

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ENRIQUECIMENTO DA FARINHA DE
MANDIOCA POR FERMENTAÇÃO

Arlindo Moreira Sales
Farmaceutico-Bioquímico

Orientador:

Doutor Ricardo Sadir

Professor Livre Docente da Faculdade de
Tecnologia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas

Tese apresentada à Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciências de
Tecnologia de Alimentos.

1972

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

7.33

"Ah!. chinês !... que vida dura..."

(Ma. Conceição Araujo, cartas)

Aos meus amigos:

Pitã, Lena e Everaldo

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Ricardo Sadir, pela valiosa orientação na preparação desse trabalho.

*Ao Professor Doutor André Tosello, Diretor da Faculdade de Tec
nologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, pe
las facilidades proporcionadas ao autor.*

*Aos colegas latino americanos, que tornaram possível a realiza
ção desse trabalho.*

*A todos enfim, que direta ou indiretamente muito contribuíram,
e de quem boa vontade e estímulos terei sempre na lembrança.*

ÍNDICE

página

RESUMO.....	
SUMMARY.....	
INTRODUÇÃO.....	1
1. PRODUÇÃO DE ALIMENTOS.....	3
2. PROTEÍNAS UNICELULARES.....	5
3. MATÉRIA PRIMA.....	11
4. FERMENTAÇÃO DA MANDIOCA.....	16
5. ENRIQUECIMENTO DA FARINHA DE MANDIOCA.....	24
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40
CONCLUSÕES.....	43
QUADROS E FIGURAS.....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

...oooOooo...

RESUMO

A cultura da mandioca encontra-se espalhada por quase todas as regiões tropicais, onde contribui com uma parcela substancial na alimentação humana. É uma planta altamente produtiva, e o Brasil contribui com 1/3 da produção mundial. Pode ser consumida "in natura", ou sob a forma industrializada de farinha, raspa, gari e amido. No Brasil, prevalece a forma de farinha, cujo preparo é ainda rudimentar, em grande parte elaborado pela própria família, o que dificulta o melhoramento do produto e da própria cultura da mandioca.

É um alimento pobre em valor alimentício, constituído, principalmente de amido e com cerca de 1-2% de proteínas. Sabe-se que, nas regiões onde esse tubérculo é o alimento principal na dieta, prevalece a deficiência protéica. Em trabalhos de fortificação com proteínas e metionina, embora aumentasse o valor nutritivo, houve problemas de preço e de fornecimento desses produtos.

A introdução de mandioca é tecnicamente viável, podendo ser realizada com recursos técnicos e equipamentos existentes no Brasil. A incorporação de leveduras à farinha, resulta em um produto com maior teor de proteínas, vitaminas do complexo B e outros fatores nutricionais. Contudo, o nível máximo de adição deve ser determinado através de ensaios biológicos e toxicológicos, a fim de prevenir possíveis efeitos tóxicos.

SUMMARY

The cultivation of cassava is scattered throughout the tropical regions, and has contributed a great deal to human nutrition. It is a highly productive plant, and Brazil accounts for one third of the world production. It can be consumed as such, or in the form of industrialized products, such as cassava flour, chips, "gari", and starch. In Brazil, the predominating form is flour, the preparation of which is still rudimentary, and mostly done by the families themselves. This has an adverse effect on the improvement of the product and the cultivation of cassava.

Nutritionally, cassava flour is an inferior food being constituted mainly of starch and of about 1 to 2% of proteins. It is known that in places where cassava root is the principal constituent of the diet, the lack of proteins predominates. Its fortification with proteins and methionine, even though nutritive values were increased, created problems regarding costs and supply of the above products.

The introduction of a fermentation step into the cassava flour processing is technically possible, and can be realized with technical resources and equipment already existing in Brazil. The incorporation of yeast to cassava flour results in a product with a higher protein content, vitamins of the B-complex, and other nutritional factors. However, the maximum level of addition of yeast should be determined by biological and toxicological tests, to prevent possible toxic effects.

INTRODUÇÃO

A natureza da alimentação nos países em desenvolvimento, entre os quais se inclui - praticamente toda América Latina, já é bastante conhecida e tem sido objeto de vários estudos, em quase todos os seus aspéctos, por várias instituições ou pesquisadores isolados. Estas dietas compõem-se principalmente de cereais, como arroz e milho e de outros alimentos amiláceos como a batata e a mandioca. Muito embora, em certos locais possam ser suficientes em quantidade, são deficientes em qualidade ou por falta de hábitos alimentares adequados ou por serem constituídos de produtos pobres em proteínas e outros fatores nutricionais.

A mandioca é uma cultura originária das Américas, que se propagou rapidamente por todas as áreas tropicais e constitui hoje, a base alimentar de uma parte considerável da população, em extensas regiões da África, Ásia e América. Apresenta rendimentos elevados, até mesmo em solos já esgotados por outras culturas. Resiste fácilmente às pragas e estiagem longa. Todavia, apresenta baixo teor de proteínas e, muito embora não esteja comprovada a relação entre o consumo de mandioca e a deficiência proteica, esta é prevalente em áreas onde o tubérculo constitui a principal fonte de alimento da população.

Nesta revisão bibliográfica se discute a possibilidade de aumentar o teor de proteínas e melhorar o valor nutritivo da farinha de mandioca, através de um processo fermentativo submerso. O amido que constitui cerca de 85% da matéria sêca, é inicialmente convertido em açúcares fermentescíveis e em seguida, utilizado por leveduras, como fonte de carbono para a síntese de proteínas. Nestes processos de síntese microbiológica de proteínas, além da fonte de carbono, é necessário suplementar o meio com uma fonte de nitrogênio e fósforo, a fim de obter-se bom rendimento em biomassa.

As leveduras que são os microrganismos mais estudados até agora como fonte de proteínas, apresentam um elevado teor de proteínas, sendo o teor de lisina mais elevado que nas proteínas de cereais e outros vegetais. Além disso, as leveduras sintetizam praticamente todas as vitaminas do complexo B, bastando um consumo diário de cerca de 8g para satisfazer as exigências nutricionais em vitaminas de um adulto.

Em virtude do elevado consumo da farinha de mandioca nas zonas rurais, é forçoso considerar-se todas as possibilidades de elevar o teor de proteínas deste alimento. Neste trabalho, apenas se considera a possibilidade de enriquecer o alimento através de fermentação, sem subestimar as outras alternativas existentes, como por exemplo, suplementação com proteína isolada de soja e aminoácidos essenciais.

1. PRODUÇÃO DE ALIMENTOS

A produção de alimentos em quantidade capaz de acompanhar a taxa de crescimento populacional nos níveis atuais, precisa utilizar-se de todos os recursos que a ciência e a tecnologia possam oferecer. Isto, à primeira vista, parece ser demasiado complexo quando consideramos as condições sócio-econômicas das regiões onde existe maior necessidade de elevar o nível de vida das populações e aumentar a produção agrícola e animal. O QUADRO 1, reproduzido por Pawlew (36), mostra a situação nutricional nos diversos continentes, em relação à ingestão proteica e calórica.

QUADRO 1 Contraste no Status nutricional entre as regiões economicamente desenvolvidas e as regiões economicamente em desenvolvimento.

Ítem	Grupo I	Grupo II
Kcal/pessoa/dia	2.150	3.060
Prot. total/pessoa/dia.	58	90
Proteína animal/pessoa/dia.	9	44
População (1958), em milhões.	2.001	858

Extraído de : Pawlew, W.H. (36).

O grupo I, compreende o Oriente próximo, Extremo Oriente, África e América Latina com exceção do Uruguai e da Argentina. O Grupo II, compreende Europa, inclusive Rússia; Estados Unidos, Canadá, Argentina, Uruguai, Nova Zelandia e Austrália. No Grupo II, estão os países onde a ingestão calórica atinge mais de 3.000 kcal/pessoa/dia, comparado com uma ingestão de pouco mais de 2.000 kcal/pessoa/dia nos países do grupo I. Existe evidentemente diferenças de país a país, porém não invalida a legitimidade dos dados apresentados. Torna-se evidente que um aumento na ingestão calórica para atingir, por exemplo, 3.000 kcal/pessoa/dia, não deve ser conseguida às custas de acréscimo no consumo de hidratos de carbono.

Tradicionalmente, os alimentos proteicos de origem animal que apresentam boa com posição de aminoácidos, são mais caros que os produtos vegetais (31,46). Para au mentar a produção de proteínas, que é o alimento mais deficiente na alimentação , organismos como a Food and Agricultural Organization (FAO) e o Protein Advisory Group (PAG) das Nações Unidas, têm recomendado as seguintes medidas: Fortificação e melhoramento genético dos cereais, aumento da produção animal, extração de proteínas das sementes oleaginosas, utilização de concentrado proteico de peixe e proteínas unicelulares, compreendendo bactérias, fungos, leveduras e algas. Quân do se estuda a possibilidade de utilização de ^{um} produto novo como fonte de proteí nas, além do seu valor nutricional, representado pela composição de aminoácidos essenciais e valor biológico, outros fatores também determinam sua viabilidade. O custo deve ser levado em conta, principalmente se o produto se destina a atender a deficiência protéica nas populações de baixa renda. A aceitabilidade do produto em relação às propriedades organolépticas como aroma, sabor, cor e textura, e os hábitos nutricionais da população, são quase tão importantes quanto os aspéctos econômico e tecnológico (15,16).

2. PROTEÍNAS UNICELULARES

A idéia de se consumir microrganismos como um alimento muito embora não fôsse amplamente difundida na época, tem, segundo Snyder (43), cerca de 30 anos. Apenas recentemente, em virtude das dificuldades de se produzir alimentos, em particular alimentos protéicos, em quantidade suficiente para atender as necessidades das populações crescentes, é que os microrganismos começaram a ser estudados de forma intensiva como uma fonte de proteínas (4,9,19,33). Numerosas razões determinaram o rápido desenvolvimento deste ramo da tecnologia, conhecido como "Single-Cell Protein" (Proteínas Unicelulares). Entre elas, podemos destacar as seguintes: Rápido crescimento dos microrganismos; um grau de controle efetivo que se pode exercer sobre as condições de cultivo; conversão de nitrogênio inorgânico a nitrogênio orgânico (proteínas); e utilização de matérias primas de baixo custo, ou mesmo sem valor econômico. Outra razão salientada por Lipinsky (31), é que os microrganismos desempenham um papel substancial na cadeia de produção de alimentos e não são diretamente competitivos com o homem em relação às dietas tradicionais. Por exemplo, o porco necessita de aproximadamente 4 a 5 kg de alimentos para produzir um kg de carne; os microrganismos além de ter uma taxa de conversão muito mais eleve do que os outros organismos, utilizam matérias primas que não são diretamente consumidas pelo homem. Por outro lado, as objeções que são feitas à utilização dos microrganismos como fonte de proteínas, referem-se ao teor de ácidos nucleicos e outras toxinas que eventualmente poderiam ser produzidas por determinadas espécies de microrganismos. O valor estético dos alimentos, pode ser englobado dentro das conceituações para introdução de produtos novos nas dietas das populações de baixe renda, onde se observa uma maior resistência, devida aos tabus alimentares da população:

2.1. Substratos:

Muito embora representem uma fonte adicional de proteínas, até o presente, há apenas, uma tecnologia estabelecida para a produção de leveduras em substratos de hidratos de carbono, como melaços, soro de leite, licor sulfítico da indústria de papel, resíduos de processamento de batatas, etc (19).

Um resumo dos processos existentes para proteínas unicelulares, em seu estágio de desenvolvimento, foi feito por Tannenbaum (48). A produção de leveduras em substratos de hidratos de carbono, apresenta as seguintes características,

2.1.1. Melaços:

Geralmente são utilizados melaços de cana, beterraba e melaço da indústria de citrus, sendo os dois primeiros a principal fonte de carbono e nutrientes para produção de leveduras. Segundo Peppler (39), atualmente apenas 8% da produção mundial de melaço, se destina à produção de leveduras; 8% é utilizado na produção de ácido cítrico e ácido glutâmico e 8%, utilizado pela indústria farmacêutica para produção de vitaminas e outros ácidos orgânicos. A produção mundial é estimada em 14,44 milhões de metros cúbicos, do qual 73% se destina a produção de rações para gado. O melaço de cana e de beterraba tem praticamente a mesma quantidade de açúcares, cerca de 50%, e fornece açúcares fermentescíveis, minerais, vitaminas e outros fatores nutricionais. No processo melaço-amônia, para produção de leveduras, a matéria prima é uma mistura de melaço de cana e melaço de beterraba (40), adicionado de amônia líquida, sulfato de amônio, fosfato dibásico de amônio ou outro sal de fósforo e sulfato de magnésio. Neste processo, rendimentos de 40 a 60% de leveduras seca, têm sido obtidos, em relação aos açúcares fermentescíveis. Sendo que se obtém melhores rendimentos, quando, mantendo-se constantes os outros fatores, os requerimentos de nitrogênio, fósforo e magnésio são cuidadosamente determinados. O fator limitante na utilização deste substrato, é sua disponibilidade em determinadas regiões, o que dificulta operar em escala industrial. Outro aspecto, é que o melaço é utilizado na produção de ácidos cítricos glutâmico e outros produtos e já apresenta custo elevado no mercado, comparado com outras fontes de hidratos de carbono.

2.1.2. Resíduos Sulfíticos:

Da mesma forma que o melaço, resíduo sulfítico da indústria de papel é um dos substratos mais utilizados para produção de leveduras. Porém, não apresenta como no caso do melaço, valor alto no mercado. Representa de fato, um problema de resíduos industriais (43) e a produção de leveduras é considerado como um tratamento deste resíduo. Aqui, o microrganismo empregado é uma linhagem de levedura *Candida utilis*, adaptada para crescer em resíduo sulfítico. Esta levedura metaboliza hexoses, pentoses, ácidos e outras substâncias, sendo que por causa disso, o

rendimento é cerca de 10% mais elevado que o calculado em relação aos açúcares redutores.

2.1.3. Soro de Leite:

Outro substrato empregado para produção de leveduras é o soro de leite, das indústrias de laticínios. Segundo Peppier (39), não existe no "National Formulary", (U.S.), especificações para leveduras produzidas neste meio. Porém, uma indústria existente em Visalia, na Califórnia, utiliza uma linhagem de *Saccharomyces gracilis* que fermenta a lactose. A temperatura para crescimento desta levedura é de 32°C; o pH é mantido entre 5,0 e 5,7 com adição de fosfato de amônio, sulfato de amônio e ácido sulfúrico para manter a acidez do meio. Nestas condições obteve-se rendimentos de 51% de matéria seca, com 7% de umidade e 9% de cinzas.

2.1.4. Celulose:

É a matéria prima mais abundante, compreendendo palpa de café, palha de milho, palha de cana, madeira, etc. Por hidrólise a celulose produz cerca de 30% de glicose, e 70% de pentoses, que são assimiláveis por linhagens de *Candida utilis* semelhantes àquelas empregadas no tratamento de resíduos sulfíticos. Do ponto de vista econômico, a etapa mais importante é a conversão destas matérias primas em açúcares fermentescíveis. As pesquisas neste setor, devem ser orientadas no sentido de encontrar linhagens de microrganismos com elevada atividade celulolítica e bom rendimento em massa celular.

2.1.5. Amido:

É mais facilmente hidrolisável que a celulose. Pode ser fermentado diretamente por certas linhagens de fungos e leveduras amilolíticas, tornando-se particularmente, importante em áreas tropicais que produzem grande quantidade de tubérculos amiláceos como batata e mandioca.

Além desses aspectos relativos a escolha do substrato, outro fator de fundamental importância no estabelecimento de um processo de proteínas unicelulares é a escolha do microrganismo apropriado. O QUADRO 2 apresenta os aspectos mais relevantes a serem considerados na escolha de um microrganismo para produção de proteínas.

Do ponto de vista nutricional, os fatores mais importantes a considerar, são: Conteúdo de proteínas, composição de aminoácidos essenciais, digestibilidade das proteínas e teor de ácidos nucleicos. O teor de proteínas é variável e depende tanto do microrganismo selecionado, como das condições de cultivo, composição do meio etc. (14). Por exemplo, se os microrganismos se desenvolvem sob condições de quantidade limitantes de nitrogênio, na presença de excesso de carbono, eles tendem a armazenar glicogênio e ácido poli-β-hidroxibutírico, se forem bactérias; e gordura e outros lípidios, tratando-se de fungos e leveduras (33). O teor de proteínas calculado como $N \times 6,25$, resulta ser maior do que o verdadeiro teor de proteína existinte, em virtude da presença de nitrogênio das bases purina e pirimidina, e de aminoaçucaras da parêde celular. A ocorrência de isômeros dextrôgiro como d-glutamato, etc., na parede celular de bactérias, pode também, conduzir a falsa estimativa do balanço de aminoácidos, a menos que se ^{empregue} ~~se~~ ensaios biológicos adequados. Dados relativos a composição química, percentagem de proteínas, aminoácidos e vitaminas, são encontrados nos trabalhos de Bressani (6), Pyke(41), Finn (20) e Mateles (33). Com relação ao teor de proteínas, as leveduras apresentam em geral 50 a 55% as bactérias, 50 a 80%; os fungos, 15 a 45% e as algas, 20 a 80% de proteínas. O QUADRO 3, apresenta a composição de aminoácidos essenciais de bactérias e leveduras em substratos de hidratos de carbono e hidrocarbonetos, comparados com o padrão da FAO (33). O conteúdo de lisina é elevado e em muitos casos, significativamente superior ao referido padrão. Por este motivo, as leveduras têm sido largamente empregadas na suplementação de cereais, parquanto estes são deficientes em lisina (6). Em relação ao teor de metionina, exceto nas bactérias do rúmen(33), os níveis desse aminoácido e a cistina são baixo e limitam o valor biológico das proteínas. A relação entre aminoácidos essenciais e aminoácidos totais, E/T, nas proteínas de leveduras varia entre 2,92 e 3,26, o que as coloca entre as proteínas de melhor qualidade. O valor nutritivo de microrganismos, especialmente, das leveduras, tem sido objeto de exaustivas investigações. Bressani (6), Waslien e colab. (54), observaram que as proteínas de leveduras em geral são deficientes em aminoácidos sulfurados e apresentam valor nutritivo semelhante. Entretanto, quando são suplementadas com metionina, elas melhoram a digestibilidade; um fenômeno que usualmente não ocorre, apenas pela adição do aminoácido deficiente em proteínas (6).

Quanto aos aspectos tóxicos, exceto os fatos suficientemente estabelecidos, como patogenicidade de determinadas bactérias e toxinas produzidas por alguns fungos, existe pouca referência sobre o assunto (4). A maioria dos trabalhos existentes referem-se ao conteúdo de ácidos nucleicos, particularmente em leveduras, por serem há muito tempo empregadas na suplementação de dietas, como fonte de vitaminas e proteínas. O risco que oferece a ingestão prolongada destes alimentos é o conteúdo de ácidos nucleicos, relacionados com o teor de ácido úrico no sangue e na urina. O aumento de ácido úrico no sangue, hiper-uricemia, pode ocorrer durante longos períodos em jejum total, pode ser causado por um gene dominante autossomal ou resultante do catabolismo de purinas preformadas na dieta (36). A falta de enzima uricase, que converte o ácido úrico a alantoína, conduz ao acúmulo deste no sangue, provocando deposições de cristais de uratos nas articulações, responsável por sintomas de gota. Experiências realizadas com leveduras (4,6,34), demonstraram que a ingestão de ácidos nucleicos, de forma que o nível de ácido úrico não seja superior a 7 mg/100ml de sangue, não deve ultrapassar de 2g. Como as leveduras têm em média 6 a 8% de ácido nucleico, a ingestão de levedura recomendada é de 20 -40g/dia.

Outro fato devidamente comprovado, é que o teor de ácido nucleico depende diretamente da taxa específica de crescimento (14); nas bactérias, tende a ser elevado, de 5 a 20%, quando estas se desenvolvem rapidamente (33). A dependência entre o conteúdo de ácido ribonucleico, RNA, em *Candida utilis* e a taxa específica de crescimento, estudada por Fencel (19), é mostrada na FIGURA 1. Este trabalho permitiu ao autor observar que os microrganismos na fase de crescimento exponencial, produzem muito mais ácidos nucleicos, sendo seu conteúdo 2 a 3 vezes mais elevado que na fase estacionária de crescimento.

Todavia, a redução de ácido nucleico na proteína de microrganismo, reduzindo a taxa específica de crescimento, não é recomendável porque rápido crescimento é obrigatório para produção em escala econômica (25). As recomendações neste sentido, tem sido a redução através de nucleases da própria célula (33) ou, segundo Hødenskog (25), a redução mediante desintegração mecânica das células, precipitação das proteínas por ácido e posterior redução do teor de RNA, através de precipitação pelo calor com ou sem adição de sais.

Quando bactérias e leveduras, crescem em substratos de hidratos de carbono, o rendimento geralmente situa-se em torno de 50% de matéria seca em relação aos açúcares fermentescíveis, enquanto que com fungos, dificilmente são obtidos rendimentos elevados. Para bactérias e leveduras crescendo em hidrocarbonetos, rendimentos de 60 a 90%, podem ser obtidos. Porém, embora produzem mais massa por unidade de substrato, o requerimento de oxigênio é 2 a 3 vezes mais elevado do que para substratos de hidratos de carbono (33). Da mesma forma, a quantidade de calor produzida, resultante da oxidação desses compostos, é também, 2 a 3 vezes mais elevada do que a oxidação de hidratos de carbono, aumentando consideravelmente os custos de fornecimento de oxigênio e refrigeração do meio. Finalmente, em relação ao preço, apenas para produção de leveduras em grande escala, utilizando substratos de hidratos de carbono, os americanos estimam um custo industrial aproximado de CR\$ 3,00 kg. de proteína (U.S. \$ 0,50/kg de proteína).

3. MATÉRIA PRIMA

3.1. Origem

Evidências arqueológicas indicam que a mandioca é originária das Américas, havendo dois centros de origem: um no México e América Central e outro no norte de Brasil. Os primeiros portugueses que chegaram ao Brasil já encontraram os indígenas cultivando a mandioca. A verdadeira cultura, segundo Scholz (42), parece ter se originado no norte do Amazonas e Pará, abrangendo as Guianas Britânica, Holandesa e Francesa. Deve-se destacar ainda, o papel desempenhado pelos indígenas tupis, botocudos e bugres no melhoramento de variedades de mandioca brava. Estes fatos são justificados pela gama de vocábulos de origem indígena para identificar variedades de mandioca e pratos preparados com este tubérculo, como poquera, arabê, carimã, tupi, etc. (29). A propagação da mandioca na África e Extremo Oriente é relativamente recente. O seu cultivo nos territórios da África Oriental depois de 1935, cresceu como o esforço dos árabes e europeus, cientes de sua viabilidade no combate aos frequentes períodos de fome e penúria (21). Em 1850, foi levada diretamente do Brasil para Singapura e Malásia. Quando começaram as plantações de Hevea naquela região, que era economicamente mais rendosa, a cultura de mandioca deslocou-se dessas regiões para outras partes da Indonésia.

3.2. Nomenclatura:

A mandioca pertence a família Euphorbiaceae, gênero Manihot. Entretanto, por ser uma cultura muito antiga, com um intercâmbio de mudas e sementes muito intenso, tem havido certa confusão na posição sistemática da espécie, devido principalmente a perda de suas características primitivas. A tendência atual é de se aceitar a classificação botânica de Jatropha dulcis para as variedades mansa (aipim, macaxeira, tac.) e Manihot utilissima, Pohl para mandioca amarga. Essa classificação todavia leva em consideração somente o fator toxicidade, representado pelo teor de ácido cianídrico das variedades. Na opinião de Scholz (42), seria aconselhável organizar uma coleção de todas as "variedades" existentes no Brasil, procedendo-se em seguida uma rigorosa seleção e padronização dos nomes vulgares, a fim de que se possa escolher as melhores cultivares para a exploração da mandioca em bases econômicas.

3.3. Cultura

Em virtude de tratar-se de uma planta de fácil cultivo, apresentar rendimento elevado, ser pouco afetada por pragas e moléstias, as regiões onde se cultivam a mandioca têm aumentado rapidamente. Muito embora não seja mencionada com frequência as produções parciais das variedades mansa e amarga, o cultivo da variedade amarga é muito maior que a variedade mansa, embora esta última seja mais indicada para consumo humano. O QUADRO 4, mostra os principais países produtores de mandioca, área plantada, produção e produtividade per capita. A produção mundial de tubérculos de mandioca é estimada em 100 milhões de toneladas/ano (18), sendo o Brasil o primeiro produtor desde há muito tempo. Atualmente, com uma área plantada de 2 milhões de hectares, a produção estimada no país em 1970, foi de 29.464.275 toneladas (3). Grande parte da produção brasileira se destina ao consumo local, principalmente nas zonas rurais e uma pequena parcela às exportações. Ver QUADRO 5. A mesma situação verifica-se para importantes produtores de mandioca, como a Nigéria, Indonésia, Índia, Colômbia, etc. . Apenas na Tailândia, o maior exportador de derivados de mandioca, este tubérculo não constitui uma parcela importante na alimentação da população (21,50).

3.4. Rendimento

Como se pode ver pelo QUADRO 6, o rendimento da mandioca em ton/ha, praticamente tem se mantido constante nos últimos 20 anos. Estes dados de produção, todavia, referem-se às colheitas por safra no ano mencionado, sem levar em consideração, o ciclo vegetativo da planta nas diversas regiões. Scholz(42), analisando o tempo de ocupação real do solo em relação à safra, mostra que o rendimento verdadeiro nas regiões compreendidas pela Bahia, Pernambuco e Sergipe, é de 37% mais elevado do que na região sul. Segundo a publicação da FAO, Cassava Processing(21), quando a mandioca é cultivada por métodos tradicionais, o rendimento variade 5 a 20 ton/ha podendo alcançar 40 ton/ha, com tecnologia especializada. Para algumas variedades, em determinadas condições pode-se obter rendimentos superiores a 60 ton/ha.(5,21, 42).

3.5. Composição

Estudos sobre a composição química da mandioca têm demonstrado que esta apresenta considerável variação, dependendo de fatores, tais como variedades, tratamentos culturais, idade da planta, etc. A tabela seguinte, dá a composição de várias amostras, cultivadas na região sul para fins industriais (62).

Umidade	60	a	65%
Amido	21	a	33%
Gordura	0,18	a	0,24%
Proteína	1,0	a	1,5%
Fibras	0,7	a	1,66%
Cinzas	0,9	a	1,9%

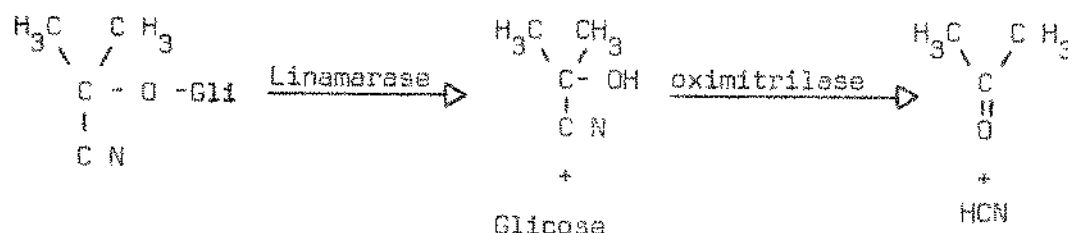
Outros dados relativos a composição da mandioca, mostram os seguintes resultados (21,29,42); (a) amido, de 21 a 35%, sendo este resultado ligeiramente mais baixo para variedades mansa; (b) proteínas, inferior a 3%; cinzas, em torno de 1%; fibras, de 0,6 a 2,5%; gordura, inferior a 1%. Em relação ao teor de proteínas, apenas uma variedade mereceu atenção especial. Trata-se de *Manihot saxicola*, uma variedade silvestre, existente nas guianas, que segundo Scholz (42), apresenta um elevado teor de proteínas, podendo atingir até 16%. É também rica em ácido cianídrico e pobre em amido.

3.6. Teor de ácido cianídrico

A mandioca apresenta um princípio tóxico, o ácido cianídrico, encontrado nas raízes e folhas, tanto na forma livre como quimicamente combinado. O ácido cianídrico tem como origem um glicosídeo cianogênico, *Linamarin*, que pela ação da enzima linamarase, libera ácido cianídrico, glicose e acetona. FIGURA 2. A presença de ácido cianídrico pode ser facilmente reconhecida pelo sabor amargo das raízes, podendo variar de alguns miligramas até 250mg, ou mais, por quilograma de raízes frescas. Este aspecto de toxicidade, representado pelo teor de ácido cianídrico, separa as variedades mansa, para consumo humano direto, das variedades amargas que são as mais utilizadas para fins industriais.

FIGURA 2

Liberação de ácido cianídrico do glicosídeo *Linamarin* pela ação da enzima linamarase (12).



3.7. Valor nutricional

Os QUADROS 7 e 8 mostram a composição da mandioca, comparada com batata, farinha de batata e arroz integral (21). Desafortunadamente, a mandioca é um alimento pobre em relação aos constituintes básicos, sendo inferior à batata e ao arroz. Apesar disso, a mandioca que originalmente, constituía uma fonte de alimentos apenas em determinadas regiões da América Latina, nos dias atuais, vem paulatinamente substituindo o arroz em regiões onde, durante séculos este cereal tem constituído o principal alimento. As deficiências nutricionais relacionadas com o mal de Kwaskiorkor, consiste em que: pessoas ou grupos de pessoas, consomem excessiva quantidade de alimentos amiláceos como a mandioca, que atende as necessidades calóricas, produzindo uma sensação de saciedade. Tais dietas, muito frequente em várias regiões do Brasil, como Vale do São Francisco, Zona da Mata em Pernambuco, na Bahia, etc., conduzem irremediavelmente a deficiência proteíca e vitamínica, se adequadas medidas preventivas não forem tomadas.

3.8. Consumo

Apesar das deficiências nutricionais que a farinha de mandioca apresenta, ela é consumida da igual maneira, tanto nas zonas rurais como nas áreas urbanas. O consumo deste alimento no período 62/63, chegou a 199,6Kg/hab/ano, nas zonas rurais,

comparado com o consumo de 40,3kg/hab/ano, de arroz; 34,8 kg de feijão e 29,8 kg/hab/ano de milho, na mesma região. O consumo de farinha de mandioca nas áreas urbanas, no mesmo período, foi de 40kg/hab/ano, comparado com 38,4 kg de arroz, 19,6kg de feijão e 3,0kg/hab/ano de milho (32,45).

4. FERMENTAÇÃO DA MANDIOCA

A produção e consumo de alimentos fermentados pelo homem, data desde a mais remota antiguidade. No ocidente, são conhecidos o queijo e produtos fermentados de leite; o xucrut, azeituna, o pão, etc. Nos países orientais, os produtos fermentados de soja, como molho de soja, miso, tempeh, tofu, etc., têm uma importância fundamental na alimentação daqueles povos. A mandioca fermentada também vem sendo consumida por alguns povos. O gari e o fufu, fazem parte da alimentação em alguns países africanos, da mesma forma que o polvilho azedo no Brasil. Aqui, apenas se discute os trabalhos relativos a fermentação da mandioca, para obtenção de proteínas ou para melhorar a qualidade de algum alimento regional, tendo como base a mandioca.

4.1. Produção de gari:

Um dos principais alimentos consumidos na região sul da Nigéria e costa da África Oriental, é o gari (2, 5, 11), um produto fermentado, preparado com tubérculos de mandioca. O processo tradicional de preparo do gari, consiste das seguintes etapas: as raízes são descascadas e raladas, extraíndo-se a maior parte do suco e a massa colocada em sacos, e posta para secar ao sol, por um período de 72 a 96 horas, durante o qual ocorre a fermentação. Após esse período, a massa é peneirada para eliminar fibras e partes não raladas, procedendo-se em seguida, a secagem final, sobre chapas de ferro com aquecimento direto. Collard e Levi (11), investigaram os aspectos microbiológicos envolvidos na fermentação, para determinar os processos necessários à sua mecanização. Isolaram da massa, durante o estágio de permanência em sacos, dois microrganismos. Um pertencente ao gênero *Corynebacterium*, caracterizado pela formação de colônias amarelas em agar nutriente, fermentava o amido, produzindo exclusivamente ácido. O outro microrganismo, um fungo, *Geotrichum candida*, que somente começava a se desenvolver quando já existia no meio, suficiente quantidade de ácidos.

Posteriormente, Akinrele (2), estudou a natureza das reações bioquímicas que ocorriam durante a fermentação, com o objetivo de estabelecer as melhores condições para modernização do processo.

Foi comprovado que a fermentação ocorria em duas etapas, durante as quais a massa era auto esterilizada. Na primeira etapa, a bactéria *Corynebacterium nanihot* ataca o amido, produzindo ácido lático e ácido fórmico, acompanhado de desprendimento de calor. Quando o pH abaixa para 4,25 um fungo, *Geotrichum Candida*, começa a crescer rapidamente, abaixando mais ainda o pH e produzindo as características de sabor e aroma do gari. Durante a fermentação, o ácido cianídrico é liberado por hidrólise espontânea de glicosídeo cianogênico. Este produto é muito semelhante à farinha de mandioca, exceto pela etapa de fermentação, e existe hoje equipamentos produzidos na África do Sul, especialmente para o processamento do gari. Contudo, não foi possível encontrar dados relativos a composição deste alimento.

4.2. Fungos imperfeitos como fonte de proteínas:

Gray e colab. (22, 23) iniciaram, em 1962, um projeto de pesquisa para investigar a potencialidade dos fungos imperfeitos, na conversão de matérias primas de baixo custo e nitrogênio em proteínas. O projeto foi inicialmente dividido em três etapas (23): (a) seleção dos microrganismos mais promissores a partir de uma coleção de 175 linhagens; (b) investigar os diferentes métodos para melhorar o rendimento e reduzir os custos; (c) testar e melhorar a qualidade do produto final.

A seleção de matéria prima foi baseada em seu conteúdo de hidratos de carbono, abundância na região e o custo relativo de produção. Batata e mandioca são abundantes nas zonas áridas tropicais e sub-tropicais, respectivamente. Melaço de cana, beterraba e polpa de papel, são sub-produtos de indústria de alimentos e outras indústrias. A maioria da matéria prima investigada era ou poderia ser viável em regiões onde há grande demanda de proteínas.

Na primeira fase do projeto, as 175 linhagens foram experimentadas em agitadores rotativos, usando glicose como fonte de carbono e nitrato de amônio como fonte de nitrogênio. Estes experimentos eram conduzidos durante 4 dias, para estabelecer um coeficiente econômico, para conversão de nutrientes. Coeficiente econômico, C.E., é igual ao número de unidades peso de hidratos de carbono (glicose) para sintetizar uma unidade peso de matéria seca. Das 175 linhagens ensaiadas, 7% ou menos tinha um C.E. entre 2,00 ou menor. Aproximadamente 45% apresentou um C.E. entre 2,01 e 3,00. A escolha da matéria prima seguiu o mesmo procedimento, no qual incluía a seleção das espécies mais promissoras capaz de utilizar a matéria em consideração.

Os trabalhos foram realizados em laboratório, usando 50 ml de meio em frascos erlenmeyers de 250ml. Os frascos eram inoculados e incubados por 4 dias, em agitadores rotativos sob condições controladas. Após esse período, o meio com micélio era filtrado, lavado, secado e submetido às diferentes determinações. Outros experimentos também foram realizados em frascos de 9 litros, contendo 9 litros e daí, em escala semi-piloto, empregando-se um fermentador de 250 litros com 150 litros de meio. Os resultados obtidos com algumas matérias primas são apresentados no QUADRO 9.

Na etapa seguinte foram investigados diferentes métodos de redução dos custos(23). O período de incubação de 4 dias, foi suficiente na maioria dos casos, para a síntese máxima de proteínas. A análise cromatográfica da composição de aminoácidos de 4 linhagens, revelou ser tão boa, do ponto de vista nutricional, quanto a caseína, como fonte de aminoácidos essenciais (23).

Baseados nos resultados dos experimentos anteriores, Gray e colab. (24), selecionaram as seguintes linhagens para os trabalhos com a mandioca: *Cladosporium cladosporioides* I-83, *Linderina pennisporea* I-100, e *Spicaria elegans* I-134. Os experimentos foram conduzidos com tubérculos de mandioca e com farinha. Nos ensaios anteriores, o material contendo hidratos de carbono, tinha sido adicionado ao meio até uma concentração final de 2% de hexose. No preparo de meio com raízes de mandioca, não foi possível trabalhar nesta concentração, uma vez que a viscosidade do meio após a esterilização impedia uma aeração adequada. Foi usado então, 50g/litro de meio, contendo aproximadamente 1,6% de hidratos de carbono. Utilizando-se farinha em substituição às raízes, foi possível preparar o meio com 30g/l. A análise de nitrogênio pelo método de Kjeldahl revelou 0,68% de proteínas nas raízes 2,8% na farinha, os ensaios foram conduzidos para selecionar as linhagens mais convenientes para serem utilizadas neste substrato. Foram usados frascos de 9 litros, com 5 litros de meio, com a seguinte composição: mandioca, 50g/l; cloreto de amônio, 1g/l; água de milho, 2ml/l. O pH do meio foi ajustado para 4,7. Inoculou-se com as linhagens, incubando-se por 4 dias com aeração. Os resultados após esse período estão no QUADRO 10. Sob as condições empregadas, a linhagem I-83 (*Cladosporium cladosporioides* I-83) produziu maior rendimento em micélio seco e sintetizou maior quantidade de proteínas por litro de meio. O uso de uréia como fonte de nitrogênio, em substituição ao cloreto de amônio, diminuiu a quantidade de proteína sintetizada. Adições de fosfato de potássio mais uréia, aumentou a quantidade de proteína sintetizada para 1,73g/l. Entretanto, por razões econômicas, é preferível usar cloreto de amônio, apesar da quantidade de proteína sintetizada ser menor.

4.2. Produção de queijo vegetal:

Baseados no processo usado na Indonésia para o preparo de temp^h e ontjon, o Tropical Products Institute, vem desenvolvendo um método de fermentação sólida da mandioca, conhecido como queijo vegetal, pela sua semelhança ao queijo tradicional, em relação à natureza dos microrganismos envolvidos, controle de fermentações e condições ambiente para maturação (45). Neste processo, diferentemente do que ocorre nos outros, em que se observa a modificação da proteína original, o resultado final, é a síntese de proteínas a partir de nitrogênio inorgânico. O processo, de uma maneira geral, foi desenvolvido da seguinte forma.

4.3.1. Preparo da massa:

Foi usada uma espécie de massa comercial, grosseiramente peneirada para produzir uma farinha tipo semolina, de acordo com as práticas no preparo de pastas. Em ensaios prévios, determinaram que a pasteurização da farinha a 70°C, durante 18 horas, evitava o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, sem provocar gelatinização do amido.

4.3.2. Escolha dos microrganismos:

Os microrganismos envolvidos no processo, pertencem aos gêneros: *Rhizopus*, *Neurospora*, *Mucor* e *Aspergillus*. Sendo os ensaios conduzidos principalmente com as espécies *Rhizopus oligosporus* e *Rhizopus stolonifer*.

4.3.3. Inóculo:

A linhagem selecionada foi inoculada em malte-agar, incubando-se a 27°C, por 5 a 7 dias. Em seguida, a massa micelial foi recuperada, homogeneizada, adicionada à solução nutritiva e misturada à farinha na proporção de 1-2 milhões de esporos/ml. No QUADRO 11, estão os dados sobre a composição da solução nutritiva, tempo de incubação e nitrogênio insolúvel em ácido tricloroacético. A pasta úmida era mecanicamente misturada por 10 a 12 minutos numa amassadeira, para produzir uma massa firme. Em seguida, era cortada numa máquina de extrusão tipo espagheti, obtendo-se peças de 10 - 12 cm com 3 a 5 cm de diâmetro. Os pedaços eram colocados em bandejas de alumínio, cobertas com uma lâmina fina do mesmo material e colocada na câmara de maturação. O sucesso do método depende do microrganismo, do inóculo utilizado, do emprego de aditivos e controle do ambiente. Os melhores resultados foram

obtidos a uma temperatura de 30°C, com umidade relativa de 95 - 97%. A faixa ótima de pH, variava entre 4,5 e 4,6,7, sendo preferível trabalhar em pH 5,5. O crescimento do microrganismo era lento nas primeiras 24 horas. Após esse tempo, se observava uma rápida penetração do micélio na massa e difusão sobre a superfície do produto. O processo demorava de 40 a 80 horas e era função do crescimento micelial e síntese de proteínas a partir da fonte de nitrogênio original.

Um segundo método, que emprega o processo de fermentação submersa de uma suspensão de farinha, com suplementação de nitrogênio e outros nutrientes, foi realizado por Brook e colab. (8). As experiências foram conduzidas para verificar a utilização de várias fontes de nitrogênio por fungos filamentosos, *R. stolonifer* M153, *R. stolonifer* M154 e *R. oligosporus* M175, semelhantes aos estudados por Gray e colab. (24); da mesma forma que outros microrganismos isolados da mandioca, os quais eram de se esperar que fossem resistentes a uma possível presença de algum inibidor natural (45). Inicialmente, empregando-se um meio com 3% de farinha, 0,3% de nitrato de amônio e 0,25% de fosfato monobásico de potássio. Procedeu-se a uma seleção das linhagens em frascos, sendo que os ensaios foram conduzidos a 27°C. Os resultados após 4 dias, estão no QUADRO 12. Como não foi possível obter amostras representativas nos estágios finais de fermentação em batelada, toda a experiência foi realizada em pequenos tubos inclinados. Quando o volume do meio foi elevado destes tubos para 2 litros, tornou-se necessário alterar a composição do meio, que passou a ser a seguinte: farinha, 2%; água de milho 2%; fosfato monobásico de potássio, 0,5%. Com esta nova composição, as linhagens *Mucor racemosus* M076 e *Rhizopus stolonifer* M263 elevaram o rendimento de 22 para 42%, tanto a 27 como a 37°C.

4.4. Produção de leveduras em cultura heterogênea:

Os processos existentes de produção de leveduras em substratos amiláceos, frequentemente são baseados na hidrólise ácida do amido, seguida da propagação convencional das leveduras. O emprego de ácidos, exige equipamentos mais resistentes a corrosão. No processo estudado por Jarl (26), duas linhagens de leveduras são, cultivadas simultaneamente em um processo de heterocultivação. A atividade enzimática da primeira, converte o amido em açúcares, predominantemente glicose, que é utilizado pela outra levedura, *Candida utilis*, a medida que vão sendo formados. Desde que a taxa de crescimento da levedura amilolítica é apenas moderada, o produto final consiste principalmente de levedura *Candida utilis*.

4.4.1. Método:

Partindo-se de culturas puras em batata-ager, as duas linhagens foram cultivadas em volumes crescentes, em condições aeróbicas. Na primeira fase, foram usados frascos em agitadores com meio esterilizado do material, suplementado apenas com nitrogênio, sob a forma de uréia e fosfato. Os dados apresentados nos QUADROS 13 e 14, mostram o comportamento das duas linhagens em meio de amido de batata e de mandioca, cultivadas separadas e em associação.

QUADRO 13 Cultivo de *Endomycopsis fibuliger* e *Candida utilis* NRRL -Y900, separadamente e em associação.

Substrato: batata-uréia; frascos em agitadores após 44 horas.

Linhagens de leveduras	Células/ml
<i>E. fibuliger</i>	$3.200.10^6$
<i>C. utilis</i>	200.10^6
<i>E. fibuliger</i> + <i>C. utilis</i>	$1.450.10^6$

Extraído de Jarl, K. (26).

Verificou-se que a linhagem amilolítica de *Endomycopsis fibuliger*, crescia bem em meio de batata, enquanto que a *Candida utilis* não utilizava o amido diretamente, sendo o limitado crescimento verificado após 44 horas, resultante do conteúdo de açúcares presentes no meio. Em associação com o *E. fibuliger*, ela crescia mais rapidamente em substrato de amido do que esta última, provavelmente porque utiliza o açúcar que se forma por hidrólise do amido. QUADRO 14.

Neste processo é importante observar uma correta relação *Endomycopsis/Candida*, que pode ser crítica para o início da fermentação. A atividade amilolítica do *E. fibuliger*, determina a taxa de conversão de amido em açúcares e em consequência, a capacidade de produção de leveduras. Quando se utiliza um fermentador maior, é necessário reforçar a população inicial de *Endomycopsis*, a qual pode ser conseguida desenvolvendo uma cultura pura de *Endomycopsis fibuliger* em paralelo com a propagação em cultivo associado.

Desta forma, a atividade da amilase, a taxa de hidrólise e a taxa específica de crescimento podem ser mantidas em níveis adequados.

Concluído o cultivo em agitador, as linhagens foram transferidas para um fermentador de 100 litros, mantendo sob controle os parâmetros estabelecidos como agitação, refrigeração, anti-espumante, etc.. A recuperação do produto após a fermentação foi realizada também de acordo com os métodos convencionais, ou seja: centrifugação, lavagem e concentração; o creme final com 14% de matéria seca, foi secado em tambor rotativo ou atomizador. Utilizando-se resíduos de batata como matéria prima, obteve-se um rendimento de 80% de levedura seca, em relação ao amido utilizável; a análise do material revelou 40% de proteínas. Com amido de mandioca, o rendimento foi de 46%, com um teor de proteínas de 50%. As condições sob as quais foram realizadas as fermentações não foram especificadas; acredita-se com tudo, que tenham sido semelhantes às condições descritas em outra parte deste trabalho.

4.5. Produção de proteínas em hidrolizado de amido de mandioca:

Outras experiências sobre a fermentação da mandioca foram realizadas por Straesser e colab. (46). Em uma planta de 100 litros, foram estudadas as condições de hidrólise ácida e enzimática do amido de mandioca em açúcares, posteriormente assimilados por leveduras. Ambos mostraram-se efetivos. O fluxograma do processo está reproduzido na FIGURA 3. Os trabalhos foram realizados com linhagens de leveduras *Candida utilis*, *Rhodotorula gracilis* e *Hansenula anomala*.

4.5.2. Método:

As raízes foram lavadas, raladas e a suspensão de mandioca ralada, conduzida a um tanque para hidratação do amido, onde permanecem por 30 minutos a 73°C. Depois, foi esterilizada a 110°C, durante 10 minutos; sendo, em seguida resfriado a 54°C e hidrolisado enzimaticamente por uma hora. Após a hidrólise, a temperatura foi novamente abaixada até 32°C. O meio foi suplementado com ácido fosfórico e amônia líquida, inoculado com as linhagens acima, deixando no fermentador por 4 horas, com controle de pH, temperatura, aeração e anti-espumante. Decorrido esse período, o meio foi centrifugado, recirculado, devolvendo a fração líquida para o tanque de hidratação e as células secadas em secador rotativo. O autor não faz referência as

condições de hidrólise, isto é, o tipo de enzima, a concentração de açúcar no fermentador, nem a quantidade de nutrientes adicionados. O conteúdo de proteína na matéria seca, determinado pelo método de Kjeldahl, apresentou os seguintes resultados:

Mandioca + <i>Candida utilis</i>	35 %
Mandioca + <i>Rhodotorula gracilis</i>	26,6%
Mandioca + <i>Hansenula anomala</i>	16,5%

Os autores, baseados nos resultados de laboratório e nos dados atuais existentes na literatura sobre a produção de leveduras, fizeram um fluxograma e procederam a uma estimativa preliminar do custo do produto enriquecido. O custo de processamento, estimado em CR\$ 1,62/kg de proteína (US\$ 13,5 cent/lb proteína), é comparável com os custos de outras proteínas como: farinha de soja e farinha de amendoim.

5. ENRIQUECIMENTO DA FARINHA DE MANDIOCA

5.1. Processamento:

A mandioca é consumida no Brasil principalmente sob a forma de farinha, havendo pouca diferença entre a composição química deste alimento e a mandioca integral. A farinha pode ser preparada por processo artesanal, à maneira das casas de farinha no norte e nordeste, ou através de processo industrial, mais desenvolvida no sul.^(30,35) Em ambos os casos, o preparo consiste essencialmente das seguintes etapas: as raízes são descascadas, raladas e prensadas. A massa procedente da prensagem é peneirada, secada em chapas de ferro ou forno rotativo, novamente peneirada, classificada e acondicionada. No processo artesanal, das casas de farinha, as raízes são raspadas manualmente e as demais operações como ralação, prensagem, etc., são rudimentares. Muito embora se obtenha por esse processo um produto de qualidade superior quanto a aparência e sabor, pouca contribuição poderão oferecer num programa de enriquecimento. A mecanização do processo compreende as seguintes etapas:

1. Raízes
2. Lavagem e descascamento
3. Ralação
4. Prensagem
5. Peneiragem
6. Secagem final
7. Moagem
8. Classificação
9. Acondicionamento

1. Lavagem e descascamento das raízes:

Nesta operação, as raízes são lavadas ^{um} em lavador-descascador para remoção de terra e da película externa, pelo atrito das raízes umas com as outras, dentro de torbores rotativos.

2. Ralação:

A operação seguinte é uma ralação, em ralos de lâminas de aço, presas longitudinalmente num cilindro de madeira, semelhante ao empregado na ralação da mandioca para produção de amido. Neste caso, a velocidade de rotação dos raladores é menor, produzindo uma massa mais grosseira.

3. Prensagem:

A massa ralada, com aproximadamente 60% de umidade, é submetida a prensagem para reduzir a quantidade de água e facilitar a secagem final. Vários tipos de prensas podem ser empregados, sendo mais comum, prensas manuais, hidráulicas e de para fusos. A massa obtida, com cerca de 30% de umidade, é novamente submetida a uma segunda ralação, num rolo esfarelador, dotado de serras, menores que o primeiro, onde os blocos são desfeitos.

4. Peneiragem:

A massa da segunda ralação, cai diretamente num sistema de peneiras, onde são eliminados pedaços de raízes não raladas e cascas, diminuindo consideravelmente o teor de fibras.

5. Secagem:

A massa úmida e solta, livre de fibras, é conduzida por elevadores de caneca ao distribuidor dos fornos de secagem e torração (35). A secagem final da farinha é realizada atualmente em fornos do tipo rotativo ou contínuo. O torrador contínuo apresenta vantagens em relação ao forno rotativo. Ele permite regular a carga do produto e a temperatura de secagem, oferecendo condições para uma operação uniforme, sem necessidade de interferência constante e direta do operador.

6. Moagem:

A moagem geralmente é realizada em moinho de ferro comum (30), moinho de martelo (35), ou moinho de esmeril. Depois de moída, a farinha é conduzida a um sistema de peneiras para separação da parte grossa e classificação para comercialização.

A industrialização da mandioca apresenta um desenvolvimento considerável apenas no setor de produção de amido. A tecnologia da farinha, encontra-se ainda bastante atrasada, carecendo de modificações que possibilite introduzir uma etapa de fer mentação, com linhagens de leveduras selecionadas, para melhorar o valor nutritivo da farinha, principalmente o teor de proteínas. A prensa hidráulica pode ser substituída por uma prensa cônica (42), ou centrífuga (46), de forma a operar em sistema contínuo. O líquido de prensagem que contém 3 a 5% de amido e outros nutr ientes poderá ser recolhido e utilizado como meio de cultivo de leveduras. Com relação à secagem, a literatura não faz outra menção a não ser o emprego de forno rotativo ou torrador contínuo. Esta etapa precisa ser convenientemente estudada , porque a qualidade do produto final depende consideravelmente das condições de seca gem.

5.2. Etapa de fermentação da mandioca:

Os dados existentes na literatura, relativos a produção de leveduras em escala indu strial, e os resultados das pesquisas sôbre fermentação da mandioca, permitem estabelecer o fluxograma da FIGURA 4 (47), para produção de farinha de mandioca enriquecida com proteínas unicelulares.

Inicialmente, as raízes são tratadas da mesma forma que no preparo normal da farinh a, como foi descrito anteriormente. As raízes recém-colhidas são submetidas a lavagem e descascamento para remoção da pele e depois raladas. Após a ralação é reco mendável deixar a massa em repouso num tanque, durante 24 horas, para eliminação do ácido cianídrico resultante da hidrólise do glicosídeo *Linamarim*, procedendo -se a prensagem da massa para facilitar a secagem final. À esta massa de mandidi oca que naturalmente seria secada, seguindo-se as operações do processamento de farinha, será incorporado o creme de levedura procedente de uma fermentação, utilizan do-se a própria mandioca mais os resíduos de processamento da farinha. Este creme de leveduras para ser incorporado à farinha, preferivelmente deveria ser previamente autolizado, com o que se aumenta a digestibilidade das proteínas, cujo teor final na farinha enriquecida deverá ser determinado observando-se a ingestão média deste alimento e o teor de ácidos nucleicos, discutindo no Ítem 2.

O conteúdo de hidratos de carbono para propagação das leveduras, a capacidade de

produção e as condições de operação, serão determinadas através dos ensaios de la boratório para seleção de linhagens, otimização de meios de cultivo e estabelecimento do teor de preteínas na farinha.

A produção de leveduras neste substrato pode ser conduzida hidrolizando-se o ami do enzimaticamente; através do emprego de ácido ou, utilizando-se diretamente li nhagens de leveduras amilolíticas que não necessitam de hidrólise prévia do amido. Neste caso, a viscosidade do amido precisa ser convenientemente estudada de mane ra que ^{não} dificulte a aeração. A hidrólise ácida pode ser realizada mediante o empre go de ácido clorídrico, ácido sulfúrico ou ácido fosfórico, sendo que este último é mais indicado porque serve como fonte de fósforo. Após a hidrólise, ajusta-se o teor de açúcar para a concentração desejada (1 a 3%), adiciona-se os nutrientes, transfere-se para o tanque de fermentação, esteriliza-se e inocula-se assépticamen te com as linhagens selecionadas. Decorrido o período de fermentação aeróbica, su ficiente para que os microrganismos consumam praticamente todo o açúcar do meio, o mosto contendo as células é filtrado, lavado e concentrado. O creme de leveduras é então incorporado à massa de mandioca para as operações finais de secagem, padro niza ção e acondicionamento.

Semelhante processo, exige que vários fatores sejam previamente determinados, deven do-se destacar: localização, condições locais, influência da variedade de mandioca e linhagem de levedura sobre o rendimento, qualidade nutricional e aceitabilidade. Segundo Straesser (47), os seguintes fatores deveriam ser estudados, na primeira fase de um programa para enriquecimento da mandioca:

1. Melhor concentração de amido na suspensão para hidrólise e fermentação.
2. Quantidade mínima de ácido requerida para hidrólise ácida e liberação do ácido cianídrico.
3. Linhagens de leveduras mais convenientes do ponto de vista nutricional e de rendimento, devendo-se dar particular atenção às leveduras capazes de hidroli zar o amido.
4. Combinação de uma ou mais linhagens de leveduras, desenvolvendo-se em associa-
ção.
5. Condições ótimas de fermentação, como pH, temperatura, nutrientes, aeração, etc.

6. Melhor forma de incorporar as proteínas unicelulares à farinha, sem modificação do sabor e da aparência do produto tradicional.
7. Condições do processo que possam produzir leveduras com baixo teor de ácidos nucleicos.
8. Ensaio nutricionais e toxicológicos, incluindo: análise química, balanço de aminoácidos, ácido nucleico, determinação dos valores de NPU e PER (utilização proteica líquida e coeficiente de utilização proteica, respectivamente).
9. Estabilidade durante o armazenamento, comparado com a farinha comum.

5.2. Desenvolvimento:

Embora outros microrganismos também apresentem elevado teor de proteínas, apenas consideramos o processo para leveduras. Bactérias e fungos também se desenvolvem em substratos de hidratos de carbono, apenas suplementado com uréia e outros nutrientes. Contudo, as bactérias além de serem mais difíceis de recuperar, são mais sujeitas a contaminações e infecções por bacteriófagos. Quanto aos fungos, estes, têm crescimento mais lento que bactérias e leveduras; alguns gêneros apresentam problemas de toxicidade, além do que, em certos casos, o aspecto é desfavorável. As leveduras apresentam varias propriedades que as fazem considerar-se a melhor escolha para esse fim (38): São fáceis de isolar, apresentam estabilidade genética; livres de infecção, facilidade de recuperação, elevado teor de proteínas, fonte de vitaminas do complexo B, enzimas e fatores nutricionais.

5.2.1.1. Seleção das linhagens

A seleção das linhagens de leveduras para crescimento em meio de amido de mandioca deve satisfazer aquelas condições estabelecidas no QUADRO 2, para proteínas unicelulares. A levedura *Candida utilis*, tem sido a linhagem mais estudada em substratos de hidratos de carbono, porque apresenta quase todas estas propriedades acima, além de utilizar outras fontes de carbono como pentoses e ácidos orgânicos. Não necessita de fatores de crescimento e compete com bactérias, crescendo numa faixa de pH de 5,5 a 3,5, imprópria para o desenvolvimento de outros microrganismos. A *Rhodotorula gracilis*, é outra linhagem que reúne grande número de características favoráveis para utilização em substrato de mandioca. Segundo Peppler (38) esta levedura apresenta o mais elevado teor de aminoácidos sulfurados, entre as linhagens de leveduras conhecidas. Em todo caso, estas linhagens deveriam ser isoladas em um estudo de linhagens para se escolher a que proporcione maior produção

em massa celular e melhor composição em aminoácidos essenciais. Preferivelmente, estas linhagens deveriam ser isoladas da própria mandioca, dando-se particular atenção às leveduras amilolíticas como *Endomycopsis* sp e *Schwannomyces* sp.

5.2.1.2. Substrato:

É constituído pela mandioca integral, pelo líquido de prensagem e por outros resíduos de processamento da mandioca, segundo o fluxograma da FIGURA 4. Dados relativos a composição da mandioca, são apresentados no item "matéria prima". Não foi possível encontrar dados sobre a composição do líquido de prensagem. Acredita-se contudo, que este apresente um teor de proteínas e sais mais elevado que na mandioca integral, decorrente do fato de que, uma parte considerável dos sólidos solúveis e proteínas se perdem durante a prensagem.

5.2.1.3. Nutrientes e composição do meio:

Além da fonte de carbono e energia, representada pelo amido, (levedura amilolítica) ou glicose (*Candida* ou *Rhodotorula*), as leveduras requerem nitrogênio, fósforo, magnésio e outros elementos. O nitrogênio pode ser fornecido através de compostos diversos, como clorato de amônio, sulfato de amônio, amônia líquida, uréia, etc. O fósforo, sob a forma de fosfatos ou ácido fosfórico, preferivelmente de forma que não modifique muito as condições do pH do meio durante a fermentação. O magnésio, quando necessário, sob a forma de sulfato de magnésio. Os outros elementos como cobre, ferro, manganês, etc., existem naturalmente na matéria prima, ou como contaminantes da água, em quantidade suficiente para o desenvolvimento da levedura.

A composição exata do meio, é objeto de exaustivos estudos e apenas pode ser estabelecida, através de ensaios prévios de laboratório. Na prática, costuma-se trabalhar com concentrações de açúcar de 1 a 3% (no fermentador), suplementados com nitrogênio, fósforo e, eventualmente, magnésio e potássio. Segundo Peppler (38), para produzir 100kg de leveduras secas, são necessários: 400kg de melão (aproximadamente 100kg de açúcares), 25kg de amônia líquida, 15kg de sulfato de amônio, 7kg de fosfato monobásico de amônio e 2.130m³ de ar.

5.2.1.4. Natureza da fermentação:

A produção de material celular, que se traduz pelo aumento da população microbiana é determinada por numerosas reações de biossíntese, altamente energéticas, em que o oxigênio toma parte como receptor final de eletrons, nas reações para produção de energia. Para leveduras desenvolvendo-se em condições aeróbicas, a eficiência da fermentação depende da concentração de açúcar e do fornecimento de oxigênio (43,44): O metabolismo aeróbico conduz ao ciclo do ácido cítrico, o que resulta numa produção de 38 moles de ATP por mol de glicose. Em condições anaeróbicas, a glicose não é completamente oxidada, resultando apenas a formação de 2 moles de ATP por mol de glicose. As reações envolvidas no processo de biossíntese requerem energia e o ATP (trifosfato de adenosina), é o composto intermediário doador de energia mais importante nestes processos. Estima-se que, aproximadamente 1 μ mol de ATP é requerido para a síntese de 10 μ g de matéria seca de levedura (44).

5.2.1.5. Fornecimento de oxigenio:

Uma discussão completa dos problemas relacionados com o fornecimento de oxigênio às células em cultura submersa, encontra-se em Aiba (1) e em Brown (7). Aqui, apenas rápidas considerações são feitas sobre mmoles.

A aeração tem por função, vencer uma série de resistências para levar o oxigênio até o local de consumo. Na célula, quando o oxigênio atua como receptor final de eletrons, ele é catalizado pela enzima citocromo oxidada. O sistema citocromo está localizado nos mitocôndrios e o número destes últimos determina a taxa de consumo de oxigênio (7). Se o oxigênio é fornecido continuamente às células, ele termina por atingir uma concentração, acima da qual não se obtém mais aumento na taxa de respiração da célula. Esta limitação na demanda de oxigênio é determinada pelo número de mitocôndrios da célula, que provavelmente limita a quantidade de importantes metabólitos intermediários, particularmente NADH e ADP.

Para efeito de cálculo, assume-se que as resistências específicas são significantes apenas, quando as células estão se desenvolvendo sob condições limitantes de fornecimento ou demanda do oxigênio (43). Quando o cultivo de células é tal, que predomine um regime estacionário, isto é, em que todos os parâmetros são mantidos constantes, e a taxa de transferência de massa de oxigenio é proporcional a diferença de concentração de oxigênio entre o líquido em equilíbrio com a fase gasosa e a massa líquida (43). Matematicamente expresso por:

$$N_a = K_L \cdot a \cdot (C^g - C_L), \text{ em que}$$

N_a = taxa de transferência de massa de oxigênio, em mmoles de O_2 por litro-hora.
(moles de O_2 /litro-hora).

K_L = condutância global de oxigênio da fase gasosa à massa líquida.

C^g = concentração de oxigênio, em mmoles de O_2 /litro, em equilíbrio com a fase gasosa.

C_L = concentração de oxigênio, em m moles de O_2 /litro, na massa líquida.

a = área de contato entre o gás e o líquido.

K_L e a são determinados conjuntamente como uma constante $K_L a$, com unidades de litro/hora. Em geral, $K_L a$, é calculada como uma característica do fermentador, embora variando as condições de cultivo, esta constante também varia. Em regime estacionário, a taxa de fornecimento de oxigênio pode ser calculada como a taxa de consumo de oxigênio pelas células em crescimento. A taxa de consumo pode ser expressa como o produto da concentração de células, em mg/ml, pela taxa de respiração, $Q'O_2$, em mmoles de O_2 .

$$C_o \cdot Q'O_2 = N_a = K_L a (C^g - C_L).$$

A taxa de respiração pode ser mantida e multiplicada pela concentração de células para o ar méido em atmosferas, pO_2 é igual a 0,21 e $C = 0,2$ m moles de O_2 /litro, a 30°C. O valor de C_L poder determinado por método polarográfico e dessa maneira $K_L a$ fica determinado. Na produção industrial de levedura em meio de melaço, a taxa máxima de absorção de oxigênio usualmente é superior a 2 mmoles de O_2 /litro/min (38), enquanto que a demanda real de oxigênio é de 0,1 mmoles de O_2 /litro/min; sendo a taxa máxima de absorção, 5 vezes mais elevada que a demanda real.

O estabelecimento do requerimento de oxigênio numa fermentação, é um assunto de particular interesse para eficiência do processo, podendo conduzir a seleção de novas linhagens e a modificação na composição básica do meio.

5.2.1.6. Efeito do pH:

As leveduras se desenvolvem bem numa faixa de pH ácido, que em geral é imprópria para o crescimento de bactérias. Como consequência, a primeira vantagem que se obtém, é prevenir as culturas de leveduras contra contaminações por outros microrganismos. Sabemos, por outro lado, que o rendimento varia com o pH, o qual decresce durante a fermentação. O pH do meio pode variar de 5,5 a 3,5, sendo mais frequente acertá-lo para pH 4,5 ou 5,0 e mantê-lo constante durante a fermentação, pela adição de hidróxidos.

5.2.1.7. Temperatura:

A temperatura é outra variável que precisa ser determinada para cada microrganismo e mantida constante durante a fermentação. O calor produzido pela introdução de ar sob pressão, mais o calor resultante do metabolismo das células, eleva a temperatura do meio, diminuindo a difusão de oxigênio, e como consequência, diminui o rendimento. O abaixamento da temperatura no fermentador é efetuado, fazendo-se circular água fria através de serpentinas internas, ou mediante o emprego de trocadores de calor.

5.2.2. Propagação:

Estabelecida a composição do meio, aeração, pH e temperatura, realiza-se a fermentação segundo o fluxograma da FIGURA 4. Como uma primeira condição, recomenda-se que todas estas etapas sejam conduzidas o mais assépticamente possível, a fim de prevenir contaminações por fungos e bactérias.

O volume do fermentador no estágio final (nº4, pelo fluxograma da FIGURA 4), é de terminado por:

- a. capacidade de produção de farinha enriquecida com proteínas, em ton/dia, considerando misturas com diferentes proporções; ex: 10, 15 e 20%
- b. quantidade de leveduras requerida para incorporar à farinha nas proporções acima.
- c. duração da fermentação.
- d. regime de operação; ex.: 2 ciclos de 8 horas.

Admite-se que as leveduras apresentam rendimento de 50% de matéria seca em relação a fonte de carbono, e contém cerca de 50% de proteínas.

Raízes de mandioca

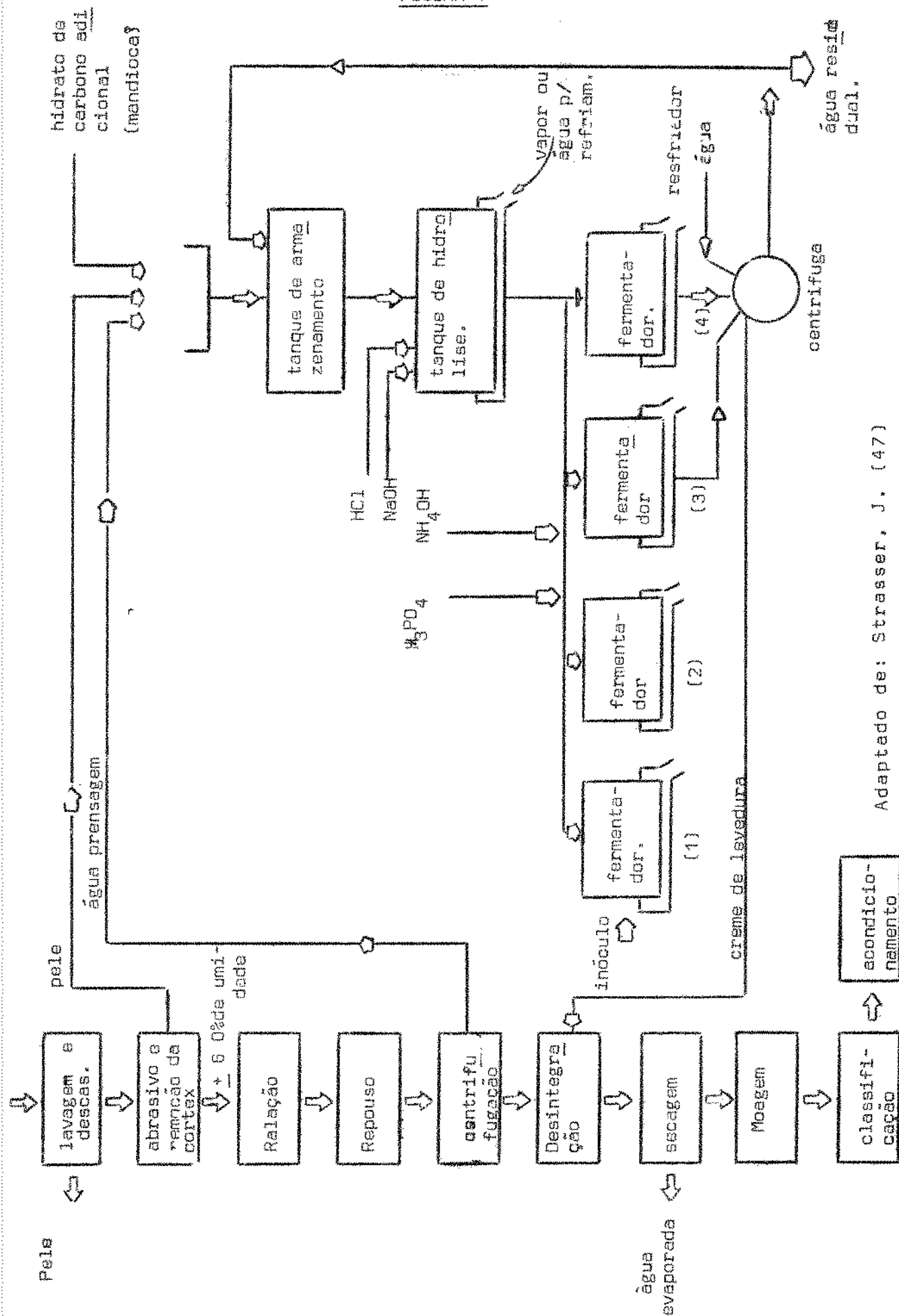


FIGURA 4

Adaptado de: Strasser, J. (47)

Partindo-se de culturas puras, preparam-se inóculos iniciais, utilizando para esse fim, o meio de mandioca, suplementado com os elementos necessários ao crescimento da levedura. Inoculam-se frascos erlenmeyers de 500ml, com 10% de meio, em número suficiente para inocular o fermentador do 1º estágio com 1 a 5% de inóculo. Assegurar-se de que todos os parâmetros estão sob controle. Colocar em agitadores rotativos durante 24 a 36 horas.

Decorrido esse período, o conteúdo dos frascos é transferido assépticamente para o fermentador, no qual se encontra o meio de composição definida e previamente esterilizado. Este inóculo deve corresponder a 5 a 10% do volume do meio do fermentador. A partir deste estágio, todos os fermentadores devem estar dotados de acessórios para controle do pH, temperatura, aeração e antiespumante. Nesta etapa, se todas estas condições forem cuidadosamente observadas, o crescimento da levedura poderá ser assim representado:

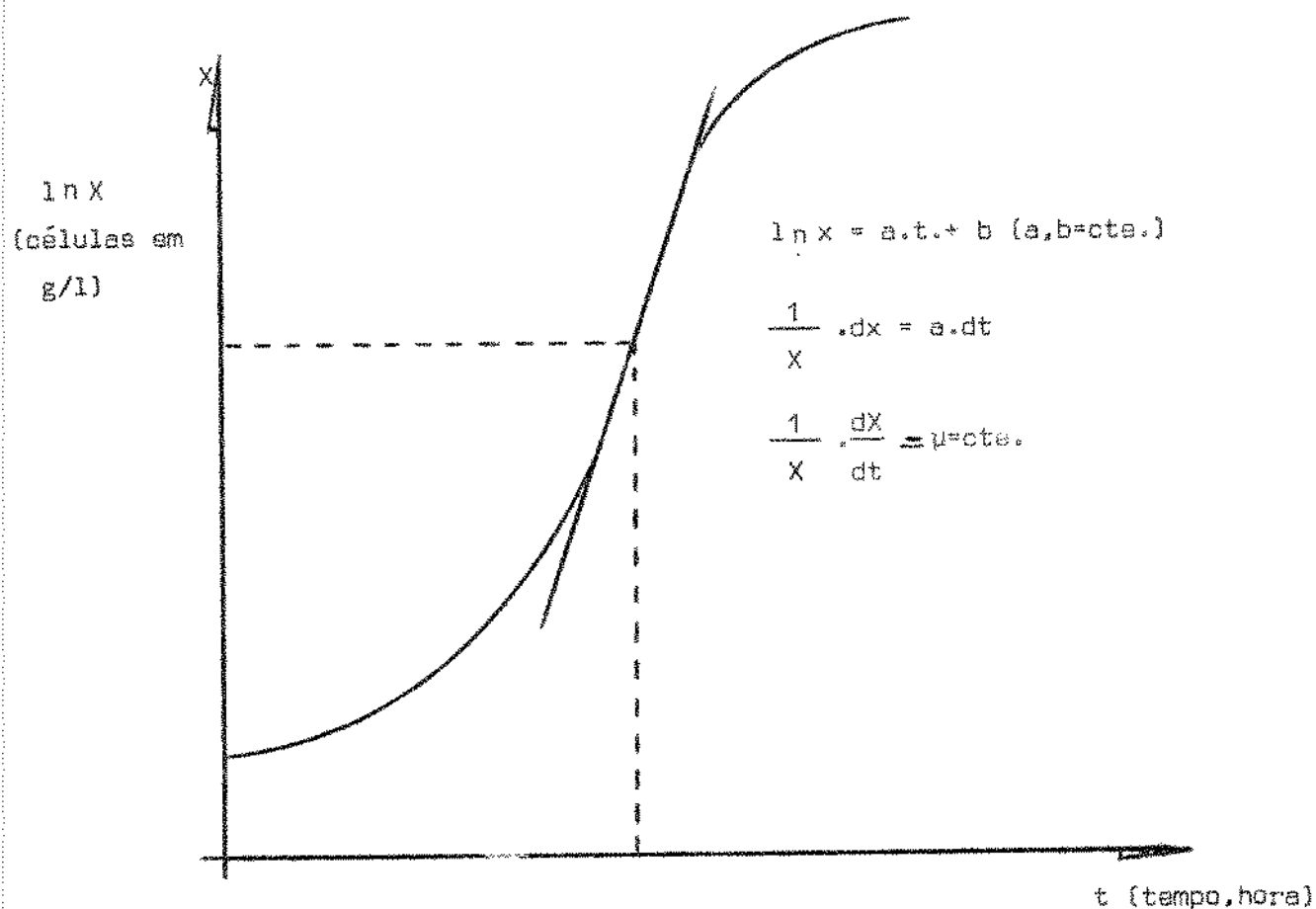


FIGURA 5 Gráfico representativo do crescimento de leveduras em função do tempo.

Em que:

$$\mu = \frac{1}{X} \times \frac{dX}{dt},$$

μ = taxa específica de crescimento, h^{-1} .

X = concentração de células no fermentador, em g/l

t = tempo, em horas.

A partir daí, a fermentação progride, procedendo-se de mesma forma, até o último estágio, que pode constar de um ou mais fermentadores. A evolução do processo, do 1º até o último estágio, pode ser representado por um gráfico semelhante ao da FIGURA 6, extraído de Burrows (10), para produção de fermento.

5.2.3. Recuperação e secagem:

A concentração de células no fermentador, no estágio final da fermentação, varia de 10 a 50g/l de meio, de acordo com a concentração de açúcar inicial. A recuperação das leveduras, cujo fluxograma reproduzimos na FIGURA 7, compreende as seguintes etapas: separação, lavagem e concentração. A recuperação primária das células geralmente é realizada por intermédio de separadores centrífugas do tipo de Laval. Segundo Wang (53), estas separadoras são capazes de operar a uma velocidade de 7000 rpm, com uma vazão de 20.000 a 76.000 litros por hora. A taxa de sedimentação de uma centrífuga pode ser expressa por:

$$Q = \frac{K \cdot d_p^2 \cdot (\rho_p - \rho_l) \cdot r_e \cdot V \cdot \omega^2}{\mu \cdot S_e} \quad \text{em que}$$

Q = taxa de sedimentação de uma centrífuga

d_p = diâmetro da partícula

ρ_p = densidade da partícula

ρ_l = densidade do líquido

μ = viscosidade do líquido

ω = número de rotações

r_e = raio equivalente do rotor

V = volume de líquido na centrífuga

S_e = distância de sedimentação equivalente da partícula.

Podemos observar pela equação acima, que a velocidade de sedimentação é influenciada pelo tamanho das partículas e pela diferença de densidade entre o líquido, e as partículas em suspensão. Células de leveduras têm em torno de $3,8 \times 7\mu$ e são muito mais fáceis de separar que células de bactérias, cujo tamanho é de 1 a 2μ , Wang (53), menciona que, quando o tamanho das células de *Candida utilis*, por tratamento especial, aumentou de $3,8 \times 7\mu$ para $4,8 \times 9\mu$, a velocidade de sedimentação aumentou aproximadamente 60%.

O creme de leveduras que sai da centrífuga com cerca de 25% de sólidos, é lavado uma ou mais vezes, para remoção de traços de meio, cor e cheiro desagradáveis. Após cada lavagem, uma nova etapa de centrifugação é incorporada, e que aumenta o custo de recuperação. A etapa seguinte, segundo o processo convencional de produção de leveduras, seria concentração do creme por filtração em filtro rotativo a vácuo e secagem final em secador do tipo rotativo ao atomizador.

Segundo Labuza e colab. (27), nenhum dado completo foi publicado até agora sobre a concentração inicial de células, tempo, temperatura e número de células viáveis no processo de secagem desses materiais. Para utilização de leveduras como fonte de proteínas, em misturas com farinha de mandioca, é necessário assegurar-se da ausência de células viáveis; da mesma forma, que, o rompimento da parede celular, aumenta a digestibilidade das proteínas.

A forma mais adequada para incorporação das leveduras à farinha de mandioca, deverá ser estudada conjuntamente com as condições de secagem. O emprego de atomizador na secagem de leveduras, não destrói completamente as células (28). Por outro lado, tratamento térmico demasiado drástico, capaz de matar todas as células, pode conduzir a uma perda considerável do valor nutricional, em decorrência da inativação das proteínas, escurecimento não enzimático e outras reações químicas. Sendo neste caso, recomendável, determinar-se a melhor relação entre a destruição térmica das células de leveduras e a perda de valor nutricional. Para enriquecimento da farinha, levando-se em consideração estes fatores, talvez seja necessário introduzir-se uma etapa em que as células são autolizadas pelo calor (27). Neste processo, as células são, concentradas num evaporador de dois estágios até uma concentração de sólidos de 30 - 35% e em seguida secadas em atomizador com ar superaquecido. Para enriquecimento da farinha, a levedura poderia ser incorporada a massa de mandioca, submetendo-se a secagem final, na qual se determinaria as condições que produzam a farinha de melhor aspecto, sem perda do valor nutricional.

5.3. Suplementação da farinha com proteínas unicelulares:

O aumento do teor de proteínas da farinha, mediante a introdução de uma etapa de fermentação no processo tradicional deste alimento, é tecnicamente possível e representa uma alternativa a medio prazo, no combate à desnutrição proteica.

Em virtude da inexistência de trabalhos sobre misturas dessa natureza, tal modificação do processo exige que série de condições sejam determinadas antes de sua concretização. Sabemos de experiências com leveduras (16,54), que até 50g diárias deste alimento já foram consumidas pelo homem, sem que se observassem níveis anormais de ácido úrico e o conseqüente aparecimento de gota. Porém como a farinha suplementada, destina-se a uma camada da população, em que o consumo deste alimento é elevado, o teor de proteínas na farinha precisa ser cuidadosamente estudado.

O QUADRO 15 reproduzido de Finn (20), permite comparar o conteúdo de aminoáci dos essenciais de diversos alimentos, tomando-se por base 25g de proteínas em cada um deles. Verifica-se facilmente que a maioria é deficiente em metionina.

A proteína da levedura apresenta uma composição semelhante às proteínas da carne e do leite, exceto em relação a este aminoácido. Entretanto, quando esta proteína foi suplementada com o aminoácido limitante, apresentou melhor qualidade. É possível portanto, obter-se misturas de farinha com leveduras, em várias proporções, de tal forma que, levando-se em consideração os outros componentes da alimentação, se assegure um fornecimento de proteínas, pelo menos suficiente para atender as necessidades mínimas diárias, em aminoácidos essenciais.

5.4. Considerações econômicas:

Um dos primeiros fatores a considerar-se em relação à mandioca, é que este tubérculo contém cerca de 60 a 70% de umidade. Nestas condições, por motivos econômicos e de conservação do produto, qualquer projeto de enriquecimento para a mandioca, obrigatoriamente deverá ser realizado no local de produção. No caso particular de fermentação para melhorar o teor de proteínas, este deve ser realizado nas regiões onde o tubérculo constitui uma parcela substancial da dieta local. A determinação da área para realização de estudos em escala piloto, deve ser de tal maneira que, os resultados possam ser aplicados em outras regiões do País (51).

Além disso, outros requisitos para instalação e localização, devem ser observados: abundância de matéria prima, em quantidade para abastecer o ano todo; água abundante e de boa qualidade; facilidade de transportes para a matéria prima e o produto final; e, evidentemente, capital e mão de obra (21).

Um estudo de viabilidade econômica para fortificação da farinha de mandioca com metionina, caseinato e proteína isolada de soja (54), reforça fatos já conhecidos, que todavia, não haviam até então, sido convenientemente estudados. Os dados a seguir, são apresentados porque os mesmos critérios poderão ser adotados, num estudo posterior de viabilidade econômica para enriquecimento com proteínas unicelulares.

a. A maior parte da produção de farinha é realizada nas casas de farinha, da forma anteriormente descrita. Estas, servem apenas pequenos grupos de famílias, que produzem o alimento praticamente para o seu sustento, vendendo algumas vezes, o excedente, para aquisição de outros bens de consumo. Segundo um estudo da Universidade de Michigan, em colaboração com a Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste (SUDENE), o número de casas de farinha no Brasil é da ordem de 200.000, das quais, aproximadamente 80.000 estão localizadas no nordeste (32,51). Este número elevado de pequenos produtores torna impraticável a melhoria espontânea da cultura e da farinha de mandioca.

b. A análise global da produção, consumo e preço relativo, foi realizada levando-se em consideração a relação: $\text{Farinha/Raiz} = 0,25$ (rendimento de 25% de farinha em relação a quantidade de raízes produzidas). A produção de farinha de mandioca, como equivalente em raízes, alcançou uma taxa de expansão de 5,5% ano, durante o período de 61/70, elevando-se de 3,2 para 5,2 milhões de toneladas/ano. Destacando-se principalmente os Estados: Bahia, Maranhão, Pernambuco e Ceará, no Nordeste e São Paulo e Santa Catarina, no Sul. Entretanto, nos estados do sul a produção de mandioca destina-se mais à produção de amido, do que para a produção de farinha propriamente dita, razão porque a relação acima não corresponde a produção de farinha.

c. Em relação ao preço da farinha no mesmo período (61/70), este aumentou de 23,6 vezes para a comercialização do produto no atacado e de 27,7 vezes, para comercialização no varejo. O preço dos produtos alimentícios neste período, aumentou de 24,6 vezes.

Observa-se desta forma, que mesmo acompanhando a inflação da moeda, o preço da farinha no atacado sofreu um aumento mais moderado que o preço dos produtos alimentícios em geral:

d. Já em relação ao consumo, pode-se observar o seguinte: devido as características econômicas e culturais das populações rurais, o consumo de farinha nestas regiões tende a continuar estacionário. No setor urbano, o consumo de farinha tende a ser compensado pela absorção de produtos de melhor qualidade. Outra variável a considerar, igualmente válida para outros produtos de consumo popular em geral, é a taxa de crescimento demográfico. Além destes aspectos, a demanda de produtos alimentícios tende a crescer com o poder aquisitivo da população.

e. A fortificação da farinha com metionina, caseinato de cálcio e proteína isolada de soja, apresentou as seguintes dificuldades:

- fortificação com metionina depende completamente de importação deste aminoácido. Durante a fase inicial, poderia não oferecer problemas. Porém, num programa de âmbito nacional, a ausência de controle interno sobre as fontes fornecedoras do produto, poderia levar a consequências imprevisíveis para o desenvolvimento do programa.
- Caseinato de cálcio: devido ao custo elevado deste produto no mercado interno, esta alternativa foi colocada de lado. O preço no mercado, é de CR\$ 11,00 a 11,50, mais 16% de IPI. Assim mesmo, apenas 2.000 ton/ano poderiam ser fortificadas diretamente.
- finalmente, a possibilidade representada por proteína isolada de soja, apenas misturas em escala industrial permitiria melhor exame do assunto.
- não foi estudada a possibilidade de enriquecimento com farinha de soja desengordurada.

O custo da farinha enriquecida com proteínas unicelulares, foi estimado por Strasser (47), baseado no custo de operação para uma planta de demonstração de 13 ton/dia. Este autor (48), estima que a farinha com 5% de proteínas, poderia ser produzida por aproximadamente CR\$ 0,70/kg, inferior, portanto, ao custo da farinha comum, comercializada no varejo.

Ele apenas considerou o custo de equipamento e operação, de maneira que este dado não reflete a realidade, e deve ser usado com cautela. Custos de nutrientes, comercialização e testes para introdução do produto, poderão representar um aumento considerável no preço final do produto para o consumidor.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser nutricionalmente pobre, a farinha de mandioca é um alimento tradicional. O cultivo da mandioca tem aumentado continuamente; a introdução desta cultura inclusive em regiões onde, durante séculos o arroz constitui um alimento tradicional resulta no empobrecimento da alimentação em virtude de que os cereais são mais ricos nutricionalmente, que este tubérculo (21). No Brasil, o aumento verificado na produção de mandioca tem sido em decorrência do aumento da área plantada, enquanto que a produtividade praticamente tem se mantido constante. QUADRO 5. Considerando-se que normalmente nas zonas rurais, o consumo por habitante, tende a manter-se estacionário (54), conclui-se que maior número de pessoas encontram neste tubérculo a principal fonte de alimentos. Dentro deste contexto, procurou-se estudar a possibilidade de aumentar o teor de proteínas da farinha, levando-se em consideração o elevado consumo deste alimento e a necessidade de aumentar a ingestão protéica e calórica na zona rural e nas regiões norte e nordeste.

A fortificação com metionina, caseinato de cálcio e proteína isolada de soja, apresentou aquelas dificuldades analisadas. Fortificação com caseinato é impraticável, porque o preço deste produto é muito elevado comparado com o preço de comercialização da farinha. Metionina, depende completamente de importação do produto. Proteína isolada de soja, apenas misturas em escala industrial permitiria melhor exame do assunto (51).

O enriquecimento da farinha com proteínas unicelulares, representa atualmente uma alternativa que merece ser estudada detidamente.

A mandioca apresenta a vantagem de ser uma matéria-prima pura, constituída praticamente de amido, que pode ser utilizado como substância para a síntese de proteínas unicelulares por fungos ou leveduras. Embora as bactérias também cresçam em meio de hidrato de carbono suplementado com uma fonte de nitrogênio e fósforo inorgânicos, não foi encontrada referência sobre esse assunto, provavelmente porque estes microrganismos são mais difíceis de recuperar, são sujeitos a contaminação e infecção por bacteriófagos, tornando mais difícil a manutenção de culturas puras de bactéria. O preparo do garí (11), em que se utiliza um fungo e uma bactéria, apesar de estar completamente mecanizado, podendo inclusive funcionar em sistema contínuo, não pode ser considerado como processo de proteínas unicelulares.

Este assunto todavia, deve ser reexaminado, pela semelhança deste produto com a farinha de mandioca.

As experiências realizadas por Gray e Colab. (23), embora sejam cientificamente bom planejadas, tem apenas um valor informativo, devido a contribuição que estas pesqui-sas oferecem ao estudo de proteínas unicelulares. O cultivo de fungos em fermentação submersa, apresenta sério problema de agitação e aeração, tornando muito difícil con-trolar as condições de fermentação. A taxa específica de crescimento e o teor de pro-teínas também são baixos, comparados com leveduras bactérias, o que restringe sua utilização como fonte de proteína. Da mesma forma, os trabalhos de Brook (8) e Stanton (45), sobre fermentação sólida da mandioca, apresentam pouca possibilidade entre nós, em decorrência dos hábitos alimentares da população.

Para a introdução de uma etapa de fermentação no processamento da farinha de mandioca apenas as leveduras apresentam condições de serem utilizadas. Estes microrganismos tem a propriedade de assimilar as mais diversas fontes de nitrogênio, sendo muito pouco exigentes quanto a fatores de crescimento. A taxa específica de crescimento é eleva-da; em substratos de hidratos de carbono, o rendimento em matéria seca situa-se em torno de 50%, (com 40-60% de proteínas), em relação aos açúcares fermentescíveis. Os trabalhos de Stasser (46) e Jarl (26), mais os trabalhos recentes sobre proteínas uni-celulares, tornam possível a modificação do processamento da farinha, de forma que se obtenha um produto final com um teor de proteína adequado. Para esse fim, a mandioca (amido), pode ser hidrolizada, adicionada de uma fonte de nitrogênio e fósforo, se-guindo-se a produção de leveduras pelo processo convencional de fermentação submersa, em batelada ou em cultura contínua. Após a fermentação, a massa celular é recuperada e adicionada à farinha, de acordo com o teor de proteína que se deseja no produto fi-nal. As proteínas de leveduras têm uma composição de aminoácidos muito boa, comparada com outras proteínas, sendo deficientes apenas em aminoácidos sulfurados, podendo, independentemente da farinha de mandioca, ser utilizada para suplementação de outros alimentos.

Em relação à fermentação propriamente dita, todos os equipamentos podem ser fabrica-dos no Brasil, tornando possível o estabelecimento do processo em escala econômica, aproveitando para isso, os recursos técnicos existentes. Apenas a hidrólise ácida, exi-ge o emprego de equipamentos resistentes à corrosão. A eliminação desta etapa, median-te o emprego de leveduras amilolíticas, isoladamente ou em associação com outra leve-

dura, pode representar uma redução considerável no custo de processamento em vista da diminuição nos custos de vapor e de consumo de ácidos.

Finalmente, quanto à localização para instalação desta indústria, esta deve localizar-se naquelas regiões onde a farinha de mandioca é largamente consumida pela população. Nas regiões onde existe maior necessidade de aumentar a produção de proteínas, a forma como a mandioca é produzida representa um sério obstáculo não somente para um projeto dessa natureza, como à melhoria da cultura da mandioca. A cooperativização ou outra forma de associação de elevado número de pequenos produtores, cumpre estes dois objetivos. Primeiro, assegura o fornecimento de matéria-prima em grande escala; segundo, permite estudar as condições para melhor aproveitamento desta cultura, como por exemplo, a seleção de cultivares de ciclo curto e alta produtividade, variedades com maior teor de proteínas, baixo teor de ácido cianídrico, colheita mecânica da mandioca, etc.

Somos obrigados a reconhecer que, embora a mandioca seja nutricionalmente pobre, ela representa uma das maiores fontes de alimentos não somente no Brasil, como em outras regiões com problemas semelhantes aos nossos. O aproveitamento desta cultura, significa melhorar o nível de vida de uma parcela considerável da população, que praticamente ainda vive numa forma de economia de auto-consumo.

CONCLUSÕES

Para a introdução de uma etapa de fermentação no processamento da farinha de mandioca, apenas as leveduras apresentam condições de serem utilizadas como uma fonte de proteínas. Em substratos de hidratos de carbono, como o amido, ou em açúcares resultantes da hidrólise deste substrato, o rendimento em matéria seca de levedura, é em torno de 50% em relação aos açúcares fermentescíveis e contendo 40-60% de proteínas. A proteína de levedura apresenta boa composição de aminoácidos, sendo deficiente apenas em metionina; porém com um elevado teor de lisina e outros aminoácidos essenciais.

A introdução de uma etapa de fermentação no processamento da farinha, é tecnicamente viável e representa uma das melhores alternativas para melhorar o valor nutritivo deste alimento.

A etapa de fermentação, a mais importante do processo, exige um investimento inicial elevado. Todavia, os equipamentos necessários, como fermentadores, centrífugas, secadoras, etc. podem ser produzidos no Brasil, tornando-se possível a instalação desta indústria, aproveitando os recursos técnicos locais. Existe também, instituições e especialistas em fermentações, capazes de desenvolver os estudos de planta piloto.

A hidrólise ácida do amido, representa um custo adicional de reagentes (ácidos) e vapor, o qual, todavia, poderá ser eliminado pelo emprêgo de linhagens de leveduras como *Endomycopsis fibuliger* *Schwannomyces* sp, que não necessitam da hidrólise prévia deste material.

A localização dessa indústria nas regiões indicadas, exige para funcionar economicamente, grande quantidade de matéria prima, sendo recomendável cooperativar ou associar o elevado número de pequenos produtores

QUADROS E FIGURAS

QUADRO 2: Fatores mais relevantes na escolha de um microrganismo para produção de proteínas unicelulares:

1. Nutricional:

- a. composição de aminoácidos
- b. digestibilidade da proteína
- c. efeito de substâncias estranhas (ácido nucleico, etc.)
- d. conteúdo de proteínas.

2. Econômico e tecnológico:

- a. rendimento de proteína por unidade de substrato
- b. custo do substrato e outros nutrientes (nitrogênio, fósforo, etc.)
- c. produtividade de proteína por unidade de volume/dia.
- d. custo de operação (aeração e agitação).
- e. custo de esterilização
- f. custo e processo de recuperação

3. Tecnologia de alimentos:

- a. aroma e sabor
- b. textura
- c. solubilidade
- d. cor
- e. possibilidade de melhorar as qualidades organolépticas e nutricionais durante o processamento.

Adaptado de : Mateles, R.I. and Tannebaum, S.R. (33).

QUADRO 3 - Conteúdo de Aminoácidos Essenciais de Proteínas Unicelulares.

	Lis	Met	Cis	Trip	Tre	Leu	Ileu	Val	Fen-al	% proteína (N x 6,25)		Refer.
	g/100g de proteína (N x 6,25)										ΣAA	
Referencia da FaO	4,2	2,2	2,0	1,4	2,8	4,8	4,2	4,2	2,8	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i> (a)	7,7	0,8	0,2	0,8	4,8	7,7	5,6	5,9	4,8	45	37	13
<i>Candida tropicalis</i> (b)	7,0	1,2	0,4	0,5	3,4	6,9	4,8	5,1	4,2	39	31	13
<i>Bactéria Esso</i> (a)	6,5	2,0	0,6	0,9	4,0	5,6	3,6	4,5	2,9	62-70	-	11
<i>Levedura Esso</i> (a)	7,0	1,2	-	0,5	3,9	5,9	3,6	4,0	3,7	54	-	11
<i>Spirulina máxima</i>	4,6	1,8	-	1,4	4,6	8,0	6,0	6,5	5,0	65	-	8
Bactéria	9,3	2,6	1,0	-	5,5	7,3	6,4	6,6	5,1	-	-	14
<i>Penicillium notatum</i>	4,0	1,0	-	1,3	3,6	5,5	3,2	3,9	3,0	38	-	17

(a) fermentação em hidrocarboneto

(b) fermentação em glicose

ΣAA soma dos aminoácidos por cromatografia de coluna

Extraído de: Mateles, R.I. e Tannembaun, S.R. (33).

QUADRO 4 - Principais países produtores de mandioca, área plantada, produção, produtividade e produtividade per capita.

País	Área Plantada (mil. ha)	Produção (mil.Ton)	Produtividade (ton/ha)	Produção (kg/per.cap)
Brasil	1.998	29.203	14,6	331,066
Indonésia	1.600	11.800	7,4	103,716
Zaire	0.750	8.100	10,8	484,260
Nigéria	1.200	6.700	5,6	104,851
Índia	0.335	4.520	13,5	8,628
Tailândia	0.135	2.000	14,8	59,360
Uganda	0.530	2.000	3,8	245,912
Paraguai	0.100	1.504	15,0	674,136
Madagascar	0.280	910	3,3	140,000
Colômbia	0.152	900	5,9	45,398
MUNDO	9.100	76.440	8,4	--

FONTE: FAO Production Yearbook, 1969; adaptado por Correia, H. (13).

QUADRO 5 - Exportação de Derivados de Mandioca
EM TONELADAS

Anos	RASPA		FÉCULA		FARINHA	
	Tailândia	Brasil	Tailândia	Brasil	Tailândia	Brasil
1966	359.817	27.052	154.956	16.088	65.809	24.270
1967	337.307	711	198.670	5.558	174.846	80
1968	322.814	-	143.605	7.712	376.566	754
1969	806.499	38.125	121.195	10.354	25.694	46.598
1970	1.110.515	24.272	146.067	12.845	6.408	25.549

FONTES: Brasil, CACEX/NUCEX; Tailândia, Monthly Review e Bangkok Bank
Extraído de: Tavares, M. (50).

QUADRO 6 - Produção de Mandioca no período de 1950 a 1970.

Ano	Área (hectare)	Produção (ton)	Produtividade (kg/ha)
1950	957.493	12.523.482	13.089
1951	964.337	11.917.560	12.358
1952	1.015.327	12.809.263	12.616
1953	1.061.916	13.441.421	12.658
1954	1.101.898	14.492.961	13.153
1955	1.149.123	14.963.193	12.994
1956	1.178.150	15.316.002	13.000
1957	1.193.411	15.442.747	12.940
1958	1.225.616	15.353.604	12.525
1959	1.239.366	16.575.124	13.374
1960	1.342.403	17.613.213	13.121
1961	1.381.331	18.058.378	13.073
1962	1.476.206	19.843.422	13.442
1963	1.617.810	22.248.644	13.752
1964	1.715.857	24.355.602	14.194
1965	1.749.960	24.992.579	14.252
1966	1.779.806	24.710.041	13.884
1967	1.914.439	27.268.193 -	14.242
1968	1.998.197	29.203.229	14.615
1969	2.029.373	30.073.943	14.819
1970	2.024.557	29.464.275	14.553

FONTE: Fundação Getúlio Vargas e IBGE
Extraído de: Correia, H. (13).

QUADRO 7 - Nutrientes em raízes de mandioca comparados com outros alimentos.

	kcal. 100g.	Proteína	Gord.	C-H	Cinza	Umid.	Fibra
Raiz de mandioca (sem pele)	127	0,8-1,0	0,2-0,5	32	0,3-0,5	65	0,8
Caplek	355	1,5	1,0	85	0,8	15	-
Farinha de Mandioca	307	0,5-0,7	0,2	85	0,3	15	0,5
Batata	89	2,1	0,1	20	1,0	77	0,7
Farinha de Batata	331	-	0,3	82	0,3	15	0,4
Arroz integral	347	8,0	2,5	73	1,5	15	0,7-1,0

Extraído de : Grace, M (21).

QUADRO 8 - Vitaminas em raízes de mandioca comparada com outros alimentos

Alimento	Vitamina A U.I./100 g	Vitamina B U.I./100 g	Vitamina C mg/100g
Raiz de mandioca	-	10	20
Gaplok	-	10	-
Farinha de mandioca	-	-	-
batata	40	30-80	13-15
Farinha de batata	-	-	-
Arroz integral	-	100-150	-

Extraído de: Grace, M. (21).

QUADRO 9 - Síntese de proteína fungíca a partir de diversas matérias pri-
mas

Material	Fungos	C.E.	TCP/100g da mat.inicial (g)	TCP/100g da na m. final (g)	Aumento
Açúcar (beterraba)	I-75	1,10	0,68	3,57	5,25
Batata doce	I-75	1,20	2,07	9,48	4,58
Melaço (beterraba)	I-75	1,20	-	10,80	-
Arroz	I-92	1,30	7,06	20,10	2,85
Melaço de citrus	I-83	1,30	-	6,85	-
Batatas	I-83	1,51	2,00	3,55	1,77
Melaço de cana	I-75	1,61	-	7,30	-
Milho	I-100	1,20	8,24	19,00	2,30
Mandioca	I-73	2,00	0,84	4,14	4,93

A linhagem I-75 corresponde a espécie *Cladosporium* sp; I-83, a *Cladosporium cladosporioides* ; I-100, *Linderina pennisporea*.

O nome genérico das outras linhagens encontram-se em Gray e colab., 1964 ().

Extraído de: Gray e colab. (23)

QUADRO 10 - Síntese de proteínas por linhagens de fungos imperfeitos em substratos de mandioca.

Cultura	Rendimento ml celial (g/l)	Proteína bruta (%)	Proteína bruta total (g/l)	Proteína sintetizada (g/l)
I-75	9,2	13,31	1,22	0,88
I-100	8,0	10,32	1,63	1,29
I-81	9,0	18,92	1,70	1,36
I-134	7,2	23,82	1,72	1,38
I-63	9,5	20,30	1,95	1,61

Extraído de: Gray, W.D. e Abou-El-Seoud(24)

QUADRO 11 - Nitrogênio insolúvel (TCA) em queijo vegetal de mandioca fermentado com *Rhizopus arrhizus* M 181.

Substrato	% de N insol. em TCA antes da fer- mentação.	% de N adicio- nada como ure- ia	Tempo de incu- bação (horas)	% de N insolúvel em TCA depois da fermentação.
FARINHA	0,08	0,46	46	0,128
DE			48	0,148
MANDIOCA			5 dias	0,521

A mistura continha: 100% de farinha, 0,2% de KH_2PO_4 e 0,5% de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Extraído de: Stanton, W.R. e Wallbridge, A. (45).

QUADRO 12 - Produção de micélio e rendimento em proteína após 4 dias.

Cultura	Cultura Nº	Rend. micelial (mg/10ml)	Proteína	Prot.Total (mg/10ml)
<i>Heterocephalum aurantiacum</i>	M 1200 CMI 62339	84	33,6	28,2
<i>Mucor racemosus</i>	M 076 CMI 35718	81	21,5	19,6
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	M 1025 CMI 45534	89	21,2	18,9
<i>Rhizopus stolonifer</i>	M 263	79	23,2	18,4
<i>Rhizopus stolonifer</i>	M 153	40	-	-
<i>Rhizopus stolonifer</i>	M 154	52	20,8	10,8
<i>Rhizopus stolonifer</i>	M 159	52	18,0	8,4
<i>Rhizopus stolonifer</i>	M 163	48	-	-
<i>Rhizopus echinatus</i>	M 152	48	-	-
<i>Rhizopus echinatus</i>	M 161	48	-	-
<i>Rhizopus arrhizus</i>	M 157	43	-	-
<i>Rhizopus arrhizus</i>	M 181 NRRL 1526	67	19,6	13,2
<i>Rhizopus oligosporus</i>	M 174 NRRL 2549	52	19,6	10,2
<i>Rhizopus oligosporus</i>	M 175 NRRL 2710	62	16,3	10,1
<i>Rhizopus oligosporus</i>	M 176 NRRL 514	36	-	-
<i>Rhizopus oligosporus</i>	M 178 NRRL A-9865	57	21,6	12,3
<i>Rhizopus oryzae</i>	M 049 IMI 40564	64	18,1	11,6
<i>Rhizopus oryzae</i>	M 179 NRRL A-6854	60	19,8	11,9
<i>Rhizopus oryzae</i>	M 180 NRRL 6855	71	18,8	13,4
<i>Rhizopus achlamyosporus</i>	M 182 NRRL 6993	72	22,7	16,2
<i>Rhizopus achlamyosporus</i>	M 183 NRRL A-6997	66	19,1	12,6
<i>Sepedonium ampullasporum</i>	M 171 NRRL 2877	31	-	-
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	M 156	56	21,5	12,0
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	M 158	58	23,2	13,4
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	M 160	61	23,7	14,5
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	M 162	62	21,4	13,3
<i>Monilia sitophila</i>	M 060	46	-	-
<i>Linderina pennispora</i>	M 166 NRRL 2237	24	-	-

Extraído de: de Brook, E.J., Stanton, W.R. e Wallbridge, A. [45].

QUADRO 14 - Cultiva de *Endomycopsis fibuliger* a: 3 e *Candida utilis* NRRL
Y-900 em associação

Tempo de cultivação (horas)	Células/ml	
	<i>Candida utilis</i>	<i>Endomycopsis fibuliger</i>
0	40.10^6	55.10^6
24	1140.10^6	135.10^6

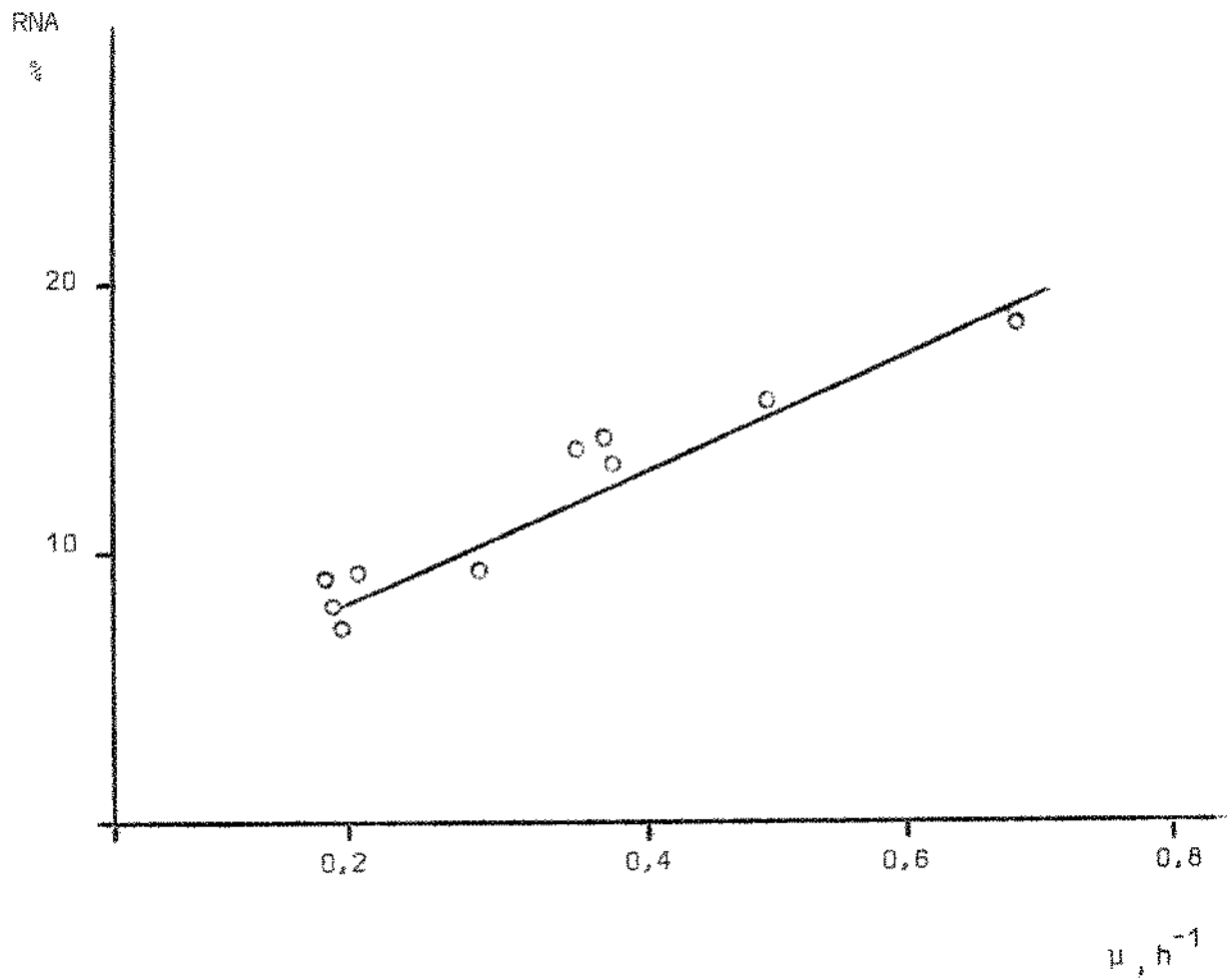
Extraído de : Jarl, K. (26).

QUADRO 15 - Fornecimento de Aminoácidos Essenciais.

ITEM	Prot.	Met.	Lis.	Trip.	Fenilal.	Tre.	Val.	Leu.	Isoleu.
Nec. mínima									
diária	25	1,1	0,8	0,3	1,1	0,5	0,8	1,1	0,7
Leite, 3 co									
pos(745g).	25	0,7	2,1	0,3	1,2	1,2	1,8	2,4	1,5
Carne, 142g	25	0,7	2,3	0,3	1,1	1,1	1,4	2,4	1,4
Farinha de									
soja, 50g	25	0,3	1,5	0,3	1,2	1,0	1,3	1,8	1,3
Arroz branco									
340g	25	0,5	1,0	0,3	1,3	1,0	1,7	2,1	1,2
Far. de tri-									
go, 240g	25	0,3	0,6	0,3	1,4	0,7	1,1	1,9	1,1
Vegetais (fo									
1has(1360g	25	0,2	1,7	0,2	1,0	1,0	1,2	1,5	1,0
Levedura se-									
ca, 80g.	25	0,6	2,2	0,5	1,3	1,6	1,3	2,2	1,8

Extraído de: Finn, R.K. (20).

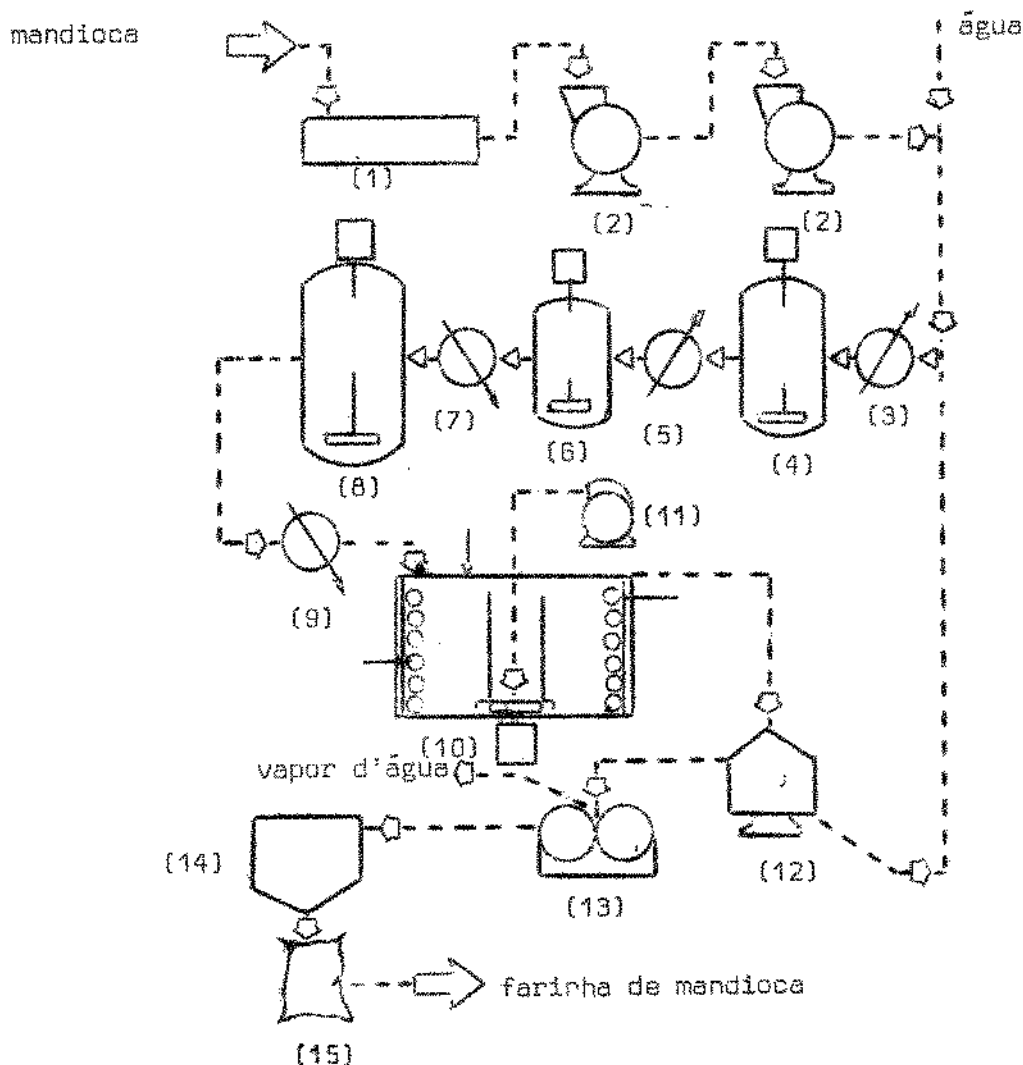
FIGURA 1



Dependência entre o conteúdo de RNA e a velocidade específica de crescimento, μ (h^{-1}) de *Candida utilis*.

Extraído de: Fencel, Z. (19).

FIGURA 3

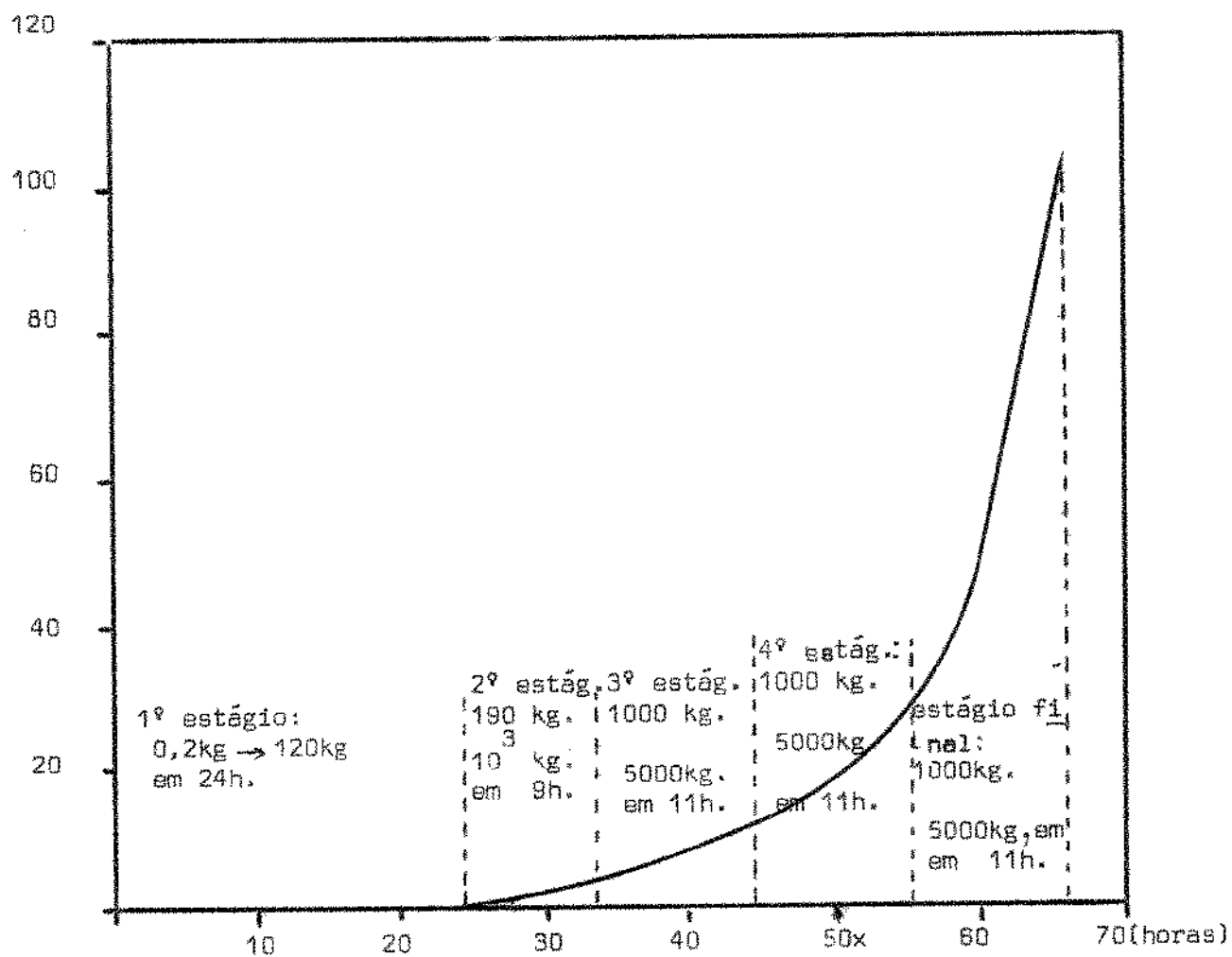


Fluxograma para produção de farinha de mandioca enriquecida com proteínas de leveduras

1. lavador
2. raladores
3. aquecedores
4. tanque de hidratação
5. aquecedores
6. esterilizador
7. trocador de calor (resfriador).
8. hidrolizador
9. trocador de calor
10. tanque de fermentação
11. aerador
12. centrífuga
13. secador rotativo
14. ensacador
15. farinha enriquecida

Extraído de Strasser, J. e colab. (46)

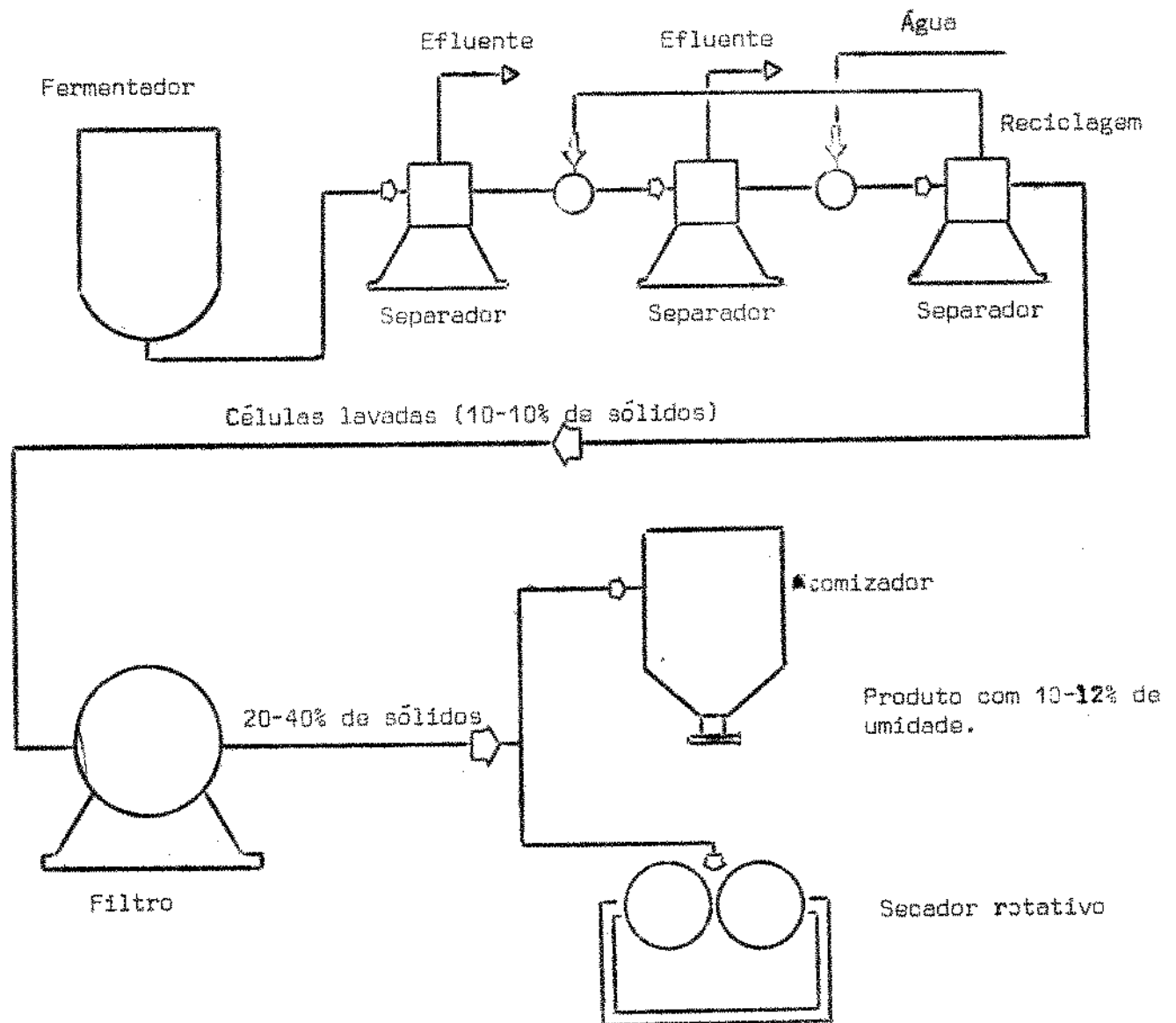
FIGURA 6



Progresso do crescimento da leveduras em produção comercial.

Extraído de: Burrows, S. (10).

FIGURA 7



Fluxograma para recuperação de células do meio fermentado.

Extraído de: Wang, D.I.C. (53)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AIBA,S., HUMPHREY,A.E., e MILLIS,N.F. Engenharia Bioquímica. Campinas, Fundação Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, 1971.
2. AKINRELE,I.A. Fermentation of cassava J. Sci. Food Agric. 15 (9): 589-594, 1964.
3. ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Ministério do Planejamento e Coordenação Geral, Fundação IBGE, 1970.
4. ASENJO,C.F. Produccion y uso de proteína de origem unicelular. In: Recursos Proteínicos en América Latina, Guatemala, INCAP, 1970 p. 300-325.
5. AYRES,J.C. Manioc the potencial exists for increased use of this tropical plant and its products. Food Technology 26(4): 128-138, 1972.
6. BRESSANI,R. The use of yeast in human foods. In: Mateles, R.I. and Tannenbaum,S. R. (ed) Single-Cell Protein Mass., MIT Press, 1968 p.90-121.
7. BROWN,D.E. Aeration in submerged culture of micro-organisms. In: Norris,J.R. - and Ribbons,D.W. Methods in Microbiology. London, Academic Press, 1970 p. 125-174. v.2
8. BROOK,E.J. STANTON,W.R. and WALBRIDGE,A. Fermentation methods for protein enrichment of cassava. Biotech. and Bioeng. 11(6) : 1271-1282, 1969.
9. BUNKER,H.J, Microbial food.I In: Rainbow,C. and Rose,A.H. Biochemistry of Industrial Micro-organisms. London, Academic Press, 1963 p.34-63.
10. BURROWS,S. Baker's yeasts. In: Harrison, J.S. and Rose,A.H. The Yeasts, London, Academic Press, 1970 p. 349-420. V.3
11. COLLARD,P. and LEVI,S. A two stage fermentation of cassava nature 183(4661): 620-621, 1959.
12. CONN,E.E. Cyanogenic Glycosides. J.Agric. Food Chem. 17(3): 519-526, 1969.

13. CORREIA, H. Cooperação internacional para pesquisas em mandioca. Sete Lagoas-MG., 1972, 11p. (palestra proferida na Sociedade Mineira de Engenheiros Agrônomos).
14. DEZEEUW, J.R. Genetic and environmental control of protein composition. In Mateles, R.I. and Tannebaum, (S.R. (ed). Single-Cell Protein. Mass., MIT Press, 1968 p. 181-191.
15. DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. Utilização, disponibilidade e potencialidade de alimentos convencionais como fonte de proteínas para criança. In Recursos Proteínicos en América Latina, Guatemala, INCAP, 1970, p. 213-227.
16. EDOZINE, J.C. Effect of high level of yeast feeding on uric acid metabolism of young men. Nature 228: 180, 1970.
17. EDUCATION AND TRAINING IN NUTRITION. Roma, FAO, 1967 (F.F.H.C.- Basic Study, 10)
18. FAO PRODUCTION YEAR BOOK, 1970
19. FENCL, Z. Production of microbial protein from carbon sources. Biotech., and Bioeng. 1: 63-70, 1970.
20. FINN, R.K. Outlook for single cell protein in human feeding. In frontiers in Food Research, N.Y., New York State Agricultural Station, Cornell University, 1968 p. 79-85.
21. GRACE, M. Cassava Processing. Roma F.A.O., 1971, (Agricultural Services Bull., 8)
22. GRAY, W.D. CCH, F.F. and ABOU-EL-SEUD, M. Fungi imperfecti as potential source of edible protein. In Developments in Industrial Microbiology, 1964, p. 384-389. v.5
23. _____ and ABOU-EL-SEUD, M. Fungi imperfecti as source of protein. In Developments in Industrial Microbiology, 1966 p. 221-225. v.5
24. _____, _____. Fungal protein for food and feeds 3. Manioc as potential crude raw material for tropical areas. Econ. Botany 20 (3): 251-255, 1969.

25. HEDENSKOG, G. and EBBINGHAUS, L. Reduction of the nucleic acid content of single cell protein concentrates. Biotech. and Bioeng. 14 (3): 447-457, 1972.
26. JARL, K. Symba yeast process. Food Technology 122(8): 23-26 1969.
27. LABUZA, P.T., SANTOS, D.B. and POOP R.N. Engineering factors in single cell protein production, 1. Fluid properties and concentration of yeast by evaporation. Biotech. and Bioeng. 12(1): 123-134, 1970.
28. _____, Le ROUX, J.P., FAN, T.S. and TANNENBAUM, R.S. Engineering factors in scp production 2, Spray drying and cell viability. Biotech. and Bioeng 12(3) 135-140, 1970.
29. LEITE, E.B. Rumos industriais da mandioca. Serv. de Inf. Agrícola do Min. da Agricultura, 1944 6p.
30. LEME Jr., J. Industrialização da mandioca. Piracicaba, ESALQ, (USP), 1965 28 p. (mimeografado)
31. LIPINSKY, E.E., KINNE, I.L. and LITCHFIELD, J.H. Technical-economic comparison of microbial, animal and plant proteins for food and feed uses. In Developments in Industrial Microbiology. 1970, p. 112-124. v.10
32. MARKET PROCESS IN THE RECIFE AREAS. Latin American Center Services Mass., State University, 1970. (Research report nº 2).
33. MATELES, R.I. and TANNENBAUM, S.R. Single-Cell Protein. Econ. Botany 22: 42-50 1968
34. MAUL, S.B.J. and TANNENBAUM, S.R. New process for reducing the nucleic acid content of yeast Nature 228: 181, 1970.
35. NORMANHA, E.S. Mandioca tem variada aplicação. Guia Rural, 240-244, 1966/67.
36. PARK, I.K. O Problema nutricional de proteínas de organismos unicelulares. Boletim do ITAL, nº 29: 61-66, 1972.
37. RAWLINS, W.H. Possibilities of increasing world food production. Roma, FAO, 196

38. PEPPLER, J. Food yeast. In Harrison, S. and Rose, A.H. The Yeast. London Academic Press, 1970, p. 421-463. v.3
39. _____, Food yeast. Mateles, R.I. and Tannenbaum, S.R. Single-Cell Protein, Mass. MIT Press, 1968 p. 229-242.
40. PRESCOTT, S.C. and DUNN, C.G. Industrial Microbiology, New York, McGraw Hill, 1959.
41. PYKE, M. The technology of yeast. In A.H. Cook. The Chemistry and Biology of Yeasts. London, Academic Press, 1959 p. 523-586.
42. SCHOLZ, H. Aspectos da cultura e da Industria de mandioca. Fortaleza, Ce., Banco do Nordeste do Brasil, 1967, 289 p.
43. SNYDER, H.E. Microbial sources of protein, In Advances in Food Research, 18: 84-141, 1970.
44. SOLS, A. GANCEDO, G. and DELAFUENTE, G. Energy-yielding metabolism in yeast. In Harrison, J.B. and Rose, A.H. The Yeast, London Ap, 1970 p.271-309. v.2
45. STANTON, W.R. and WALBRIDGE, A. Fermented food processes Process Biochemistry, April 1969.
46. STRASSER, J., ABBOT, J.A. and BATTEY, R.F. Process enriches cassaba with protein. Food Engineering 42(5): 112 116. 1970.
47. _____. Feasibility study enrichment of "farinha de mesa" with single-cell Protein. Campinas BRA - 1972 062 B, (SIS). 30 p. (estudo realizado no Brasil em colaboração com a UNIDO).
48. TANNENBAUM, S.R. Single-Cell protein food for the future; Food Technology 25(9): 962-965, 1972.
49. _____ Factors in the processin of single-cell protein. In Mateles, R.I. and _____ Single Cell protein, Mass., MIT Press, 1968 p.345-352.

50. TAVARES, M. Exportação de mandioca. Sete Lagoas-MG. 1972 4p. (trabalho apresentado na 5a. reunião da Comissão da Mandioca).
51. _____, COSTA, H.F., CASTELO BRANCO, R.C. e CARDOSO, S.S. Study economic feasibility of fortification of mandioca flour. Rio, C.N.A. do Min. da Saúde, 1972. - 43p. (Trabalho apresentado na 3a. reunião de enriquecimento de produtos de mandioca). -
52. VITTI, P. Industrialização da Mandioca. Produção de Amido, raspa e farinha de raspa. Boletim do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, 6: 26-33. 1966.
53. WANG, D.I.C. Cell recovery. In Mateles, R.I. and Tannenbaum, S.R., Single-Cell Protein, Mass., MIT Press, 1966 p. 217-228.
54. WASLIEN, C.I. CALLOWAY, D.H., MERGEM, S. and COSTA, F. Uric acid level in men fed algal and yeast as protein source. J. Food Sci. 35(3): 294-298, 1970.