

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

**EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FOLHA DE MANDIOCA (*Manihot
esculenta* Crantz) PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADO PROTÉICO**

PRISCILA FERRI

CASCADEL – Paraná - Brasil

Julho - 2006

PRISCILA FERRI

**EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FOLHA DE MANDIOCA (*Manihot
esculenta Crantz*) PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADO PROTÉICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola, Área de concentração em Engenharia de Recursos Hídricos e Meio Ambiente.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Simone Damasceno
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marney Pascoli
Cereda
Co-Orientadora: Dr^a. Ortência L. G. S. Nunes

CASCADEL – Paraná - Brasil

Julho – 2006

PRISCILA FERRI

“Extração de proteínas de folha de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) para obtenção de concentrado protéico”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, pela comissão formada pelos professores:

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Simone Damasceno Gomes
UNIOESTE/CCET – Cascavel - PR

Prof^ª. Dr^ª. Nívea Maria Vicentini
TECPAR– Curitiba - PR

Prof^ª. Dr^ª. Silvia Renata Machado Coelho
UNIPAR – Toledo - PR

Prof^ª. Dr^ª. Fabiana André Falconi
UNIOESTE/CCMF – Cascavel - PR

Cascavel, 07 de julho de 2006.

*À Deus,
Ao meu marido Anderson Coldebella,
Aos meus pais Antonio Ferri e Ozita Maria Peres,
Aos meus irmãos Rafael Ferri e Ana Paula Ferri,*
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido Anderson, pela paciência, apoio e carinho.

Aos meus pais Antonio Ferri e Ozita Maria Peres, pelo incentivo, paciência e carinho.

À minha orientadora Professora Dr^a. Simone Damasceno, pela oportunidade oferecida, estímulo, consideração e paciência no desenvolvimento deste trabalho.

Às coorientadoras Professoras Dr^a. Marney Pascoli Cereda e Dr^a Ortência Leocádia G. S. Nunes, pelos conselhos.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste *campus* de Cascavel, pela oportunidade concedida e pela concessão e apoio na realização deste trabalho, desenvolvido no Laboratório de Saneamento do curso de Engenharia Agrícola.

À amiga Janete Aparecida Evarini, pela grande ajuda, amizade e, principalmente, pelo companheirismo durante o experimento.

À Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Fundetec, pela cedência do espaço físico, durante parte do experimento e pelo incentivo e compreensão durante o curso de mestrado.

Aos meus companheiros de trabalho do Laboratório Alqma, em especial, aos meus colegas Fabiano Henrique Matheus, Andréia Saturno e Maria Aparecida Nascimento, pelo apoio e incentivo.

SUMÁRIO

<u>1 INTRODUÇÃO.....</u>	<u>1</u>
<u>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</u>	<u>4</u>
<u>2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA MANDIOCA.....</u>	<u>4</u>
<u>2.2 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS GERADOS PELA INDUSTRIALIZAÇÃO DA MANDIOCA.....</u>	<u>6</u>
<u>2.3 FOLHAS DE MANDIOCA.....</u>	<u>8</u>
<u>2.3.1 Características Nutricionais da Folha de Mandioca.....</u>	<u>9</u>
<u>2.3.2 Características Antinutricionais da Folha de Mandioca.....</u>	<u>11</u>
<u>2.3.3 Proteínas das Folhas de Mandioca</u>	<u>12</u>
<u>2.3.4 Utilização das Folhas da Mandioca.....</u>	<u>14</u>
<u>2.4 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FOLHAS DE MANDIOCA.....</u>	<u>15</u>
<u>2.4.1 Extração por Precipitação Isoelétrica.....</u>	<u>18</u>
<u>2.4.2 Extração por Termocoagulação.....</u>	<u>19</u>
<u>2.4.3 Extração por Autocoagulação</u>	<u>20</u>
<u>2.5 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS</u>	<u>21</u>
<u>2.6 APLICAÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS</u>	<u>23</u>
<u>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</u>	<u>25</u>
<u>3.1 ETAPA 1: COLETA E PREPARO DA AMOSTRA.....</u>	<u>26</u>
<u>3.1.1 Preparo da Folha de Mandioca para as Etapas 2, 3 e 4.....</u>	<u>26</u>
<u>3.1.2 Preparo da Folha de Mandioca para a Etapa 5.....</u>	<u>26</u>
<u>3.2 ETAPA 2: INFLUÊNCIA DO PH NA PRECIPITAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO SUCO DE FOLHAS DE MANDIOCA – TESTE DE PRECIPITAÇÃO.....</u>	<u>27</u>
<u>3.3 ETAPA 3: ESTUDO DE SETE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS, UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA DESIDRATADAS.....</u>	<u>28</u>
<u>3.3.1 Métodos de Extração, descritos por CEREDA e VILPOUX (2003).....</u>	<u>29</u>
<u>3.3.1.1 Método 1 - Coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura</u>	<u>29</u>

3.3.1.2 Método 2 – Extração por precipitação isoelétrica.....	29
3.3.1.3 Método 3 – Fermentação do suco de folhas.....	30
3.3.1.4 Método 4 – Solubilização das proteínas:	32
3.3.2 Método de Extração Descrito por Chaves (1987).....	34
3.3.2.1 Método 5 – Fermentação do suco de folhas filtrado.....	34
3.3.3 Método de Extração Descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979).....	35
3.3.3.1 Método 6 – Extração por precipitação isoelétrica e termocoagulação..	35
3.3.4 Método de Extração Descrito por FASUYI e ALETOR (2005).....	36
3.3.4.1 Método 7 – Extração por termocoagulação:	36
3.4 ETAPA 4: ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS DE EXTRAÇÃO, UTILIZANDO 2 FASES DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS DE MANDIOCA.	39
3.5 ETAPA 5: ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS, UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA FRESCAS.....	44
3.6 ETAPA 6: ANÁLISES QUÍMICAS DE CARACTERIZAÇÃO.....	44
3.7 ETAPA 7: CÁLCULO DE BALANÇO DE MASSA DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DESCRITOS NAS ETAPAS 3, 4 E 5;.....	45
3.8 ETAPA 8: ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1 INFLUÊNCIA DO PH NA PRECIPITAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO SUCO DE FOLHAS DE MANDIOCA – TESTE DE PRECIPITAÇÃO.....	47
4.2 ESTUDO DE SETE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS, UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA DESIDRATADAS.....	51
4.2.1 Balanço de Massa de Extração de Proteínas.....	52
4.2.1.1 Método 1 - Coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003):.....	52
4.2.1.2 Método 2 - Extração por precipitação isoelétrica, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003):.....	55
4.2.1.3 Método 3 - Fermentação do suco de folhas, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).....	57
4.2.1.4 Método 4 - Solubilização das proteínas, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).....	57

<u>4.2.1.5 Método 5 - Fermentação do suco de folhas filtrado, descrito por CHAVES (1987).....</u>	<u>59</u>
<u>4.2.1.6 Método 6 - Extração por precipitação isoelétrica/termocoagulação, descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979).....</u>	<u>60</u>
<u>4.2.1.7 Método 7 - Extração por termocoagulação, descrito por FASUYI; e ALETOR (2005).....</u>	<u>61</u>
<u>4.2.2 Cálculo e Análise Estatística do Rendimento de Extração</u>	<u>63</u>
<u>4.3 ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS, UTILIZANDO 2 FASES DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS DE MANDIOCA.....</u>	<u>66</u>
<u>4.3.1 Balanço de Massa.....</u>	<u>67</u>
<u>4.3.2 Cálculo e Análise Estatística do Rendimento de Extração e Rendimento de Concentrado Protéico</u>	<u>71</u>
<u>4.4 ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA FRESCAS.....</u>	<u>76</u>
<u>4.4.1 Balanço de Massa.....</u>	<u>77</u>
<u>4.4.1.1 Método 1F - Coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura (CEREDA; VILPOUX, 2003).....</u>	<u>77</u>
<u>4.4.1.2 Método 2F - Extração por precipitação isoelétrica (CEREDA; VILPOUX, 2003).....</u>	<u>77</u>
<u>4.4.1.3 Método 4F – Método de solubilização de proteína, (CEREDA; VILPOUX, 2003).....</u>	<u>78</u>
<u>4.4.1.4 Método 5F – Extração por fermentação (CHAVES, 1987).....</u>	<u>81</u>
<u>4.4.2 Cálculo e Análise Estatística do Rendimento de Extração e Rendimento de Concentrado Protéico</u>	<u>83</u>
<u>5 CONCLUSÕES.....</u>	<u>89</u>
<u>6 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS.....</u>	<u>90</u>
<u>REFERÊNCIAS.....</u>	<u>91</u>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Área plantada e produção de mandioca Nacional e Estadual em 2002/2003 e 2003/2004.....	5
Tabela 2 - Quantificação de resíduos da industrialização da mandioca no sudeste brasileiro.....	7
Tabela 3 - Composição centesimal das folhas de mandioca desidratada expressa em g/100g.....	10
Tabela 4 - Teores de minerais das folhas de mandioca desidratadas, expressos em mg/g.....	11
Tabela 5 - Composição de aminoácidos da proteína de folhas de mandioca encontrados por ROGERS e MILNER (1963) e KLING et al. (1976) e padrão essencial de aminoácidos estabelecidos pela FAO.....	14
Tabela 6 - Rendimento em matéria seca e proteína bruta em função dos métodos de extração.....	22
Tabela 7 - Valores médios da massa referentes à massa de concentrado protéico, rendimento de concentrado, massa de proteína do concentrado protéico e rendimento dos métodos de extração.....	64
Tabela 8 - Comparação estatística dos valores médios de rendimento de concentrado protéico e rendimento de extração de proteínas, utilizando 1 e 2 fases de extração.....	72
Tabela 9 - Perdas de massa no processo de uma e duas extrações.....	76
Tabela 10 - Comparação estatística dos valores médios de rendimento de concentrado protéico e rendimento de extração de proteínas utilizando folhas desidratadas e frescas.....	83
Tabela 11 - Perdas de massa no processo de extração de folhas desidratadas e frescas.....	85
Tabela 12 - Rendimento em matéria seca e proteína bruta em função dos métodos de extração.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas do processo de obtenção de proteínas de origem vegetal...	17
Figura 2 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 1, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).	30
Figura 3 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 2, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).	31
Figura 4 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 3, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).	32
Figura 5 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 4, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).	33
Figura 6 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 5, descrito por CHAVES (1987).....	35
Figura 7 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 6, descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979).	37
Figura 8 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca - Método 7, descrito por FASUYI e ALETOR (2005)...	38
Figura 9 - Seqüência de extração, em duas fases, do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 1E, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).....	40
Figura 10 - Seqüência de extração em duas fases do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 2E, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).....	41
Figura 11 - Seqüência de extração em duas fases do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 4E, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).....	42

Figura 12 - Seqüência de extração em duas fases do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 5E, descrito por CHAVES (1987)...	43
Figura 13 - Final do teste de precipitação do pH 2 a 7.....	48
Figura 14 - Final do teste de precipitação do pH 7 a 12.....	48
Figura 15 - Valor do DPI da solução sobrenadante para cada condição de pH.	49
Figura 16 - Comportamento da quantidade de proteína presente nas fases sobrenadante e precipitado.....	50
Figura 17 - Suco de folhas de mandioca desidratadas.....	52
Figura 18 - Separação das fases (líquido sobrenadante e precipitado de proteínas), após repouso a 4°C em refrigerador.....	53
Figura 19 - Concentrado protéico e líquido sobrenadante após a etapa de centrifugação.....	53
Figura 20 - Balanço de massa - Método 1.....	54
Figura 21 - Separação das fases (líquido sobrenadante e precipitado de proteínas) após correção de pH para 4.....	55
Figura 22 - Balanço de massa – Método 2.....	56
Figura 23 Balanço de massa - Método 3.....	58
Figura 24 - Balanço de massa - Método 4.....	59
Figura 25 - Etapa final da fermentação.....	60
Figura 26 - Balanço de massa - Método 5.....	61
Figura 27 - Balanço de massa - Método 6.....	62
Figura 28 - Balanço de massa - Método 7.....	63
Figura 29 - Balanço de massa – Método 1E.....	68
Figura 30 - Balanço de massa – Método 2E.	69
Figura 31 - Balanço de massa – Método 4E.	70
Figura 32 - Balanço de massa – Método 5E.	71
Figura 33 - Rendimento de concentrado protéico vs métodos de extração.....	73
Figura 34 - Rendimento de extração vs métodos de extração.....	74
Figura 35 - Teor de proteína bruta vs métodos de extração.....	75
Figura 36 - Balanço de massa – Método 1F.	79
Figura 37 - Balanço de massa – Método 2F.	80
Figura 38 - Balanço de massa – Método 4F.	81
Figura 39 - Balanço de massa – Método 5F.	82

Figura 40 - Comparação dos métodos de extração, avaliando rendimento de concentrado protéico de folhas desidratadas com folhas frescas.	84
Figura 41 - Comparação dos métodos de extração avaliando rendimento de extração de folhas desidratadas com folhas frescas.	84

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as eficiências de extração de proteínas para obtenção de concentrados protéicos de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), utilizando sete métodos de extração descritos por: CEREDA e VILPOUX (2003), CHAVES (1987), TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979) e FASUYI e ALETOR (2005). O experimento foi realizado nas dependências da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Cascavel, no Laboratório de Saneamento do curso de Engenharia Agrícola. As folhas de mandioca foram colhidas no terço superior da planta com idade de 12 meses em uma propriedade da cidade de Cascavel. Para a extração de proteínas utilizaram-se folhas desidratadas, com teores de proteína bruta em base seca de 36,55 % e umidade de 11,27%. Os métodos 1 e 2 descritos por CEREDA e VILPOUX (2003), o Método 5 descrito por CHAVES (1987), o Método 6 e descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979) e o Método 7 descritos por FASUYI e ALETOR (2005) foram os que obtiveram maiores teores protéicos nos concentrados, acima de 50%. Os maiores rendimentos de extração foram obtidos pelos métodos 2 e 4, com rendimentos de extração de proteína acima de 35%. Foram testados os métodos 1, 2, 4 e 5, utilizando-se duas extrações consecutivas, a fim de melhorar as perdas de massa e aumentar o rendimento de extração, no entanto somente ocorreu a minimização das perdas de massa no processo, não sendo necessária a utilização de duas fases de extração. Foram comparados os métodos 1, 2, 4 e 5, já aplicados com folhas desidratadas, utilizando-se folhas frescas. As folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) frescas foram colhidas no terço superior da planta com idade de 9 meses com teores de proteína bruta em base seca de 27,70% com 72% de umidade. Não houve diferença nos rendimentos de extração, sendo mais vantajoso utilizar folhas desidratadas, devido ao menor fator tóxico e maior durabilidade. Os métodos 2 e 5 mostraram-se alternativos para obtenção de concentrados protéicos de folhas de mandioca, devido à facilidade de extração e de não necessitarem de equipamentos e materiais que possam aumentar o custo de extração de proteínas, possibilitando assim um melhor reaproveitamento das folhas de mandioca.

Palavras-chave: Teor de proteína, balanço de massa, rendimento de extração.

ABSTRACT

THE EXTRACTION OF PROTEIN FROM THE MANIOC LEAF (*MANIHOT ESCULENTA CRANTZ*) TO OBTAIN PROTEIN ESSENCE

The objective of this work was to evaluate the efficiencies of protein extraction for attainment of proteins leaf concentrate cassava (*Manihot esculenta* Crantz), using seven methods of extraction cited by authors CEREDA & VILPOUX (2003), CHAVES (1987), TUPINAMBÁ & VIEIRA (1979) and FASUYI & ALETOR (2005). The experiment was carried through in the dependences of the State University of the West of the Paraná campus Cascavel, in the laboratory of Sanitation of the course of Agricultural Engineering. The cassava leaves had been harvested in third part of the plant with age of 12 months in a property of the city of Cascavel. For the protein extraction dehydrated leaves had been used, with crude protein texts in dry base of 36.55 % and humidity of 11.27%. Methods 1 and 2 cited by CEREDA & VILPOUX (2003), method 5 cited by CHAVES (1987), method 6 cited by TUPINAMBÁ & VIEIRA (1979) and method 7 of FASUYI & ALETOR (2005) had been the ones that had gotten greater proteins texts in the concentrates, above of 50%. The biggest incomes of extraction had been gotten by methods 2, 5, 6 and 7 with incomes of protein extraction above of 35%. Methods 1, 2, 4 and 5 had been tested using two consecutive extractions similar to improve the losses of mass and to increase the extraction income, however only occurred the reduction of the losses of mass in the process, not being then necessary the use of two phases of extraction. Methods 1, 2, 4 and 5 had been compared, already applied with leaves dehydrated, using cool leaves. The cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) cool had been harvested in third part of the plant with age of 9 months with crude protein texts in dry base of 27.70% with 72% of humidity. It did not have difference in the extraction incomes, being more advantageous to use dehydrated leaves due to possess minors toxic factors and greater durability. Methods 2 and 5 had revealed alternative for attainment of cassava proteins leaf concentrates, due to extraction easiness, and not to need equipment and materials that can increase the cost of protein extraction, thus making possible one better exploitation of cassava leaves.

Key - Words: Protein text, rocking of mass, income of extraction.

1 INTRODUÇÃO

A crescente geração de resíduos agroindustriais que necessitam de um destino final ambientalmente adequado e economicamente viável tem causado grande preocupação mundial. O conceito da palavra resíduo traz uma imagem depreciativa, de um produto que não tem utilidade e deve ser descartado. A preocupação com a proteção do meio ambiente torna necessário que esse conceito seja revisto, pois o resíduo agroindustrial pode ser considerado como matéria-prima para um novo processo.

Na industrialização da mandioca, como na fabricação de farinha e extração de fécula, os resíduos gerados podem ser sólidos ou líquidos. Os resíduos começam a ser gerados no cultivo da mandioca, como partes constituintes da planta, descartadas em função do processo tecnológico adotado. A qualidade e quantidade de resíduos variam em função de fatores como cultivar, idade da planta, tempo após a colheita, tipo e regulagem do equipamento industrial empregado, etc. (CEREDA, 2001).

Um dos resíduos gerados na produção de mandioca, especificamente no processo da colheita das raízes, é a folha. Segundo CARVALHO e KATO (1987), cerca de 14 a 16 milhões de toneladas da parte aérea da planta são deixadas no campo e se perdem.

As folhas dessa planta representam uma excelente alternativa de proteína vegetal, por possuírem um bom aporte protéico. Vários autores citam que o conteúdo de proteína bruta presente na folha de mandioca varia de 15 a 40% da massa seca (CEREDA; VILPOUX, 2003). A proteína da folha de mandioca possui baixa digestibilidade para alimentação animal, devido à presença de fibras (OKE, 1978). Além das fibras, os compostos fenólicos existentes nas folhas podem afetar o aproveitamento da proteína e a baixa disponibilização de aminoácidos. No entanto, é possível fazer uso dessas proteínas, se o material foliar for submetido a processos tecnológicos

apropriados que permitam eliminar, consideravelmente, os agentes tóxicos e antinutricionais, eliminando também a parte fibrosa.

As folhas de mandioca são utilizadas na alimentação, na preparação de pratos regionais e na alimentação animal, no entanto, na forma desidratada não são adequadas para alimentação humana, devido à presença de alto teor de fibras que atuam como fator antinutricional, além de possuírem elementos tóxicos como compostos fenólicos, taninos e cianetos.

Segundo CEREDA e VILPOUX (2003), o interesse pelas proteínas vegetais decorre de sua abundância natural, que em termos agronômicos, pela produção por hectare, equivale de quatro a seis vezes à produção de proteína animal, vinte vezes a do leite e praticamente cem vezes a da carne bovina.

O desperdício de folhas não é justificável, sobretudo numa época em que a deficiência protéica tem sido um ponto comprometedor da saúde da população.

Técnicas de extração de proteínas vêm sendo estudadas com a intenção de produzir um concentrado protéico, com redução de fatores tóxicos e antinutricionais das folhas da mandioca, para serem utilizados como complemento alimentar para o ser humano, suplemento protéico para rações animais, para indústrias alimentícias e no setor de biotecnologia. Assim, a produção do concentrado protéico é uma forma de valorizar a folha de mandioca e reduzir esse tipo de resíduo agroindustrial.

O processo de extração de proteínas para obtenção de concentrados protéicos consiste basicamente na lixiviação da proteína das folhas, seguida da separação da parte fibrosa, precipitação das proteínas, concentração e secagem.

A precipitação das proteínas pode ser realizada pelos processos de precipitação isoelétrica (ação da variação de pH), termocoagulação (ação da temperatura) ou por autocoagulação (fermentação).

Desde a década de 1970, vários estudos foram realizados para a obtenção de concentrados protéicos de folhas de mandioca e outros tipos de folhagens, tendo como objetivo avaliar o seu valor nutritivo e seu teor de proteína, no entanto, em se tratando dos processos de extração, os estudos não são enfocados quanto à produção de concentrado e à eficiência da extração. Teores de proteínas de concentrados protéicos de folhas de

mandioca podem variar de 25 % a 75%, dependendo do processo de extração utilizado. Caso essa extração de proteínas venha a se tornar uma realidade, será necessário dar à produção de folhas o mesmo tratamento tecnológico e agrícola aplicado à produção de raízes.

Com a necessidade de se dar utilização adequada às folhas de mandioca e de não considerá-la somente como resíduo, este trabalho estabeleceu como objetivo: comparar os métodos de extração de proteínas citados por CEREDA e VILPOUX (2003), CHAVES (1987), FASUYI e ALETOR (2005) e TUPYNAMBÁ e VIEIRA (1979), quanto ao rendimento de extração de proteína e o rendimento mássico do concentrado protéico da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), realizando balanços de massa, utilizando folhas desidratadas; testar as metodologias de CEREDA e VILPOUX (2003) e CHAVES (1987), utilizando duas fases de extração de proteínas para folhas desidratadas e comparar essas metodologias para produção de concentrado protéico com folhas frescas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA MANDIOCA

Segundo SILVA et al. (2001), a mandioca *Manihot esculenta* Crantz é originária da América do Sul, possivelmente do Brasil, e é cultivada nas diversas regiões do mundo, por apresentar tolerância às condições adversas de clima e solo. O Brasil participa com mais de 15% da produção mundial.

A mandioca constitui um dos principais alimentos energéticos para cerca de 500 milhões de pessoas, sobretudo nos países em desenvolvimento, nos quais é cultivada em pequenas áreas, com baixo nível tecnológico. Além de ser um importante alimento para as populações de pequenos produtores rurais, serve para alimentação animal e pode ser cultivada e colhida, praticamente, em todos os meses do ano. Possui grande rusticidade, isto é, baixa exigência quanto a clima e tipos de solo, e suas raízes apresentam valor energético semelhante ao do milho (SEBRAE, 2005).

A mandioca é cultivada em diversos estados brasileiros e comercializada, de um modo geral, *in natura*, para subsistência ou para atender ao comércio local. As regiões Norte e Nordeste destacam-se como as principais consumidoras, essencialmente na dieta alimentar (SOUZA; FIALHO, 2003). Nas regiões Sul e Sudeste a maior parte da produção é enviada para a indústria, principalmente nos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais.

Em 2004, devido à demanda de raiz de mandioca, exigida pela indústria, a área de plantio aumentou 7,55% e a produção teve um acréscimo de 8,38% (ALVES; FELIPE, 2005). Na Tabela 1, pode-se observar a variação da área de plantio e a produção de raiz no Brasil, referentes aos anos

2002/2003 e 2003/2004. Os estados do Pará, Bahia e Paraná destacam-se como os maiores produtores de Mandioca.

Tabela 1 - Área plantada e produção de mandioca Nacional e Estadual em 2002/2003 e 2003/2004

ESTADOS	ÁREA PLANTADA (HECTARES)			PRODUÇÃO (TONELADAS)		
	2002/2003	2003/2004	Variação (%)	2002/2003	2003/2004	Variação (%)
Brasil	1.645.720	1.773.267	7,75	22.146.801	24.038.887	8,54
Pará	292.640	298.400	1,97	4.468.659	4.324.022	-3,24
Bahia	330.614	335.786	1,56	3.908.276	4.201.587	7,50
Paraná	110.672	163.775	47,98	2.351.171	3.209.990	36,53
Maranhão	164.617	172.937	5,05	1.241.660	1.274.097	2,61
Rio G. Sul	88.911	88.187	-0,81	1.315.217	1.232.927	-6,26
São Paulo	36.690	43.800	19,38	864.230	1.086.400	25,71
Minas Gerais	60.638	58.915	-2,84	850.592	884.991	4,04
Amazonas	83.754	82.804	-1,13	804.944	795.819	-1,13
Ceará	82.054	81.169	-0,53	857.880	759.100	-11,51
Santa Catarina	28.417	32.260	13,52	538.930	593.000	10,03
Rio G. Norte	37.193	52.803	41,97	385.812	591.675	53,36
Mato Grosso	25.758	37.341	44,97	355.959	536.069	50,60
Pernambuco	41.767	49.422	18,33	440.447	523.565	18,87
Acre	23.188	26.858	15,83	437.028	511.497	17,04
Mato G. Sul	22.917	29.632	29,30	485.289	510.630	5,22
Sergipe	30.087	32.030	6,46	435.645	469.931	7,87
Rondônia	24.430	26.836	9,85	400.022	450.635	12,65
Espírito Santo	12.673	17.444	37,65	206.659	298.125	44,26
Goiás	17.882	18.234	1,97	258.699	274.346	6,05
Alagoas	26.083	17.802	-31,75	289.651	259.001	-10,58
Paraíba	27.922	28.739	2,93	255.768	257.411	0,64
Tocantins	14.406	12.056	-16,31	337.766	230.456	-31,77
Rio de Janeiro	10.383	11.612	11,84	150.700	176.754	17,29
Roraima	5.247	5.600	6,73	69.738	74.400	6,69
Amapá	6.375	6.830	7,14	67.166	70.703	5,27
Distrito Federal	605	702	16,03	10.019	11.450	14,28

FONTE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA) (dez./2004), citado por ALVES e FELIPE (2005).

Para a indústria, a raiz de mandioca é transformada, principalmente, em farinha, que tem uso essencialmente alimentar e em fécula que, junto com seus produtos derivados, têm competitividade crescente no mercado de

amiláceos, para a alimentação humana ou como insumos em diversos ramos industriais, tais como a indústria de alimentos embutidos, embalagens, colas, mineração, têxtil e farmacêutica (SOUZA; FIALHO, 2003).

2.2 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS GERADOS PELA INDUSTRIALIZAÇÃO DA MANDIOCA

No processamento agroindustrial de raízes de mandioca em farinha ou na extração de fécula, os resíduos produzidos podem ser líquidos ou sólidos.

Os resíduos começam a surgir desde a colheita da raiz. São partes constituintes da própria planta, geradas em função do processo tecnológico escolhido. Segundo CEREDA et al. (2001), tanto a qualidade como a quantidade dos resíduos varia bastante, em função de uma série de fatores tais como: cultivar, idade da planta, tempo após a colheita, tipo e regulação do equipamento industrial, etc.

Os resíduos sólidos gerados, citados por CEREDA et al. (2001), são:

- Caule ou maniva: corresponde à haste da planta da mandioca;
- Cepa: é a parte do caule que resta entre as raízes colhidas e que se apresenta lenhosa, acrescentada de outro resíduo denominada descarte;
- Descarte ou calcanhar: é o pendúculo, entre o caule e a raiz. Esse resíduo é lenhoso e acompanha a raiz até a indústria onde, em geral, é retirado antes da moagem, durante a operação de seleção. Nas fecularias esse resíduo é moído junto com a raiz;
- Cascas: camada fina celulósica, de cor marrom clara ou escura;
- Entre casca: é o parênquima cortical da raiz. Possui coloração branca e aspecto pergaminoso. a parte interna é impermeabilizada e a externa é áspera;

- Cruieira: são pedaços de raíz e entre casca, separados por peneiras, antes de entrar no forno, no processamento de farinha de mandioca;
- Folhas: é o pecíolo e a lâmina da folha;
- Farelo: é o material retido na última peneira de extração de fécula de mandioca.

Os resíduos líquidos são a água da lavagem das raízes e a manipueira. A água de lavagem das raízes é a água originada dos lavadores e descascadores. A manipueira é um produto líquido resultante da prensagem da massa ralada para a produção de farinha e do processo de extração e purificação da fécula de mandioca (CEREDA, et al. 2001).

A manipueira é um efluente com elevada carga poluidora e efeito tóxico, pois libera o cianeto que causa sérios danos ao ambiente quando lançado nos cursos d'água. Esse tipo de efluente requer um tipo de tratamento mais refinado e muitas vezes de custo mais elevado.

Na Tabela 2 pode-se observar a quantidade de resíduos líquidos e sólidos gerados na industrialização da mandioca da região sudeste do Brasil.

Tabela 2 - Quantificação de resíduos da industrialização da mandioca no sudeste brasileiro

RESÍDUO/TONELADA DE RAÍZ:	MATÉRIA ÚMIDA	UMIDADE*	MATÉRIA SECA
Líquidos:			
Água de lavagem das raízes lavador contínuo	2600 L	-	-
Água de lavagem das raízes lavador descontínuo	800 L	98%	16,0 kg
Água na extração da fécula	3700 L	98%	74,0 kg
Manipueira de farinha	150a 400 L**	97%	22,5 a 20,0 kg
Manipueira de fecularia	1100 L	85 a 95%	55 kg
Sólidos:			
Ramas (maniva)	20 t/ha	60%	400 kg ou 8 t/ha
Cepa	410 kg	60%	136 kg
Descarte	75 kg	60%	30 g
Cascas	45 kg	80%	9 kg
Farelo	930 kg	85%	140 kg***
Folhas	2,5 t/ha	60%	900 kg/ha
Cruieira	42 kg	60%	17 kg

NOTAS: *Considerada para o cálculo;

**Corresponde à raiz com 62% de umidade;

***Corresponde a 105 kg de amido.

FONTE: Cerat (1996) e Cereda (1994), citados por CEREDA et al. (2001).

Atualmente, torna-se cada vez mais caro tratar os efluentes e os resíduos e, com a preocupação de preservação do ambiente, o conceito de resíduos deixa de ser uma palavra depreciativa, de produto sem utilidade e passa a ser considerado como um subproduto ou co-produto de valor econômico, podendo ser considerado como matéria-prima para outros processos industriais, evitando o desperdício no processo da industrialização de mandioca (CEREDA, et al. 2001).

Segundo CEREDA et al. (2001), vários estudos estão sendo realizados para a reutilização dos resíduos da indústria de processamento da mandioca. A manipueira pode ser utilizada para fertirrigação, na produção de álcool, ácido cítrico, etc. O farelo tem sido estudado em várias linhas de pesquisas, como: produção de cogumelos comestíveis, enriquecimento biológico, ensilagem, produção de álcool fino com qualidade semelhante ao álcool de cereal. As folhas, por serem ricas em proteínas, estão sendo estudadas para a obtenção de concentrados protéicos que podem ser utilizados na alimentação.

2.3 FOLHAS DE MANDIOCA

As folhas de mandioca constituem um resíduo gerado na colheita das raízes, têm ótimas características nutricionais e encontram-se no terço superior da planta de mandioca.

O desperdício de folhas é grande em todas as regiões do Brasil (CEREDA; VILPOUX, 2003). Cerca de 14 a 16 milhões de toneladas da parte aérea são deixadas no campo e se perdem (CARVALHO; KATO, 1987). SAGRILLO et al. (2001) comentam que estimativas da produção de folhas por hectare estabeleceram o potencial de folhas desidratadas em torno de 2.250 kg/ha.

No estado do Paraná, terceiro maior produtor de mandioca do Brasil, cerca de 178.000 toneladas de folhas são descartadas todos os anos.

CEREDA (1994) relata que para uma tonelada de raiz de mandioca processada na região sudoeste do Brasil, aproximadamente 2,5 toneladas por hectare de folhas frescas são geradas e desperdiçadas.

A parte aérea da mandioca é aproveitável para alimentação, sendo que o terço superior, ou seja, a parte mais enfolhada é mais rica do ponto de vista nutricional, tendo alta produtividade (CARVALHO; KATO, 1987).

A necessidade de se dar uma utilização adequada à parte aérea, ou seja, de não considerá-la somente como um resíduo agroindustrial, baseia-se no grande volume desse material que, além da sua alta produtividade, apresenta fatores nutricionais que poderiam ser utilizados como alternativa protéica para animais, humanos ou complementos para indústria alimentícia, farmacêutica, etc.

2.3.1 Características Nutricionais da Folha de Mandioca

As folhas de mandioca são ricas em proteínas, fibras, minerais, vitamina C e caroteno (ADEWUSI; BRADBURY, 1993, ALETOR; ADEOGUN, 1995; CARVALHO; KATO, 1987, EGGUM, 1970; RAVINDRIAN; BLAIR, 1992).

Em sua composição química são encontrados valores na faixa de 15 a 40% de proteína bruta; 7,5 a 15,30% de gordura; 40,0 a 45,0% de carboidratos e 9,0 a 15% de fibras (CEREDA; VILPOUX, 2003; SILVA et al., 2001).

Flores (1998), citado por PENTEADO e FLORES (2001), analisou a composição centesimal de folhas de mandioca desidratadas (Tabela 3).

As proteínas das folhas são alternativas de proteínas vegetais, por sua fácil disponibilidade, podem ser utilizadas na suplementação de alimentos menos ricos em proteínas.

Tabela 3 - Composição centesimal das folhas de mandioca desidratada expressa em g/100g.

PARÂMETROS	FOLHA DESIDRATADA (g/100g)
Umidade	7,15
Matéria Seca	92,85
Cinzas	6,84
Proteína	20,77
Extrato Etéreo	6,83
Fibra Insolúvel	45,11
Fibra Solúvel	3,24
Fibra Total	48,35
Carboidratos Totais	10,06

FONTES: PENTEADO; FLORES (2001).

As fibras existentes nas folhas possuem fatores positivos e negativos quanto a sua utilização. A ingestão de alimentos com certa quantidade de fibra é essencial para o funcionamento gastrointestinal. Elas influenciam positivamente na regulação do peso, no metabolismo de carboidratos e lipídeos. Entretanto, o elevado teor de fibras presente na folha de mandioca é fator limitante para sua utilização, por ser o responsável pela baixa digestibilidade da proteína da folha e, assim, pela redução do seu aproveitamento por humanos e animais (PENTEADO; FLORES, 2001).

A presença de carotenóides nas folhas desempenha um papel importante na nutrição humana. Além de contribuírem com a cor dos alimentos, alguns deles apresentam atividade pró-vitáminica A.

Adewusi e Bradbury (1993), citados por PENTEADO e FLORES (2001), determinaram a concentração de carotenóides nas folhas de mandioca na faixa de 13 a 78 mg/kg de peso fresco. Vários pesquisadores têm estudado a presença de carotenóides pró-vitáminicos A que poderiam contribuir para alimentos com deficiência em vitamina A. Além da vitamina A, as folhas de mandioca possuem vitamina C (PENTEADO; FLORES, 2001).

CARVALHO et al. (1989) analisaram a vitamina C em folhas de mandioca e verificaram valores variando entre 42,83 a 68,73 mg/100g.

A folha de mandioca apresenta-se também como fonte de minerais, particularmente cálcio, ferro, zinco, manganês e magnésio. Na Tabela 4 são apresentados os dados de minerais de folhas de mandioca desidratadas. Os

dados demonstram que as folhas possuem concentrações de ferro e manganês bastante elevadas.

Tabela 4 - Teores de minerais das folhas de mandioca desidratadas, expressos em mg/g

MINERAIS	FOLHA DESIDRATADA (mg/g)
Nitrogênio	36,0
Fósforo	2,9
Potássio	10,0
Cálcio	16,0
Magnésio	3,8
Enxofre	2,4
Bromo	30,0
Cobre	6,0
Ferro	442,0
Manganês	351,0
Zinco	40,0

FONTE: FLORES (1998).

2.3.2 Características Antinutricionais da Folha de Mandioca

Apesar das folhas possuírem vários nutrientes, o seu consumo está limitado pela presença de alguns fatores tóxicos, como por exemplo, glicosídeos cianogênicos (VITTI; FIGUEREDO; ANGELUCCI, 1972; O'BRIEN et al., 1991).

Os glicosídeos cianogênicos são compostos orgânicos constituídos por um açúcar e uma porção que se denomina aglicona, que pode ser um grupo alquila ou arila que, geralmente, define as características dos glicosídeos. Na mandioca existem dois tipos de glicosídeos: a linamarina (92-98%) e metil lotaustrina (derivada da linamarina, 2-8%) (Carvalho; Carvalho, 1979; citados por PENTEADO; FLORES, 2001).

Uma característica química muito importante dos glicosídeos cianogênicos é a facilidade com que se hidrolisam em presença da enzima linamarase. Por meio desse tipo de reação libera-se o açúcar e a cianidrina.

Essa por sua vez, degrada-se originando o ácido cianídrico que é o responsável pela toxicidade do composto (WFA, 1993; ESSERS, 1994).

Quando ingerido em alta concentração, o cianeto pode causar intoxicações agudas e morte em animais e no homem, quando consumidos crus ou sem processamento. Uma forma de reduzir a concentração desses compostos tóxicos é a secagem da folha antes de consumi-la. CORRÊA et al. (2002) estudaram o efeito da secagem das folhas sobre a atividade da enzima linamarase e a concentração de cianeto, utilizando secagem da folha à sombra, ao sol e em estufa a 40° C. Eles constataram que o menor teor de cianeto foi encontrado para as folhas secas à sombra. A linamarase apresentou maior atividade nas folhas secas ao sol e em estufa a 40°C, apresentando uma relação direta com o teor de cianeto.

Os compostos fenólicos, os taninos e o ácido fítico também são considerados como fatores antinutricionais da folha de mandioca. A alta concentração de fenólicos causa descoloração da planta, interage negativamente com proteínas, carboidratos e minerais e é responsável pela adstringência e sabor amargo das folhas. Os taninos podem ser responsáveis pela baixa digestibilidade da proteína da folha de mandioca (PENTEADO; FLORES, 2001).

O ácido fítico reage com os minerais, formando um complexo insolúvel chamado de fitato-mineral no trato intestinal do animal, impedindo a absorção do mineral (Reddy, 1982, citado por PENTEADO; FLORES, 2001). Os níveis de ácido fítico são tão baixos, em comparação com algumas leguminosas, que, segundo PENTEADO e FLORES (2001), não têm significância nutricional.

Os fatores nutricionais e antinutricionais dependem de fatores como cultivar, maturidade e altura da planta, fertilidade do solo, época de colheita e variações climáticas.

2.3.3 Proteínas das Folhas de Mandioca

A folha de mandioca apresenta um bom aporte protéico, variando de 15 a 40% da massa seca (CEREDA; VILPOUX, 2003). Segundo FURTADO

(1987), o teor protéico da parte aérea é bastante variável, principalmente em função da idade e da época de colheita, com maior ou menor quantidade de folhas. CORRÊA (1972) salienta que a planta aos nove meses de idade apresenta um teor protéico inferior ao das demais épocas, pois nessa fase ocorre desfolhamento e as folhas constituem a porção mais rica em proteínas.

CARVALHO et al. (1989) relataram que as folhas devem ser colhidas do décimo segundo ao décimo sexto mês por apresentarem menor teor de compostos fenólicos e teores mais elevados de proteínas.

Rogers e Milner (1963) e Kling et al. (1976), citados por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979), analisaram a composição de aminoácidos presentes na proteína da folha de mandioca do Brasil. Comparando a composição de aminoácidos encontrados pelos autores com os aminoácidos essenciais estabelecidos pela *Food Agricultural Organization* - FAO, mostrados na Tabela 5, observa-se que as folhas de mandioca são deficientes em compostos sulfurados, principalmente metionina e possuem grande quantidade de lisina e isoleucina.

Diversos autores, citados por CEREDA e VILPOUX (2003), afirmam que os aminoácidos da proteína da folha de mandioca são deficientes em metionina e cisteína, porém ricos em lisina. No entanto, MONTALDO (1977), comparando a composição de aminoácidos das folhas da mandioca, capim elefante, capim-guiné e soja, registrou superioridade da mandioca com relação ao teor da maioria dos aminoácidos essenciais dessas culturas. Os altos teores de lisina possibilitam a formulação de dietas nas quais a parte aérea entra como suplementadora de aminoácidos dos cereais, visando à melhoria na qualidade protéica.

A proteína da folha de mandioca possui baixa digestibilidade para alimentação animal, devido à presença de fibras (OKE, 1978). Além das fibras, a presença de polifenóis reduz a digestibilidade e a disponibilidade de aminoácidos como a lisina.

Tabela 5 - Composição de aminoácidos da proteína de folhas de mandioca encontrados por ROGERS e MILNER (1963) e KLING et al. (1976) e padrão essencial de aminoácidos estabelecidos pela FAO

AMINOÁCIDOS (g/100g de proteína)	FOLHAS DE MANDIOCA		FAO - Referência Padrão de Aminoácidos Essenciais
	ROGERS e MILNER (1963)	KLING et al. (1976)	
Alanina	6,19	5,32	
Arginina	6,12	6,12	
Ácido Aspártico	9,63	8,04	
Cisteína	1,04	-	
Ácido Glutâmico	10,12	15,45	
Glicina	5,32	6,93	
Histidina	2,56	3,00	
Isoleucina	4,84	4,75	4,2
Leucina	8,85	9,35	4,8
Lisina	6,33	7,08	4,2
Metionina	1,71	0,82	2,2
Fenilalanina	5,53	7,73	2,8
Prolina	5,40	5,75	
Serina	4,60	4,81	
Treonina	4,73	4,62	2,8
Triptofano	2,07	-	1,4
Tirosina	3,93	4,84	
Valina	5,58	5,30	4,2

FONTE: TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979).

Os taninos influenciam negativamente na disponibilização de metionina, além disso, agravam a deficiência inerente de aminoácidos sulfurados das folhas de mandioca (CORRÊA et al., 2004). Entretanto, é possível fazer uso dessas proteínas, se o material foliar for submetido a processos tecnológicos apropriados que permitam eliminar consideravelmente os agentes tóxicos e antinutricionais, visando também eliminar a parte fibrosa.

2.3.4 Utilização das Folhas da Mandioca

No Brasil, a farinha das folhas desidratadas da mandioca vem sendo utilizada como ingrediente de “multimisturas” ou adicionada às refeições, no

combate à desnutrição de crianças, acrescentada à merenda escolar ou incluída em cestas básicas para famílias carentes, em várias regiões do país (BRANDÃO; BRANDÃO, 1989, CORRÊA, et al, 2002). No entanto, o Conselho nacional de Nutrição determina a não adição da farinha de folha de mandioca, devido seus fatores tóxicos e antinutricionais.

Nos países da África as folhas são bastante usadas como hortaliças. No estado da Amazônia a folha da mandioca é utilizada para preparar um prato típico da região, a maniçoba, que é a folha de mandioca moída submetida a um cozimento prolongado junto com carnes (CEREDA; VILPOUX, 2003).

De acordo com VITTI et al. (1972), as folhas podem ser aproveitadas para a fabricação de alguns produtos como sopas ou em misturas com outras farinhas de baixo teor protéico, tais como a da própria mandioca, objetivando seu enriquecimento.

Também se tem utilizado bastante as folhas de mandioca para a produção de silagens para alimentação de gado, pois, segundo FAUSTINO et al. (2003), a quantidade de proteína encontrada é maior que a encontrada na maioria das forrageiras tropicais.

Uma alternativa para melhorar o aproveitamento das folhas é a extração de proteínas e seu aproveitamento direto, eliminando todos os produtos antinutricionais e tóxicos (CEREDA; VILPOUX, 2003).

2.4 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FOLHAS DE MANDIOCA

Segundo DERENZO e ALDEIA (2000), as proteínas são importantes fontes de nutrição dos seres vivos. As proteínas são as macromoléculas mais abundantes nas células vivas. Elas exibem uma grande diversidade de funções biológicas, inclusive crescimento, diferenciação de células, entre outros. (LEHNINGER; NELSON; COX , 2002).

Enquanto as proteínas de origem animal são formadas por aminoácidos em proporção e qualidade ótimas para a nutrição, as proteínas de

origem vegetal raramente são completas em sua composição (DERENZO; ALDEIA, 2000). Entretanto, tais proteínas são importantes por serem, em muitos casos, a principal ou única fonte de aminoácidos essenciais na alimentação. Elas possuem propriedades que as tornam importante pelos efeitos estruturais nos produtos alimentícios, inclusive aqueles à base de carne. De qualquer forma, não pode ser desprezada a importância das proteínas vegetais para o homem.

Segundo CEREDA e VILPOUX (2003), o interesse pelas proteínas vegetais decorre de sua abundância natural que, em termos agronômicos, na produção por hectare, é quatro a seis vezes superior à produção de proteína animal, vinte vezes superior à do leite e, praticamente, cem vezes superior à da carne bovina.

A impraticabilidade da folha deriva principalmente da alta quantidade de fibra. Por conseguinte, foi sugerido que, com separação mecânica da fibra, concentrados de proteínas de folhas, livres de fibras, representem uma opção viável para o desenvolvimento e utilização de recurso de proteína não convencional (OKE, 1972; TUPINAMBÁ; VIEIRA, 1979; PELUZIO, 1993; FASUYI; ALETOR, 2005).

Métodos para obtenção de concentrados protéicos têm sido estudados desde o início da década de 70. O método mais geral para a obtenção de proteínas de folhas é baseado na extração da proteína pela ação combinada de solvente e do rompimento celular (SGARBIERI, 1996).

A extração das proteínas foliares depende em grande parte do grau de desintegração celular para liberar as proteínas contidas nos diferentes compartimentos celulares. O rompimento celular se dá por três maneiras: impacto, corte e aplicação de pressão diferencial ou pela combinação dos princípios, dependendo do equipamento a ser desenhado para essa finalidade (SGARBIERI, 1996).

CEREDA e VILPOUX (2003) descrevem que um processo básico de rompimento celular, ou seja, fracionamento de folhas, é a moagem com triturador. Nesse processo ocorre a formação de duas frações: um suco e um resíduo fibroso.

Outro equipamento proposto para a obtenção de suco de folhas é formado por uma prensa de parafuso, equipada com impulsores que facilitam a desintegração das folhas (FASUYI; ALETOR, 2005).

Segundo DERENZO e ALDEIA (2000), em geral, os processos de obtenção de proteínas de origem vegetal consistem basicamente na lixiviação da planta ou folhas, seguida de sua precipitação, concentração e secagem (Figura 1).

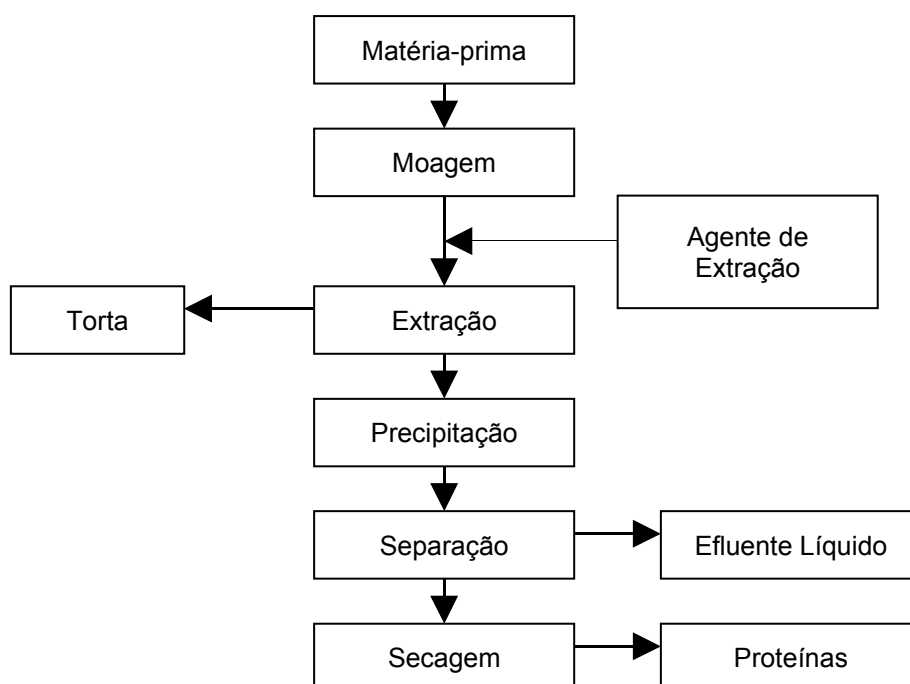


Figura 1 - Etapas do processo de obtenção de proteínas de origem vegetal.

FONTE: DERENZO E ALDEIA (2000).

A parte fibrosa é separada do suco por métodos convencionais de centrifugação, prensagem, filtração ou ultrafiltração. A extração das proteínas contidas no suco de folhas pode ser obtida por precipitação isoelétrica, termocoagulação, ou autocoagulação obtendo-se um precipitado de proteínas, ou seja, concentrado protéico (SGARBIERI, 1996).

Segundo SGARBIERI (1996), a extração de proteína se dá, também, pela utilização de solventes orgânicos que removem lipídeos e a clorofila da folha, melhorando o aspecto de cor e a estabilidade do concentrado protéico.

Conforme CEREDA e VILPOUX (2003) e CHAVES (1987), a extração de proteínas pode se dar em três diferentes graus:

- Deságua: é a remoção do máximo de água com o mínimo de perdas de fração sólida. A deságua é utilizada em conjunto com a desidratação de forragens;
- Extração parcial: utiliza-se a precipitação isoelétrica ou termocoagulação. O objetivo dessa extração é a produção de um material melhor balanceado, contendo a quantidade correta de proteína para animais ruminantes;
- Extração exaustiva: utiliza-se o processo de coagulação alcalina seguida de precipitação ácida (precipitação isoelétrica). É a extração máxima da proteína vegetal para alimentação humana.

A etapa final para obtenção do concentrado protéico se dá por secagem, que pode ser feita com circulação de ar quente, no entanto produz um enegrecimento intenso pela transformação da clorofila. Outra opção pode ser o processo de liofilização. A liofilização dos coágulos protéicos de folhas não causa escurecimento, nem diminuição do valor nutritivo e das propriedades funcionais das proteínas. O processo de liofilização do concentrado é um procedimento caro e não parece ser econômico, em nível industrial (SGARBIERI, 1996).

Após o processo de liofilização, utilizam-se solvente orgânico para despigmentação e desengorduramento do concentrado protéico (PELUZIO, 1993).

2.4.1 Extração por Precipitação Isoelétrica

Os aminoácidos possuem propriedade elétrica (ácido/base) e pelo menos dois grupos ionizáveis: um grupo carboxílico ($-\text{COO}^-$) e um amino ($-\text{NH}_3^+$) no carbono. Assim, em pHs fisiológicos (pHs 5-7), os aminoácidos apresentam-se em suas formas dipolares (LEHNINGER; NELSON; COX, 2002).

O conceito de ponto isoelétrico (pI) é derivado do comportamento ácido-básico dos aminoácidos. O ponto isoelétrico é o valor de pH em que as cargas positivas e negativas são iguais, ou seja, carga zero e solubilidade mínima (DERENZO; ALDEIA, 2000).

A maioria das proteínas exibe poder tampão muito baixo, na faixa dos pHs fisiológicos, isto é, entre 6 e 7. Deve-se lembrar que o único aminoácido com pK nessa faixa é a histidina e muitas proteínas contêm baixo teor de histidina (SGARBIERI, 1996).

As proteínas, do mesmo modo que os peptídeos e aminoácidos possuem pHs isoelétricos característicos, nos quais como íons dipolares, não possuem cargas positivas ou negativas em excesso. Nesse pH a proteína não migra para nenhum pólo, quando colocada em campo elétrico. O pH isoelétrico será acima de 7 se a proteína contiver alto teor de aminoácidos básicos (Lisina, Arginina) e será tanto mais baixo quanto maior o conteúdo de resíduos ácidos (ácidos aspárticos e glutâmicos). A maioria das proteínas possui pontos ou pHs isoelétricos entre 4,5 e 6,5 (SGARBIERI, 1996).

Para extração por precipitação isoelétrica em geral são utilizadas soluções básicas e ácidas para que ocorra a precipitação das proteínas. Em geral, primeiramente, utiliza-se uma solução básica para solubilizar a proteína presente nas folhas e, logo em seguida, utiliza-se uma solução ácida para o abaixamento do pH para 4 a 5, precipitando as proteínas e formando um coágulo protéico. Para extração, soluções de hidróxido de sódio e ácido clorídrico são utilizadas para correção de pH.

2.4.2 Extração por Termocoagulação

As proteínas dos sucos de plantas vegetais podem ser fracionadas termicamente, tratando-se com vapor direto a diferentes temperaturas (60 – 90°C) para se obter uma fração verde (cloroplástica) que coagula e uma fração clara (citoplasmática) que permanece em solução (SGARBIERI, 1996).

Segundo SGARBIERI (1996), as proteínas possuem temperaturas características nas quais apresentam o máximo de estabilidade. A maioria das

proteínas é estável na temperatura de refrigeração, outras são mais estáveis à temperatura ambiente. À medida que a temperatura se eleva acima de 40°C, praticamente todas as proteínas tornam-se instáveis, tendendo a uma alteração da conformação original (desnaturação). Assim ocorre a coagulação das proteínas na solução.

Quanto mais se eleva a temperatura, maior é a facilidade de ocorrer a coagulação das proteínas existentes em solução. PIRIE (1971) relata que, em temperatura maiores que 70°C, ocorre uma coagulação significativa das proteínas. DERENZO e ALDEIA (2000) relatam que uma temperatura mais elevada (75°C) tem um efeito benéfico na extração das proteínas.

2.4.3 Extração por Autocoagulação

A extração por autocoagulação se dá pelo processo de fermentação anaeróbia do suco, resultando, como conseqüência, no abaixamento de pH. Para que ocorra a fermentação, o pH do suco de folhas é corrigido para pH 8 e temperatura ambiente.

Segundo CHAVES (1987), basta deixar o suco em condições anaeróbias, em repouso, para que ocorra um abaixamento de pH, devido à fermentação láctica por microrganismos da flora natural do suco. O tempo necessário para coagulação das proteínas varia de dois a oito dias.

CHAVES (1987) relata que o coagulado, após 24 horas, encontra-se bem sedimentado permitindo a retirada do excesso da parte sobrenadante por sifonação ou filtração.

O processo de fermentação anaeróbia tem demonstrado ser bastante promissor e de simples execução para coagulação de proteínas vegetais com baixo gasto energético e menor custo econômico. Outras vantagens são acrescentadas por Beker et al. 1978, citados por CHAVES (1987):

- Ocorre a inativação de saponinas, inibidores de tripsina e outros, sem a utilização de reagentes químicos ácidos;
- Ocorre um acréscimo na qualidade da proteína devido à proteína microbiana;

- Há uma preservação da estrutura nativa da proteína;
- Aumento do teor em proteína no concentrado;
- Maior rendimento na extração da proteína.

2.5 CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS

Kling et al. (1976), citados por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979), obtiveram concentrado protéico de folhas de mandioca pelo processo de moagem, pressão e precipitação de proteínas por aquecimento (80°C), com 26 a 35% de proteína e 20% de recuperação de proteína, utilizando três extrações consecutivas.

TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979) obtiveram concentrado de folhas de mandioca utilizando uma etapa de ruptura celular com liquidificador, extração por precipitação isoelétrica seguida de termocoagulação e etapa de secagem do concentrado a 60°C. O teor de proteína encontrado no concentrado protéico foi superior a 40%, chegando até 50%. A recuperação da proteína no processo de extração foi de 30%. Os autores avaliaram o concentrado protéico quanto ao seu valor nutritivo e compararam a composição de aminoácidos presentes no concentrado com os valores citados pela FAO e concluíram que eles apresentam deficiência de metionina e excesso de lisina.

CHAVES (1987) comparou quatro tipos de extração de proteínas de folhas de mandioca em termos de rendimento de matéria seca e proteína bruta nas extrações. O autor constatou que o rendimento obtido pela autocoagulação foi maior que o rendimento de precipitação por ácidos, termocoagulação e utilização de solvente orgânico. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Rendimento em matéria seca e proteína bruta em função dos métodos de extração

TIPO DE EXTRAÇÃO	RAZÃO DE SEPARAÇÃO	
	Matéria Seca (%)	Proteína Bruta (%)
Precipitação Ácida	31,50	56,60
Termocoagulação (85°C, 5 min.)	30,40	51,80
Etanol 23 %	38,10	61,70
Autocoagulação (5 dias)	44,00	71,50

FONTE: CHAVES (1987).

PELUZIO (1993) obteve concentrado protéico de folhas de mandioca com 52% de teor de proteína, utilizando extração com solvente orgânico (etanol).

DERENZO e ALDEIA (2000) compararam a extração por coagulação alcalina e por termocoagulação da proteína do capim elefante (*Pennisetum purpureum schum*) e constataram que, para a extração por coagulação alcalina para pH 7,5, ocorreu eficiência de 60% na extração de proteína e, utilizando somente a termocoagulação, obtiveram resultados superiores a 60% de eficiência na extração da proteína do capim elefante.

TANGKA (2003), utilizando a extração por termocoagulação para obtenção de concentrados protéicos de várias plantas, obteve resultados superiores a 37% de proteína.

KOSCHUH et al. (2004) compararam processos de extração da proteína de alfafa e de uma espécie de gramínea por ultrafiltração e aquecimento (coagulação)/centrifugação. Para o suco de grama a recuperação de proteína obtida por ultrafiltração foi de 59% e por coagulação foi de 45%. O rendimento protéico para o suco de alfafa foi de 52% por ultrafiltração e 53% por coagulação.

FASUYI e ALETOR (2005) obtiveram concentrados protéicos de folhas de mandioca de várias espécies. Os autores utilizaram a termocoagulação para extração de proteínas e obtiveram teores de proteína variando de 42 a 50%.

Vários autores pesquisaram o concentrado protéico quanto ao seu valor nutritivo para utilização em alimentação de animais e humanos. No entanto, em se tratando dos processos de extração, os estudos não são enfocados na técnica de extração de proteínas, quanto à produção de

concentrado protéico, eficiência e custo da extração. Nas pesquisas o intuito maior da utilização de extração de proteínas é a obtenção de um concentrado com maior teor protéico.

2.6 APLICAÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS

A aplicação de concentrados protéicos depende do tipo de extração que foi utilizada para a sua obtenção. Podem ser utilizados desde o suco de folhas até a parte fibrosa,

Na obtenção de suco de folhas pelo processo de deságua, o suco pode ser utilizado como suplemento alimentar de baixo teor para não-ruminantes, além disso, pode ser considerado um bom fertilizante.

Na extração parcial, utilizando o processo de termocoagulação e precipitação isoeletrica, o concentrado protéico e o líquido desproteínizado podem ser utilizados na alimentação de não-ruminantes (CHAVES, 1987).

Na obtenção de concentrados protéicos por meio de extração total por termocoagulação, o líquido sobrenadante da parte final é considerado como proteína líquida branca, podendo ser utilizado para consumo humano, já o concentrado protéico é utilizado para animais não-ruminantes.

O concentrado protéico em conjunto com outros tipos de proteínas, pode ser uma boa opção para alimentação de animais. CHAVES (1987) utilizou o concentrado protéico de folhas de mandioca nas dietas de pintinhos e concluiu que, no mínimo, 7% do peso de soja utilizado na fabricação de ração pode ser substituído pelo concentrado protéico.

CHAVES (1987) fez ensaios utilizando o resíduo fibroso que é obtido na filtração do suco de folhas, como complemento de ração para coelhos e constatou que o resíduo fibroso pode substituir rações comerciais (14,3% de proteína e 11,86% de fibras) sem nenhum prejuízo.

Diversos estudos estão sendo realizados para utilização do concentrado protéico de folhas na indústria alimentícia. As características de

maior interesse para essa indústria são as propriedades de adsorção e retenção de água, geleificação e emulsificação. Outras propriedades como formação e estabilização de espuma, retenção de gordura, estabilização de soluções e texturas diversas são também bastante procuradas pela indústria alimentar (Douillard; Mathan, 1994, Betschart, 1974, Douillard; Kongphet, 1990, citados por CEREDA; VILPOUX, 2003).

No setor da biotecnologia, as indústrias sempre buscam novas fontes nutricionais para o desenvolvimento de microrganismos. A produção bacteriana ou fúngica de diversos componentes biológicos tais como enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, biomoléculas de interesse para área da saúde, pode ser desenvolvida a partir de concentrados protéicos (CEREDA; VILPOUX, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS*

O experimento foi realizado no laboratório de Saneamento do curso de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Cascavel - PR.

O desenvolvimento da parte experimental foi conduzido em 8 etapas:

- Etapa 1: coleta e preparo da amostra;
- Etapa 2: influência do pH na precipitação das proteínas do suco de folhas de mandioca – Teste de precipitação;
- Etapa 3: estudo de sete métodos de extração para obtenção de concentrados protéicos, utilizando folhas de mandioca desidratadas;
- Etapa 4: estudo de quatro métodos de extração, utilizando 2 fases de extração para obtenção de concentrados protéicos de folhas de mandioca desidratadas;
- Etapa 5: estudo de quatro métodos de extração para obtenção de concentrados protéicos, utilizando folhas de mandioca frescas;
- Etapa 6: análise química de caracterização;
- Etapa 7: balanço de massa dos processos de extração citados nas etapas 3, 4 e 5;
- Etapa 8: análise estatística dos dados.

* A citação de marcas e modelos de produtos não implica recomendação comercial, mas somente a necessária descrição dos materiais e equipamentos utilizados na pesquisa.

3.1 ETAPA 1: COLETA E PREPARO DA AMOSTRA

3.1.1 Preparo da Folha de Mandioca para as Etapas 2, 3 e 4

As folhas de mandioca *Manihot esculenta* Crantz, utilizadas para as etapas 2, 3 e 4, foram coletadas na região de Cascavel, Oeste do Paraná, com idade de 12 meses.

As folhas foram colhidas aleatoriamente na terça parte superior da planta. Em seguida, as folhas foram acondicionadas em sacos plásticos para transporte até o local de preparo. No laboratório as folhas passaram pelo processo de lavagem com água. Primeiramente, lavaram-se as folhas com água tratada para retirada de sujidades maiores e, em seguida, com água destilada. Os pecíolos presentes nas folhas de mandioca foram retirados.

As folhas foram colocadas em uma bancada experimental e permaneceram secando à sombra durante 7 dias com ventilação, sendo revolvidas três vezes ao dia, para não ocorrer degradação das folhas. Após esse período, as folhas foram colocadas em estufa com circulação e renovação de ar da marca Tecnal modelo TE – 394, em temperatura de 40°C, para terminar a sua secagem. As folhas já desidratadas foram picadas e acondicionadas em sacos plásticos para não adquirir umidade.

3.1.2 Preparo da Folha de Mandioca para a Etapa 5

Para a execução da etapa 5, foram utilizadas folhas da planta *Manihot esculenta* Crantz coletadas na região de Cascavel, Oeste do Paraná, com idade de 9 meses.

As folhas foram colhidas aleatoriamente na terça parte superior da planta. Em seguida, as folhas foram acondicionadas em sacos plásticos para transporte até o local de preparo. No laboratório as folhas passaram pelo

processo de lavagem com água. Primeiramente, lavaram-se as folhas com água tratada para retirada de sujidades maiores e, em seguida, com água destilada. Os pecíolos presentes nas folhas de mandioca foram retirados. Logo em seguida, as folhas foram picadas e utilizadas no mesmo dia para realização da etapa 5.

3.2 ETAPA 2: INFLUÊNCIA DO PH NA PRECIPITAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO SUCO DE FOLHAS DE MANDIOCA – TESTE DE PRECIPITAÇÃO

Para verificação de qual pH ocorre maior precipitação das proteínas no suco de folhas de mandioca, foi realizado o teste de precipitação das proteínas, de acordo com a metodologia descrita por GLÓRIA et al. (2000).

Primeiramente, preparou-se o suco de folhas de mandioca desidratadas. As folhas foram pesadas e colocadas em liquidificador caseiro da marca Britânea. Utilizou-se uma relação de folhas e água destilada de 1:20 (p/v) para obtenção do suco. Foram utilizadas 50 gramas de folhas desidratadas e 1000 mL de água destilada e trituradas na velocidade 2, durante cinco minutos. A parte fibrosa do suco foi retirada pelo processo de filtração em tecido de algodão.

A faixa de pH estudada para verificar a precipitação de proteínas foi de 2 a 12, utilizando em todos os pH, 50mL do suco de folhas de mandioca e realizando o teste em duplicata, usando um pHmetro da marca Tecnal. Os pHs do suco foram ajustados com as soluções HCl 0,1N e NaOH 0,1N da marca Synth. Após 10 minutos, reajustou-se novamente o pH. Depois a cada 1 hora, durante 4 horas o pH foi reajustado. A solução foi mantida em repouso por 1 hora para que o precipitado pudesse sedimentar totalmente. Em seguida, cada solução foi centrifugada em centrífuga da marca Celm modelo LS -3 plus, durante 5 minutos a 3200 rpm. Alíquotas de cada fase (precipitado e sobrenadante) foram retiradas para a determinação da Proteína Bruta, pelo método de Kjeldahl, conforme IAL (1985) e da umidade.

Foi realizada também a análise do suco de folhas desidratadas para verificar a quantidade de proteína bruta inicial. Para verificar em qual pH ocorreu maior precipitação de proteínas, calculou-se o índice de dispersibilidade protéica (PDI), presente na fase líquida, demonstrada na equação 01:

$$\text{PDI}\% = \frac{\text{PROTEÍNA NA SOLUÇÃO (g)} \times 100}{\text{PROTEÍNA TOTAL DA AMOSTRA (g)}} \quad (01)$$

3.3 ETAPA 3: ESTUDO DE SETE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS, UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA DESIDRATADAS

Para obtenção do concentrado protéico de folhas de mandioca foram avaliados sete métodos, descritos a seguir:

- Quatro métodos de extração, descritos por CEREDA e VILPOUX (2003);
- Um método de extração por fermentação, descrito por CHAVES (1987);
- Um método de extração por precipitação isoelétrica e termocoagulação, descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979);
- Um método de extração por termocoagulação, descrito por FASUYI e ALETOR (2005).

3.3.1 Métodos de Extração, descritos por CEREDA e VILPOUX (2003)

3.3.1.1 Método 1 - Coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura

Primeiramente as folhas foram trituradas com água destilada, na relação de folhas e água de 1:10 (p/v), durante 5 minutos com liquidificador e, em seguida, o suco foi filtrado em tecido de algodão. Lavou-se o resíduo do copo do liquidificador com 100 mL de água (relação folha e água 1:1 p/v) e depois filtrou-se novamente em tecido de algodão, juntado-o com o suco de folhas filtrado. O extrato filtrado permaneceu em repouso durante 24 horas, em geladeira, aproximadamente a 4°C. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 10 minutos a 3200 rpm, obtendo-se uma fração sobrenadante e um precipitado. O precipitado passou pelo processo de secagem em estufa com circulação e renovação de ar em temperatura de 60°C (Figura 2).

3.3.1.2 Método 2 – Extração por precipitação isoelétrica

Antes da filtragem em pano, conforme citado no Método 1, o pH do extrato foi ajustado para 8,0 com NaOH 0,1 N. Depois da filtragem, lavou-se o resíduo do copo do liquidificador com 100 mL de água (relação folha e água 1:1 p/v) e depois filtrou-se novamente, juntado-o com o suco de folhas filtrado. Em seguida o extrato sofreu nova correção de pH para 4,0 com HCl 0,1 N, sendo então resfriado antes de seguir o mesmo procedimento do Método 1 durante o restante da extração (Figura 3).

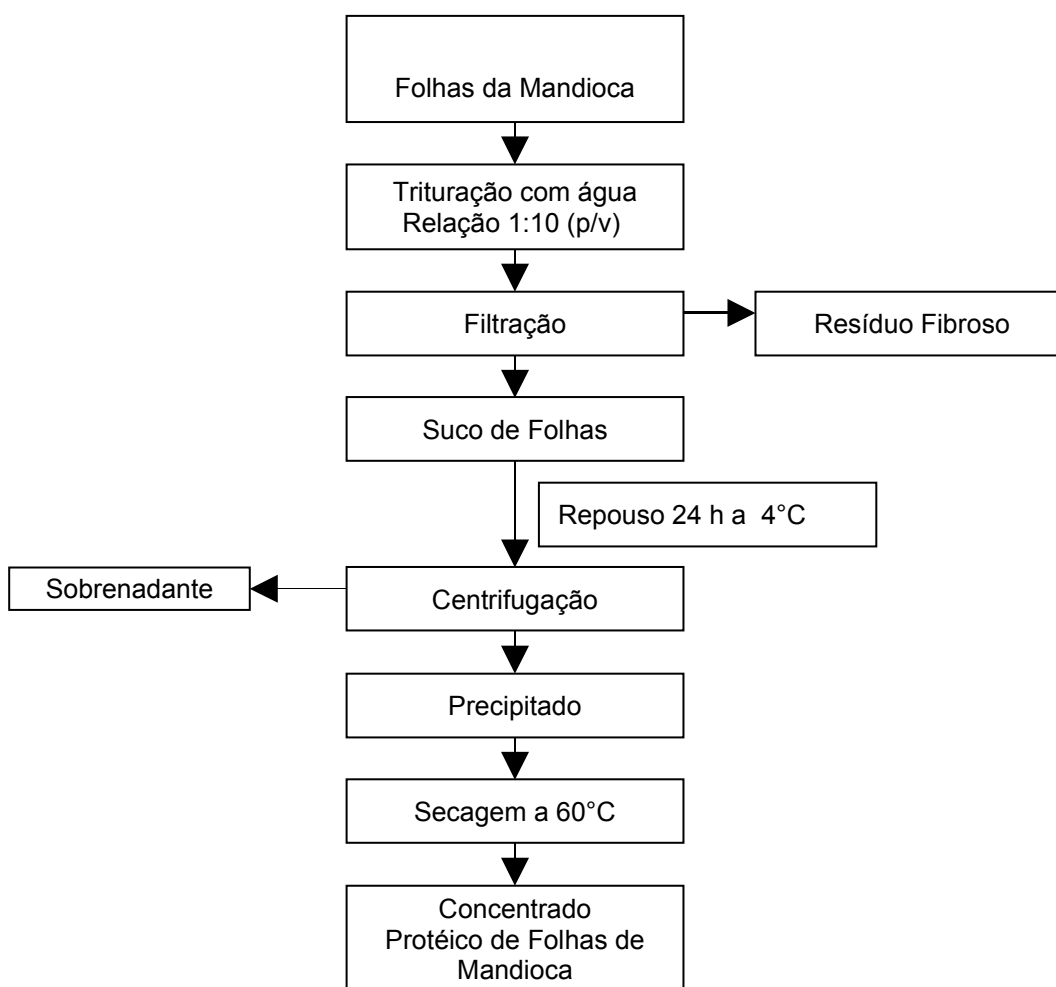


Figura 2 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 1, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).

3.3.1.3 Método 3 – Fermentação do suco de folhas

Primeiramente as folhas foram trituradas com água destilada, na relação de folhas e água de 1:10 (p/v), durante 5 minutos e em seguida o pH foi ajustado para 8 com NaOH 0,5 N. Em seguida, o extrato passou pelo processo de fermentação natural em frasco de vidro, durante 48 horas, à temperatura ambiente. Com a fermentação o pH abaixou naturalmente e ocorreu a separação das frações (parte fibrosa e sobrenadante). Após este período o extrato foi filtrado em tecido de algodão. Lavou-se o resíduo do frasco de vidro com 100 mL de água (relação folha e água 1:1 p/v) e depois filtrou-se

novamente, juntado-o com o suco de folhas filtrado. O pH foi ajustado para 6,4. A amostra foi centrifugada por 10 minutos a 3200 rpm, obtendo-se uma fração sobrenadante e um precipitado. O precipitado passou pelo processo de secagem em estufa com circulação e renovação de ar em temperatura de 60°C (Figura 4).

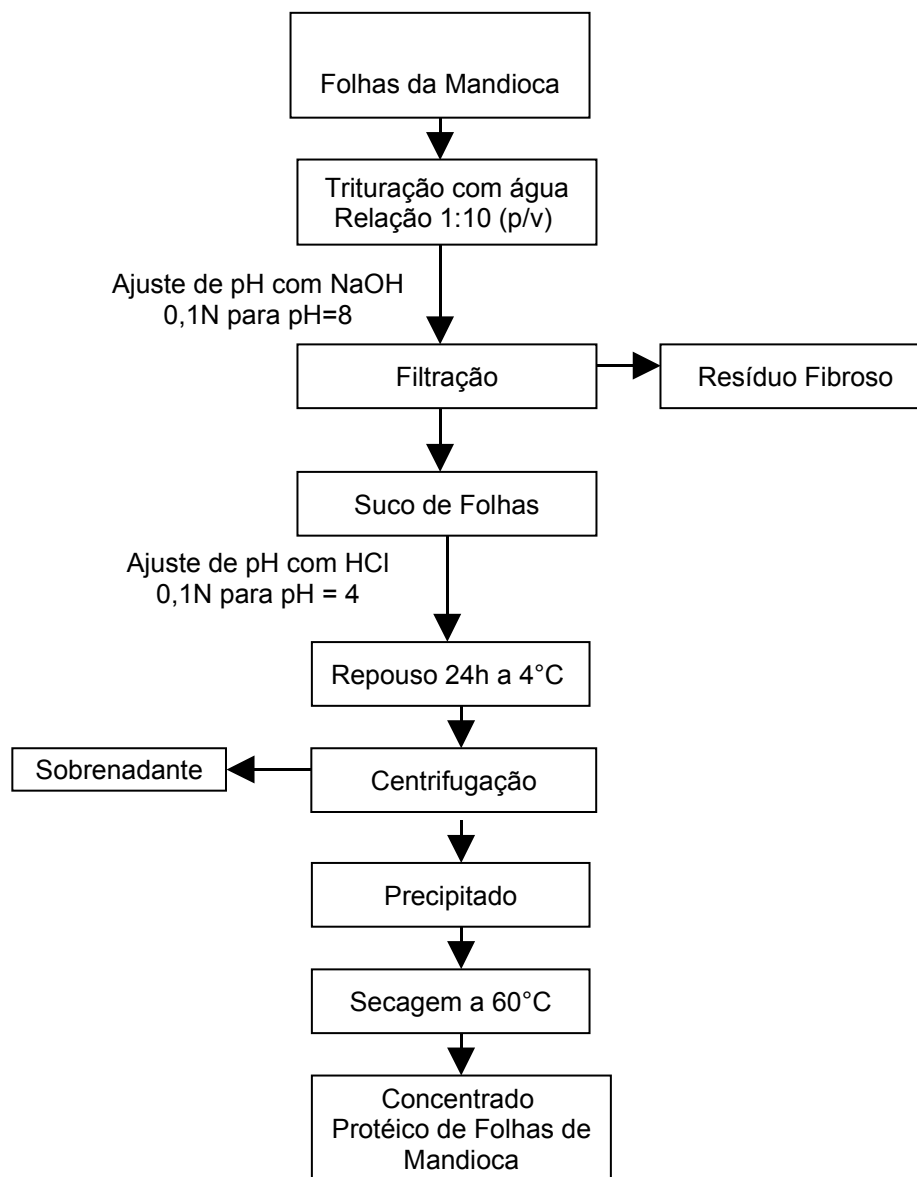


Figura 3 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 2, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).

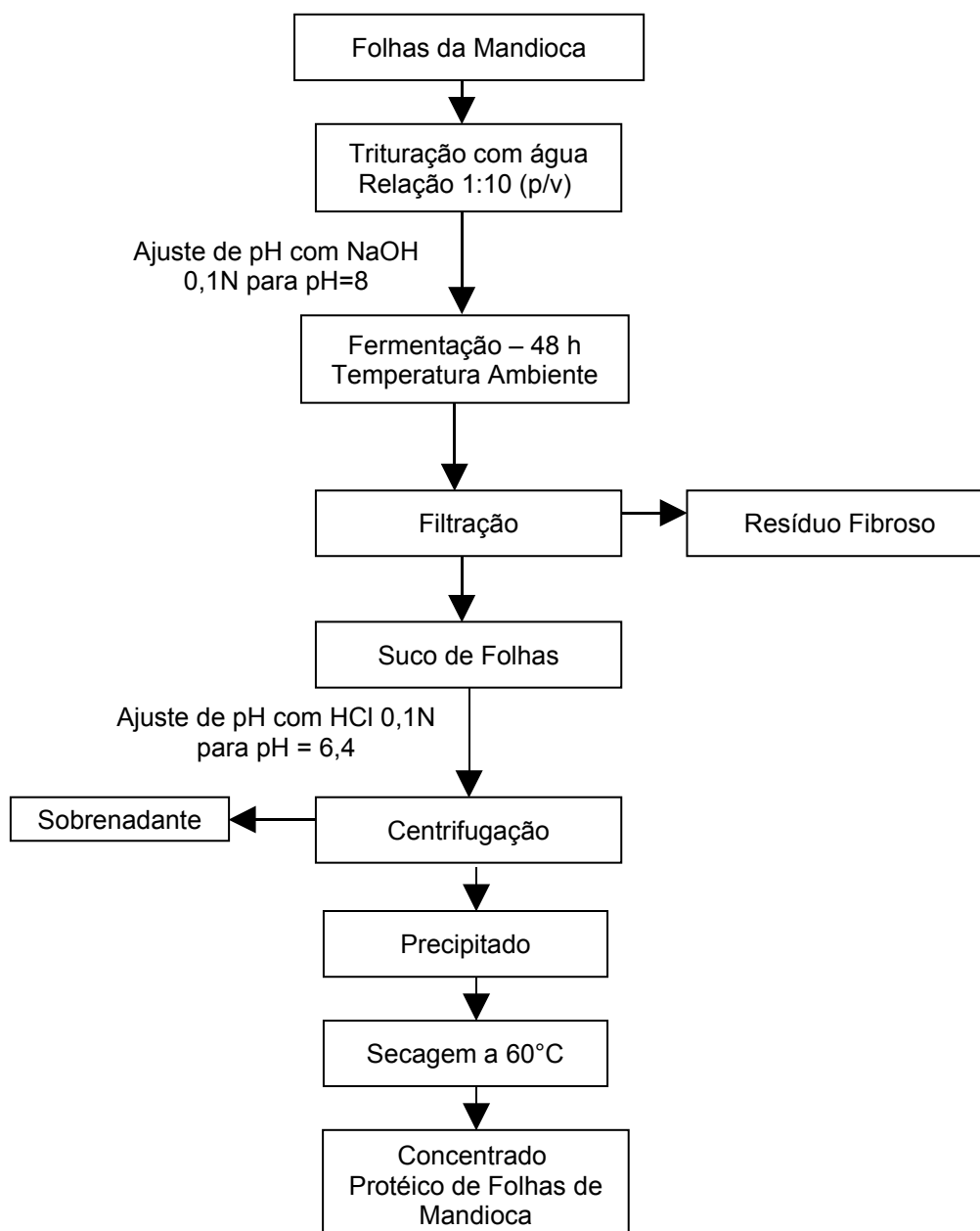


Figura 4 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 3, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).

3.3.1.4 Método 4 – Solubilização das proteínas:

As folhas foram trituradas com água destilada, na relação de folhas e água de 1:10 (p/v), durante 5 minutos e, em seguida, o pH foi ajustado para 8

com NaOH 0,1 N. Em seguida, o extrato foi filtrado em tecido de algodão, em seguida lavou-se o resíduo do copo do liquidificador com 100 mL de água (relação folha e água 1:1 p/v) e filtrou-se novamente, juntado-o com o suco de folhas filtrado. O suco foi seco a 100°C em estufa com circulação e renovação de ar para obtenção do concentrado protéico (Figura 5).

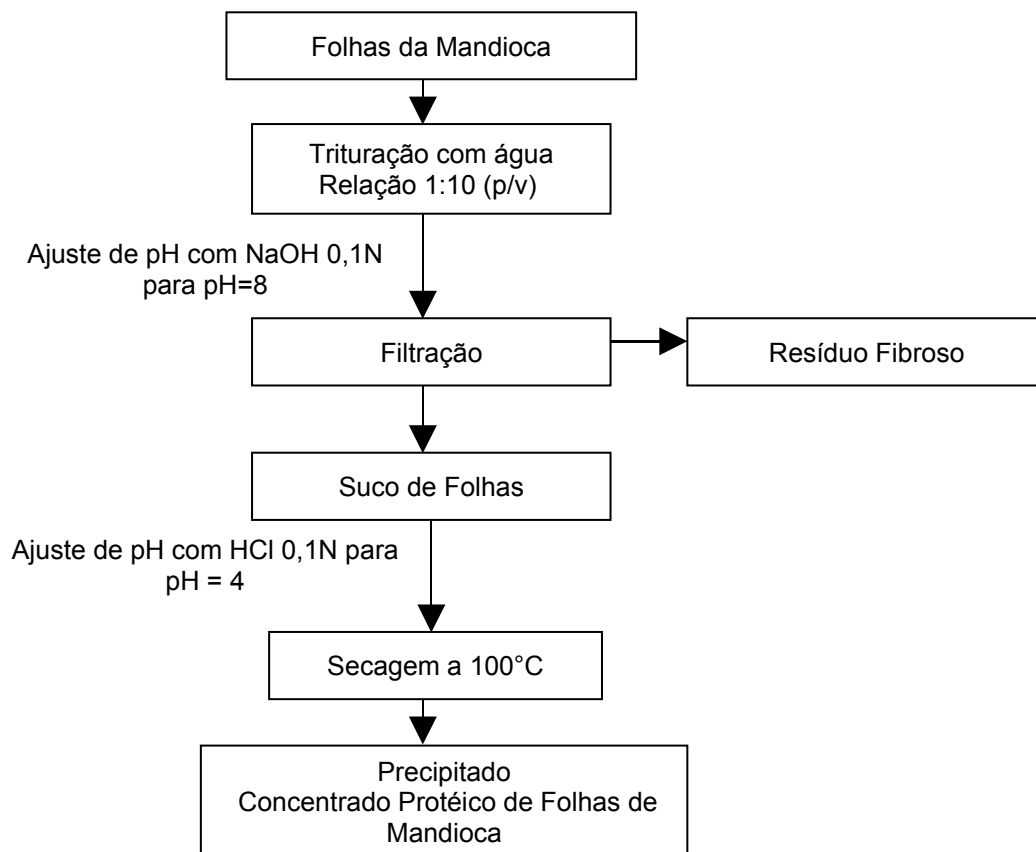


Figura 5 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 4, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).

3.3.2 Método de Extração Descrito por Chaves (1987)

3.3.2.1 Método 5 – Fermentação do suco de folhas filtrado

As folhas foram trituradas com água destilada na relação de 1:10 (p/v), durante 5 minutos e, em seguida, o pH foi ajustado para 8,0 com solução de NaOH 0,5 N. O extrato foi filtrado em tecido de algodão. Lavou-se o resíduo do copo do liquidificador com 100 mL de água (relação folha e água 1:1 p/v) e depois filtrou-se novamente, juntado-o com o suco de folhas filtrado. O suco foi colocado para fermentar naturalmente em um frasco de vidro, durante 48 horas, à temperatura ambiente. Com a fermentação o pH baixou naturalmente e ocorreu a separação das frações. Logo em seguida, a solução foi centrifugada por 10 minutos a 3.200 rpm, obtendo-se uma fração sobrenadante e um precipitado (Concentrado Protéico). O precipitado passou pelo processo de secagem em estufa com circulação e renovação de ar em temperatura de 60°C (Figura 6).

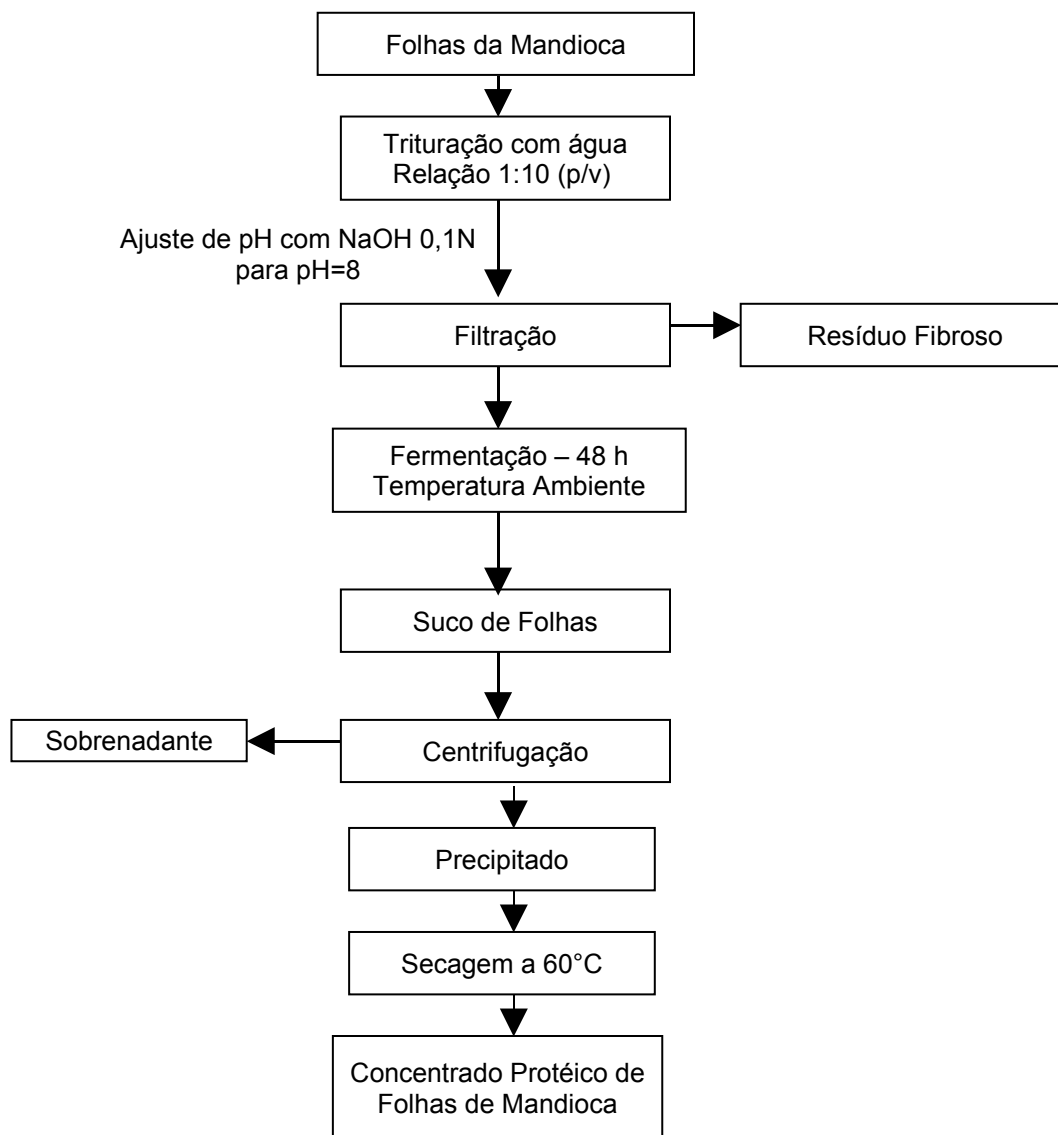


Figura 6 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 5, descrito por CHAVES (1987).

3.3.3 Método de Extração Descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979)

3.3.3.1 Método 6 – Extração por precipitação isoelétrica e termocoagulação

As folhas foram trituradas em liquidificador com água na proporção de 1:10 (p/v), durante cinco minutos. Em seguida, ajustou-se o pH para 7 com NaOH 0,1N. Em seguida, a filtração foi realizada em tecido de algodão para a

remoção do resíduo fibroso. O resíduo fibroso foi triturado novamente com água destilada na proporção de 1:2 (p/v) no liquidificador. Em seguida, filtrou-se esse resíduo. O copo do liquidificador foi lavado com 100 mL de água (relação folha e água 1:1 p/v) para retirada do resíduo que sobrou e depois filtrou-se novamente, juntado-o com o suco de folhas filtrado. Ajustou-se o pH do suco de folhas para 4 com HCl 0,1N. O líquido passou por aquecimento a 50°C em banho-maria, durante 10 minutos, e produziu um precipitado. Em seguida, colocou-se a solução em repouso, durante doze horas, em refrigeração a 4°C. A amostra foi centrifugada por 10 minutos a 3200 rpm, obtendo-se uma fração sobrenadante e um precipitado. O precipitado passou pelo processo de secagem em estufa com circulação e renovação de ar em temperatura de 60°C(Figura 7).

3.3.4 Método de Extração Descrito por FASUYI e ALETOR (2005)

3.3.4.1 Método 7 – Extração por termocoagulação:

As folhas foram trituradas no liquidificador com água destilada na proporção de 1:10 (p/v) durante cinco minutos. Em seguida, realizou-se a filtração em tecido de algodão para a remoção do resíduo fibroso. Lavou-se o resíduo do copo do liquidificador com 100 mL de água (relação folha e água 1:1 p/v) e depois filtrou-se novamente, juntado-o com o suco de folhas filtrado. Em seguida, o suco de folhas passou por aquecimento a 80 – 90°C, durante 10 minutos em banho-maria. O suco em temperatura ambiente foi centrifugado por 10 minutos a 3.200 rpm, obtendo-se uma fração sobrenadante e um precipitado. O precipitado passou pelo processo de secagem em estufa com circulação e renovação de ar em temperatura de 60°C(Figura 8).

Cada metodologia de extração foi realizada em triplicata e foram retiradas amostras nas etapas: folha de mandioca, filtração (suco de folhas e resíduo fibroso) e centrifugação (sobrenadante e precipitado); para análises posteriores.

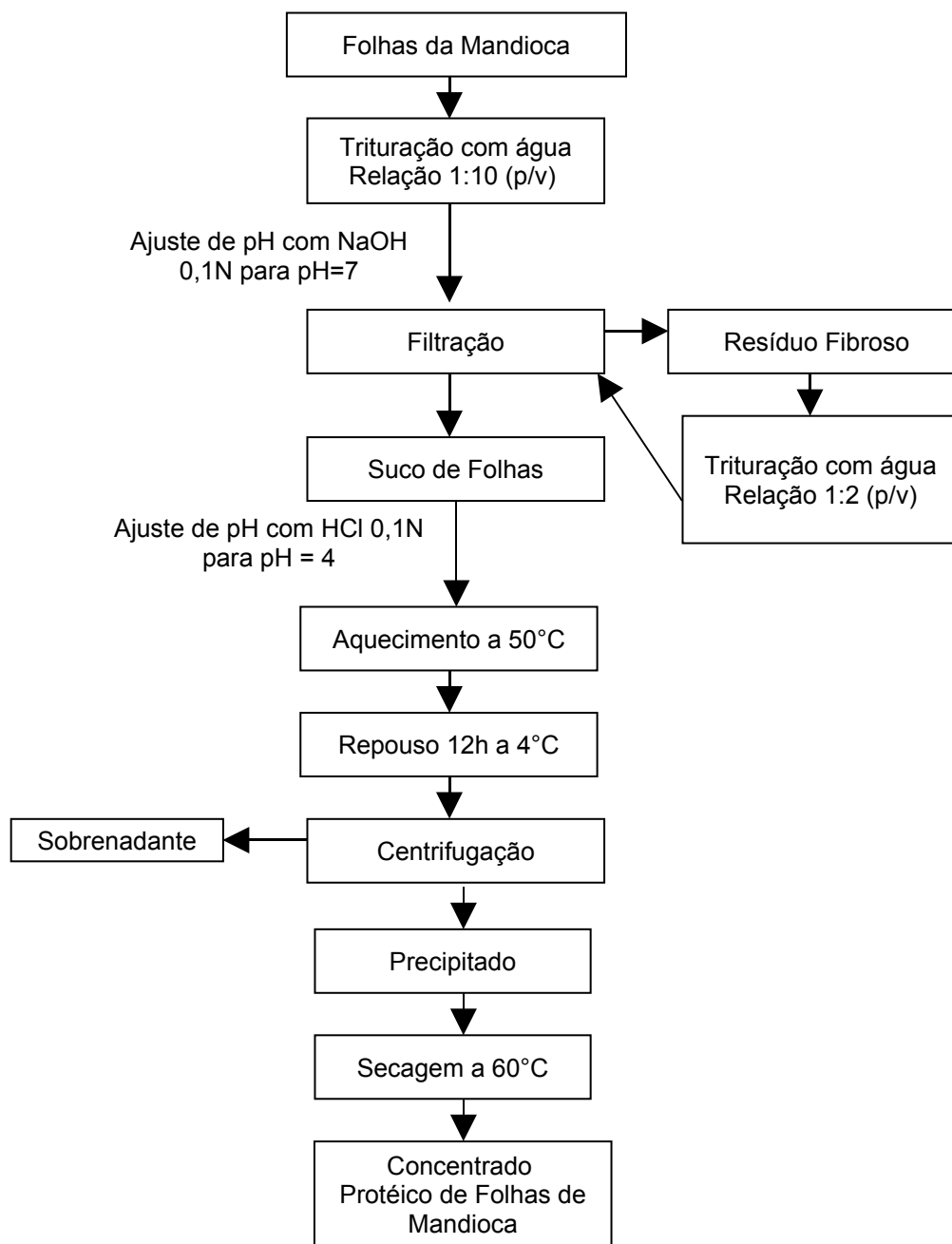


Figura 7 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 6, descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979).

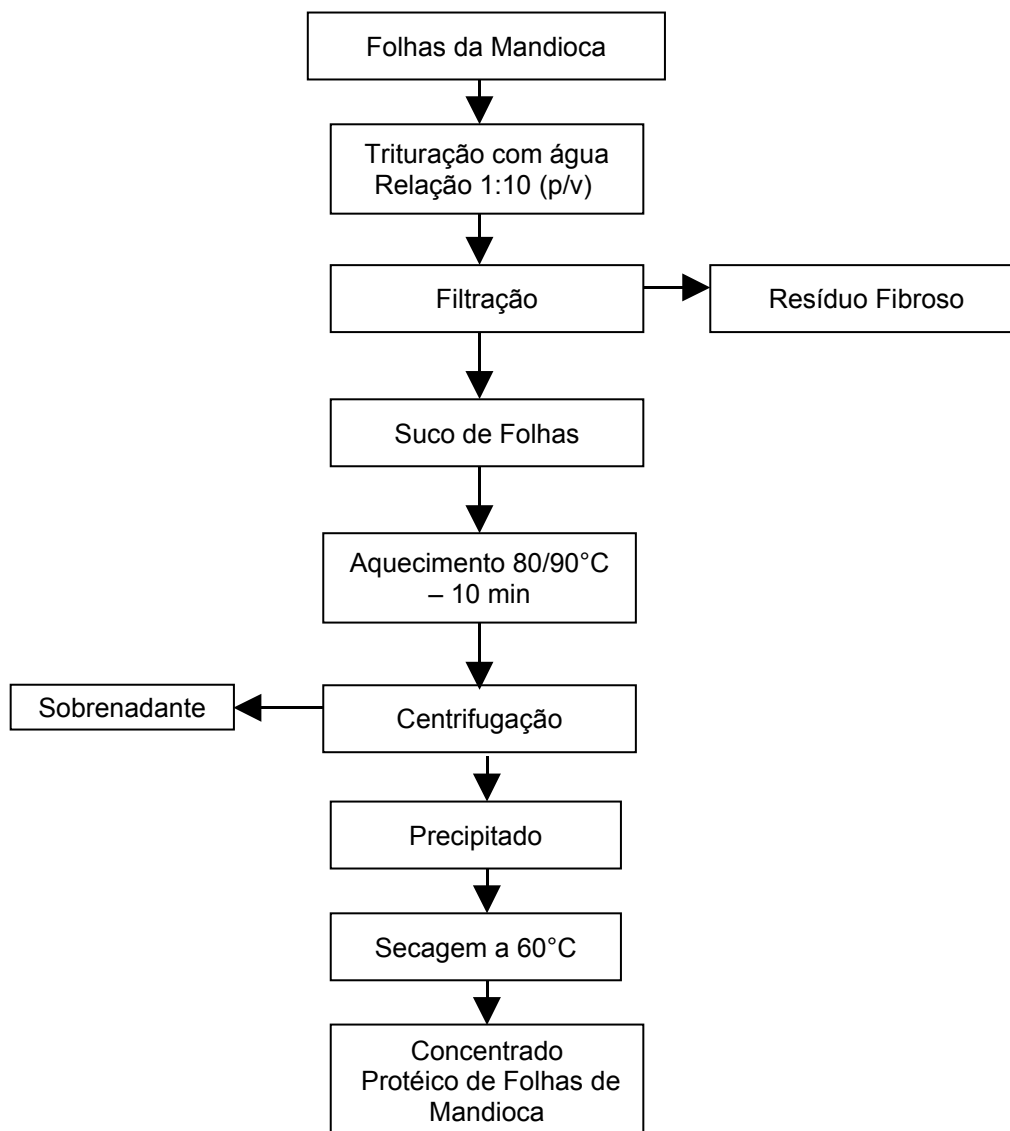


Figura 8 - Seqüência de extração do concentrado protéico da folha de mandioca - Método 7, descrito por FASUYI e ALETOR (2005).

3.4 ETAPA 4: ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS DE EXTRAÇÃO, UTILIZANDO 2 FASES DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS DE MANDIOCA

Com o objetivo de verificar se ocorre um melhor rendimento de extração, optou-se por quatro métodos para executar 2 fases de extração.

Os métodos testados foram: Métodos 1, 2 e 4 descritos por CEREDA e VILPOUX (2003) e o Método de Fermentação, descrito por CHAVES (1987).

A segunda fase da extração se deu pelo reaproveitamento do resíduo fibroso.

Para todos os métodos, utilizou-se uma relação de folha desidratada e água de 1:5 (p/v) para a primeira extração e, para a segunda extração, na qual o resíduo fibroso é triturado novamente com água, a relação utilizada foi de 1:5 (p/v). Depois, seguiu-se a metodologia de cada método proposto para esta etapa, conforme apresentado a seguir.

Método 1E: coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003): O fluxograma explicando a metodologia é apresentado na Figura 9.

Método 2E: Extração por precipitação isoelétrica, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003): O fluxograma explicando a metodologia é apresentado na Figura 10.

Método 4E: método de solubilização de proteína, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003): O fluxograma explicando a metodologia é apresentado na Figura 11.

Método 5E: extração por fermentação, descrito por CHAVES (1987): O fluxograma explicando a metodologia é apresentado na Figura 12.

As extrações foram realizadas em triplicata. Para cada método proposto, foram retiradas amostras para análises posteriores das seguintes fases: folha de mandioca, suco de folhas de mandioca, resíduo fibroso 1 e 2, suco de folhas filtradas, sobrenadante e precipitado.

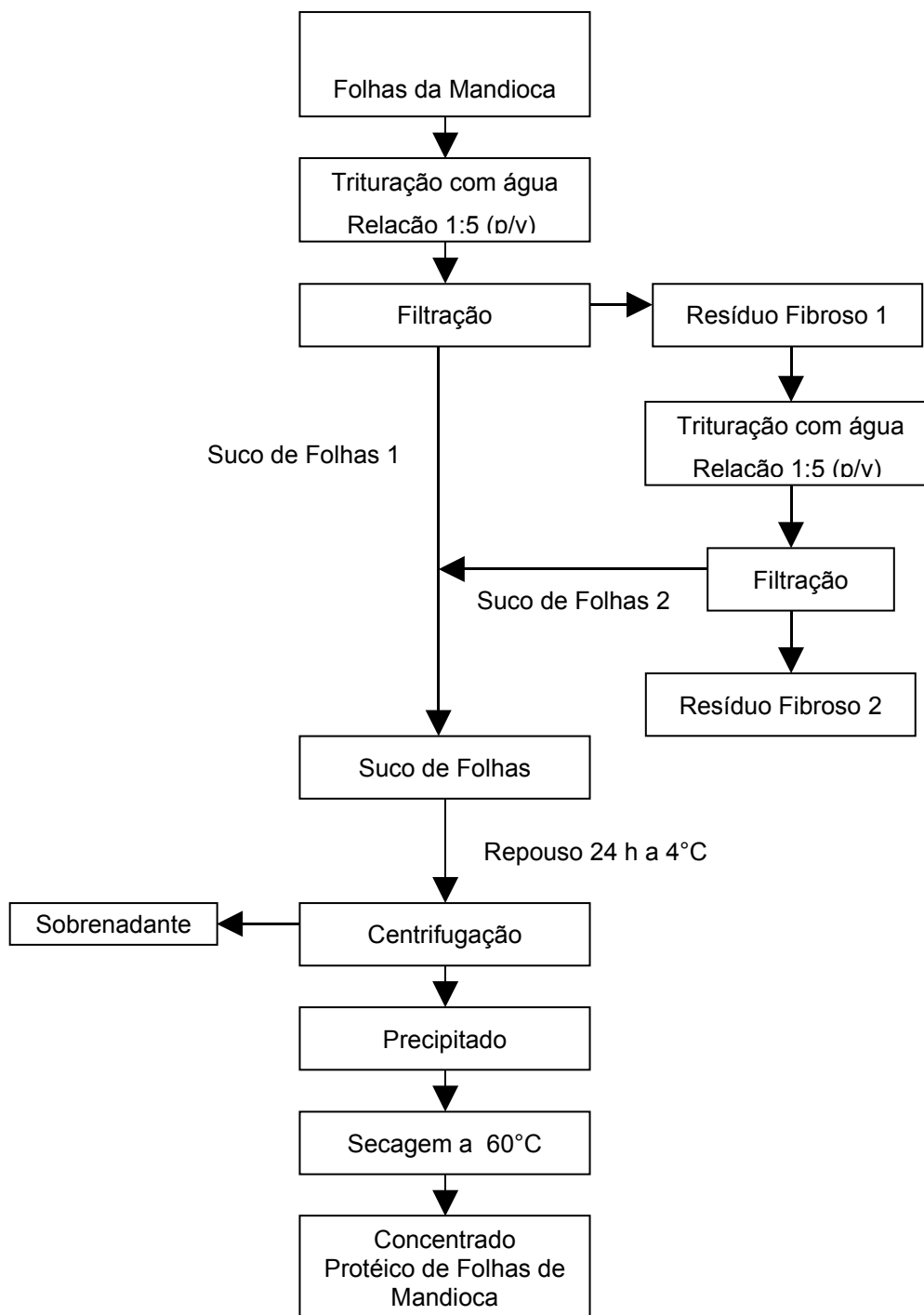


Figura 9 - Seqüência de extração, em duas fases, do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 1E, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).

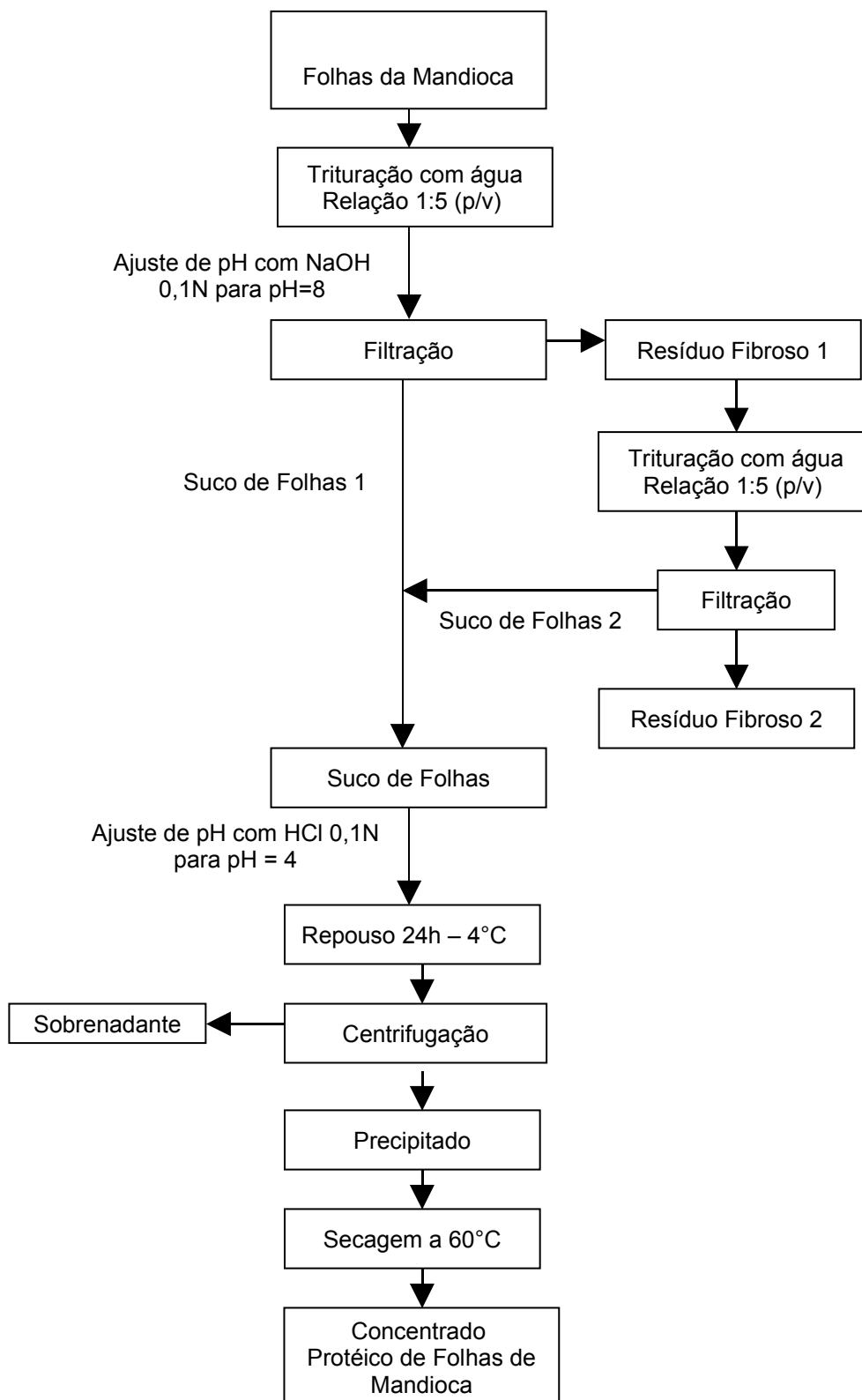


Figura 10 - Seqüência de extração em duas fases do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 2E, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).

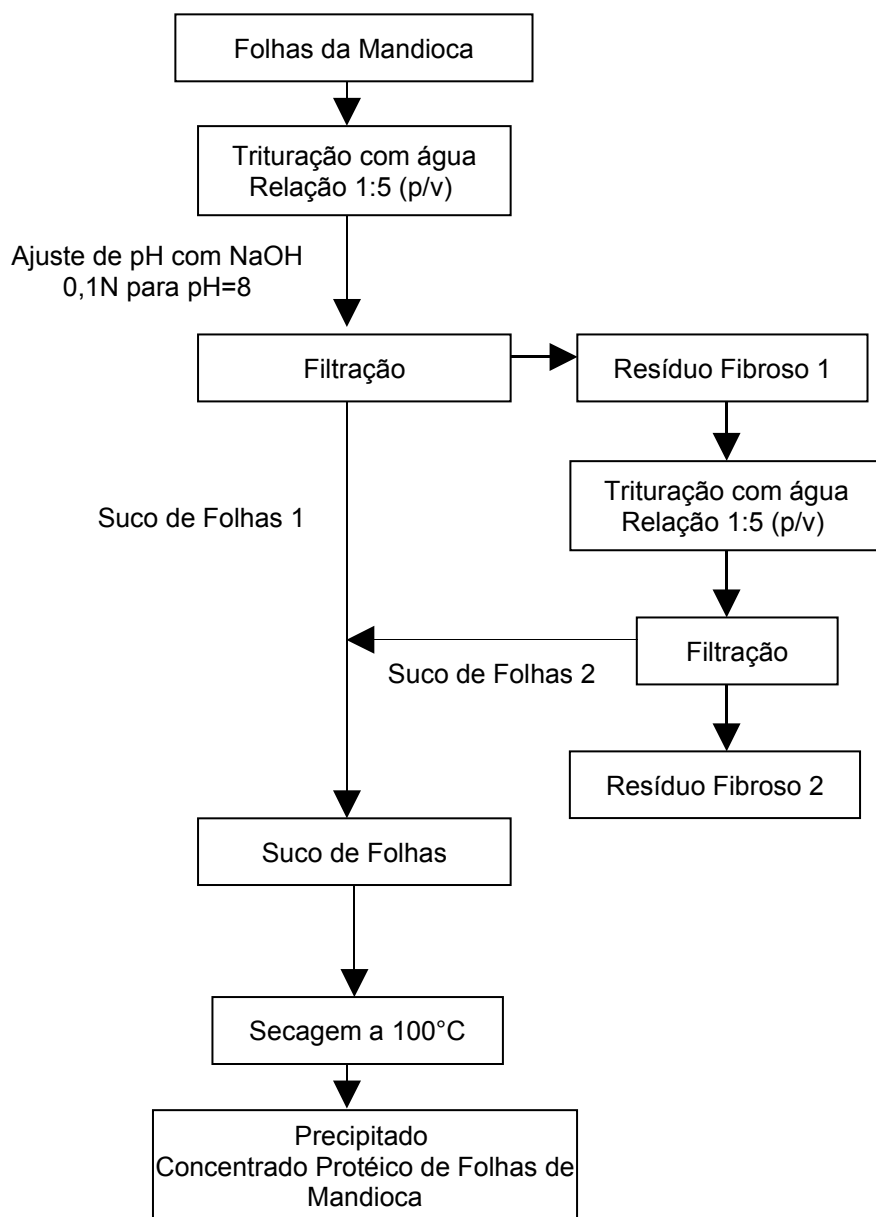


Figura 11 - Seqüência de extração em duas fases do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 4E, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003).

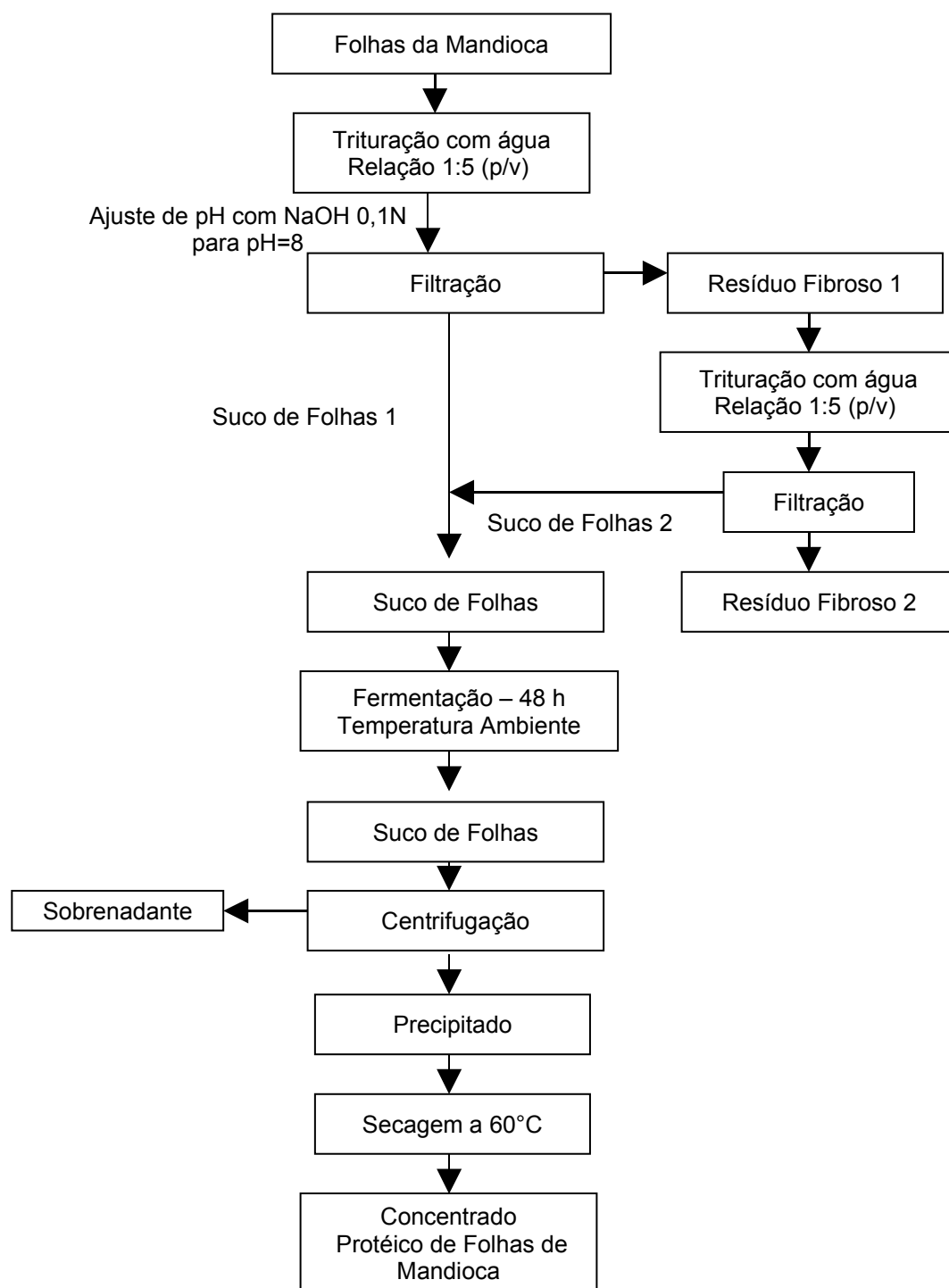


Figura 12 - Seqüência de extração em duas fases do concentrado protéico da folha de mandioca – Método 5E, descrito por CHAVES (1987).

3.5 ETAPA 5: ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS, UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA FRESCAS

Com a finalidade de avaliar se a utilização de folhas frescas é mais prática e produz melhor rendimento do que a utilização de folhas desidratadas, optou-se realizar quatro métodos de extração de proteínas: Os métodos 1, 2 e 4 citados no item 3.3.1 (CEREDA; VILPOUX, 2003) e o Método 5 citado no item 3.3.2 (CHAVES, 1987).

Os procedimentos foram realizados da mesma forma que demonstrados nas figuras 3, 4, 5 e 6.

As extrações foram realizadas em triplicata. Para cada método foram retiradas amostras para análises posteriores das seguintes fases: folha de mandioca, suco de folhas, resíduo fibroso, sobrenadante e precipitado.

3.6 ETAPA 6: ANÁLISES QUÍMICAS DE CARACTERIZAÇÃO

Para caracterização da folha de mandioca, suco de folhas, resíduo fibroso, sobrenadante, precipitado e concentrado protéicos os parâmetros analisados foram a umidade e a proteína bruta, utilizando métodos descritos nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

Na análise de umidade foi utilizado estufa de secagem da marca Icamol e para análise de proteína, foi utilizado bloco digestor da marca Tecnal, modelo TE-007D e destilador de nitrogênio marca Marconi, modelo MA 036.

3.7 ETAPA 7: CÁLCULO DE BALANÇO DE MASSA DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DESCRITOS NAS ETAPAS 3, 4 E 5;

Para determinar o rendimento de extração de proteína e do rendimento de concentrado protéico da folha de mandioca foi realizado o balanço de massa, considerando o processo em regime permanente. Para cada etapa de separação dos métodos de extração de proteína foram quantificadas as massas. Realizou-se o balanço em termos de massa seca e massa de proteína bruta calculado em base seca.

O rendimento de extração de proteína foi calculado pela equação 02:

$$\text{RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO (\%)} = \frac{\text{PBCP}}{\text{PBIE}} \times 100 \quad (02)$$

Em que:

PBCP = massa de proteína bruta do concentrado protéico (g);

PBIE = massa de proteína bruta presente no início da extração (g).

O rendimento de concentrado protéico foi calculado pela equação 03:

$$\text{RENDIMENTO PROTEICO (\%)} = \frac{\text{MCP}}{\text{MIE}} \times 100 \quad (03)$$

Em que:

MCP = massa do concentrado protéico (g) em base seca;

MIE = massa de folha de mandioca presente no Início da extração (g) em base seca.

3.8 ETAPA 8: ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para comparação dos métodos de extração na etapa 3, em termos de rendimento de concentrado e rendimento de extração, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com 7 tratamentos e 3 repetições, perfazendo um total de 21 parcelas experimentais.

Para comparação dos métodos de extração da etapa 3 (métodos 1, 2, 4 e 5) com os métodos da etapa 4 (métodos 1E, 2E, 3E e 4E) foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 3 repetições, perfazendo um total de 24 parcelas experimentais.

Comparando-se os métodos de extração 1, 2, 4 e 5, utilizando folhas desidratadas e folhas frescas, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 3 repetições, perfazendo um total de 24 parcelas experimentais.

Em todas as comparações foram avaliados os rendimentos de extração de proteínas, rendimento de concentrado protéico e teor de proteína do concentrado protéico. Foi realizado o teste de comparação de médias, utilizando-se o Teste de Tukey ao nível de 5% de significância e foi utilizado o programa computacional SISVAR para a realização da comparação de médias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 INFLUÊNCIA DO PH NA PRECIPITAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO SUCO DE FOLHAS DE MANDIOCA – TESTE DE PRECIPITAÇÃO

Segundo SGARBIERI (1996), a maioria das proteínas possui pontos isoelétricos entre pH 4,5 a 6,5. O ponto isoelétrico é o pH em que ocorre anulação das cargas, ocorrendo uma menor solubilidade das proteínas em solução.

Este teste teve como finalidade verificar em qual faixa de pH ocorre maior quantidade de proteína precipitada, a fim de melhorar as eficiências de extração que foram testadas nas próximas etapas.

A proteína bruta presente na folha de mandioca desidratada, calculada em base seca, foi de 36,55 %. Para o preparo do suco de folhas utilizou-se 50 gramas de folhas e 1000 mL de água destilada. O suco de folhas possuía inicialmente pH 5,91.

Em todos os pH ajustados foi utilizado 50 mL de suco de folhas em duplicata, que continha inicialmente 0,42 gramas de proteína bruta total. Já no primeiro ajuste de pH, pode-se observar a formação de um precipitado do pH 2 até 7.

Nas figuras 13 e 14 é demonstrado o teste de precipitação do suco de folhas de mandioca realizado.

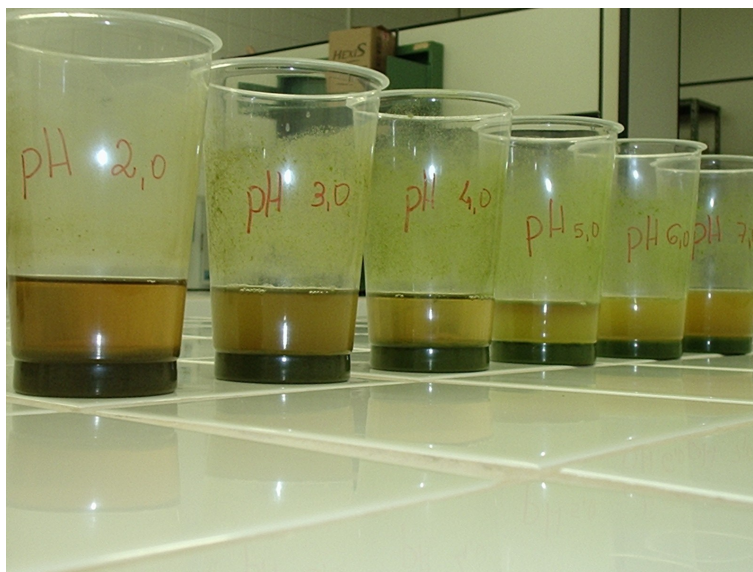


Figura 13 - Final do teste de precipitação do pH 2 a 7.



Figura 14 - Final do teste de precipitação do pH 7 a 12.

Pela Figura 13, observa-se que houve a formação de um precipitado do pH 2 a pH 7. Na Figura 14, do pH 8 a 12 não se observou a separação da parte sobrenadante e do precipitado.

Visualmente foi observado que nos pHs 4 e 5 a solução sobrenadante ficou mais clarificada e o precipitado mais sedimentado.

Depois de centrifugado, cada fase dos pHs estudados, sobrenadante e precipitado, mediram-se suas quantidades e foram realizadas as análises de umidade e proteína, para quantificar a massa protéica.

Pela quantidade de gramas de proteína, pode-se calcular o índice de dispersibilidade protéica (PDI) (Equação 01), presente nas soluções sobrenadantes de todos os pHs avaliados. Na Figura 15, são apresentados os valores do PDI em função do pH da solução.

O índice de dispersibilidade indica a porcentagem de proteína solubilizada na solução sobrenadante. A partir do pH 8 pode-se observar que a porcentagem do DPI começou a aumentar, indicando que acima desse pH as proteínas estão mais solubilizadas.

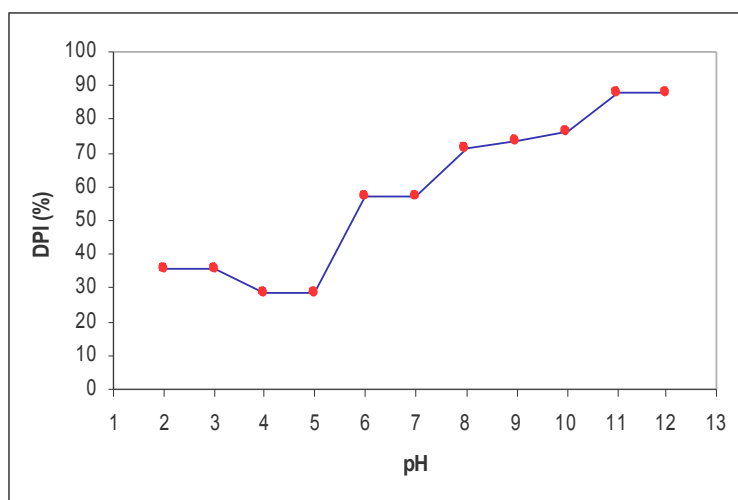


Figura 15 - Valor do DPI da solução sobrenadante para cada condição de pH.

Os pHs que obtiveram menor índice foram os pHs 4 e 5, indicando a menor solubilidade de proteína na fase sobrenadante (líquida), ocorrendo maior precipitação das mesmas.

Na Figura 16 pode-se observar o comportamento da quantidade de proteína presente em cada fase (sobrenadante e precipitado) para os pHs estudados.

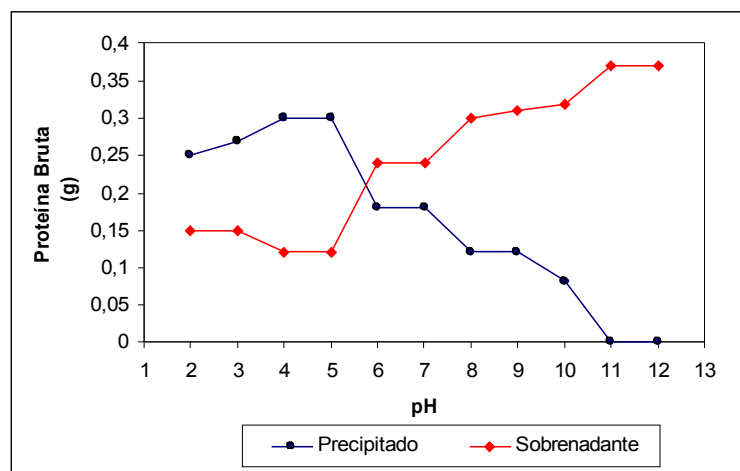


Figura 16 - Comportamento da quantidade de proteína presente nas fases sobrenadante e precipitado.

Pela curva da quantidade de proteína precipitada, confirma-se que a maior quantidade de proteína está entre os pH 4 e 5 e a partir do pH 6 começa a diminuir a massa protéica presente nos precipitados. Observa-se também que no pH 11 e 12 a proteína está quase toda solubilizada. No entanto, pelas figuras 15 e 16 pode-se observar que a partir do pH 8 as proteínas estão mais solubilizadas.

Portanto, para o suco de folhas de mandioca a maior precipitação de proteínas ocorre entre os pHs 4 e 5 (Ponto Isoelétrico das Proteínas) e a maior solubilização de proteínas ocorre a partir do pH 8.

CHAVES (1987), avaliando a influência do pH no rendimento em proteínas do suco de folhas de mandioca, verificou que no pH 9 ocorreu uma maior solubilização das proteínas e abaixo do pH 5 as proteínas estavam menos solubilizadas.

GLÓRIA et al. (2000) realizaram o teste de solubilidade do concentrado protéico de castanha do Pará e observaram que a menor solubilidade das proteínas ocorreu entre os pHs 3 e 4 e a maior em pH alcalino.

O conhecimento da curva de precipitação e solubilização das proteínas possibilitará um maior rendimento na produção dos concentrados protéicos das folhas de mandioca.

4.2 ESTUDO DE SETE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS, UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA DESIDRATADAS

As folhas foram coletadas no terço superior da planta e na idade de 12 meses, pois, segundo CARVALHO e KATO (1987), é a fase na qual ocorre maior enfolhamento da planta com maiores teores de proteínas.

Para reduzir a concentração de compostos tóxicos presentes na folha de mandioca, elas foram desidratadas para os processos de extração de proteínas (CORRÊA et al. 2002).

As folhas desidratadas possuem maior durabilidade, não tendo o problema de degradação, além disso, a enzima linamarase fica inativada, eliminando o cianeto presente nas folhas.

A folha de mandioca desidratada possuía um teor de umidade de 11,27% e o teor de proteína bruta média em base seca de 36,55%.

CEREDA e VILPOUX (2003) citam que vários o relato de vários autores de que o teor de proteína pode variar de 15 a 40% da matéria seca.

Inicialmente, em cada etapa de extração, o suco de folhas de mandioca desidratada apresentou o mesmo aspecto, mostrado na Figura 17. O pH inicial do suco foi de 5,9.

Em todas as metodologias, o meio extrator foi a água. Com a trituração ocorreu o rompimento celular da folha ocorrendo a disponibilização da proteína para a água. Foram utilizadas 100 gramas de folhas desidratadas e 1000 mL de água (Relação 1:10).



Figura 17 - Suco de folhas de mandioca desidratadas.

4.2.1 Balanço de Massa de Extração de Proteínas

Para cada método estudado foi realizado o balanço de massa para determinar o rendimento de extração de proteína. O balanço de massa foi demonstrado em forma de fluxograma. Foram mostrados a massa, o teor de umidade e a proteína de cada etapa de extração.

4.2.1.1 Método 1 - Coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003):

Nas figuras 18 e 19 são apresentadas as etapas finais de extração do Método 1.

Na Figura 18, pode-se observar que a diminuição de temperatura fez com que ocorresse a coagulação das proteínas, formando um precipitado. No final desta etapa mediu-se o pH e não ocorreu alteração.

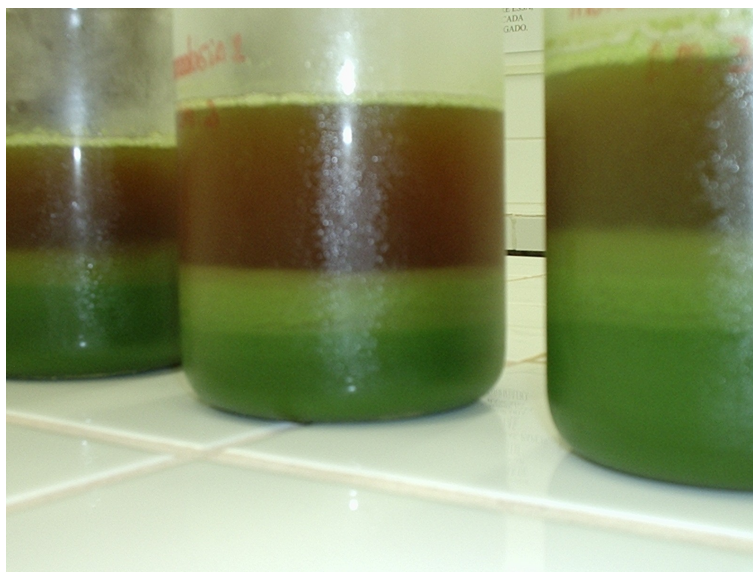


Figura 18 - Separação das fases (líquido sobrenadante e precipitado de proteínas), após repouso a 4°C em refrigerador.

Na Figura 19, tem-se o concentrado protéico antes da secagem. O teor de proteína encontrado no concentrado protéico foi de 61%, em média. O balanço de massa é demonstrado na Figura 20.

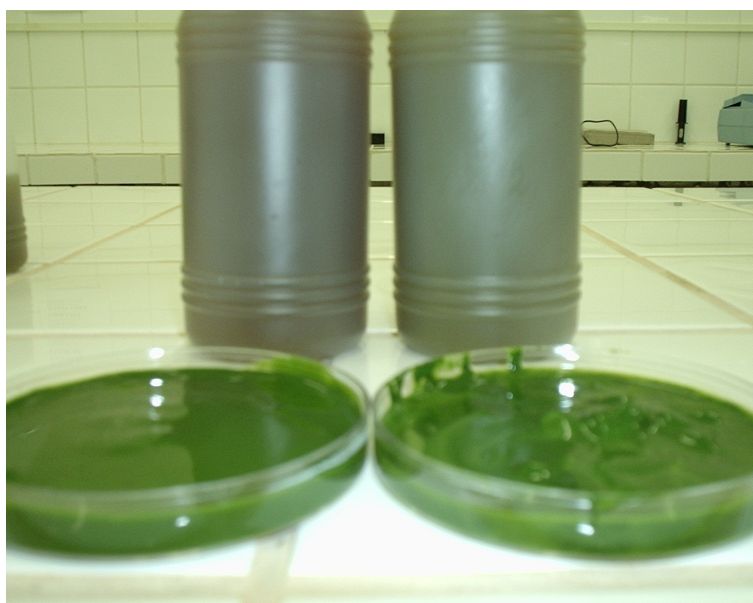


Figura 19 - Concentrado protéico e líquido sobrenadante após a etapa de centrifugação.

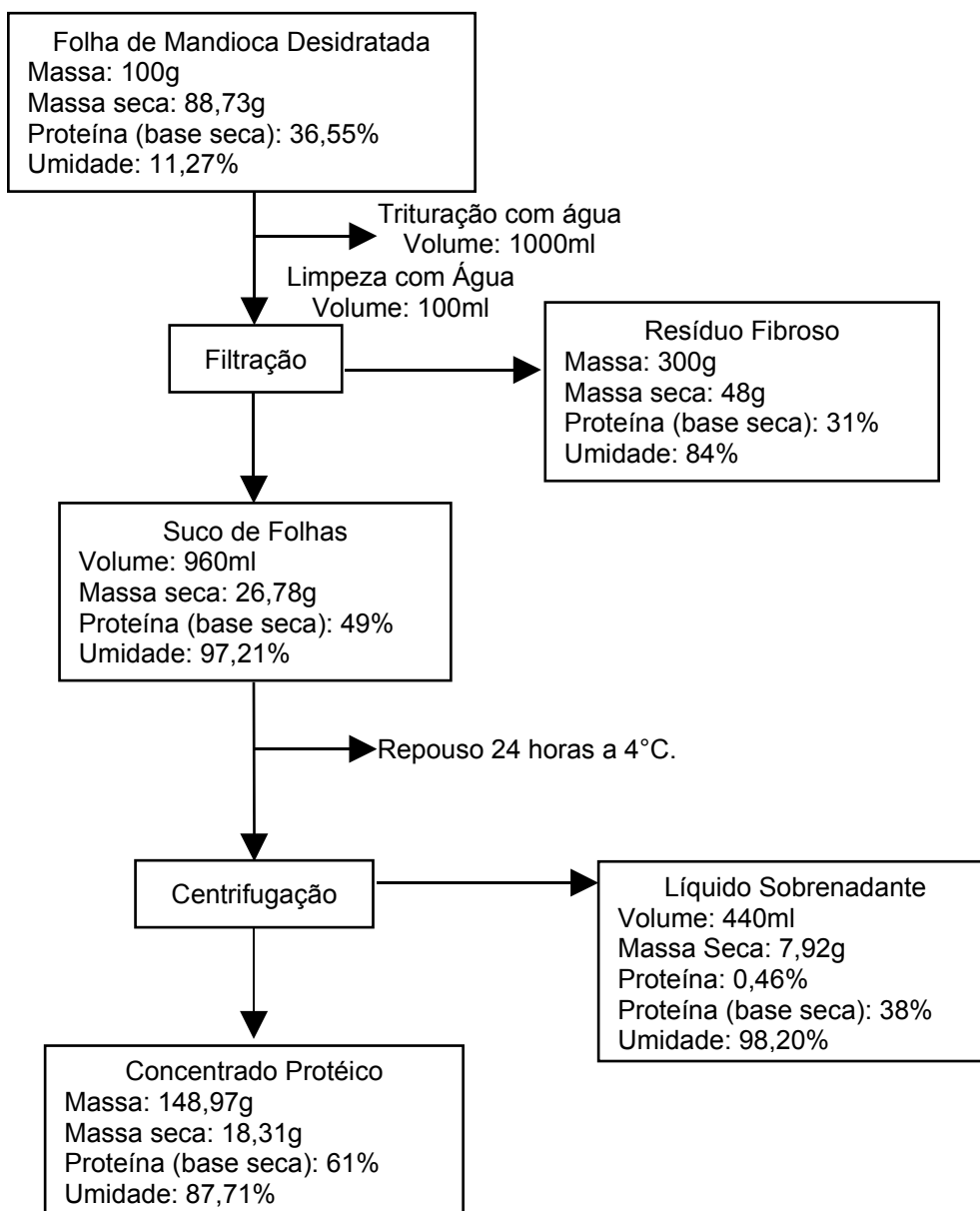


Figura 20 - Balanço de massa - Método 1.

4.2.1.2 Método 2 - Extração por precipitação isoelétrica, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003):

No Método 2, após a trituração para o rompimento celular das folhas, o pH foi ajustado para 8, para que ocorresse a lixiviação das proteínas da folha e a sua solubilização no suco. Conforme o teste de precipitação realizado, a partir de pH 8 as proteínas ficam solubilizadas, no entanto somente a partir de pH 11 é que elas ficam completamente solubilizadas. Porém, segundo DERENZO e ALDEIA (2000), pHs ajustados acima de 10, ou seja, soluções altamente alcalinas podem degradar as proteínas. Por esse motivo, utilizou-se pH 8 para a extração da proteína da folha.

Após a retirada do resíduo fibroso, o pH do suco foi ajustado para 4. A forma da separação de fases após correção do pH, foi a mesma mostrada na Figura 18, no entanto o líquido sobrenadante teve uma coloração mais clara (amarelada). Também ocorreu a formação de coágulos, pois com a correção do pH para 4, ocorreu a precipitação das proteínas, ponto isoelétrico estudado no teste de precipitação. A sedimentação do coágulo protéico foi mais eficiente (Figura 21).



Figura 21 - Separação das fases (líquido sobrenadante e precipitado de proteínas) após correção de pH para 4.

O pH da solução depois do repouso de 24 horas a 4°C foi de 4,30. O concentrado protéico obtido teve um aspecto mais pastoso e a quantidade obtida foi maior que no Método 1. O teor protéico encontrado no concentrado foi de 50% em base seca.

O fluxograma do balanço de massa é apresentado na Figura 22.

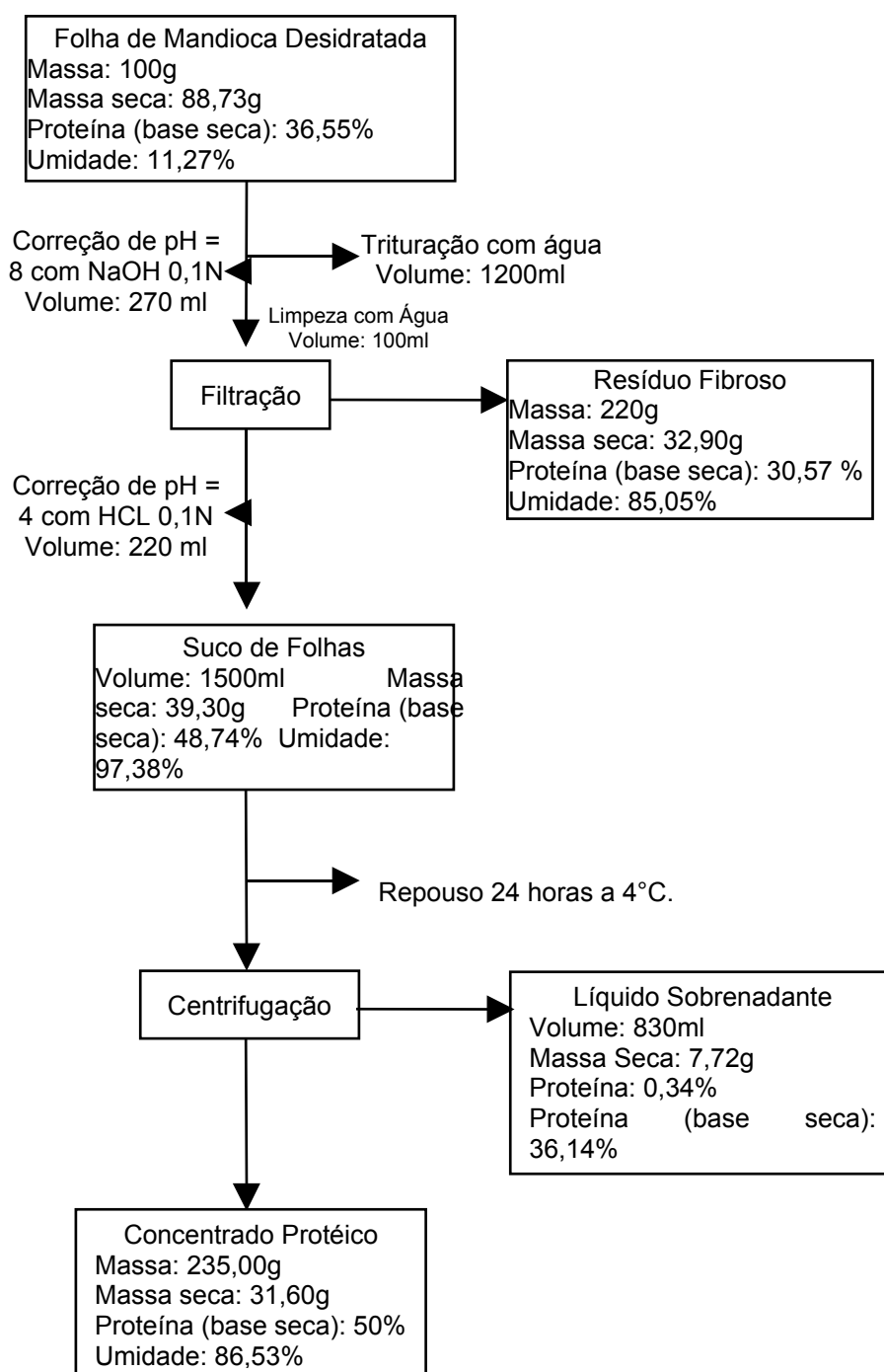


Figura 22 - Balanço de massa – Método 2.

4.2.1.3 Método 3 - Fermentação do suco de folhas, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003)

Após a trituração do suco de folhas, o pH da solução foi corrigido para 8, assim a proteína ficou solubilizada no suco. Em seguida, colocou-se para fermentar à temperatura ambiente, durante 48 horas.

Ao final dos dois dias o pH era de 6,30. Com a fermentação das folhas ocorreu um aumento de massa. A parte fibrosa sedimentou e com o abaixamento do pH ocorreu a formação de coágulos que ficaram juntos com a parte fibrosa. Com a filtração parte desses coágulos ficaram retidos com o resíduo fibroso. Não foi necessário corrigir o pH para 6,4 como descrito na metodologia devido ao suco filtrado já possuir este pH.

O teor de proteína obtido no concentrado protéico foi de 47,6% em base seca. Devido o pH ser de 6,4 a maior concentração de proteínas ficou solubilizada, tendo maior quantidade mássica e teor protéico no resíduo líquido sobrenadante. Na Figura 23 está demonstrado o fluxograma de balanço de massa do Método 3.

4.2.1.4 Método 4 - Solubilização das proteínas, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003)

No suco de folhas, depois de corrigido o pH para 8, na qual as proteínas foram transportadas para a parte líquida, filtrou-se a amostra, e o suco de folhas foi colocado em estufa com circulação e renovação de ar, para secagem e obtenção do concentrado protéico.

Pela Figura 24, pode-se observar que o teor protéico do concentrado foi de 44,00 %.

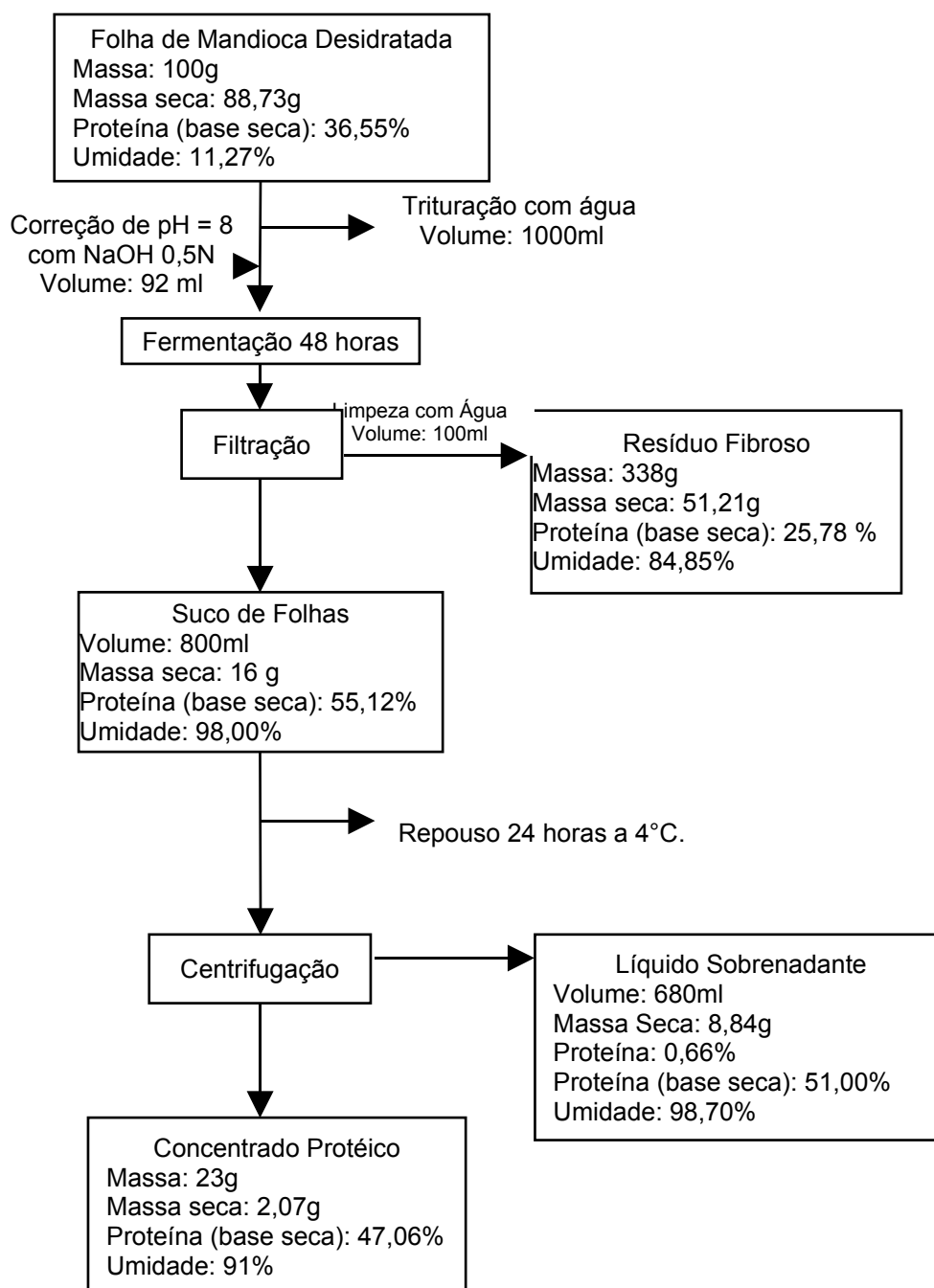


Figura 23 Balanço de massa - Método 3.

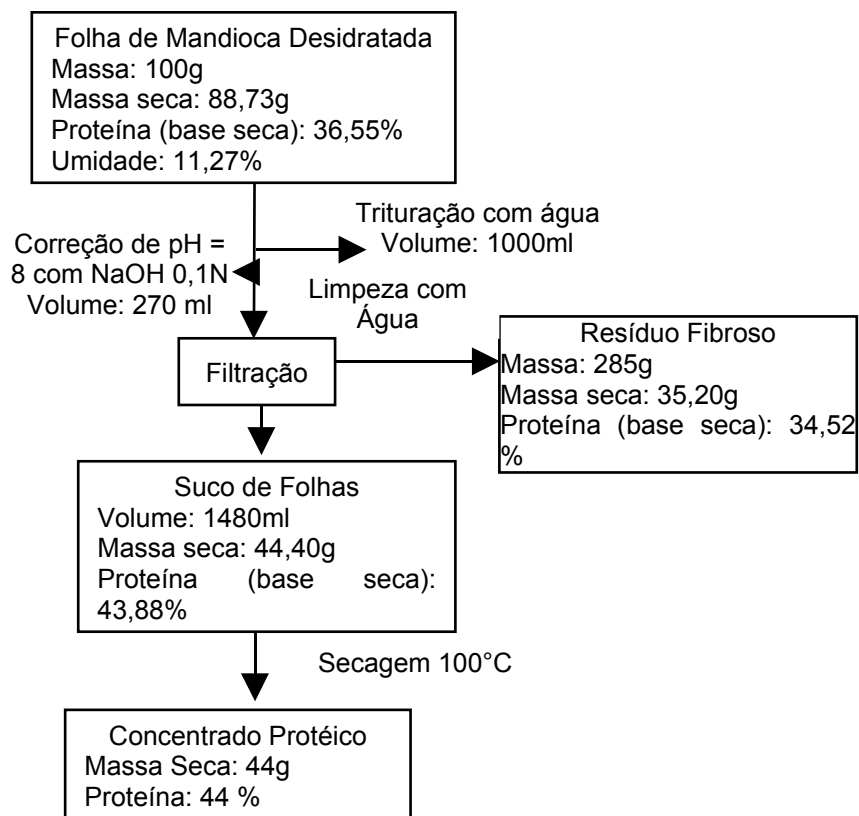


Figura 24 - Balanço de massa - Método 4.

4.2.1.5 Método 5 - Fermentação do suco de folhas filtrado, descrito por CHAVES (1987)

A diferença do Método 3, citado por CEREDA; VILPOUX (2003), do método de fermentação, citado por CHAVES (1987), está em que o suco é filtrado primeiro para depois ocorrer a fermentação. Após a filtração do suco corrigido para pH 8, as proteínas estão solubilizadas no suco e não na parte fibrosa.

Assim, o suco filtrado foi colocado para fermentar em temperatura ambiente, durante 48 horas. Nesse período ocorreu um abaixamento natural do pH em torno de 5,6 e houve a formação de coágulos (Figura 25).

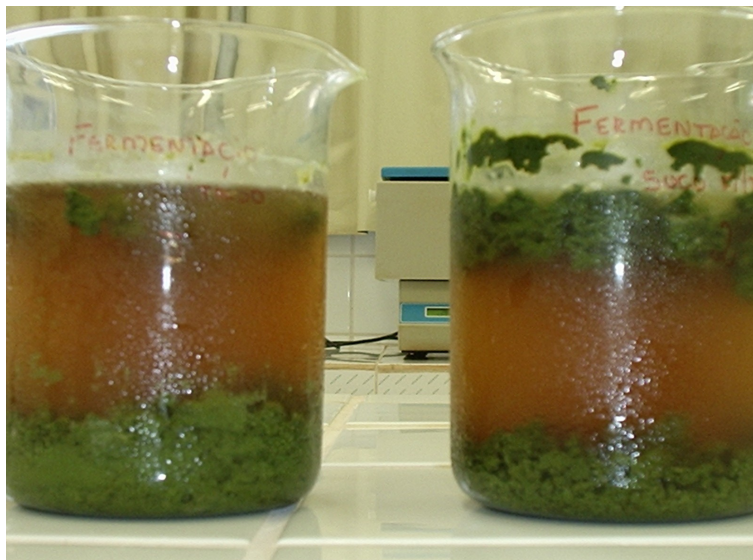


Figura 25 - Etapa final da fermentação.

A separação do sobrenadante e dos coágulos foi mais simples. Os coágulos formados foram mais compactos. No entanto, também foi realizada a centrifugação da amostra. O teor de proteína em base seca do concentrado obtido foi de 51,24% (Figura 26).

4.2.1.6 Método 6 - Extração por precipitação isoelétrica/termocoagulação, descrito por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979)

TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979) utilizaram em sua metodologia duas fases de extração, nas quais é reaproveitado o resíduo fibroso, utilizando duas maneiras para facilitar a precipitação das proteínas: (a) correção de pH -primeiramente corrigiram o pH para 7, antes da filtração, para solubilizar as proteínas e depois para pH 4, para ocorrer a precipitação das proteínas; (b) pela ação da temperatura – aqueceram a 50°C para ajudar na formação de coágulos e repouso à temperatura de 4°C para facilitar a precipitação.

O aspecto das fases antes da etapa de centrifugação foi semelhante ao Método 2. O teor de proteína do concentrado protéico foi de 53% (Figura 27).

4.2.1.7 Método 7 - Extração por termocoagulação, descrito por FASUYI; e ALETOR (2005)

Segundo PIRIE (1971), em condições de temperaturas maiores que 70°C ocorre coagulação significativa das proteínas. Após o aquecimento do suco, entre 80°C e 90°C, ocorreu a coagulação das proteínas e a sua precipitação. O concentrado protéico apresentou teor protéico médio de 65% em base seca (Figura 28).

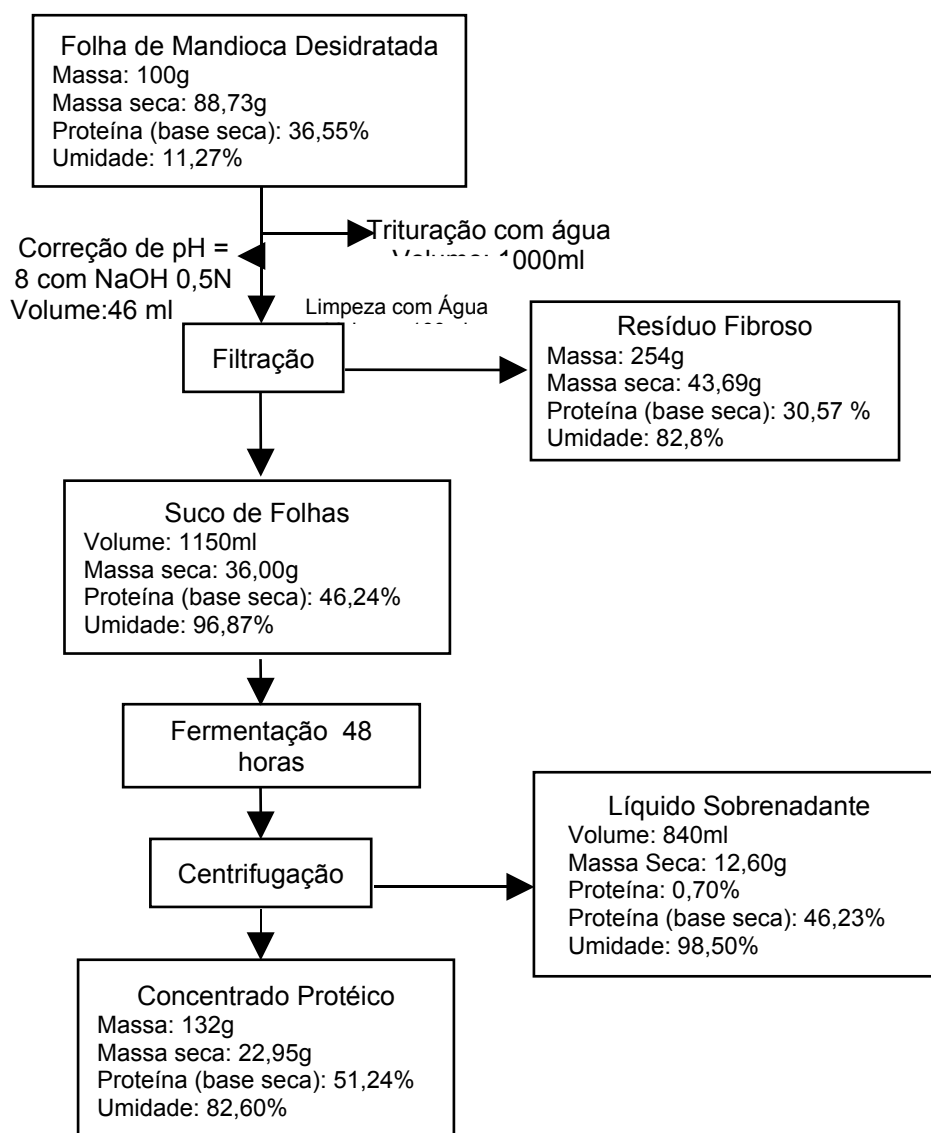


Figura 26 - Balanço de massa - Método 5.

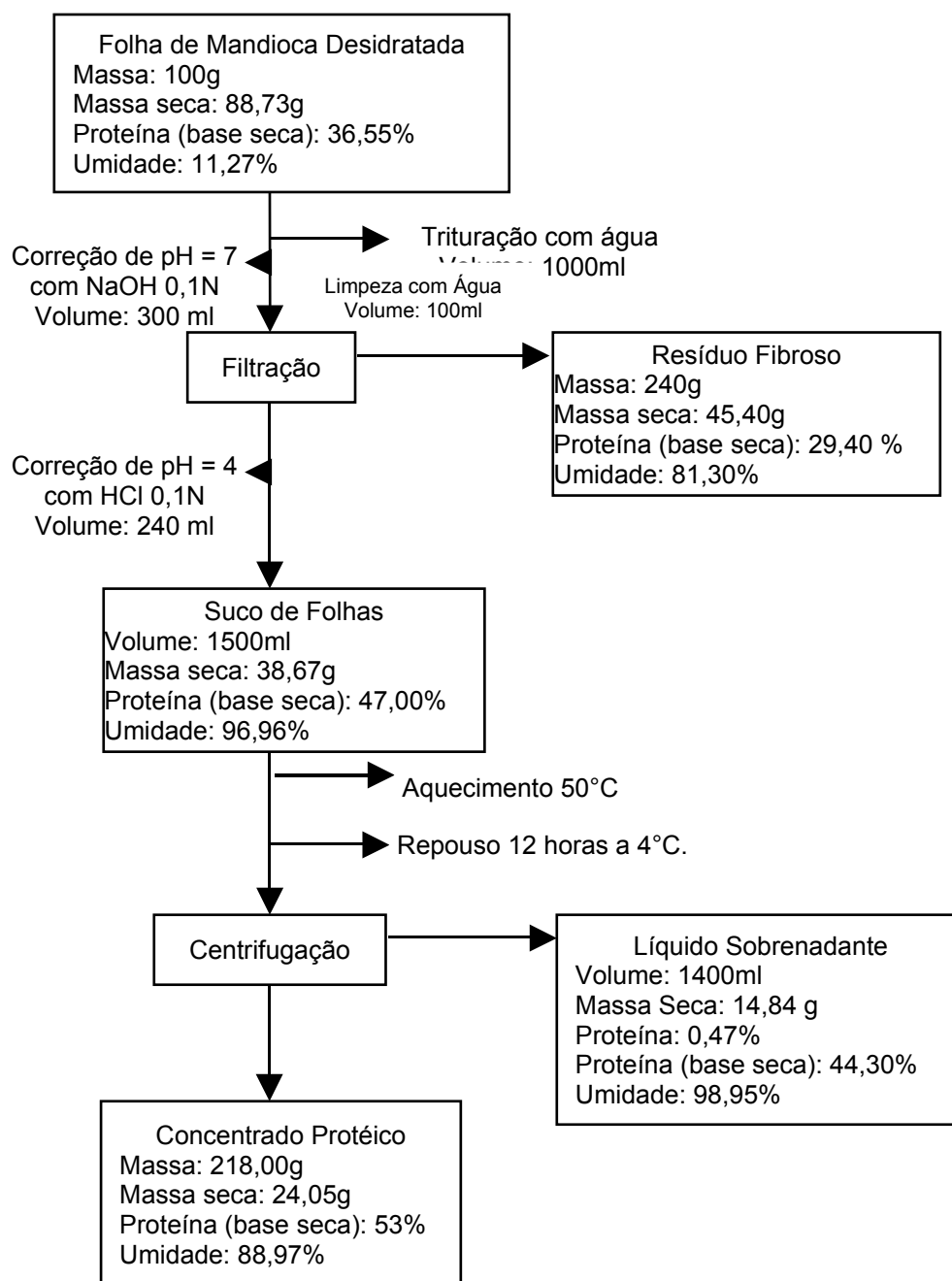


Figura 27 - Balanço de massa - Método 6.

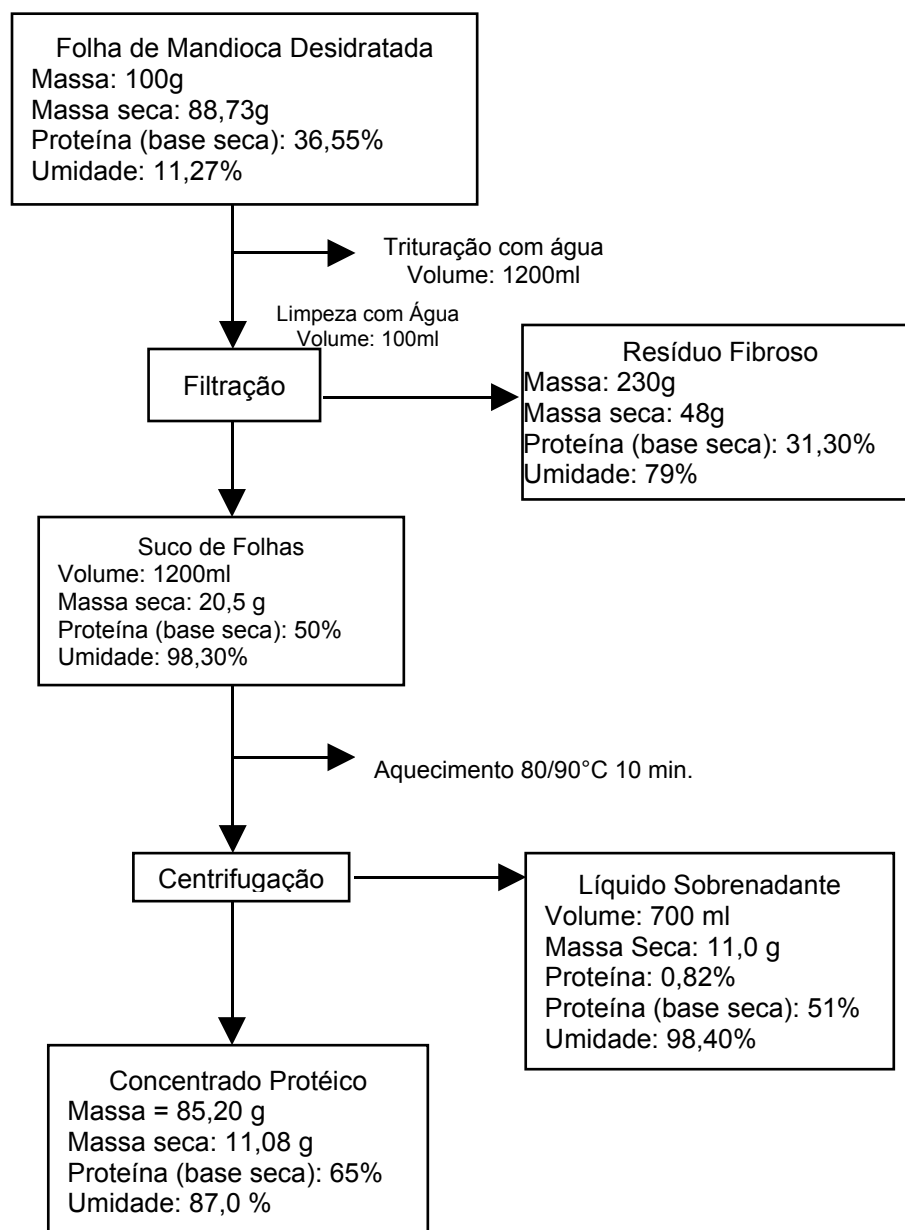


Figura 28 - Balanço de massa - Método 7.

4.2.2 Cálculo e Análise Estatística do Rendimento de Extração

Para o cálculo do rendimento de extração foi utilizada a Equação 02 e para o rendimento de concentrado protéico a Equação 03. Para isso, foi

necessário fazer o balanço, em termos de massa de proteína presente no início e no final da extração.

Na Tabela 7 são apresentados: a massa de concentrado protéico, o rendimento de concentrado protéico, a massa de proteína bruta do concentrado, o rendimento de extração e o teor de proteína de cada método estudado. Foram comparadas as médias do concentrado protéico, em relação às metodologias testadas, o rendimento de extração de proteínas e o teor de proteína.

Tabela 7 - Valores médios da massa referentes à massa de concentrado protéico, rendimento de concentrado, massa de proteína do concentrado protéico e rendimento dos métodos de extração.

MÉTODO DE EXTRAÇÃO	MASSA DE CONCENTRADO PROTÉICO (g) ²	RENDIMENTO DE CONCENTRADO (%) ¹	MASSA DE PROTEÍNA BRUTA DO CONCENTRADO PROTÉICO (g) ²	RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA (%) ¹	TEOR DE PROTEÍNA (%) ^{1,2}
1	18,31	20,65 ^c	11,17	34,42 ^{bc}	61,00 ^{bc}
2	31,60	35,61 ^d	15,80	48,70 ^{cd}	50,00 ^{ab}
3	2,07	2,35 ^a	0,97	3,00 ^a	47,06 ^a
4	44,00	49,50 ^e	19,36	59,66 ^d	44,00 ^a
5	22,95	25,86 ^c	11,75	36,20 ^{bc}	51,24 ^{abc}
6	24,05	27,10 ^c	12,75	39,30 ^c	53,00 ^{abc}
7	11,08	12,50 ^b	7,20	22,20 ^b	65,00 ^c

NOTAS: ¹ Dentro de uma mesma coluna, as médias seguidas por uma mesma letra, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de nível de significância. ² Valores calculados em base seca.

No início da extração a quantidade de proteína presente a partir de 100 gramas (88,73 gramas em base seca) de folhas desidratadas foi de 32,45 gramas. A massa de proteína do concentrado é resultante da multiplicação da massa final do concentrado pelo seu teor protéico.

Os métodos 2 e 4 apresentaram maiores rendimentos de extração, não diferindo estatisticamente com 95% de confiança nos resultados. Os rendimentos de extração foram significativamente semelhantes nos métodos 1, 2, 5 e 6. Os métodos 5 e 7 também mostraram semelhanças no rendimento de extração. O pior rendimento de extração foi o do Método 3, devido à proteína ter ficado retida no resíduo fibroso.

Avaliando o rendimento de concentrado protéico de folhas de mandioca, os métodos 1, 5 e 6 apresentaram rendimentos estatisticamente semelhantes. Porém, o Método 4 apresentou melhor rendimento de concentrado. O segundo melhor rendimento de concentrado foi obtido pelo Método 2.

Os maiores teores de proteínas encontrados foram os dos métodos 1 e 7, nos quais foi utilizada a ação de temperatura para precipitação das proteínas. No entanto, não diferiram estatisticamente a 5% de nível de significância dos métodos 5 e 6.

FASUYI e ALETOR (2005) obtiveram um concentrado protéico de folhas de mandioca frescas com teores de proteína em torno de 50%. Neste experimento, utilizando temperatura para extração encontrou-se 61% para o Método 1 (CEREDA; VILPOUX, 2003) e para a mesma metodologia aplicada (FASUYI; ALETOR, 2005) – Método 7, encontrou-se 65%.

Apesar do Método 4 obter maior rendimento de extração, encontrou-se o menor teor de proteína. O aspecto do concentrado obtido neste método possui coloração marrom, diferenciando-se dos outros concentrados obtidos com coloração verde escuro e com aparências melhores que as do Método 4. Isso pode ser explicado pelo fato da proteína ter ficado solubilizada no suco, não ocorrendo precipitação e sendo necessário realizar a secagem do suco à temperatura de 100°C. Esse método não teve boa aplicação, pois implica a produção de concentrado protéico de má qualidade, além disso, o custo de produção é maior, pois necessita geração de mais calor para a secagem do suco.

Os métodos 2, 5 e 6 obtiveram teores protéicos muito próximos em seus concentrados protéicos.

Em seus experimentos, TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979) obtiveram um concentrado protéico de folhas de mandioca com teores de proteína variando entre 40 a 50%, com rendimento de extração de 30%. Aplicando-se o mesmo método foi encontrado o concentrado com 53% de teor protéico e rendimento de extração de 39,30%, superando os valores estudados. O Método 2, citado por CEREDA e VILPOUX (2003), é semelhante à metodologia descrita por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979). Foi encontrado um teor protéico de 50% e

rendimento de extração de 48%, também superando o que já foi estudado pelos autores.

CHAVES (1987) descreveu o Método 3, utilizando uma fermentação de 5 dias e encontrou concentrados protéicos com teores de 71,5% de proteína, utilizando folhas frescas e um rendimento de matéria seca de concentrado de 44%. Aplicando-se essa mesma metodologia, com fermentação de 2 dias, encontrou-se um teor de proteína de 51,24% e rendimento de concentrado de 25,86%.

Todas as metodologias são de fácil aplicação. Para uma produção de concentrado protéico em escalas maiores, a metodologia mais simples de se aplicar e que não necessitaria de equipamentos onerosos como, por exemplo, a centrífuga, seria a descrita por CHAVES (1987). Essa metodologia produziu a formação de coágulos mais consistentes e firmes, podendo ser separados com o auxílio de um tecido de algodão.

Para maximizar o rendimento de extração seria necessário utilizar mais de uma etapa de extração. A parte fibrosa obtida na etapa de filtração do suco de folhas de mandioca pode ser novamente triturada com água e seguir os processos citados nos métodos propostos. Assim foram escolhidos 4 métodos (1, 2, 4 e 5) para avaliar se ocorrem maiores rendimentos de extração com duas extrações.

4.3 ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS, UTILIZANDO 2 FASES DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS DE FOLHAS DE MANDIOCA

Foram utilizados para esta etapa folhas desidratadas de mandioca com as mesmas características citadas no item 4.2.

Após a etapa de filtração, o resíduo fibroso foi triturado novamente com água e filtrado. O suco foi misturado com o da primeira filtração e, em seguida, foram aplicados os procedimentos de cada método proposto.

O aspecto do suco de folhas e o concentrado protéico de proteínas foram os mesmos que para os métodos com uma extração. A variação de pH também foi a mesma.

O que modifica utilizando uma, duas ou mais extrações é o teor de proteína e o rendimento de concentrado protéico. A seguir apresenta-se o balanço de massa de cada método com duas fases de extração.

4.3.1 Balanço de Massa

O balanço de massa é demonstrado em forma de fluxograma, no qual são apresentadas as massas, o teor de umidade e proteína de cada etapa de extração.

Método 1E - Coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura (CEREDA; VILPOUX, 2003): O balanço de massa explicado em fluxograma está demonstrado na Figura 29.

Método 2E - Extração por precipitação isoelétrica (CEREDA; VILPOUX, 2003): O balanço de massa explicado em fluxograma está demonstrado na Figura 30.

Método 4E – Método de solubilização de proteína (CEREDA; VILPOUX, 2003): O balanço de massa explicado em fluxograma está demonstrado na Figura 31.

Método 5E – Extração por fermentação (CHAVES, 1987): O balanço de massa explicado em fluxograma está demonstrado na Figura 32.

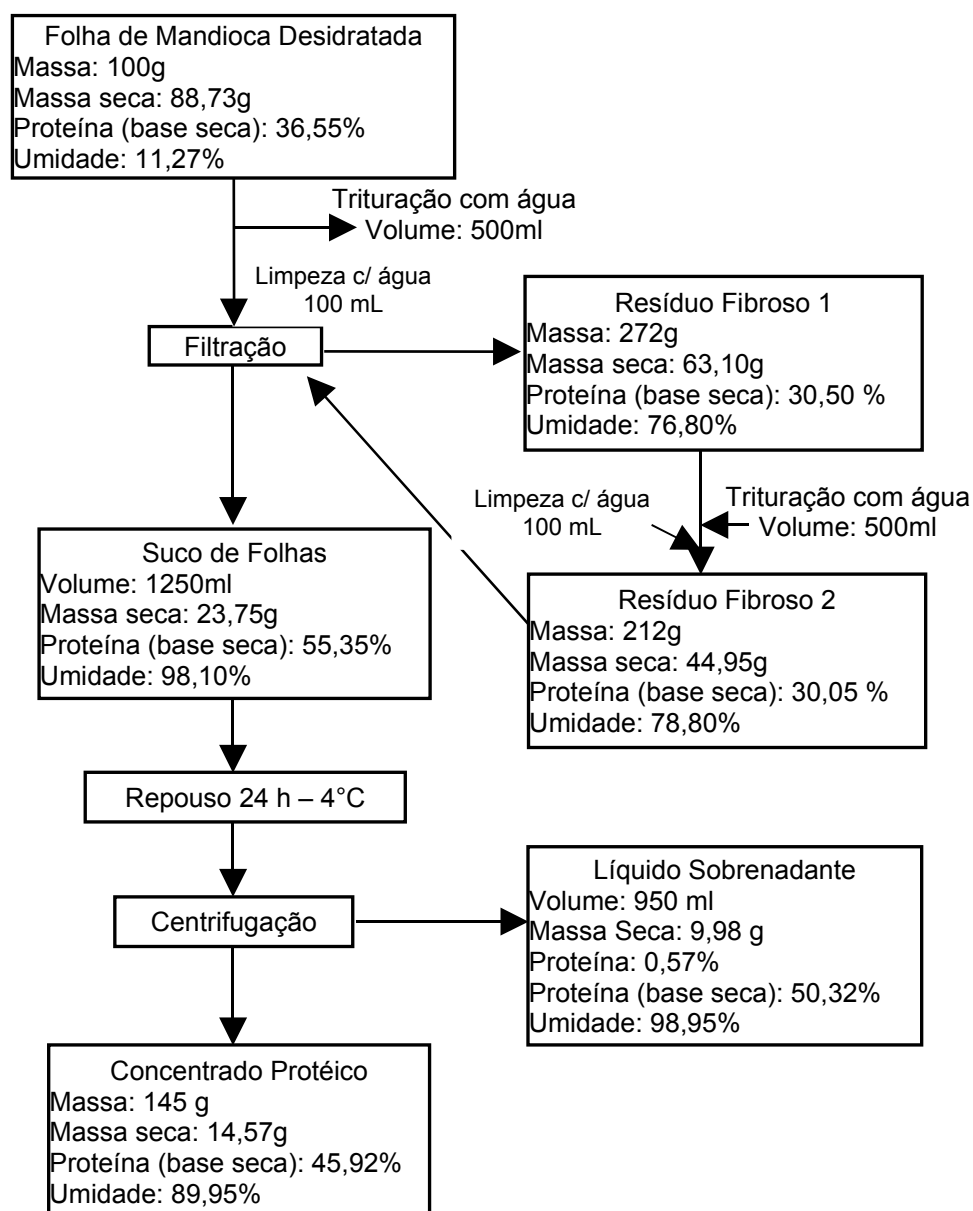


Figura 29 - Balanço de massa – Método 1E.

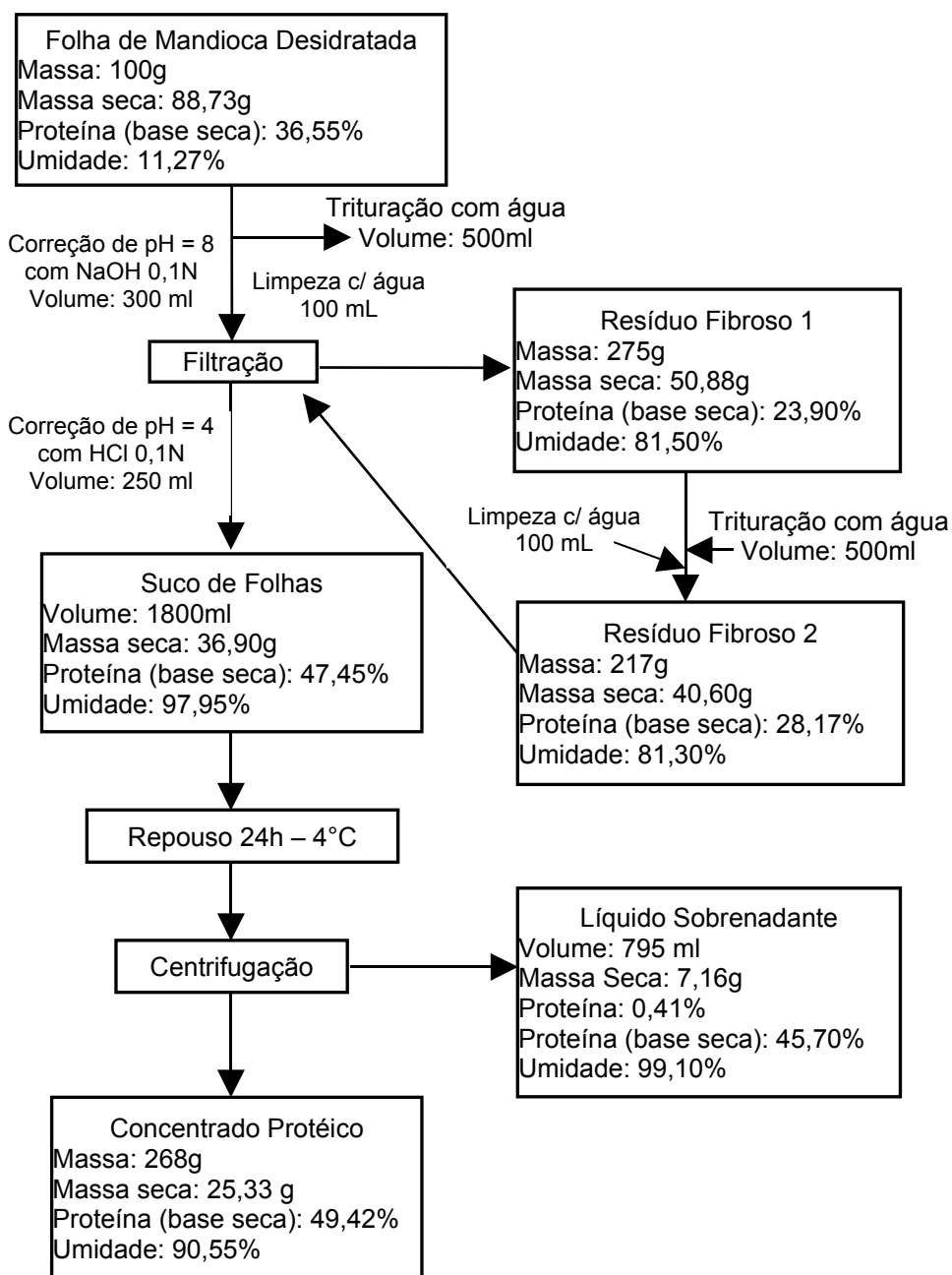


Figura 30 - Balanço de massa – Método 2E.

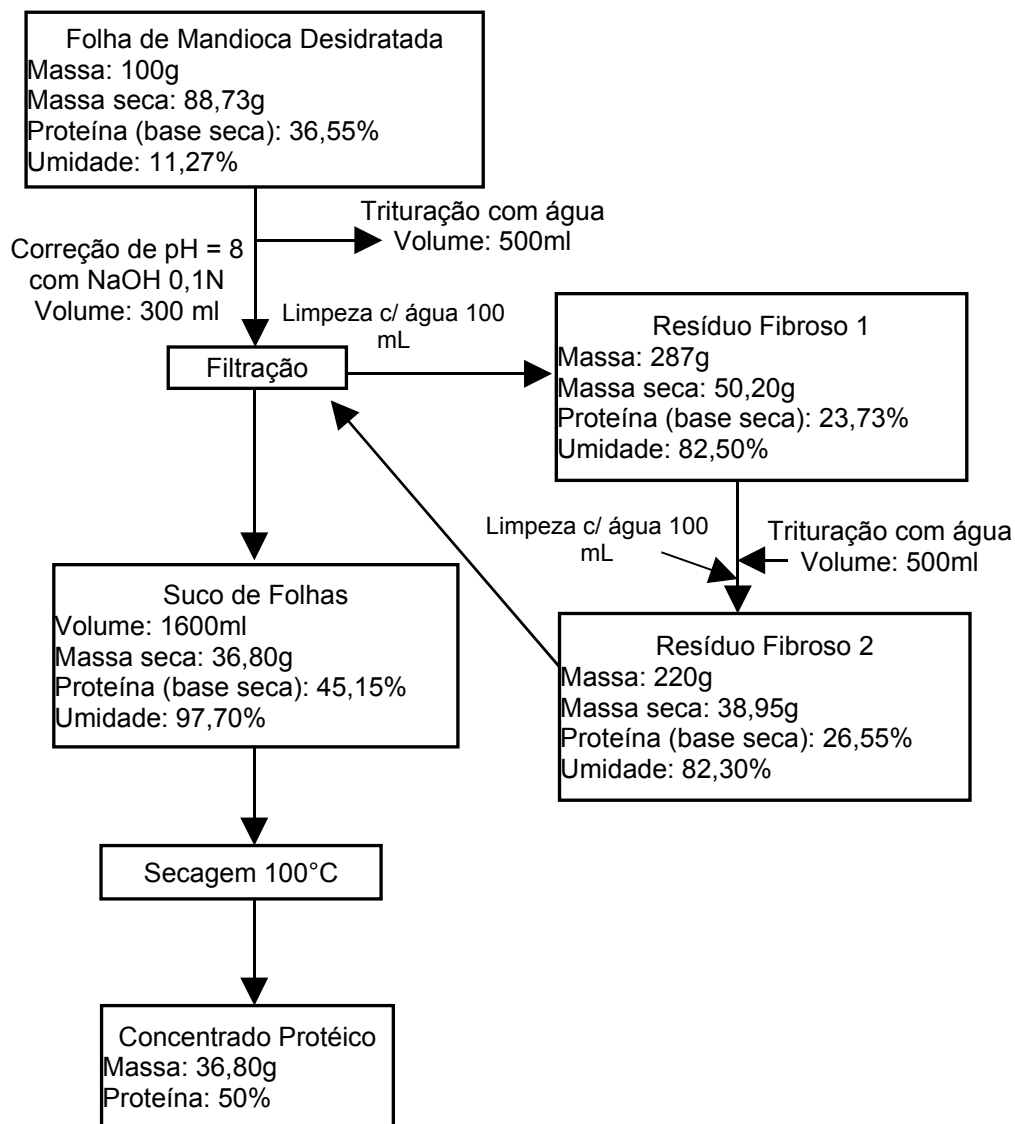


Figura 31 - Balanço de massa – Método 4E.

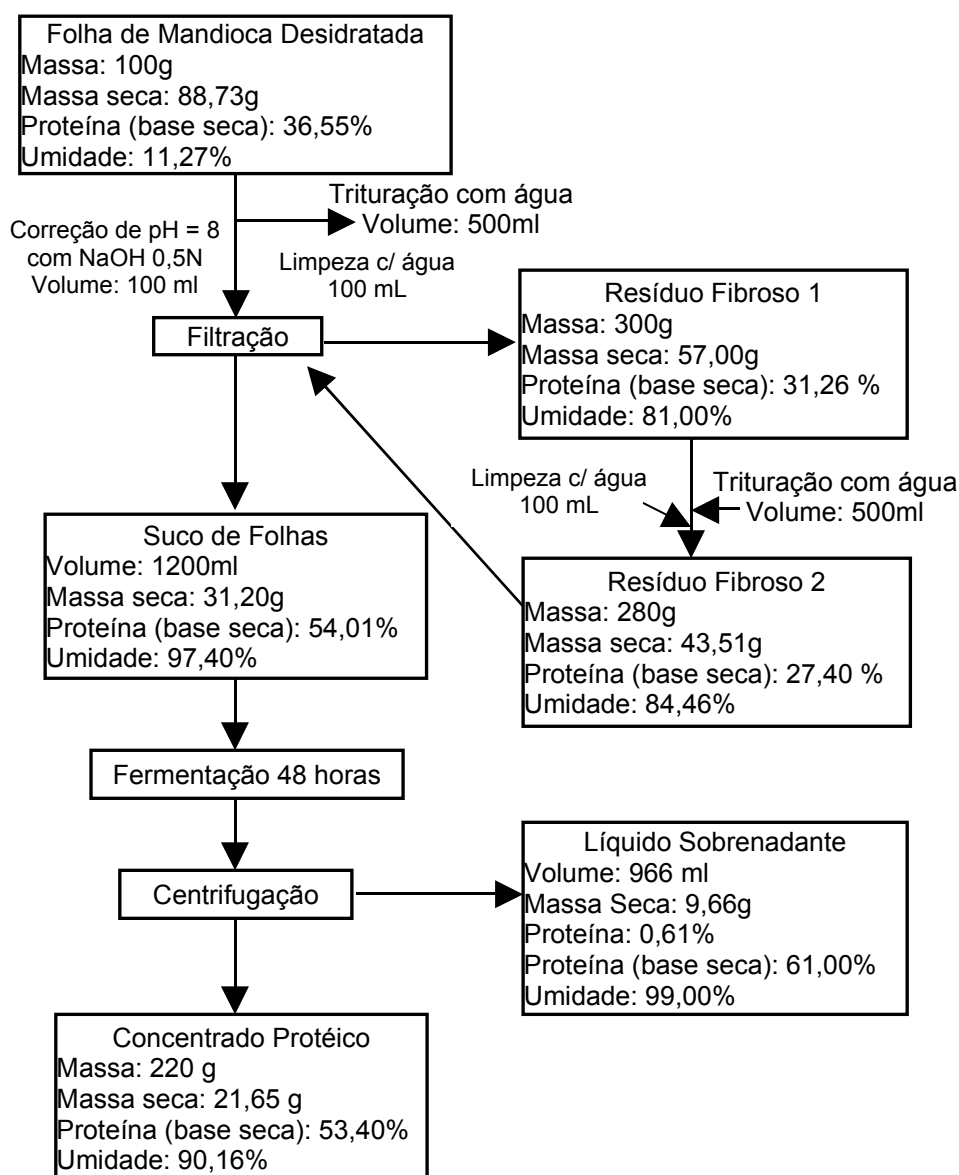


Figura 32 - Balanço de massa – Método 5E.

4.3.2 Cálculo e Análise Estatística do Rendimento de Extração e Rendimento de Concentrado Protéico

Na Tabela 8 está demonstrada a comparação de uma e duas extrações de proteínas.

Tabela 8 - Comparação estatística dos valores médios de rendimento de concentrado protéico e rendimento de extração de proteínas, utilizando 1 e 2 fases de extração.

MÉTODO DE EXTRAÇÃO	FASES DE EXTRAÇÃO	RENDIMENTO DE CONCENTRADO (%) ¹	RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA (%) ¹	TEOR DE PROTEÍNA (%) ¹
1	1	20,65 ^{ab}	34,42 ^b	61,00 ^c
2	1	35,61 ^{cd}	48,70 ^{cd}	50,00 ^{ab}
4	1	49,50 ^e	59,66 ^d	44,00 ^a
5	1	25,86 ^b	36,20 ^{bc}	51,24 ^{ab}
1E	2	16,45 ^a	20,65 ^a	45,92 ^{ab}
2E	2	28,55 ^{bc}	38,60 ^{bc}	49,42 ^{ab}
4E	2	41,50 ^d	56,70 ^d	50,00 ^{ab}
5E	2	24,40 ^{ab}	35,60 ^b	53,40 ^{bc}

NOTA: ¹ Dentro de uma mesma coluna, as médias seguidas por uma mesma letra, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao 5% de nível de significância.

Utilizando duas fases de extração, o método que obteve maior rendimento de concentrado protéico e rendimento de extração foi o Método 4E, que é o método de solubilização, citado por CEREDA e VILPOUX (2003).

Os métodos 2E e 5E não diferiram estatisticamente, ao 5% de nível de significância, quanto ao rendimento de concentrado protéico e rendimento de extração.

O menor rendimento de concentrado e de extração foi obtido pelo método 1E, no entanto com a ação da temperatura foi produzido um concentrado com teor de proteína de 45,92% e uma recuperação de proteína de 20,65%, utilizando duas extrações consecutivas, maior que encontrado por Kling et al. (1976), citados por TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979), que obtiveram um concentrado protéico de folhas de mandioca pelo processo termocoagulação com 26 – 35% de proteína e 20% de recuperação de proteína, utilizando três extrações consecutivas.

Para melhor compreensão da comparação dos métodos de extração com 1 e 2 fases, são apresentadas, nas figuras 33, 34 e 35, as comparações de rendimento de concentrado protéico, rendimento de extração e teor de proteína.

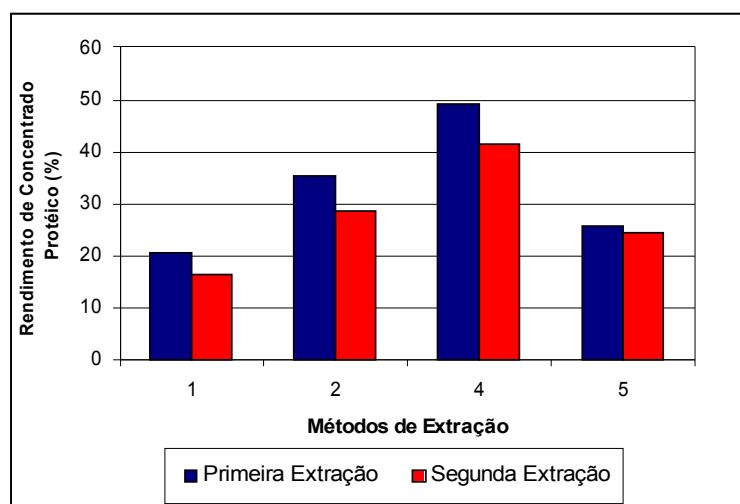


Figura 33 - Rendimento de concentrado protéico vs métodos de extração.

Pode-se observar que, utilizando somente uma fase de extração, obtiveram-se em todos os métodos maiores rendimentos de concentrado protéico em relação a duas fases de extração.

Estatisticamente, o Método 1 para a obtenção de rendimento de concentrado não diferiu utilizando uma ou duas fases de extração. O mesmo ocorreu para os métodos 2 e 5. Para esses casos, a utilização de uma ou duas fases de extração não influenciou o rendimento, sendo menos dispendioso trabalhar somente com uma extração.

Para o Método 4 ocorreu diferença estatística entre utilizar uma e duas fases. Com a utilização de uma fase de extração obteve-se maior rendimento de concentrado protéico.

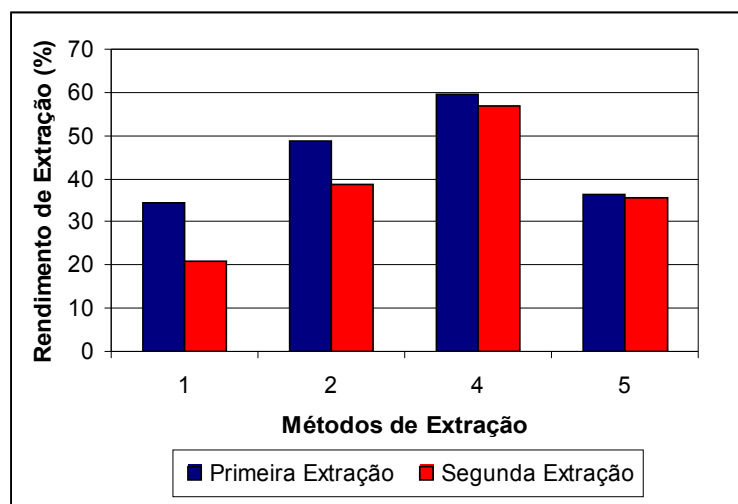


Figura 34 - Rendimento de extração vs métodos de extração.

Na Figura 34 pode-se observar que, utilizando somente uma fase de extração obteve-se maior rendimento de extração. No Método 4, foram obtidos maiores rendimentos, tanto para uma quanto para duas extrações. O maior rendimento de extração de proteínas foi obtido para uma etapa de extração.

Em relação ao teor de proteína obtido em cada método de extração (Figura 35), o Método 1 com uma fase de extração produziu o maior teor protéico no concentrado de folhas. Utilizando duas fases de extração o teor de proteína no concentrado caiu de 61% para 45,94%, ocorrendo uma diferença estatística.

Para os métodos 4 e 5, utilizando duas fases de extração, foram obtidos maiores teores de proteína, porém não diferindo estatisticamente da extração de uma fase. O mesmo ocorreu para o método 2, resultados obtidos utilizando uma ou duas fases de extração produziram teores de proteínas próximos. Pode-se observar que a utilização de uma ou duas fases de extração não influenciou negativamente nos teores de proteína para os casos dos métodos 2, 4 e 5, pois os valores comparados entre uma fase e duas fases de extração não possuem diferenças significativas.

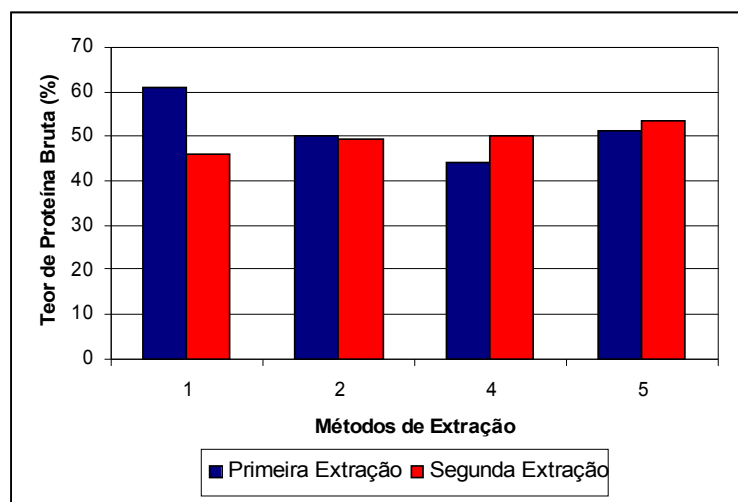


Figura 35 - Teor de proteína bruta vs métodos de extração.

A realização de duas fases de extração para obtenção de concentrados protéicos, aplicando-se os métodos de extração propostos neste experimento, influenciou negativamente no rendimento de extração e rendimento de concentrado protéico.

DERENZO e ALDEIA (2000) utilizaram três etapas consecutivas de extração para obtenção de concentrado protéico da planta Capim Elefante (*pennisetum purpureum schum*), utilizando extração por termocoagulação e variando o pH de 7 até 10. Observaram que a eficiência de extração diminuiu, conforme se aumentou o número de etapas de extração e que a aplicação de mais de uma etapa de extração tornou-se tão mais importante quanto menor o pH inicial do agente extrator.

Na Tabela 9 está registrada a perda de massa em cada método de extração, calculada pela diminuição da massa inicial de folhas em cada etapa de separação.

Tabela 9 - Perdas de massa no processo de uma e duas extrações

MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	PERDAS DE MASSA NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO (G)
1 – Extração (1 fase)	
1	14,5
2	16,50
3	26,60
4	9,50
5	9,50
6	4,60
7	20,00
2 – Extração (2 fase)	
A (1)	1,88
B (2)	5,36
C (4)	1,70
D (5)	0,55

A perda de massa no processo ocorreu principalmente na etapa de filtração, na parte da pesagem do resíduo fibroso. Observou-se nesse experimento a dificuldade de pesar o resíduo, por ser filtrado em tecido de pano, dificultando a sua retirada por uma parte ficar aderindo ao tecido.

Observando a extração em duas fases, verifica-se uma diminuição nas perdas de massas nos métodos pesquisados.

A finalidade de se aplicar mais de uma fase de extração é minimizar as perdas no processo e, conseqüentemente, aumentar o rendimento. Porém, a extração em duas fases não melhorou os rendimentos, pois a massa perdida refere-se a outros constituintes, principalmente não proteínas, mostrando que ela é facilmente extraída já na primeira fase de extração.

4.4 ESTUDO DE QUATRO MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS UTILIZANDO FOLHAS DE MANDIOCA FRESCAS

Neste experimento, foram utilizadas folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com nove meses de idade, contendo um teor de proteína

bruta em base seca de 27,70%. Inicialmente, foram utilizadas 100 gramas de folhas de Mandioca com 72% de umidade.

O suco de folhas frescas resultou numa coloração verde claro e cheiro mais suave. O aspecto dos concentrados protéicos obtidos foi semelhante aos concentrados obtidos com folhas desidratadas.

Utilizando-se folhas frescas houve uma facilidade maior de aplicação dos métodos de extração, principalmente na etapa de trituração, em que ocorre o rompimento celular para disponibilizar as proteínas para o meio extrator (água). No início das extrações o suco de folhas frescas possuía pH igual a 6,40.

4.4.1 Balanço de Massa

Para o balanço de massa, a quantidade de folhas frescas em massa seca foi de 28 gramas, sendo 7,76 gramas de proteína bruta presente nas folhas.

4.4.1.1 Método 1F - Coagulação de proteínas por abaixamento de temperatura (CEREDA; VILPOUX, 2003)

O pH no final da extração não teve alteração, permanecendo o mesmo.

O balanço de massa explicado em fluxograma é apresentado na Figura 36.

4.4.1.2 Método 2F - Extração por precipitação isoelétrica (CEREDA; VILPOUX, 2003)

O líquido centrifugado e o concentrado protéico possuem as mesmas características da extração utilizando folhas desidratadas. O líquido

centrifugado resultou numa coloração mais clara e o concentrado mais pastoso.

O balanço de massa explicado em fluxograma é apresentado na Figura 37.

4.4.1.3 Método 4F – Método de solubilização de proteína, (CEREDA; VILPOUX, 2003)

O concentrado protéico obtido possuiu a mesma aparência do concentrado encontrado com folhas de mandioca desidratadas.

O balanço de massa explicado em fluxograma é apresentado na Figura 38.

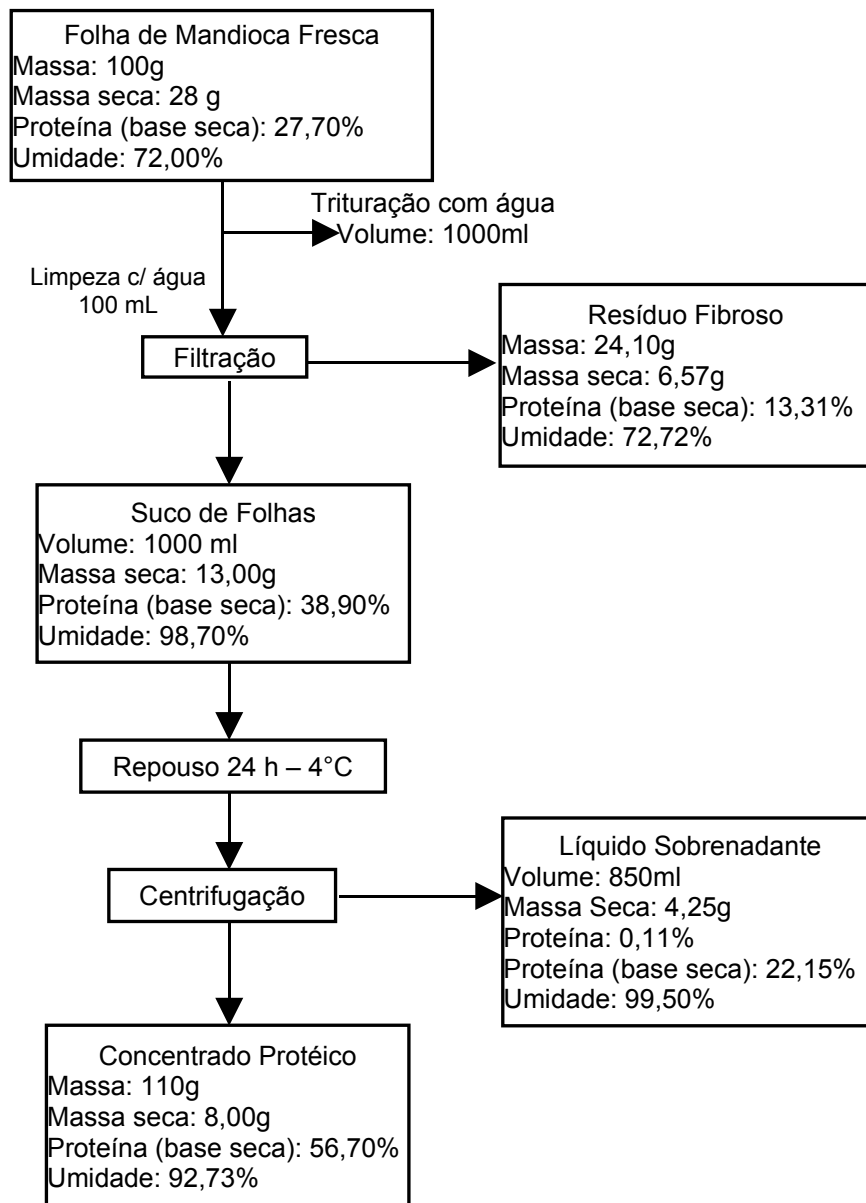


Figura 36 - Balanço de massa – Método 1F.

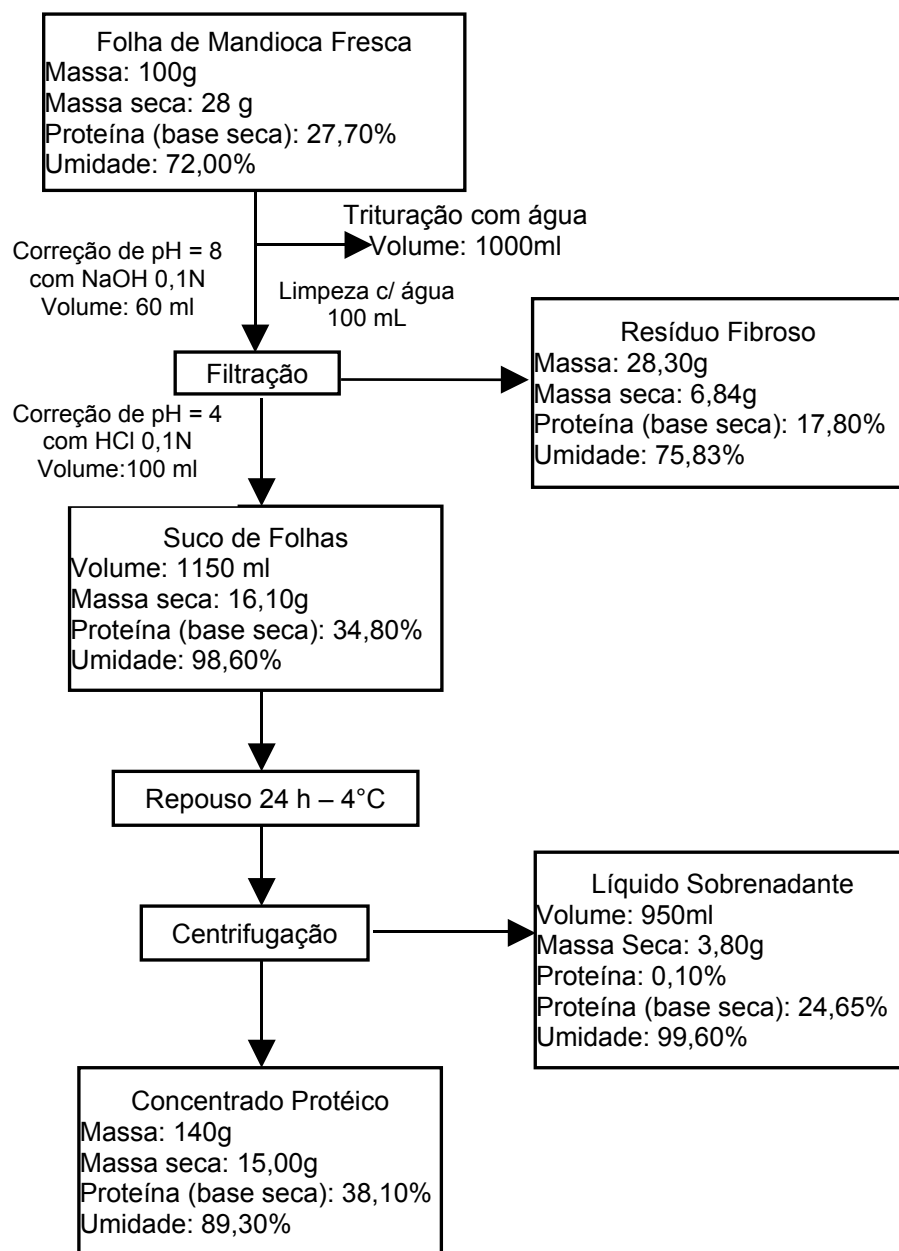


Figura 37 - Balanço de massa – Método 2F.

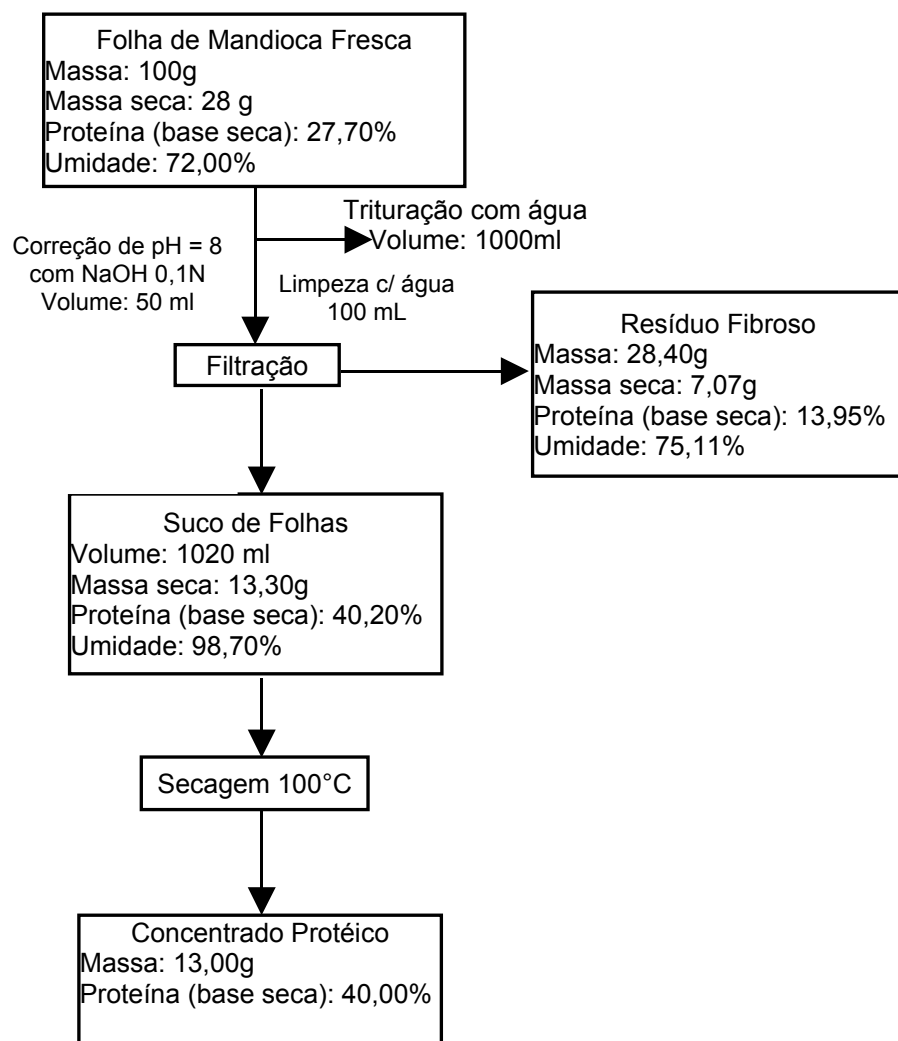


Figura 38 - Balanço de massa – Método 4F.

4.4.1.4 Método 5F – Extração por fermentação (CHAVES, 1987)

Com a fermentação de 48 horas o pH abaixou, naturalmente, para 3,95, ocorrendo a formação de coágulos bem consistentes e sua precipitação. A partir de 24 horas de fermentação já ocorreu a formação de coágulos protéicos.

O balanço de massa explicado em fluxograma é apresentado na Figura 39.

O líquido sobrenadante resultou numa coloração amarelo clara. A separação do precipitado foi mais simples, devido à formação de coágulos mais consistentes, podendo ser separados em tecido de algodão.

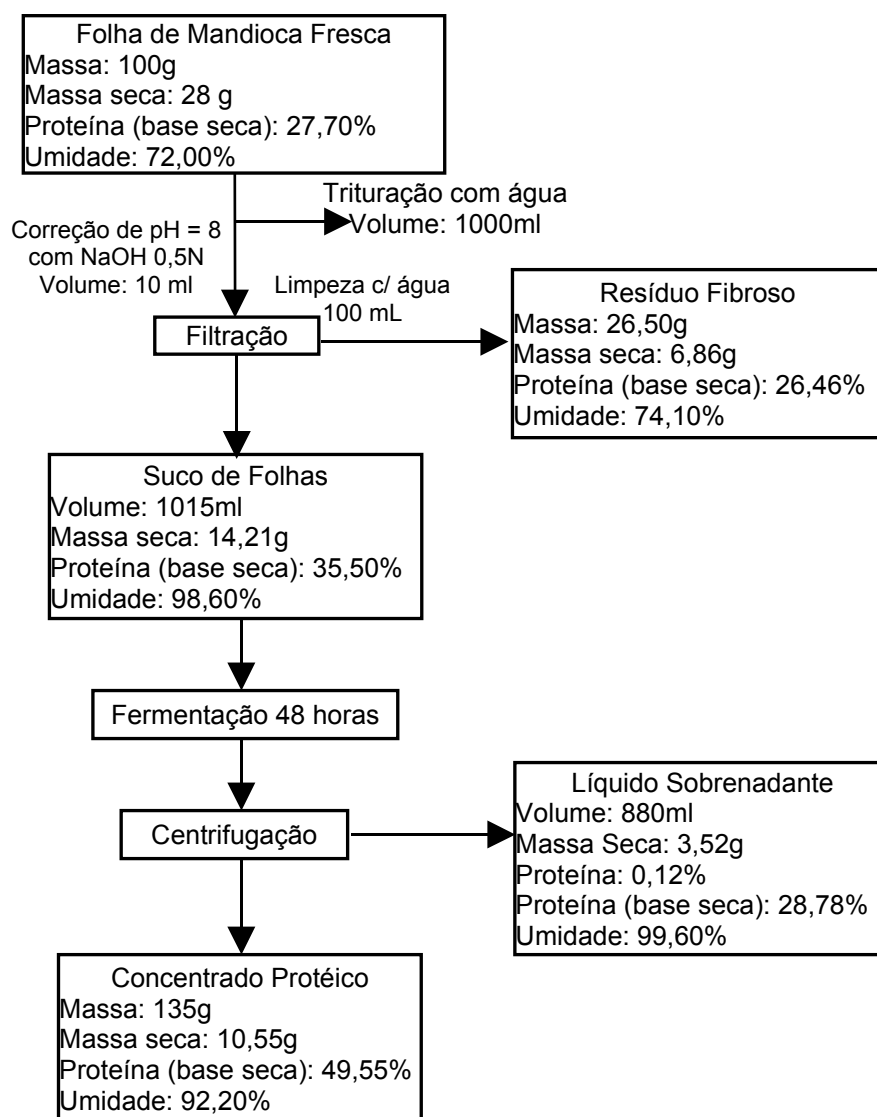


Figura 39 - Balanço de massa – Método 5F.

4.4.2 Cálculo e Análise Estatística do Rendimento de Extração e Rendimento de Concentrado Protéico

Na Tabela 10 tem-se a comparação das médias dos rendimentos de concentrado e rendimento de extração de folhas desidratadas com folhas frescas.

Tabela 10 - Comparação estatística dos valores médios de rendimento de concentrado protéico e rendimento de extração de proteínas utilizando folhas desidratadas e frescas.

MÉTODO DE EXTRAÇÃO	RENDIMENTO DE CONCENTRADO (%) ¹	RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA (%) ¹	TEOR DE PROTEÍNA (%)
1	20,65 ^a	34,42 ^a	61,00
2	35,61 ^{abcd}	48,70 ^{ab}	50,00
4	49,50 ^{cd}	59,66 ^{ab}	44,00
5	25,86 ^{ab}	36,20 ^a	51,24
1F	28,60 ^{abc}	58,60 ^{ab}	56,70
2F	53,57 ^c	73,71 ^b	38,10
4F	46,43 ^{bcd}	67,00 ^b	40,00
5F	37,68 ^{abcd}	67,40 ^b	49,55

NOTA: ¹ Dentro de uma mesma coluna, as médias seguidas por uma mesma letra, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de nível de significância.

De um modo geral, os métodos 1, 2, 5, 1F e 5F apresentaram rendimentos de concentrados estatisticamente semelhantes. O mesmo ocorreu para os métodos 2, 5, 1F, 4F e 5F. No entanto, os melhores rendimentos de concentrado foram obtidos pelos métodos 2, 4, 4F e 5F que são estatisticamente semelhantes.

Comparando-se cada método, avaliando folhas frescas e folhas desidratadas, observou-se que os métodos não se diferenciam estatisticamente. O Método 1 é semelhante a 1F, o mesmo ocorre para os métodos 2 e 2F, 4 e 4F, 5 e 5F. Então, não houve diferença estatística utilizando folhas frescas e desidratadas.

Avaliando o rendimento de extração, observou-se diferença estatística entre o Método 5 e 5F, no qual obteve-se maior rendimento utilizando folhas frescas.

Nas figuras 40 e 41, são apresentadas as comparações de rendimento de concentrado protéico e rendimento de extração, utilizando folhas desidratadas e frescas, para melhor entendimento da comparação estatística dos métodos.

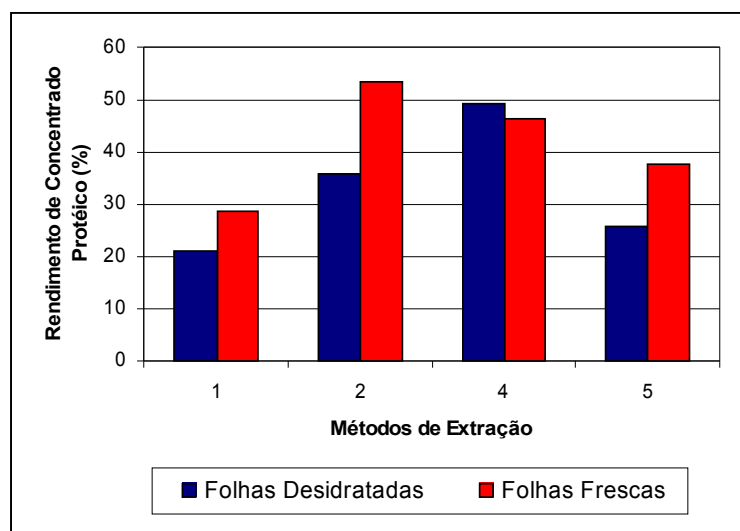


Figura 40 - Comparação dos métodos de extração, avaliando rendimento de concentrado protéico de folhas desidratadas com folhas frescas.

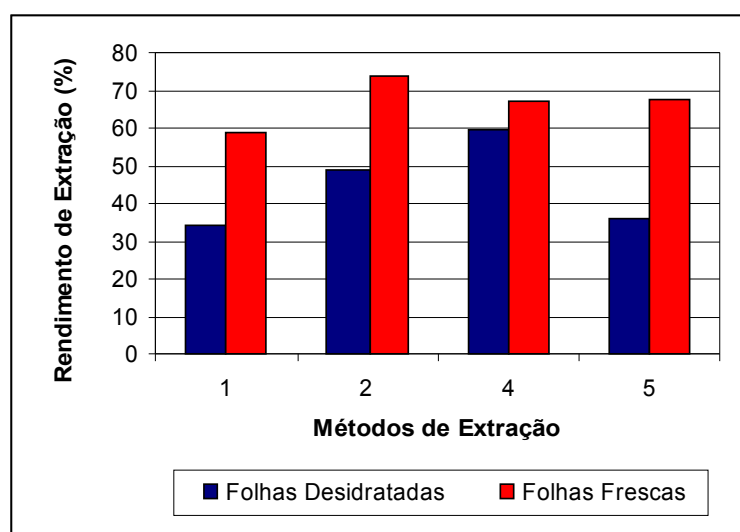


Figura 41 - Comparação dos métodos de extração avaliando rendimento de extração de folhas desidratadas com folhas frescas.

Apesar de não ocorrer diferença estatística nos rendimentos de extração, utilizando folhas frescas ou desidratadas, visualmente as folhas frescas produziram maiores rendimentos de extração.

As perdas de massa nos processos de extração de proteínas de folhas frescas foram maiores em termos de porcentagem do que utilizando folhas desidratadas (Tabela 11). Nesse caso, a maior parte de massa perdida foi na etapa de filtração.

Tabela 11 - Perdas de massa no processo de extração de folhas desidratadas e frescas.

MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	PERDAS DE MASSA NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO (%)
1 – Folhas Desidratadas	
1	18,60
2	16,35
4	10,70
5	10,70
2 – Folhas Frescas	
1F	30,00
2F	18,07
3F	27,15
4F	25,25

Não foi possível comparar os teores de proteína, utilizando folhas desidratadas e folhas frescas, por não serem as mesmas folhas de mandioca avaliadas para os dois casos. As idades das plantas utilizadas são diferentes. Para aplicação dos métodos com folhas desidratadas foram utilizadas folhas com doze meses de idade e para aplicação dos métodos com folhas frescas utilizaram-se folhas de nove meses de idade. Logo, para o caso de folhas frescas, obtiveram-se concentrados protéicos com menores teores de proteína. Segundo CHAVES (1987), a idade da planta influencia a extração de proteínas para obtenção de maiores teores protéicos.

Quanto às comparações de folhas frescas e desidratadas, as folhas frescas são mais fáceis de serem utilizadas, no entanto, a durabilidade é menor devido à sua degradação ocorrer muito rápido depois de sua colheita, não

podendo ser armazenada. Já desidratando as folhas pode-se armazená-las para posterior utilização para extração.

CHAVES (1987) comparou quatro tipos de extração de proteínas de folhas de mandioca, em termos de rendimento de matéria seca e proteína bruta. O autor constatou que o rendimento obtido pela autocoagulação (fermentação) foi maior que o rendimento de precipitação por ácidos, termocoagulação, e utilização de solvente orgânico. Na Tabela 12, são apresentados os resultados obtidos por esse pesquisador.

Tabela 12 - Rendimento em matéria seca e proteína bruta em função dos métodos de extração

TIPO DE EXTRAÇÃO	RAZÃO DE SEPARAÇÃO	
	Matéria Seca (%)	Proteína Bruta (%)
Precipitação Ácida	31,50	56,60
Termocoagulação (85°C, 5 min.)	30,40	51,80
autocoagulação (5 dias)	44,00	71,50

FONTE: CHAVES (1987).

TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979) obtiveram um concentrado de folhas de mandioca com extração por precipitação isoelétrica (ácida), seguida de termocoagulação com teor de proteína, variando de 40% a 50%. A recuperação da proteína no processo de extração foi de 30%.

Neste experimento foram encontrados para extração, utilizando precipitação ácida, teores de proteína bruta de 50,00% para o Método 2, utilizando folhas desidratadas com rendimento de concentrado protéico seco de 35,61%. Utilizando folhas frescas obteve-se rendimento de 53,57% de concentrado com teor de proteína de 38,10%, resultados comparáveis aos descritos por CHAVES (1987) e TUPINAMBÁ e VIEIRA (1979).

Para o processo de termocoagulação foi encontrado um teor de proteína de 65% no Método 7 para folhas desidratadas, no entanto um rendimento de concentrado de 12,50%. FASUYI e ALETOR (2005) utilizaram a termocoagulação para extração de proteínas e obtiveram teores de proteína variando de 42 a 50%. TANGKA (2003), utilizando a extração por termocoagulação para obtenção de concentrados protéicos de várias plantas, obteve resultados superiores a 37% de proteína.

Neste experimento não foi encontrado teor de proteína e rendimento de concentrado para extração por termocoagulação, superior ao citado por CHAVES (1987), porém o valor encontrado de proteína foi maior que os citados por FASUYI e ALETOR (2005) e TANGKA (2003).

No caso de extração por fermentação, foi encontrado no Método 5, para folhas desidratadas, 51,24% de rendimento de concentrado protéico com um teor de proteína de 51,24%. Para folhas frescas foi encontrado um rendimento de concentrado de 37,68% e um teor protéico de 49,55%, utilizando fermentação de dois dias. CHAVES (1987) utilizou extração por fermentação de cinco dias.

CHAVES (1987) cita que o tempo necessário para coagulação das proteínas pode variar de dois a oito dias, sendo que após 24 horas, o coagulado encontra-se bem sedimentado permitindo a retirada do excesso da parte sobrenadante por sifonação ou filtração.

DERENZO e ALDEIA (2000) compararam a extração por coagulação alcalina e por termocoagulação da proteína do capim elefante (*Pennisetum purpureum schum*). Os autores constataram que, para a extração por coagulação alcalina e pH 7,5, ocorreu eficiência de 60% na extração de proteína. Utilizando somente termocoagulação, obtiveram resultados superiores a 60% de eficiência na extração da proteína do capim elefante.

KOSCHUH et al. (2004) compararam processos de extração da proteína de alfafa e de uma espécie de gramínea por ultrafiltração e aquecimento (coagulação)/centrifugação. Para o suco de grama a recuperação de proteína obtida por ultrafiltração foi de 59% e por coagulação 45%. O rendimento protéico para o suco de alfafa foi de 52% por ultrafiltração de 53% por coagulação.

A escolha do melhor método de extração dependerá de vários fatores, como, custo da extração, valor nutricional do concentrado protéico de folhas de mandioca, finalidade de aplicação do concentrado protéico, entre outros. Como exemplo, para um agricultor que cultiva mandioca e pode utilizar as folhas de mandioca para produção de concentrado protéico para aplicação na alimentação de seus animais ou indústrias (exemplo, setor de biotecnologia) que necessitam de um concentrado protéico com mais qualidade, o método mais apropriado é a extração por autocoagulação (fermentação), Método 5 de

CHAVES (1987) que, segundo Beker et al. 1978, citados por CHAVES (1987), possui as seguintes vantagens:

- Ocorre a inativação de saponinas, inibidores de tripsina e outros, sem a utilização de reagentes químicos ácidos;
- Há um acréscimo na qualidade da proteína, devido à proteína microbiana;
- Há uma preservação da estrutura nativa da proteína;
- Aumento do teor em proteína no concentrado e;
- Maiores rendimentos na extração da proteína.

Além dessas vantagens, no processo de fermentação grande gastos energéticos são eliminados do processo; na etapa da fermentação a temperatura utilizada é ambiente; na etapa de separação do concentrado pode-se utilizar a filtração em tecido de algodão ou por sifonação, não necessitando de centrífuga que torna o custo mais alto (CHAVES, 1987).

No entanto, considerando uma indústria alimentícia que utilizará o concentrado em larga escala, o método mais apropriado é o 2, descrito por CEREDA e VILPOUX (2003) que produz maiores quantidades de concentrados e o tempo extração é menor, Entretanto, é necessária uma centrífuga para separação do concentrado.

Os métodos 6 (TUPINAMBÁ; VIEIRA, 1979) e 7 (FASUYI; ALETOR, 2005) mostraram ser métodos que produzirão bons rendimentos na extração e teores de proteínas elevados, no entanto, o custo do processo é maior pois, necessita de calor.

5 CONCLUSÕES

A utilização da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), resíduo da agroindustrialização da mandioca como alternativa de proteína, avaliada neste trabalho mostrou-se adequada para a produção de concentrados protéicos requeridos para o uso em alimentação animal, na indústria alimentícia e no setor de biotecnologia.

Foram avaliados sete métodos de extração de proteínas das folhas de mandioca. O Método 2 e 4, descrito por CEREDA; VILPOUX (2003), e o Método 5, descrito por CHAVES (1987), obtiveram rendimentos de extração mais elevados, com vantagens que o Método 5 produz concentrados com mais qualidade protéica e menores custos e o Método 2 produz concentrados em menor tempo de extração.

A utilização de duas extrações consecutivas não melhorou o rendimento na produção do concentrado protéico, somente reduziu a perda de massa que ocorreu na utilização de uma etapa de extração. A massa perdida não foi a de proteína, que na primeira extração já foi em grande parte extraída, não sendo necessária a aplicação de duas extrações.

Para a extração de proteínas não houve diferença da utilização de folhas frescas ou desidratadas, sendo que a extração das folhas frescas foi mais fácil, no entanto, a extração das folhas desidratadas tem a vantagem das folhas terem maior durabilidade e redução de alguns componentes tóxicos, como o cianeto.

Esses resultados comprovam que as folhas de mandioca podem ser uma alternativa protéica, quando passadas por processos adequados que produzem o concentrado protéico e que reduzem os fatores tóxicos e antinutricionais, como os altos teores de fibras. Assim as folhas podem deixar ser um resíduo e se tornar um subproduto de valor agregado.

6 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

Com este trabalho várias pesquisas podem ainda serem realizadas, citadas nos itens abaixo:

- Estudo da viabilidade econômica dos métodos de extração de proteínas;
- FASUYI e ALETOR (2005) citam em seus trabalhos que a extração de proteína por meio de termocoagulação reduz significativamente o teor de fibra. Então sugere-se a avaliação de minimização dos métodos de extração aqui estudados;
- Avaliação da redução de fatores tóxicos no processo de extração;
- Avaliação da qualidade nutricional dos métodos de extração citados por CEREDA e VILPOUX (2003). Para os outros autores, em seus trabalhos foram avaliados a qualidade nutricional dos concentrados obtidos por eles.
- Avaliação das propriedades funcionais para verificação de qual método seria mais adequado ser utilizado para indústrias.

REFERÊNCIAS

ADEWUSI, S. R. A.; BRADBURY, J. H. Carotenoids in Cassava: comparison of open column and HPLC methods of analysis. **J. Sci. Food Agric.** London, v. 62, p. 375-383, 1993.

ALETOR, V. A.; ADEOGUN, O. A. Nutrient and antinutrient constituents of some tropical leafy vegetables. **Food Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 375-379, 1995.

ALVES, L. R. A; FELIPE, F. I. **Preços continuam altos, ofertas restritas, mas avança a estruturação do setor** - Análise dos mercados de raiz e fécula de mandioca em 2004. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – Esalq, USP. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br>>. Acesso em: 9 de agosto de 2005.

BRANDÃO, C. T.; BRANDÃO, R. F. **Alternativas Alimentares**. Brasília: CNBB – Pastoral da Criança, 1989. 51 p.

CARVALHO, V. D. et al. Efeitos da época da colheita na produtividade e teores de vitamina C e β caroteno da parte aérea de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta*, Grantz). **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v. 8, n. 1, p. 25-35, 1989.

CARVALHO, VANIA D.; KATO, MARIA S. A.; Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. **Revista Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n. 145, p. 23-27, 1987.

CARVALHO, V. D.; CARVALHO, J. G. Princípios tóxicos da mandioca. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte – MG, v. 5, p. 82-88, 1979.

CEREDA, M. P.; **Resíduos da Industrialização de mandioca no Brasil**. São Paulo: Paulicéia, 1994, 174 p.

CEREDA, M. P. et al. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo – SP: Fundação Cargill, 2001, 320 p. (Série Culturas de Tuberosas amiláceas Latino Americanas, 4).

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O., Potencialidades das proteínas de folhas de mandioca, 2003. In: CEREDA, M. P., **Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**, v. 3, São Paulo: Fundação Cargill, 2003. p. 683-693.

CHAVES, J. G., Extrato protéico das folhas de mandioca, **Revista Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n. 145, p. 47-52, 1987.

CORRÊA, H. **Produção e composição química de raízes e ramas de mandioca em diversas épocas de colheitas e o efeito da poda na produção de raízes**. Viçosa, 1972. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa.

CORRÊA, A. D. et al., Farinha de Folhas de Mandioca I – Efeito da Secagem das Folhas sobre a Atividade da Linamarase. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 368-374, 2002.

CORRÊA, A. D, et al Remoção de polifenóis da farinha de folhas de mandioca, **Ciência Tecnol. de Alimentos**, Campinas-SP, v. 24, n. 2, 2004.

DERENZO, SILAS; ALDEIA, WAGNER. Estudo das condições operacionais da etapa de extração de proteína do capim elefante (*pennisetum purpureum schum*), utilizando como fonte energética. ENCONTRO DE ENERGIA DO MEIO RURAL, AGRENER, sept. 2000, An. 3. Scielo Proceedings.

EGGUM, B. O.; The Protein quality of Cassava leaves, **British Journal Of Nutrition**, v. 24, p. 761-770, 1970.

ESSERS, A .J. A. Further improving the enzymic assay for cyanogenics in cassava products. **Acta Horticulture**, Wageningen, v. 375, n. 1, p. 97-104, 1994.

FASUYI, A. O.; ALETOR, V. A. Varietal composition and functional properties of cassava (*manihot esculenta*, cranzt) leaf meal and leaf protein concentrates, **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 4 n. 1 p. 43-49, 2005. Asian Network for Scientific Information

FAUSTINO, J. O. et.al., Efeito da ensilagem do terço superior da rama de mandioca triturada ou inteira e dos tempos de armazenamento. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá - PR, v. 25, n. 2, p. 403-410, 2003.

FLORES, C. I. O. **Avaliação nutricional da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Grantz) desidratada**. São Paulo, 1998. 165 f. Tese (Doutorado em) - Universidade de São Paulo,

FURTADO, M. J. **Produção de forragem em seis cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no estado do Espírito Santo**. Lavras, 1987. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior Agronômica de Lavras, 1987.

GLÓRIA, M. M. et.al., Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Cidade, v. 20, n. 2, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL, **Métodos químicos e físicos para análises de alimentos**, v. 11, 3 ed., São Paulo: IAL, 1985, 533 p.

KLING, S. H. et al. Aproveitamento industrial das folhas de mandioca. **Inform. Inst. Nac. Tecnol.**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 11, 1976.

KOSCHUH, WERNER et al. Production of leaf protein concentrate from ryegrass (*Lolium perenne x multiflorum*) and alfalfa (*Medicago sativa subsp, sativa*). Comparison between heat coagulation/centrifugation and ultrafiltration, **Desalination**, v. 163. p. 253-259, 2004.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**, 3.ed. São Paulo – SP: Editora Sarvier, 2002. p. 975.

LIMA e LIMA, LUCIENE C. et al., Valor Nutritivo da Parte Aérea da Mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) em Função da Densidade e Altura da Planta, **Magistra**, Cruz das Almas – BA, v. 14, n.2, 2002.

MONTALDO, A. Whole plant utilization of cassava for animal feed. of a WORKSHOP HELD AT THE UNIVERSITY OF GUELPH, 18-20 April 1977, **Proceedings**, p. 95-106.

NÓBREGA, LÚCIA H. P.; et al. **Normas para elaboração de exame de qualificação e dissertação**. Cascavel – PR: Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, 2005, 25 p.

O'BRIEN, et al. Improved enzymic assay for cyanogens in fresh and processed cassava. **Journal Food Science Agricultural**, London, v. 56, p. 277-289, 1991.

OKE, O. L., Problems in the use of cassava as animal feed. **Animal Feed Science and Tecnology**, v. 3, p. 345-380, 1978.

PIRIE, N. W. **Leaf protein**: its agronomy, preparation, quality and use. Oxford: Blackweel, 1971. (International biological programme handbook, 20)

PELUZIO, MARIA C. G, **Caracterização Nutricional de Plasteína Obtida de Folha de Mandioca e da Caseína**. Viçosa – MG, 1993. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa – UFV.

PENTEADO, M. V. C; FLORES, C. I. O. **Folhas de mandioca como fonte de nutrientes**. São Paulo – SP: Fundação Cargill, 2001. p. 48-67. (Série Culturas de Tuberosas amiláceas Latino Americanas, 4)

RANVINDRIAN, V.; BLAIR, R. Feed resources for poultry production in Asia and the spring wheats, **Cereal Chemistry**, v. 39, p. 344–350, 1992.

ROGERS, D. J.; MILNER, M. Amino acid profile of manioc leaf protein in relation to nutritive value, **Economic Botany**, v.17, 1963.

SAGRILO, J. M. et al. Quantificação e caracterização dos resíduos agrícolas de mandioca no Estado do Paraná. CEREDA, M. P. (Coord). **Agricultura: Tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001, cap. 19, p. 413-434. (Série Culturas de Tuberosas Latino Americanas, 2).

SEBRAE – MG, **Perfil setorial: Mandiocultura – unidade de estratégias e diretrizes**. 2005. Disponível em: <www.sebraemg.com.br/.../geor/SIS/EstudosSetoriais> Acesso em: 9 de agosto de 2005.

SILVA, M. J.; ROEL, A. R.; MENEZES, G. P. **Apontamento dos cursos: cultivo da mandioca e derivados; engorda de frango caipira, 1**. Mandioca, frango, ração, silo, feno. Campo Grande – Mato Grosso do Sul: Gráfica GrafNews 2001, 100 p.

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

SOUZA, L. DA SILVA; FIALHO, J. DE FREITAS, **Cultivo da mandioca para a região do cerrado – importância econômica**. Embrapa: mandioca e fruticultura, sistemas de produção, 8. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/>>. Acesso em: 2 AGO 2005.

TANGKA, J. K., Analysis of the thermal energy requirements for the extraction of leaves protein concentrate from some green plants. **Biosystems Engineering**, v. 86, n. 4, p. 473-479, 2003.

TUPINAMBÁ, M. L. V. C.; VIEIRA, E. C.; Isolation of Cassava Leaf Protein and Determination of its Nutritive Value. **Nutritional Reports International**, v. 19, p. 249-259, 1979.

VITTI, P., FIGUEREDO, I. B., ANGELUCCI, E. Folhas de mandioca desidratadas para fins de alimentação humana. **Coletâneas do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 4, p. 117-125, 1972.

WHO FOOD ADDITIVES. **Toxicological evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants**. Cidade: International Programme on Chemical Safety. IPCS. FAO, 1993, 397 p. Series 30.