S.; MUCCIARELLI, S. I. Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 59, p. 15-21, 2004.

ESPÍNDOLA, F. S. **Fracionamento dos vegetais verdes e obtenção de concentrados protéicos de folhas (CPF) para suplementação de alimentos e ração animal, com aproveitamento de subprodutos**. Uberlândia, 1987, 130p. Monografia. Universidade Federal de Uberlândia.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 802-806, 2005.

ESTELLER, M. S.; YOSHIMOTO, R. M. O.; AMARAL, R. L.; LANNES, S. C. S. Uso de açúcares em produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 602-607, 2004.

FAO – Food and Agricultural Organization. **Faostatdata**. Disponível em <<http://apps.fao.org/faostat/>>. Acesso em 14.nov.2005.

FARFAN, J. A. Alimentação alternativa: análise crítica de uma proposta de intervenção nutricional. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, n.1, p. 14-22, 1998.

FASUYI, A. O. Bio-nutritional evaluations of three tropical leaf vegetables (*Telfairia occidentalis*, *Amaranthus cruentus* and *Talinum triangulares*) as sole dietary protein sources in rat assay. **Food Chemistry**. 2006 (no prelo).

FAUSTINO, J.O.; SANTOS, G. T.; MODESTO, E. C.; SILVA, D. C.; JOBIM, C. C.; SAKAGUTI, E. S.; DAMASCENO, J. C.; MARQUES, J. A.; ZAMBOM, M. A. Efeito da ensilagem do terço superior da rama de mandioca triturada ou inteira e dos tempos de armazenamento. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 25, n. 2, p. 403-410, 2003.

FELIPE, F. I.; VAN DEN BROEK, L. A polêmica adição de derivados de mandioca à farinha de trigo. **Boletim CEPEA**. Disponível em <<http://www.cepea.esalq.usp.br>>. Acesso em 12.nov.2006.

FERREIRA, M. D.; MINAMI, K. Qualidade de bulbos de cebola em consequência de tratamentos pré-colheita. **Scientia agricola**, v. 57, n. 4, p. 693-701, 2000.

FLANDER, L.; SALMENKALLIO-MARTTILA, M.; SUORTTI, T.; AUTIO, K. Optimization of ingredients and baking process for improved wholemeal oat bread quality. **LWT**, 2006 (no prelo).

FONTANARI, G. G. **Isolado protéico de farinha de semente de goiaba (*Psidium guajava*): caracterização de propriedades funcionais e térmicas**. Araraquara, 2006, 80p. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9ª. ed. São Paulo, SP: Editora Atheneu, 1999.

GAMEIRO, A. H. Mandioca: de alimento básico à matéria-prima industrial. **Boletim CEPEA**. Disponível em <http://www.cepea.esalq.usp.br>>. Acesso em 12.nov.2006.

GHIASI, K.; HOSENEY, R. C.; VARRIANO-MARSTON, E. Gelatinization of wheat starch. I, Excess-water systems. **Cereal Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 65-70, 1982.

GLÓRIA, M. M.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 240-245, 2000.

GÓMEZ, G.; VALDIVIESO, M. Cassava foliage: chemical composition, cyanide content and effect of drying on cyanide elimination. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, p. 433-441, 1985.

GÓMEZ, G.; VALDIVIESO, M.; DE LA CUESTA, D.; SALCEDO, T. S. Effect of variety and plant age on the cyanide content of whole-root cassava chips and its reduction by sun-drying. **Animal Feed Science and Technology**, v. 11, p. 57-65, 1984.

GONZÁLEZ-CANGA, A.; MARTÍNEZ, N. F.; SAHAGÚN, A. M.; VIEITEZ, J. J. G.; LIÉBANA, M. J. D.; PARDO, A. P. C.; ROBLES, L. J. C.; VEJA, M. S. Glucomanano: propiedades y aplicaciones terapéuticas. **Nutrición Hospitalaria**, v. 19, n. 1, p. 45-50, 2004.

GUYTON, A. C. **Tratado de fisiología médica**. 6ª.ed. Rio de Janeiro, RJ: Interamericana, 1984.

HAQUE, M. R.; BRADBURY, J. H. Total cyanide determination of plants and foods using the picrate and acid hydrolysis methods. **Food Chemistry**, v. 77, p. 107- 114, 2002.

HAYMAN, D.; HOSENEY, R. C.; FAUBION, J. M. Bread crumb grain development during baking. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 5, p. 577-580, 1998.

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**, v. 11, n. 1, p. 51-57, 1998.

HERMANSON, A. M. Determination of functional properties of protein foods. In: POTER, J.; ROLLS, B. (Eds.). **Problems in human nutrition**. New York: Academic Press, 1973. p. 407-436.

HUG-ITEN, S.; ESCHER, F.; CONDE-PETIT, B. Structural properties of starch in bread and bread model systems: influence of an antistaling  $\alpha$ -amilase. **Cereal Chemistry**, v. 78, n. 4, p. 421-428, 2001.

HUNTERLAB. Hunter L, a, b versus CIE 1976 L\*a\*b\*. Disponível em: <[http://www.hunterlab.com/cs\\_publications.phpbr](http://www.hunterlab.com/cs_publications.phpbr)>. Acesso em 11. nov. 2004.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10. set. 2006.

JONES, D. A. Why are so many food plants cyanogenic? **Phytochemistry**, v. 47, p. 155-162, 1998.

KATARIA, A.; CHAUAN, B. M.; GANDHI, S. Effect of domestic processing and cooking on the antinutrients of black gram. **Food Chemistry**, v. 30, p. 149-156, 1988.

KINSELLA, J. E.; DAMODARAN, S.; GERMAN, A. B. Physicochemical and functional properties of oilseed proteins with emphasis on soy proteins. In: ALTSCHUL, A. M.; WILCKE, H. L. (Ed.). **New protein foods**. V. 5. 2<sup>nd</sup> ed. Orlando: Academic Press, 1985. Chapter 5, p. 107-170.

KINSELLA, J. E. Functional properties of proteins in foods: a survey. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 7, p. 219-280, 1976.

KINSELLA, J. E. Milk proteins: physicochemical and functional properties. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 21, n. 4, p. 197-262, 1984.

KUMAR, R.; SINGH, M. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 32, p. 447-453, 1984.

LANCASTER, P. A.; BROOKS, J. E. Cassava leaves as human food. **Economic Botany**, v. 37, n. 3, p. 331-348, 1983.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; SILVA, G. S. B.; LIMA, D. E. S. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). **Revista de nutrição**, v. 17, n. 1, p. 53-57, 2004.

LIMA, A. L. S.; ZANELLA, F.; SCHIAVINATO, M. A.; HADDAD, C. R. B. Nitrogenous compounds, phenolic compounds and morphological aspects of leaves: comparison of deciduous and semideciduous arboreal legumes. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 40-45, 2006.

LÓPEZ, A. C. B.; PEREIRA, A. J. G.; JUNQUEIRA, R. G. Flour mixture of rice flour, corn and cassava starch in the production of gluten-free white bread. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 63-70, 2004.

LORENZI, J. O.; DIAS, C. A. C. Cultura da mandioca. **Boletim Técnico da CATI**, n. 211, 1993.

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de alimentos**. Jaboticabal: Ed. Funep, 2000.

LOVERA, J. R. **Historia de la alimentación en Venezuela**. Caracas: C.E.G.A. 1998.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. L.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MADRUGA, M. S.; CÂMARA, F. S. The chemical composition of "Multimistura" as a food supplement. **Food Chemistry**, v. 68, p. 41-44, 2000.

MAHAN, K. L.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9ª.ed. São Paulo: Roca; 1998.

MANGINO, M. E. Protein interactions in emulsions: protein-lipid interactions. In: HETTIARACHCHY, N. S.; ZIEGLER, G.R. (Ed.). **Protein functionality in food systems**. New York: Marcel Dekker, 1994.

MARCHIONI, D. M. L.; SLATER, B.; FISBERG, R. M. Aplicação das *Dietary Reference Intakes* na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 207-216, 2004.

MAYER-MIEBACH, E.; GÄRTNER, U.; GROßMANN, B.; WOLF, W.; SPIEß, W. E. L. Influence of low temperature blanching on the content of valuable substances and sensory properties in ready-to-use salads. **Journal of Food Engineering**, 2002.

MODESTI, C. F. **Obtenção e caracterização de concentrado protéico de folhas de mandioca submetido a diferentes tratamentos**. Lavras, 2006, 73p. Dissertação (Mestre em Agronomia), Universidade Federal de Lavras (UFLA).

MONTGOMERY, R.; CONWAY, T. W.; SPECTOR, A. A. **Bioquímica – uma abordagem dirigida por casos**. 5ª. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1994.

MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEIN, J.M.; VAN BUREN, J. P.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1715-1718, 1985.

MULVIHILL, D. M.; KINSELLA, J. E. Gelation of  $\beta$ -lactoglobulin: effects of sodium chloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 231-235, 1988.

NAG, A.; MATAI, S. *Ailanthus excelsa* Roxb. (Simaroubaceae), a promising source of leaf protein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 42, p. 1115-1117, 1994.

NANTES, J. F. D.;KANESIRO, M. A. B.; OLIVEIRA, J. E. D. Tendências de consumo de alimentos. 2002. Disponível em <<http://www.nutricaoempauta.com.br>>. Acesso em 23. dez.2002.

NELSON, T. S.; STEPHENSON, E. L.; BURGOS, A.; FLOYD, J.; YORK, J. O. Effect of tannin content and dry matter digestion on energy utilization and average amino acid availability of hybrid sorghum grains. **Poultry Science**, v. 54, p. 1620-1623, 1975.

NEPA-UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO)**. Campinas: NEPA/UNICAMP, 2004.

NESTLÉ. Espaço do leitor. **Nestlé com você**, n. 28, p. 34, 2005.

OKAKA, J. C.; POTTER, N. N. Functional and storage properties of cowpea – wheat flour blends in bread making. **Journal of Food Science**, v. 42, p. 822-833, 1977.

OKE, O. L. Cassava as food in Nigeria. **World Review of Nutrition and Dietetics**. V. 9, p. 227-250, 1968.

OKE, O. L. Problems in the use of cassava as animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 3, p. 345-380, 1978.

OKEZIE, B.; BELLO, A. B. Physico-chemical and functional properties of winged beans flour and isolated compared with soy isolated. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 450-454, 1988.

OLIVEIRA, A. P. V.; FRASSON, K.; YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T. Medida instrumental de cor em sobremesas lácteas de chocolate: uma técnica de baixo custo e versátil utilizando câmera digital. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 191-196, 2003.

ONIMANO, I. A.; NMEROLE, E. C.; IDOKO, P. I.; AKUBOR, P. I. Effects of fermentation on nutrient content and some functional properties of pumpkin seed (*Telfaria occidentalis*). **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p. 1-9, 2003.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. 7ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

ORTEGA-FLORES, C. I. **Avaliação nutricional da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) desidratada**. São Paulo, 1998, 165p. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo (USP).

ORTEGA-FLORES, C. I.; COSTA, M. A. L.; CEREDA, M. P.; PENTEADO, M. V. C. Avaliação da qualidade protéica da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 25, p. 47-59, 2003.

ORTIZ, S. M. E.; WAGNER, J. R. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. **Food Research International**, v. 35, p. 511-518, 2002.

PADMAJA, G. Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 37, p. 712-716, 1989.

PAPADAKIS, S. E.; ABDUL-MALEK, S.; KAMDEM, R. E.; YAM, K. L.; A vesatile and inexpensive technique for measuring color of foods. **Food Technology**, v. 54, n. 12, p. 48-54, 2000.

PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 716-723, 1976.

PELUZIO, M. C. G.; MIRANDA, L. C. G.; MORAES, G. H. K.; PELUZIO, L. E. Avaliação da qualidade nutricional da proteína da folha de mandioca combinada com a caseína pela reação de plasteína. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 48, n. 4, p. 311-315, 1998.

PENTEADO, M. V. C.; ORTEGA-FLORES, C. I. Folhas de mandioca como fonte de nutrientes. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. Cap. 3, p. 48-66.

PEREIRA, J.; CIACCO, C. F.; VILELA, E. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Função dos ingredientes na consistência da massa e nas características do pão de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 494-500, 2004.

PEREIRA, A. J. G. **Fatores que afetam a qualidade do pão de queijo**. Belo Horizonte, MG: CETEC, 1998.

PEREZ, A. A. **Segmentação e quantificação em imagens coloridas de úlceras de perna**. São Carlo, 2001. Dissertação (Mestre), Universidade de São Paulo (USP).

PEREZ, P. Bio cassava plus. **Revista da Associação Brasileira de Mandioca**, v. 3, n. 11, 2005.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e técnica dietética**. Barueri, SP: Manole, 2003.

PINTO, N. A. V. D.; FERNANDES, S. M.; THÉ, M. P. P.; CARVALHO, V. D. Variabilidade da composição centesimal, vitamina C, ferro e cálcio de partes da folha de taioba (*Xanthomonas sagittifolium* Schott). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 3, p. 205-208, 2001.

PIRIE, N. W. **Leaf protein and its by-products on human and animal nutrition**. 2<sup>nd</sup>.ed. London: Cambridge University Press, 1987.

POMERANZ, Y.; MELOAN, C. E. **Food analysis: theory and practices**. 3<sup>rd</sup>. ed. New York: Chapman & Hall, 1994.

PORTUGAL, A. P.; SACHS, J. P. D.; SACHS, L. G.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; FELINTO, A. S. Leitura de imagem pixel a pixel: III. Determinação de áreas irregulares. **Anais do IV Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**, v. 1, n. 1, p. 258-258, 2001.

QUÍLEZ, J.; RUIZ, J. A.; BRUFAU, G.; RAFECAS, M. Bakery products enriched with phytosterols,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene. Sensory evaluation and chemical comparison with market products. **Food Chemistry**, v. 94, p. 399-405, 2006.

RANGEL, A.; DOMONT, G. B.; PEDROSA, C.; FERREIRA, S. T. Functional properties of purified vicilins from cowpea (*Vigna unguiculata*) and pea (*Pisum sativum*) and cowpea protein isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5792-5797, 2003.

RAVINDRAN, G.; RAVINDRAN, V. Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. **Food Chemistry**, v. 27, p. 299-309, 1988.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

REHMAN, Z. U.; SHAH, W. H. Tannin contents and protein digestibility of black grams (*Vigna mungo*) after soaking and cooking. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 56, p. 265-273, 2001.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher – Instituto Mauá de Tecnologia, 2004.

RIBEIRO, M. R.; LUCAS, A. C. S.; SANTOS, P. D.; GALVÃO, J. F. Teor de tiocianato urinário em crianças de 0 a 4 anos que utilizam alimentação alternativa (multimistura). **Revista Universidade do Amazonas Série Ciências da Saúde**, v. 4/5, n. ½, p. 95-110, 1995/1996.

ROCHA, R. L. Unicef elogia (com ressalvas) o Brasil. **RADIS Comunicação em Saúde**, n. 46. 2006. Disponível em <<http://www.ensp.fiocruz.br/radis/index.html>>. Acesso em 20. Dez. 2006.

ROCHA, F. R.; MINIM, V. P. R.; DELLA LUCIA, F.; MINIM, L. A.; COIMBRA, J. S. R. Avaliação da influência dos milhos QPM nas características sensoriais de bolo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 129-134, 2003.

RODRÍGUEZ-AMBRIZ, S. L.; MARTÍNEZ-AYALA, A. L.; MILLÁN, F.; DÁVILA-ORTIZ, G. Composition and functional properties of *Lupinus campestris* protein isolates. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 60, p. 99-107, 2005.

RODRÍGUEZ-DELGADO, M. A.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, G.; GONZÁLEZ, J. E. C.; TRUJILLO, J. P. P. **Food Chemistry**, v. 78, p. 523-532, 2002.

ROSAS-ROMERO, A. J.; ACOSTA, X. The biological quality of a cassava leave protein concentrate. **Acta Científica Venezolana**, v.37, p. 441-444, 1986.

ROSSI, M.; GERMONDARI, I. Production of a food-grade protein meal from defatted sunflower. II. Functional properties evaluation. **Lebensm. Wiss. U. Technol.**, v. 15, n. 5, p. 313-316, 1982.

RUIZ-CARRERA, V.; FRANCO-GÓMEZ, M. J. Pastas alimenticias suplementadas com concentrado proteínico de folhas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). **Tecnología Alimentaria**, v. 20, n. 2, p. 10-14, 1986.

SACHS, L. G.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; PORTUGAL, A. P.; FELINTO, A. S.; SACHS, J. P. D. Leitura de imagem pixel a pixel: I. Uso no controle de qualidade de alimentos. **Anais do IV Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**, v. 1, n.1, p. 258-258, 2001.

SACHS, L. G. **Parâmetros agronômicos e tecnológicos para produção e emprego de farinha desengordurada de girassol (*Helianthus annuus* L. EMBRAPA BR – 122 V2000)**. Londrina, 2002, Tese (Doutor em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina (UEL).

SACHS, L. G.; PORTUGAL, A. P.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; FELINTO, A. S.; SACHS, J. P. D. **Conversor em cor média RGB para imagens BMP**. Disponível em <<http://www.fflam.br>>. Acesso em 18.jun.2002.

SAGRILO, E. **Produtividade de três cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em diferentes épocas de colheita no segundo ciclo vegetativo**. Maringá, 2001, 136p. Dissertação (Mestre em Agronomia), Universidade Estadual de Maringá (UEM).

SALGADO, J. M.; SANTOS, A. C. Estudo do concentrado protéico da folha de mandioca. Obtenção, análises químicas e suplementação com aminoácidos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 36, n. 3, p. 483-494, 1986.

SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; CLEMENTE, A.; VIOQUE, J.; BAUTISTA, J.; MILLÁN, F. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization. **Food Chemistry**, v. 64, p. 237-243, 1999.

SCANLON, M. G.; ZGHAL, M. C. Bread properties and crumb structure. **Food Research International**, v. 34, p. 841-864, 2006.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos. Propriedades – degradações - modificações**. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

SILVA, S.; GOMES, L.; LEITÃO, F.; COELHO, A. V.; VILLAS BOAS, L. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea europaea* L. fruits and leaves. **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 5, p. 385-396, 2006.

SILVA, M. F. V. **Avaliação nutricional de um produto extrudado à base de folha e farinha de mandioca**. Lavras, 1990, 100p. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos), Escola Superior de Agricultura de Lavras.

SILVA-SÁNCHEZ, C.; GONZÁLEZ-CASTANHEDA, J.; DE LEÓN-RODRÍGUEZ, A.; BARBA DE LA ROSA, A. P. Functional and rheological properties of amaranth albumins extracted from two mexican varieties. **Plant Foods for human nutrition**, v. 59, p. 169-174, 2004.

SIMEPAR – Sistema Meteorológico do Paraná. **Dados Históricos**. Disponível em <<http://www.simepar.br>>. Acesso em 12.mar.2005.

SINHA, R.; KAWATRA, A. Effect of processing on phytic acid and polyphenol contents of cowpeas [*Vigna unguiculata* (L) Walp]. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p. 1-8, 2003.

SIQUEIRA, E. M. A.; AZEVEDO, I. T.; ARRUDA, S. F.; LIMA, S. M. D.; GONÇALVES, C. A.; SOUZA, E. M. T. **Nutrition Research**, v. 23, p. 703-712, 2003.

SOARES, A. L. **Medidas de cor em alimentos e suas aplicações**. Londrina, 2000, Monografia (Qualificação de Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina (UEL).

SOARES JÚNIOR, M. S.; OLIVEIRA, W. M.; CALIARI, M.; VERA, R. Otimização da formulação de pães de forma preparados com diferentes proporções de farinha de trigo, fécula de mandioca e okara. **Boletim CEPPA**, v. 24, n. 1, p. 221-248, 2006.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2000.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOSA GÓMEZ, R. **El poder medicinal de las plantas**. Miami: Asociación Publicadora Interamericana, 1997

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. Orlando: Academic Press Inc., 1985.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; DO CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. *Ciência Rural*, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

STUPAK, M.; VANDERSCHUREN, H.; GRUISSEM, W.; ZHANG, P. Biotechnological approaches to cassava protein improvement. **Trends in Food Science & Technology**, p.1-9, 2006 (no prelo).

TANGKA, J. K. Analysis of thermal energy requirements for the extraction of leaf protein concentrate from some green plants. **Biosystems engineering**, v. 86, n. 4, p. 473-479, 2003.

TELES, F. F. F. Técnica de liberação do HCN e toxidez cianogênica das mandiocas. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p. 18-22, 1987.

UNICEF – Fundo das Nações Unidas Para a Infância. Progreso para la infancia – un balance sobre la nutrición. **Boletim do UNICEF**, n.4, p. 4: 2-10, 2006.

UKWURU, M. U. Effect of processing on the chemical qualities and functional properties of soy flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p. 1-11, 2003.

VALVERDE, I. M.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

VELHO, L.; VELHO, P. A controvérsia sobre o uso de alimentação 'alternativa' no combate à subnutrição no Brasil. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v. 9, n. 1, p. 125-157, 2002.

VILHENA, M. F.; RIBEIRO, E.; COZZOLINO, S. M. F.; MEIRE, E.; RAMÍREZ, E. Efecto de la extrusión sobre el valor nutritivo de la proteína de las hojas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). **Alimentaria**, octubre, p. 85-90, 1996.

VISWANATHAN, M. B.; THANGADURAI, D.; VENDAN, K. T.; RAMESH, N. Chemical analysis and nutritional assessment of *Teramnus labialis* (L.) Spreng (Fabaceae). **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 54, p. 345-352, 1999.

VIZEU, V. E.; FEIJÓ, M. B. S.; CAMPOS, R. C. Determinação da composição mineral de diferentes formulações de multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 254-258, 2005.

WAITZBERG, D. L.; LOGULLO, P. Proteínas. In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. V.1. 3<sup>a</sup>.ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2000. Cap. 3, p. 35-54.

WALSTRA, P. Dispersed systems: basic considerations. In: FENNEMA, O. R. (Ed). **Food Chemistry**. 3<sup>rd</sup>.ed. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 3, p. 95-155.

WANDELL, B. A.. **The foundations of color measurement and color perception**. California: Stanford University, 1996.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Peanut protein concentrate: production and functional properties as affected by processing. **Food Chemistry**, 2006 (no prelo).

ZAYAS, J. F. **Functionality of proteins in food**. Heidelberg: Springer, 1997.

ZIEGLER, G. R.; FOEGEDING, E. A. The gelation of proteins. **Adv Food Nutrition Research**, v. 34, p. 203-298, 1990.