



1. PLANOS DE TRABALHO DO PROJETO

1-1. IDENTIFICAÇÃO DO ACADÊMICO

Acadêmico: 102361 - LORENE ALMEIDA TIBURTINO DA SILVA
 Curso: 122 - BIOLOGIA
 Semestre: 05º

1-2. IDENTIFICAÇÃO DO PLANO DE TRABALHO

Título: Influência de adubação com cálcio e da idade no cozimento de raízes de mandioca cultivar IAC 576-70 e Fécula Branca em Campo Grande, MS.
 Orientador: MARNEY PASCOLI CEREDA
 Área do conhecimento(CNPq): 50100009 - Agronomia
 Palavra chave: Mandioca, cozimento, pectina

1-3. PLANO DE TRABALHO

- Justificativa:

Embora a mandioca de uso culinário seja de importância econômica e social para o Mato Grosso do Sul, pouca pesquisa tem abordado o cozimento, que é considerado como um mecanismo de difícil diagnose e sem controle. Considera-se que o melhor período de cozimento corresponde ao período de repouso vegetativo da planta, mas nem sempre a colheita neste período garante bom cozimento. Sabe-se que a textura em vegetais é fortemente influenciada pelas propriedades da parede celular. O projeto é uma continuação de projeto concluído onde se procura soluções agrônomicas para controle do processo de cozimento, através de adubação com potássio e cálcio. O presente projeto visa avaliar o efeito de adubação mensal com cálcio nas características de cozimento e nos teores de substâncias pectínicas e de parede celular em duas cultivares (IAC 576-70 e fécula branca) durante 10 meses.

- Objetivos:

Estabelecer o efeito de adubação mensal de cálcio sobre a qualidade de cozimento das raízes de mandioca cultivar 576-70 de uso culinário e da Fécula Branca, de uso industrial, detalhando a influência das substâncias pectínicas e de parede celular durante 12 meses de seu desenvolvimento em Campo Grande, MS.

- Fundamentação Teórica:

A revisão da literatura sobre cocção de raízes de mandioca é vasta, mas pouca informação é disponível sobre suas características de cozimento, o contrário do que ocorre com a batata.

2.1. Textura da mandioca

O conceito de textura significa para o consumidor o grau de aceitabilidade em função de o produto ser ou não macio. A farinosidade é uma característica de textura e refere-se a percepção na boca do alimento cozido. Em batata é definida como a propriedade de desintegrar-se espontaneamente durante o cozimento e esmigalhar-se em pedaços na aplicação de força cortante (SAFO- KANTANKA & OWUSU –NIPAH, 1992). A qualidade sensorial da mandioca cozida é um importante fator de seleção de cultivares (PADONOU et al., 2004).

O grau de cozimento da mandioca é em geral avaliado pelo tempo necessário para que ocorra o amolecimento de pedaços imersos em água fervente, porém o padrão desejado pelo consumidor varia entre as diferentes regiões do Brasil.

Cereda & Vilpoux (2004) descrevem as raízes bem cozidas como apresentando aspecto farinoso e opaco, com aroma e sabor típicos. Os autores classificaram o cozimento da mandioca, em nível industrial, em 3 tipos. O tipo A com cozimento normal, em até 30 minutos à temperatura de fervura da água e em pressão ambiente. O tipo B caracteriza-se por raízes que cozidas com pressão normal, apresentam consistência vítrea ou cerosa. A raiz abre-se em lamelas apresentando-se translúcida e sem sabor. Sob pressão, o cozimento desenvolve-se normalmente ou próximo da normalidade. O tipo C seria aquele onde o cozimento não desenvolve mesmo sob condições de cozimento sob pressão.

No estado do Paraná, na região de Londrina, o padrão de cozimento da raiz apresenta-se quase "desmanchando" (FÁVARO, 2003, p. 42).

Os diferentes padrões de cozimento têm sido avaliados, em sua maioria, de forma subjetiva, considerando que a introdução de um garfo no material submetido à cocção não apresenta resistência (PEREIRA, 1985;

PEQUENO et al., 1991; LORENZI, 1994; BORGES et al., 2002; FÁVARO, 2003; BUTARELO et al., 2004). O teste quantitativo a partir da adaptação de um equipamento usado para avaliar o tempo de cozimento de feijão tem sido utilizado por alguns autores (MIRANDA 2000; FENIMAN, 2004; OLIVEIRA, 2005). PADONOU et al. (2004) utilizou instrumentos mensuráveis (Texture Analyser – Stevens LFR) e testes sensoriais para avaliar a cocção de 20 cultivares, colhidas aos 13 e 15 meses após o plantio.

2.2. Fatores que afetam a cocção da mandioca

Os fatores que afetam o cozimento das raízes são variados e complexos, entretanto, sabe-se que variedade, época de colheita e influência ambiental são os principais determinantes destas variações (CEREDA & VILPOUX, 2003). Estes autores também sugerem duas hipóteses para explicar o não cozimento da mandioca. A primeira é que a impermeabilização da parede celular impede a penetração da água nas células da raiz dificultando a gelificação do amido. Essa impermeabilização seria um processo rápido o suficiente para explicar a diferença de cozimento entre mandiocas do mesmo cultivo, colhidas juntas e processadas com algumas horas de intervalo. A outra hipótese admite alterações na parede celular que não se deformaria, impedindo o inchamento dos grânulos de amido e consequentemente de uma boa gelificação, fator característico de bom cozimento. Normanha (1988) também sugere que o não cozimento das raízes de mandioca possa ser devido a fatores que não permitem o rompimento completo das ligações entre moléculas de derivados pécnicos que unem a lamela média às paredes celulares primárias e aos demais elementos do parênquima.

Além da época e idade a fisiologia da planta é muito importante. Ternes (2002) descreve as duas principais fases da planta de mandioca na região Sudeste e Centro-Oeste. A planta da mandioca passa por um período de crescimento fisiológico quando as condições climáticas são favoráveis e um período de repouso quando ocorre seca ou frio. Nesta fase de repouso a planta perde em parte ou totalmente suas folhas e para de crescer. As raízes apresentam maior acúmulo de amido.

A tradição popular associa a fase de repouso com a melhor qualidade de cozimento das raízes.

A diversidade de funções da parede celular vegetal exige uma estrutura diversa e complexa. Apesar dessa diversidade morfológica, comumente são classificadas em dois tipos principais: primárias e secundárias.

As paredes primárias, formadas por células em crescimento são, via de regra, consideradas não-especializadas e semelhantes quanto à arquitetura molecular, em todos os tipos celulares. Todavia, a ultra-estrutura também mostra ampla variação.

Nas paredes celulares primárias, as microfibrilas de celulose são implantadas em uma matriz altamente hidratada. Tal estrutura fornece resistência e flexibilidade. A matriz consiste de dois grupos principais de polissacarídeos, em geral chamados de hemiceluloses e pectinas, mais uma pequena quantidade de proteína estrutural. A parede primária é composta de aproximadamente 25% de celulose, 25% de hemicelulose e 35% de pectinas, com talvez 1 a 8% de proteína estrutural, sobre uma base de matéria seca (TAIZ E ZEIGER, 2004).

A celulose é uma microfibrila firmemente empacotada de cadeias de D-glicose com ligações β -(1 \rightarrow 4). Devido à configuração espacial alternante das ligações glicosídicas que unem resíduos de glicose adjacentes, a unidade de repetição da celulose é considerada a celobiose, um dissacarídeo de D-glicose com ligações β -(1 \rightarrow 4). As microfibrilas de celulose são estruturas relativamente rígidas que contribuem para a resistência e a predisposição estrutura da parede. A estrutura molecular exata das microfibrilas de celulose ainda é desconhecida e os modelos atuais da organização microfibrilar sugerem que os glucanos individuais que constituem a microfibrila estão firmemente alinhados e ligados entre si, formando uma fita altamente ordenada (cristalina), que exclui água e é relativamente inacessível ao ataque enzimático, e como conseqüência, a celulose é muito forte, muito estável e resiste à degradação (TAIZ E ZEIGER, 2004).

As hemiceluloses constituem um grupo heterogêneo de polissacarídeos, que se ligam à superfície da celulose. Elas podem formar correntes que reúnem microfibrilas de celulose em uma rede coesa, ou podem funcionar como um revestimento deslizante para impedir o contato direto entre microfibrilas. Uma outra denominação para tais moléculas é glucanos de ligação cruzada.

Na parede primária de dicotiledôneas, a hemicelulose mais abundante é o xiloglucano. Como a celulose, esse polissacarídeo possui uma estrutura básica de resíduos de D-glicose com ligações β -(1 \rightarrow 4). Contudo, diferente da celulose, o xiloglucano tem cadeias laterais curtas que contêm xilose, galactose e, às vezes, fucose. Possui peso molecular menor que a celulose e o grau de polimerização raramente excede 200 unidades (TAMBURINI, 1981).

Variando com o estado de desenvolvimento e com a espécie vegetal, a fração de hemicelulose da parede pode conter também grandes quantidades de outros polissacarídeos importantes, como glucuronoarabinoxilanos e glucomanos.

2.3. Pectina

Os polissacarídeos pécnicos são designados como pectina, ácido pécnico e protopectina. O termo

protopectina tem sido empregado para substâncias pécticas insolúveis em água, que sob hidrólise produzem ácidos pécticos. O ácido péctico (ou ácido poligalacturônico) é um polímero de alto peso molecular constituído de unidades de ácido galacturônico e resulta da remoção dos grupos metílicos da molécula de pectina (FARAGO & MAHMOUD, 1983).

As pectinas formam uma fase gel hidratada na qual está implantada a rede celulose-hemicelulose. Elas atuam como preenchimento hidrofílico, impedindo a agregação e o colapso da rede de celulose. Como as hemiceluloses, as pectinas incluem vários tipos diferentes de polissacarídeos caracteristicamente contendo açúcares ácidos, como ácido galacturônico, e açúcares neutros, como ramnose, galactose e arabinose.

Alguns polissacarídeos pécticos possuem uma estrutura primária relativamente simples, tal como homogalacturonano, também chamado de ácido poligalacturônico, que é um polímero de resíduos do ácido D-glucurônico com ligações α -1,4. Uma das pectinas mais abundantes é o polissacarídeo complexo ramnogalacturonano I (RG I), que tem uma estrutura básica longa e uma variedade de cadeias laterais. As pectinas tipicamente formam géis (redes frouxas formadas por polímeros altamente hidratados). São as pectinas que formam as geléias de frutos. Nos géis pécticos, os grupos carboxila (COO^-) carregados de cadeias de pectina vizinhas são ligados via Ca^{2+} , que formam um complexo firme com pectina (TAIZ E ZEIGER, 2004).

As pectinas estão sujeitas a modificações que podem alterar a conformação e a ligação na parede. Muitos dos resíduos ácidos são esterificados com metil, acetil e outros grupos não identificados durante a síntese no complexo de Golgi. Tal esterificação mascara as cargas de grupos carboxila e impede as ligações de cálcio entre pectinas, reduzindo o caráter de gel da pectina. Uma vez que a pectina é secretada para a parede, os grupos éster podem ser removidos por pectina esterases encontradas na parede, revelando as cargas dos grupos carboxila e aumentando a capacidade da pectina de formar um gel rígido. Pela criação de grupos carboxila livres, a desesterificação também aumenta a densidade de carga elétrica na parede, que por sua vez pode influenciar a concentração de íons na parede e as atividades de enzimas na parede. Além de serem conectadas por pontes de cálcio, as pectinas podem estar unidas entre si por diferentes ligações covalentes, incluindo ligações éster entre resíduos fenólicos (TAIZ E ZEIGER, 2004).

Os componentes da parede celular descritos estão interligados através de interações formando arranjos bastante complexos e que variam com a espécie e o tipo de tecido e órgão. As interações entre os polímeros da parede celular podem ser agrupadas em três classes principais:

? Ligações de hidrogênio: ocorrem tanto dentro como entre as moléculas de celulose, hemicelulose e pectina devido à presença de numerosos grupos hidroxílicos.

? Interações iônicas: podem ocorrer quando existem grupos carregados, por exemplo, em resíduos de ácido galacturônico não esterificados. Íons cálcio podem se ligar a estes polissacarídeos pécticos formando uma estrutura denominada caixa de ovos que tem particular interesse nas zonas de junção entre células e parecem ter um papel importante na adesão célula-célula e foram identificadas por microscópio de absorção atômica (MORRIS et al., 1982 citado por FÁVARO, 2003). Ligações covalentes: podem unir arabinogalactanas e galactanas. Ácido ferúlico é esterificado à arabinose e a resíduos de galactose e pode estar ligado aos pares formando pontes de diferulato entre cadeias de pectinas (BRETT e WALDRON, 1996 citado por FÁVARO, 2003).

Análises histoquímicas e química tem sido feita, a fim de se obter uma imagem geral da distribuição dos polímeros dentro da parede celular. Estes resultados mostraram que a quantidade de pectina na lamela média são maiores, muito baixos na parede secundária (BRETT e WALDRON, 1996 citado por FÁVARO, 2003). Técnica de imunocitoquímica tem sido aplicada, pois permite a localização muito mais precisa dos componentes da parede, por exemplo, o uso de anticorpos monoclonais contra a ligação na estrutura caixa de ovos de cálcio com dímeros de ácido poligalacturônico, revelou que zonas de junções de pectina com esta estrutura estão localizadas mais abundantemente nas áreas de expansão da lamela média nos ângulos de união entre as células (BRETT e WALDRON, 1996 citado por FÁVARO, 2003).

A textura final do produto cozido é a principal característica de qualidade exigida pelo consumidor. Os tecidos vegetais possuem uma estrutura organizada complexa (WALDRON et al., 1997 citado por FENIMAN, 2004) e quando há perda da integridade do tecido, esta estrutura é composta por células rompidas, individualizadas. Quando a adesão entre as células é forte, a fratura do tecido resulta em células rompidas com liberação do conteúdo celular, por exemplo, em frutos frescos ou imaturos. Porém, a separação celular, em tecidos cozidos ou em estágio avançado de maturação, ocorre sem que haja rompimento das células. Neste caso, o amolecimento normalmente é consequência da dissolução de polímeros da parede. Modificações durante a cocção que alteram a textura estão relacionadas com as paredes celulares, que definem o grau de coesão entre as células e as características do tecido (PEREIRA e BELÉIA, 2004).

O amolecimento termicamente induzido do tecido vegetal conduz a um aumento da separação celular e este fato decorre devido à destruição parcial do gel péctico. Esse efeito é acompanhado por aumento na solubilidade de polissacarídeos pécticos, provavelmente em consequência de degradação dos mesmos por β – eliminação e de alterações na distribuição de íons (Ng e WALDRON, 2002 citado por FENIMAN, 2004). A intensidade da β – eliminação está relacionada ao grau de metil-esterificação dos polímeros pécticos. O

mecanismo de β – eliminação é favorecido pela metilação dos grupos carboxílicos (FÁVARO, 2003).

A solubilização dos polímeros pécnicos também é afetada pela quantidade de íons Ca^{+2} disponíveis para complexar cadeias adjacentes de pectinas, formando pectatos de cálcio que são insolúveis em água e resistentes ao rompimento por ação enzimática ou pelo calor (WILLS e RIGNEY, 1979 citados por FÁVARO, 2003).

Bhatty (1995) citado por Feniman (2004), observou que algumas cultivares de lentilhas apresentaram menores tempos de cocção, e teores de ácido fítico mais elevado. O autor atribuiu esta associação à ação quelante do ácido fítico sobre os cátions bivalentes Ca^{+2} e Mg^{+2} , impedindo a formação de pectatos insolúveis. Como os pectatos evitam a desagregação celular durante a cocção, conseqüentemente houve redução da firmeza dos tecidos vegetais.

Favaro (2003), em trabalho com mandioca de uso culinário, detectou diferenças significativas para teores de minerais nas raízes de variedades que apresentaram tempos de cocção diferentes. Nas variedades que apresentaram menor tempo de cocção foi determinada quantidade menor de cálcio e magnésio e maior de potássio. Este autor sugere que estes minerais podem influenciar as ligações entre polissacarídeos pécnicos e resultar em maior perda de adesão celular durante a cocção.

Feniman (2004) sugere que para os tecidos das raízes de mandioca a diferença quantitativa no teor das substâncias pécnicas entre raízes de plantas com 12 e 15 meses pode estar relacionada com o tempo de cocção e qualidade de massa.

2.4. As principais funções do cálcio nas plantas

O cálcio age sobre diversos fatores ligados ao crescimento e desenvolvimento vegetal. O atraso no amadurecimento dos frutos e na senescência e abscisão foliar; a melhoria da qualidade de frutas e hortaliças, a alteração na resposta geotrópica, na fotossíntese e em outros processos como divisão celular, movimentos citoplasmáticos e aumento do volume celular são apenas algumas das funções do cálcio nas plantas (MALAVOLTA, et al, 1997). O cálcio também está diretamente envolvido nas funções do citoesqueleto (FEIJO et al. 1995 citado por STEFANUTO, 2002).

O cálcio encontra-se principalmente nas folhas das plantas e como não se transloca é detectado em maior quantidade nas folhas velhas. A maior parte do cálcio aparece na lamela média das paredes celulares como sal de compostos pécnicos. Surge também nos vacúolos celulares sob a forma de cristais insolúveis (STEFANUTO, 2002). Os cátions de cálcio se combinam com grupos carboxílicos do ácido pécnico dando origem ao pectato de cálcio, que juntamente ao pectato de magnésio, formam a lamela média da parede celular (MASCARENHAS citado por STEFANUTO, 2002).

A concentração do elemento nas plantas varia com a idade, parte da planta, espécie, enraizamento ou tipo de solo. Por exemplo, em média a concentração de cálcio no tecido seco gira em torno de 0,5% e no solo 0,43% (HALE E ORCUT, 1987 citado por STEFANUTO, 2002).

Estímulos externos (luz, gravidade, mecânicos) e internos (hormônios) atuam como mecanismos transportadores de cálcio modificando seu nível no citoplasma: o estímulo é uma mensagem que é conduzida pelo Ca^{+2} como "mensageiro secundário", quando a célula percebe a mensagem, o Ca^{+2} é descarregado dos seus reservatórios como o apoplasto, mitocôndrias e retículo endoplasmático no citosol (MALAVOLTA et al., 1997).

Os estudos de Mengel e Kirkby (1982) citados por Stefanuto, 2002, mostraram que a deficiência hídrica pode reduzir a concentração de cálcio nas plantas o que pode também causar deficiência nutricional. Todavia o trabalho de Abdel-Basset (1998) citado por Stefanuto, 2002 indicou que adição de cálcio ao substrato das plantas reduz os efeitos da deficiência hídrica, promovendo o aumento do peso seco, conteúdo de água e clorofila.

Embora os mecanismos pelos quais o Ca^{+2} atua na redução do estresse não sejam bem conhecidos, Reddy (2001) citado por Stefanuto, 2002 sugere que o Ca^{+2} serve como mensageiro em muitos processos de crescimento e desenvolvimento em respostas ao estresse biótico e abiótico.

O efeito de adubação com cálcio e potássio sobre o cozimento da mandioca nunca foi aprofundado. Os resultados poderão ajudar a entender o mecanismo de cozimento e a explicar suas deficiências.

2.5. Efeito de adubação com potássio e cálcio no cozimento da mandioca cultivar IAC576-70

Em 2005-2006 um projeto multidisciplinar foi desenvolvido reunindo profissionais de diversas áreas (NEVES et al., 2006). A cultivar IAC 576 70 foi selecionada e recomendada para uso culinário. De polpa amarela e com boa produtividade precoce foi adotada na maior parte do país. A cultivar foi plantada em Campo Grande, MS em outubro de 2005. O experimento inteiramente casualizado foi implantado como blocos ao acaso com 3 tratamentos. Os tratamentos compreenderam NPK 4:20:20 no momento do plantio com as seguintes suplenetações por planta: T1 8g de uréia; T2 22,5g de Nitro cálcio; T3: 3g KCl + 8g uréia. A uréia foi usada para balancear o nitrogênio dos tratamentos. A colheita foi feita a partir de Março de 2005 representando a entrada no período de repouso fisiológico. A precipitação inicialmente era de cerca

de 100 0mm/m² e reduziu drasticamento, voltando na próxima estação de chuvas a este nível. A temperatura inicial foi de em média de 24,27 °C em março declinou nos meses de seca para voltar a esse patamar no início de 2006. Os resultados prévios mostraram que não houve interferência dos tratamentos de adubação, como estabelecidos, no desenvolvimento da planta de mandioca, que pode ser considerado normal. No processo de cozimento observou-se um comportamento que pode ser considerado normal para a cultivar, com raízes mais macias correspondendo ao período de repouso fisiológico, mas não foi detectada influência da adubação no plantio. Os resultados de análise de cátions e ânions mostraram que aos poucos tanto o cálcio como o potássio foram desaparecendo dos tecidos das raízes, tanto cruas como cozidas, explicando talvez a não interferência no mecanismo de cozimento das raízes. Apesar disso a análise infravermelho médio conseguiu verificar diferenças suficientes para caracterizar as raízes cruas e cozidas a cada mês de colheita. Os autores sentiram necessidade de comparar a cultivar de uso culinário com uma de uso industrial para tentar estabelecer mecanismos de resposta no cozimento das raízes, bem como de medir os compostos pécticos e de parede celular, que se sabe pela literatura estarem correlacionados com o cozimento.

Face as atividades já desenvolvidas e os resultados obtidos propõem-se a continuação do projeto, abordando o efeito da adubação com cálcio.

- Metodologia:

3.1. Material de plantio:

Serão avaliadas duas cultivares, uma de uso culinário IAC 576 -70 e uma de uso industrial (Fécua Branca). A cultivar IAC 576-70, de polpa amarela e uso culinário é a mais cultivada no Estado de São Paulo e a cultivar Fécua Branca foi selecionada no Estado de São Paulo e Paraná para fabricação de farinha e extração de fécula. Para plantio serão utilizadas manivas das cultivares. O plantio será feito em início de março de 2007.

3.2. Fertilizantes

As adubações seguirão as análises químicas do solo das amostras coletadas para a análise. Os tratamentos serão compostos por 2 adubações: T1: adubação NPK no plantio + uréia; (testemunha); T2: adubação NPK no plantio + adubação de cobertura com Nitrocálcio; (influência do cálcio), continuando mensalmente com a mesma adubação.

O fertilizante NPK será distribuído normalmente nos sulcos de plantio, e adubação de cobertura será distribuída a lanço, de forma manual, aproximadamente 45 dias após o plantio.

3.7. Delineamento experimental

O experimento compreenderá dois tratamentos de adubação e 2 cultivares com 4 repetições. As parcelas, terão dimensão de 5,5 m de largura e 11 m de comprimento, perfazendo uma área de 55 m². As manivas com tamanho médio de 0,20 m e aproximadamente seis gemas, serão plantadas em sulcos de 0,10 m de profundidade com espaçamento de 0,50 m entre manivas e 1,0 m entre linhas. Cada parcela terá um total de 120 plantas, sendo que apenas 48 serão colhidas e analisadas (plantas úteis). O delineamento experimental será em blocos casualizados com quatro repetições.

3.8. Colheita do experimento

Para estabelecer a influência dos fatores adubação sobre o mecanismo de cozimento, as raízes serão colhidas no período de crescimento vegetativo e no período de repouso, como segue:

Plantio: março de 2007. A primeira colheita de raízes será feita após 6 meses depois como segue na Tabela 2.

Tabela 2: Cronograma de colheita, idade e estágio de desenvolvimento da planta de mandioca

Ano 2007

Colheita Abril Maio Junho Julho Agosto Setembro

Meses 6 7 8 9 10 11

Fase Crescimento vegetativo Repouso

Ano 2007 2008

Colheita Outubro Novembro Dezembro Janeiro Fevereiro

Meses 12 13 14 16 17

Fase Crescimento vegetativo

Em cada época serão colhidas, ao acaso duas plantas de uma área homogênea, considerando uma repetição. Serão feitas 3 repetições. De cada planta serão tomadas todas as raízes. As raízes serão pesadas e medidas, após o que serão descascadas e pesadas, em separado, a polpa e as entrecascas. Polpa: lavadas e cortadas transversalmente em toletes medindo aproximadamente 5 cm e estes serão cortados em palitos com 1 cm de secção quadrada. Serão separados lotes de palitos para as diferentes análises. Um lote será conservado in natura e outro será submetido à cocção. Será estabelecida a produtividade por pé.

3.9.1. Raízes in natura

Serão determinadas composição química, isolamento e fracionamento das paredes celulares, extração e caracterização do amido, testes histoquímicos e separação celular por vórtex.

3.9.1.2. Composição química

As análises de composição química serão realizadas segundo o descrito por IAL (1985) como seguem: Acidez, pH, teor de umidade, cinza, fibra, Serão realizadas análises do teor de carboidratos redutores e

totais será efetuado segundo o método de Somogy-Nelson (SOMOGY, 1945; Nelson, 1944).

3.9.1.3. Teor de material como parede celular e pectina

Segundo Pereira e Beleia (2004) o método para o fracionamento da pectina em polissacarídeos pecticos será usado com algumas adaptações, como segue: 1,5 Kg de mandioca serão descascados e homogeneizados com 2 litros de água destilada em um liquidificador. Passar por peneira de malha 150 µm e de 62 µm, sucessivamente para remoção parcial do amido. O material retido será seco em estufa com circulação de ar a 45 °C, moído e passado pela peneira de 150 µm. A remoção do amido será feito com o uso de AMG. Para duas repetições usar dez gramas do material para cada amostra, suspensas em 200 mL de água destilada e incubadas em banho-maria (90 °C) com água em ebulição por 20 min para a gelificação do amido. Posteriormente as amostras serão resfriadas a 50 °C com adição de 5ml da enzima AMG, após um período de 24 horas, onde será feito o teste do lugol para certificar da remoção de amido (teste negativo de cor). O material restante será centrifugado por 15 minutos. Os resíduos sólidos da hidrólise enzimática, se constituirão de paredes celulares e serão lavados sucessivamente com água destilada, metanol e acetato e deixados secar à temperatura ambiente. O material de parede celular obtido será dializado segundo Noda et al. (1994) citado por Pereira e Beleia, (2004) com 375ml de solução saturada de oxalato de amônio 0,25% a 90 °C. O extrato composto de polissacarídeos pecticos dializado foi seco em estufa e pesado.

3.9.1.4. Testes histoquímicos

Os cortes para os testes histoquímicos serão feitos à mão com o auxílio de lâmina e submetido a fotomicrografia em microscopia óptica.

3.9.2. Avaliação do cozimento

Será determinado o tempo de usando palitos de mandioca crus, pesados e submetidos a 15 minutos de cocção (NEVES ET AL., 2006). Após o cozimento serão pesados novamente. A diferença obtida será expressa em porcentagem de ganho de peso ou absorção de água, sem considerar os sólidos perdidos para a água de cocção ou alteração na umidade das amostras.

- Referências Bibliográficas:

BELÊIA, A.; YAMASHITA, F.; MORAES, S. R.; SILVEIRA, C. A.; MIRANDA, L. A. Textural changes during cooking of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots. *Journal of the Science of Food and Agriculture* n.84, p. 1975-1978, 2004.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. *Botanical microtechnique and cytochemistry*. Anvres, The Iowa state Press, 326 p. 1976.

CARDOZO, C. E. L.; SOUZA, J. da S. Importância, potencialidades e perspectivas do cultivo da mandioca na América latina.. In: Cereda, M.P. *Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas*. São Paulo: Fundação Cargill, v.2, cap. 2, p.29-47, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. *Manual de métodos de análise de solo*. 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997, 212p.

VILPOUX, O.; CEREDA, M.P. Processamento de raízes e tubérculos para uso culinário: minimamente processadas, vácuo, pré-cozidas congeladas e fritas (french fries). In: Cereda, M.P. *Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas*. São Paulo: Fundação Cargill, v.3, cap. 4, p.81-109, 2003.

DUPUY, N.; WOJCIECHOWSKIC.; TA, C.D.; HUVENNE, J.P.; LEGRAND, P. Mid-red spectroscopy and chemometrics in corn starch classification. *Journal of Molecular Structure*, v.410-411, n.16, p.551554, 1997.

FAVARO, S. P. *Composição química e estrutura de paredes celulares de variedades de mandioca (Manihot esculenta Crantz) com tempos de cocção diferentes*. Londrina, 2003. 132 p. Tese (Doutorado) – Centro de ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina.

GAHAN, P. B. *Planthistochemistry and cytochemistry*. New York, Academic Press, 301 p. 1984.

HAQUE, M. R., BRADBURY J. H. (2004). Preparation of linamarin from cassava leaves for use in a cassava cyanide kit. *Food Chemistry*, 85, 27-29.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análises de alimentos*. 3 ed. São Paulo, v. 1, 126 p., 1985.

JENSEN, W. A. *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. W. H. Freeman, San Francisco, 408 p. 1962.

KIEHL, E.J. *Manual de edafologia*. São Paulo: Ceres, 1979. 264 p.

- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: Potafos, 1997. 308p.
- NELSON, N. A. Photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemical*, Baltimore, n. 153, p. 375 –380, 1944.
- OLIVEIRA, M. A. comportamento físico, químico e culinário de mandioca cv IAC 576 -70, processadas como “minimamente processadas”, tratadas cm ácido cítrico e hipoclorito de sódio e embaladas à vácuo em sacos de polietilenom por 4 semanas à 40 °C. In: Simpósio Latinoamericano de raices e Tubérculos, 2, 2001, Lima, Peru. Anais...Molina: Universidad Nacional Agrária La Molina, 2001, p. 11.
- OLIVEIRA, M. A.de; LEONEL, M.; CABELLO, C.; CEREDA, M. P.; JANES, D. A. Metodologia para avaliação do tempo de cozimento e características tecnológicas associadas em diferentes cultivares de mandioca. *Ciências e Agrotecnologia*, Lavras, v. 29, n. 1, p. 126-133, 2005.
- OTSUBO, A. A.; SILVA, R. F. Avaliação de cultivares de mandioca de uso culinário em Mato Grosso do Sul. Dourados: Embrapa Agropecuária Oestes, 2002. 6 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Comunicado Técnico, 61).
- NEVES; C. F. Q.; M.P.; , A.R.B. da ; BALTHA A.D. ; SILVA T.R.B. da Effect of K and Ca fertilization in cassava IAC 576 -70 variety cooking quality. In: INTERNATIONAL MEETING ON CASSAVA BREEDING, BIOTECHNOLOGY AND ECOLGY,1., Brasília Anais ...p.132, Cassava Improvement to Enhance Livelihoods in Sub Saharan África and Northweast Brasil, Brasília, Federação Universidade de Brasília, Ministério do Meio Ambiente, 2006.
- PADONOU, WILFRID; MESTRES, CHRISTIAN; NAGO, MATHURIN COFFI. The quality of boiled cassava roots: instrumental characterization and relationship with physicochemical properties and sensorial properties. *Food Chemistry* v.89, p. 261–270, 2005.
- PEREIRA, A. S.; LORENZI, J. O; VALLE, T. L. Avaliação do tempo de cozimento e padrão de massa cozida em mandioca de mesa. *Revista Brasileira de Mandioca*, v.4, n.1, p.27-32, jun. 1985.
- RAIJ, B. V.; QUAGGIO, J. A. Métodos de análises de solo para fins de fertilidade. *Boletim Técnico do Instituto Agrônômico*, Campinas,n. 81, p. 1 – 31, 1983.
- ROMBOUTS, F. M. ; PILNIK, W. Pectina enzymes. In: ROSE, A. H. *Economic microbiology: microbial enzymes and bioconcersions*. New York: Academic Press, 1980. p. 227 – 82.
- SALVADOR, L. D.; SUGUNUMA, T.; KITAHARA, K.; TANOUE, H.; ICHIKI, M. Monosaccharides composition of sweetpotato fiber and cell wall polysaccharides from sweetpotato, cassava, and potato analysed by the high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection method. *J. Agricultural Food Chemistry*. v. 48. p. 3448-3454. 2000.
- SILVA, R. M.; FARALDO, M. I. F.; ANDO, A.; VEASEY, E. A. Variabilidade genética de etnovariedades de mandioca. In: Cereda, M.P. *Agricultura: tuberosas amilaceas Latino Americanas*. São Paulo: Fundação Cargill, v.2, cap. 11, p.207-241, 2002.
- SOMOGY, M. Determination of blood sugar. *Journal of Biological Chemical*, Baltimore, n. 160, p. 69 – 73, 1945.
- STEFANUTO, V.A. Efeito do cálcio na homeostase de brotações de um clone de *Eucalyptus grandis* Hill (ex Maiden) sob condições de deficiência hídrica induzida in vitro. Piracicaba, 2002. 65 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- STOLF, R. Teoria e teste experimental de fórmulas de transformação dos dados de penetrômetro de impacto em resistência do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.15, n.3, p.229-235, 1991.
- SUDA, C.N.K. Hidrolases da parede celular em sementes de *Euphorbia heterophylla* durante a germinação e desenvolvimento inicial da plântula. Ribeirão Preto, 2001. 144p. Faculdade de medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.
- TERNES, M. Fisiologia da planta. In: Cereda, M.P. *Agricultura: tuberosas amilaceas Latino Americanas*. São Paulo: Fundação Cargill, v.2, cap.4, p.66-82, 2002.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- TAMBURINI, E. R. Obtenção de ácool do resíduo celulósico de mandioca por diferentes processos deslignificantes e hidrolíticos. Lavras, 1981. 79 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de

agricultura de Lavras, Universidade Estadual de Minas Gerais.

