



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

ÉERICA MENEZES SALVINO

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E NUTRICIONAL DE COUVE
(*Brassica oleraceae* var. *acephala*) DESIDRATADA E
APLICAÇÃO EM FORMULAÇÕES DE PÃO DE FORMA**

**JOÃO PESSOA-PB
2014**

Érica Menezes Salvino

AVALIAÇÃO QUÍMICA E NUTRICIONAL DE COUVE
(*Brassica oleraceae* var. *acephala*) DESIDRATADA E
APLICAÇÃO EM FORMULAÇÕES DE PÃO DE FORMA

JOÃO PESSOA-PB
2014

Érica Menezes Salvino

AVALIAÇÃO QUÍMICA E NUTRICIONAL DE COUVE (*Brassica oleraceae* var. *acephala*) DESIDRATADA E APLICAÇÃO EM FORMULAÇÕES DE PÃO DE FORMA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor.

Orientador (a): Janeeyre Ferreira Maciel

**JOÃO PESSOA-PB
2014**

S185a Salvino, Érica Menezes.

Avaliação química e nutricional de couve (*Brassica oleraceae* var. *acephala*) desidratada e aplicação em formulações de pão de forma / Érica Menezes Salvino.- João Pessoa, 2014.

68f. : il.

Orientadora: Janeeyre Ferreira Maciel

Tese (Doutorado) - UFPB/CT

1.Tecnologia de alimentos. 2.Hortaliças. 3.Branqueamento.
4.Secagem. 5.Pães enriquecidos.

UFPB/BC

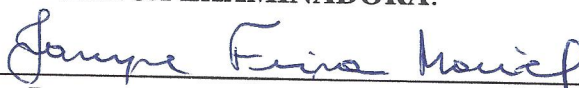
CDU: 664(043)

Érica Menezes Salvino

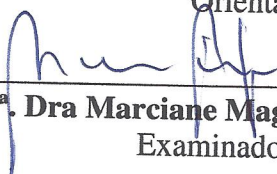
**Avaliação química e nutricional de couve (*Brassica oleraceae* var. *Acephala*) desidratada
e aplicação em formulações de pão de forma**

Tese Defendida em 30 de Junho de 2014

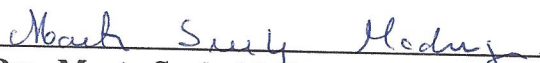
BANCA EXAMINADORA:



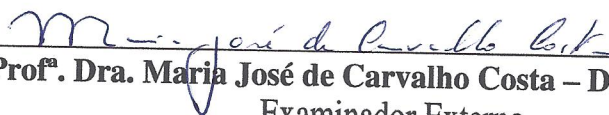
Prof^ª. Dra Janeeyre Ferreira Maciel – DEA/CT/UFPB
Orientadora



Prof^ª. Dra Marciane Magnani – DEA/CT/UFPB
Examinador Interno



Prof^ª. Dra. Marta Suely Madruga – DEA/CT/UFPB
Examinador Interno



Prof^ª. Dra. Maria José de Carvalho Costa – DN/CCS/UFPB
Examinador Externo

Prof^ª. Dra. Liliana de Fatima Bezerra Lira de Pontes – DQ/CCEN/UFPB
Examinador Externo

A toda minha família, especialmente aos melhores pais do mundo, Antonio Salvino Pereira e Maria de Fátima Menezes Salvino, pelo amor e apoio incondicionais nesta e em todas as etapas da minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre estar comigo e me guiar nos momentos difíceis, para conseguir cumprir mais uma meta em minha vida.

Aos meus pais Antonio Salvino Pereira e Maria de Fátima Menezes Salvino, pelo amor, carinho, incentivo e dedicação, onde nunca mediram esforços pela minha formação.

Aos meus três irmãos Rivaldini, Moisés e Daniele, as minhas cunhadas Ligiane Salvino e Laís Salvino, pela palavra amiga, motivação e incentivo, sempre estando presentes comigo.

Ao meu marido Adriano Alves, meu enteado Államo Chacon, minha sogra Ivone Alves, minhas cunhadas Adriana Alves e Luciana Alves e meu cunhado Dennis Barbosa, pelo incentivo e compreensão.

Aos meus amigos e irmãos do Grupo Caravana, Aureliano Guedes, Matilde, Sandra Nascimento, Kátia, pela amizade verdadeira, carinho e incentivo.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal da Paraíba, pela formação acadêmica e pela oportunidade de realização do doutorado.

A coordenadora da PPGCTA, Prof^a Dra. Marta Suely Madruga e a secretária Lindalva pela colaboração e disponibilidade nunca negada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa através do Programa de Demanda Social.

A minha orientadora Prof^a. Dra. Janeeyre Ferreira Maciel pela orientação, ensinamentos, oportunidade, confiança e por todos os momentos compartilhados.

Aos demais membros da banca, Prof^ª Dra. Marta Suely Madruga, Prof^ª. Dra Marciane Magnani, Prof^ª. Dra. Maria José de Carvalho Costa e Prof^ª. Dra Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes, pelas correções e valiosas contribuições para o aperfeiçoamento e questionamentos desta pesquisa.

A todos os colegas e amigos do Doutorado, em especial a Fátima Azevedo, Alline de Souza, Adriana Lima, Poliana Epaminondas, Katiuscia Lôbo, Cybelle Pereira, Michelle Melo, Maristela Alcântara, Kassandra Gadelha, Alinne Gouveia, Larissa Feitosa, Diego Valois, pelo convívio alegre, horas de estudos, pelas palavras de motivação nas horas difíceis, e companheirismo.

Aos meus queridos colaboradores Roberto Kelwin, Carien Ellen, Diva Priscila, Keliane Lunguinho, Ives Soares e Aline Macedo que me ajudaram a realizar algumas etapas da pesquisa.

A querida Rosy Nascimento, proprietária do plantio, pela colaboração no fornecimento das amostras utilizadas nesse estudo.

Aos Técnicos dos Laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos Claudionor, Eunice, Gilvandro, Thayse, Rafael, Chico e Herbert, pela disponibilidade nunca negada.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente, se dispuseram a me ajudar, contribuindo para a realização deste trabalho.

RESUMO

No presente estudo o objetivo foi obter a couve (*Brassica oleraceae* var. *acephala*) desidratada a partir da variedade manteiga Geórgia, cultivada no Nordeste do Brasil, caracterizá-la química e nutricionalmente *in natura* e branqueada e quantificar as perdas em nutrientes e outros compostos devidos ao processo de branqueamento. Posteriormente, a couve branqueada desidratada foi adicionada à formulação de pão de forma, nas concentrações de 2,5% e 5%, para realização das análises físico-químicas, sensoriais e de composição química. Ainda, foi elaborado um pão controle, para fins de comparação. Na couve não branqueada predominaram fibra alimentar (4,36 g/100g), cálcio (277,2 mg/100g), potássio (468,37 mg/100g), clorofila (133 mg/100g) e fenólicos totais (93,6 mg/100g). Na couve branqueada houve redução significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de zinco (40%), cálcio (29%), cobre (20%), ácido ascórbico (17%) e fenólicos totais (29%), porém, a quantidade de cálcio, após o branqueamento, foi suficiente para classificar essa hortaliça como fonte desse nutriente. Quanto à couve branqueada desidratada, foram observadas concentrações elevadas de fibras (39,52g/100g), cálcio (2065 mg/100g), potássio (2924,5 mg/100g), fósforo (806 mg/100g), magnésio (665,5 mg/100g), ferro (11,6 mg/100g) e manganês (2,67 mg/100g), quantidades essas superiores as recomendadas para o consumo diário. Entre os antioxidantes destacaram-se, clorofila (420,3 mg/100g) e fenólicos totais (224,6 mg/100g). Para o ácido oxálico, a quantidade (18,43 mg/100g) presente na couve branqueada desidratada foi abaixo do limite considerado de risco para a saúde. Apesar das perdas observadas em todos esses componentes, devidas ao branqueamento, as quantidades mantidas foram suficientes para assegurar seu valor nutricional. A adição de couve branqueada desidratada não interferiu no volume específico dos pães, que variou de 4,08 a 4,57 cm³/g, e na atividade de água, que foi de 0,95, sendo possível obter produtos com características tecnológicas satisfatórias. Nas análises sensoriais, os pães adicionados de couve apresentaram boa aceitação, com escores médios variando de 6,5 a 8,4, destacando-se quanto à maciez. A cor do pão com 5% de couve foi o único atributo que obteve escore médio abaixo do obtido para o pão controle. Portanto, o uso da couve branqueada desidratada na formulação de pão de forma resultou em produtos com boa aceitação sensorial, com

incrementos no valor nutricional, além de oferecer ao consumidor uma nova opção de consumo desse tipo de pão.

Palavras-chaves: Hortaliças, branqueamento, secagem, pães enriquecidos.

ABSTRACT

In the present study the objective was to obtain dehydrated from a variety manteiga(Georgia) of the Brazilian Northeast kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala*), and characterize it chemically and nutritionally in natura and bleached and quantify the nutrient losses and other component losses, resulting from the bleaching process. Dehydrated bleached kale was added to the loaf bread formulation, in the concentrations of 2.5% and 5%, for physical-chemical, sensorial and chemical composition analysis. A regular loaf bread was used as control group. In the not blanched kale predominated: fiber (4.36g/100g), calcium (277.2 mg/100g), potassium (468.37 mg/100g), chlorophyll (133 mg/100g and total phenolic (93.6 mg/100g). As for the blanched kale, there was significant reduction ($p<0.05$) in the concentrations of zinc (40%), calcium (29%), copper (20%), ascorbic acid (17%) and total phenolic (29%), but the calcium amount after bleaching process was sufficient to classify this kale as font of this nutrient. In regards to the dehydrated bleached kales, high levels of fibers (39.52g/100g), calcium (2065 mg/100g), potassium (2924.5 mg/100g), phosphor (806 mg/100g), magnesium (665.5 mg/100g), iron (11,6 mg/100g) e manganese (2,67 mg/100g) were observed, which are quantities higher than recommended for daily ingestion. Among the antioxidants stood out: chlorophyll (420.3 mg/100g) and total phenolic (224.6 mg/100g). To the quantity of oxalic acid (18.43 mg/100g) in the dehydrated bleached kale was below of the boundary of the considered a risk to health. Despite the losses observed in all of these components, due to bleaching, the quantities held were sufficient to ensure its nutritional value. The addition of dehydrated bleached kale did not interfere in the specific volume of the bread, which ranged from 4.08 to 4.57cm³/g, and the water activity level was 0.95, so the final product had satisfactory technological characteristics. In sensorial analysis, the kale breads had good acceptance, with average scores ranging from 6.5 to 8.4, its softness standing out. The color of the 5% kale bred was the only attribute that lost in comparison to the regular bread. Therefore, the use of dehydrated bleached kale in the formulation of bread loaf resulted in products with good sensorial acceptance, increments in nutritional value, besides offering the consumer a new option of loaf bread.

Keywords: Vegetables, bleaching, dried, enriched breads

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Couve (<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>acephala</i>) cultivar Geórgia utilizada na pesquisa.	9
Figura 2 – Couve não branqueadas (A), branqueadas (B), não branqueadas desidratadas (C) e branqueadas desidratadas (D).	10
Figura 3 – Curva analítica utilizada para a determinação do teor de ácido fítico.	12
Figura 4 – Fluxograma de elaboração dos pães de forma	15
Figura 5 – Ficha de avaliação utilizada no teste sensorial.....	17

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 – Teores médios da composição química de couve não branqueada (CNB) e de couve branqueada (CB).37

Tabela 2 – Teores médios da composição química de couve não branqueada desidratada (CNBD) e de couve branqueada desidratada (CBD).38

ARTIGO 2

Tabela 1 - Resultados das análises físico-químicas dos pães de forma.....54

Tabela 2 – Resultados da avaliação de textura dos pães de forma.56

Tabela 3 – Valores de médias e desvios-padrão dos escores obtidos no teste de aceitação sensorial dos pães de forma das formulações com 0%, 2,5% e 5% de couve desidratada.57

Tabela 4 – Teores médios da composição química dos pães de forma.57

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APHA	American Public Health Association
ASSISTAT	Assistência Estatística
A_w	Water activity
Ca^{2+}	íon cálcio
CCS	Centro de Ciências da Saúde
cm^3	centímetros cúbicos
CT	Centro de Tecnologia
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
F1	Pão de forma contendo 2,5% de couve em pó
F2	Pão de forma contendo 5,0% de couve em pó
FAO	Food and Agricultural Organization
g	Grama
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDR	Ingestão Diária Recomendada
Kg	Quilograma
KMnO_4	Permanganato de potássio
μg	micrograma
μm	micrômetro
mg	miligrama

mL	Mililitro
N	Nitrogênio
Na ⁺	íon sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH 0,1 N	Hidróxido de Sódio a 0,1 Normal
NMP	Número Mais Provável
°C	Graus celsius
PB	Paraíba
PC	Formulação de pão de forma controle
pH	Potencial hidrogeniônico
POF	Pesquisa de orçamento familiar
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
α	Alfa
β	Beta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 COUVE.....	3
2.2 HORTALIÇAS DESIDRATADAS	4
2.3 ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE PÃES	6
2.4 MICROMINERAIS COBRE E MANGANÊS.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 MATERIAL.....	9
3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS.....	9
3.3 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE FOLHAS DE COUVE NÃO BRANQUEADA, BRANQUEADAS E DESIDRATADAS.....	11
3.3.1 Análise dos nutrientes	11
3.3.2 Análise dos fatores interferentes na biodisponibilidade de nutrientes	11
3.3.3 Análise dos compostos bioativos	13
3.4 PROCESSO DE ELABORAÇÃO DOS PÃES.....	14
3.5 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS PÃES	15
3.5.1 pH e Acidez total titulável (ATT)	15
3.5.2 Volume específico.....	16
3.5.3 Atividade de água (A_w)	16
3.5.4 Textura	16

3.6	AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	16
3.7	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PÃES DE FORMA.	18
3.8	ANÁLISES ESTATÍSTICA.....	18
4.	REFERÊNCIAS.....	19
5.	RESULTADOS	29
5.1	ARTIGO 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE COUVE (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i>) DESIDRATADA.....	30
5.2	ARTIGO 2 – PÃO DE FORMA CONTENDO <i>Brassica oleraceae</i> var. <i>acephala</i> COMO FONTE DE COBRE E MANGANÊS.	47
6.	CONCLUSÕES.....	65
	ANEXO A – Certidão do Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos	66
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (fls 01)	67
	APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido (fls 02)	68

1. INTRODUÇÃO

A couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), hortalica folhosa verde-escuro, é considerada um alimento de elevado valor nutricional e com propriedades funcionais, por apresentar quantidades significativas de minerais e antioxidantes, substâncias que reduzem a concentração de radicais livres no organismo e com ação comprovada na prevenção de certas doenças crônicas degenerativas. Além disso, apresenta alto teor de fibras que desempenham papel importante na motilidade e absorção intestinal (LIGOR; TRZISZKA; BUSZEWSKI, 2013; SIKORA; BODZIARCZYK, 2012).

Essa hortalica apresenta alto teor de umidade e, por essa razão, não pode ser mantida por mais que alguns dias a temperatura ambiente, podendo sua vida útil ser ampliada para meses ou mesmo anos por meio da aplicação de desidratação (MWITHIGA; OLWAL, 2005), processo que promove a concentração de nutrientes e demais compostos presentes na couve. Por essa razão, além de fornecer quantidades significativas de fibras e minerais, a couve passa também a ser considerada boa fonte de proteínas.

Algumas hortalicas têm sido amplamente utilizadas pela indústria de alimentos na forma desidratada, destacando-se entre essas a beterraba e a cenoura (HAMERSKI; REZENDE; SILVA, 2013), enquanto para couve, ainda predomina o consumo a nível doméstico, podendo esta ser adicionada *in natura* na preparação de sucos (FEIBER; CAETANO, 2012), refogada (LUCIA et al., 2011) ou cozida, quando utilizada como ingrediente em pratos como sopas e arroz (AYAZ et al., 2006).

A utilização da couve desidratada na formulação de alimentos industrializados se constitui como uma excelente alternativa para aumentar o consumo desse vegetal, especialmente por pessoas que residem em áreas urbanas e que se alimentam cada vez mais fora de casa, substituindo refeições principais por lanches (IBGE, 2010b), destacando-se o consumo de pães em sanduíches (TEIXEIRA et al., 2012).

Os pães têm sido muito utilizados para fins de enriquecimento, por serem alimentos amplamente consumidos por indivíduos de diferentes grupos etários e classes sociais em todo o mundo (HOBBS et al., 2014). Das diversas pesquisas nessa área, destacam-se as que propõem aumentos nos teores de fibras e minerais (MORRIS; MORRIS GORDON, 2012). Entretanto, a crescente preocupação em estimular o maior consumo de frutas e hortalicas tem

incentivado a realização de pesquisas sobre substituição parcial de farinha de trigo por farinha obtida a partir desses vegetais.

HOBBS et al. (2014) testaram a aceitação sensorial de pães adicionados de beterraba e cenoura, recomendando a inclusão desses produtos na dieta como forma de aumentar a ingestão diária de hortaliças. LÓPEZ-NICOLÁS et al. (2014) observaram que o consumo de duas porções por dia (56g cada) de pão fortificado com acelga e espinafre satisfaziam os requisitos de ácido fólico para adultos e para mulheres em idade fértil.

Nessa pesquisa, o objetivo foi enriquecer pão de forma com couve branqueada desidratada obtida a partir de uma variedade cultivada no Nordeste do Brasil. Ainda, foram determinados na couve não branqueada, branqueada e branqueada desidratada a composição química e o valor nutricional, bem como as perdas de nutrientes e outros compostos resultantes do processo de branqueamento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Segundo a OMS - Organização Mundial de Saúde (2002), o consumo de frutas, verduras e legumes deveria ser de pelo menos 400 gramas ao dia, na forma de cinco porções, sendo três de verduras e legumes e duas de frutas, para a prevenção de doenças crônicas, como doenças cardíacas, câncer, diabetes e obesidade, e para a prevenção e alívio de várias deficiências de micronutrientes, especialmente em países menos desenvolvidos. Na Pesquisa de Orçamentos Familiares-(POF), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- IBGE (IBGE, 2010b), realizada no período 2008-2009, foi observado que somente um quarto da população avaliada consumia frutas, verduras e legumes de acordo com as recomendações estabelecidas pela OMS.

Como forma de reverter esse baixo consumo de vegetais no Brasil, em 2009, uma das medidas de incentivo tomada pelo governo brasileiro foi à obrigatoriedade da ingestão desses alimentos nas escolas, segundo a Lei nº 11.947/2009 e Resolução nº 38/2009 do Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação - FNDE, onde os cardápios deverão conter, pelo menos, três porções de frutas e hortaliças por semana (200g/aluno/semana) nas refeições ofertadas (FNDE, 2014).

2.1 COUVE

A couve (*B. oleracea acephala*) é uma hortaliça folhosa verde-escuro originária da couve selvagem mediterrânea, pertencente a família Brassicaceae, que abrange algumas variedades botânicas muito importantes, como *Brassica oleracea* var. *capitata* (repolho), *Brassica oleracea* var. *botrytis* (couve-flor) e *Brassica oleracea* var. *italica* (brócolis). É uma cultura típica de outono-inverno, se desenvolvendo melhor em temperaturas mais amenas (16°C a 22°C), mas pode ser plantada durante todo o ano, por apresentar tolerância ao calor (FILGUEIRA, 2008).

Essa hortaliça pode ser classificada quanto à aparência, cor e textura das folhas em diferentes cultivares, recebendo denominações de acordo com a localidade. Somente no Brasil foram caracterizados 32 genótipos de couve em Campinas – São Paulo e 30 de Diamantina e Lavras – Minas Gerais, com grande diversidade morfológica e genética, denominadas como

cabocla, japonesa, roxa, orelha de elefante, manteiga Geórgia, couve-manteiga Baby, entre outras (AZEVEDO et al., 2014; NOVO et al., 2012).

De acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares-(POF), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística– IBGE, realizada no período 2008-2009, a média da produção *per capita* de couve no Brasil foi de 0,325 Kg/hab./ano, inferior ao observado somente para a região Sudeste (0,502 Kg/hab./ano). Das cinco grandes regiões, o Nordeste foi o que apresentou menor produção *per capita* (0,098 Kg/hab./ano) sendo deste total aproximadamente 34% (0,033 Kg/hab./ano) produzido na Paraíba (IBGE, 2010a).

Algumas hortaliças têm sido amplamente utilizadas pela indústria de alimentos na forma desidratada, destacando-se entre essas a beterraba, a cenoura e o espinafre (HAMERSKI; REZENDE; SILVA, 2013; PADALINO et al., 2013), enquanto para couve, ainda predomina o consumo a nível doméstico, podendo esta ser adicionada *in natura* na preparação de sucos (FEIBER; CAETANO, 2012), refogada (LUCIA et al., 2011) ou cozida, quando utilizada como ingrediente em dieta enteral ou pratos como sopas e arroz (CALHEIROS; CANNIATTI-BRAZACA, 2011; AYZAZ et al., 2006).

As folhas de couve, tanto frescas como cozidas, são boas fontes de aminoácidos essenciais, que correspondem a 47% dos aminoácidos totais (KORUS, 2014). Segundo Acikgoz e Deveci (2011) e Fadigas et al. (2010) a couve é constituída por boas quantidades dos minerais cálcio, magnésio, ferro, zinco e manganês. Além desses nutrientes essenciais, também são encontrados na couve, compostos bioativos capazes de reduzir o surgimento de doenças degenerativas (KAULMANN et al., 2014; KORUS, 2013). Quanto aos fatores que interferem na biodisponibilidade de nutrientes, as quantidades encontradas na couve (EMEBU; ANYIKA, 2011) podem ser consideradas baixas, quando comparados com os citados para outras crucíferas como couve-flor, couve chinesa e repolho (7-27mg/100g) (JUDPRASONG et al., 2012) e outras hortaliças folhosas verde-escuro como o espinafre e ruibarbo (400-1235 mg/100g) (MASSEY, 2007).

2.2 HORTALIÇAS DESIDRATADAS

A desidratação (ou secagem) é definida como “a aplicação de calor sob condições controladas para remover, por evaporação, a maioria da água normalmente presente em um

alimento” (ou, no caso da liofilização, por sublimação), com o objetivo principal de prolongar sua vida de prateleira. A utilização desse processo vai depender de fatores como condições climáticas, exigências do mercado, matéria-prima, custo da produção, mão de obra disponível e ainda, tradição local (FELLOWS, 2006). Apesar das perdas nutricionais e modificações sensoriais (cor, sabor, aroma e textura), o produto desidratado apresenta perdas de peso e volume, o que leva a uma economia substancial em custos de transporte, estocagem e de embalagem, dependendo do método utilizado (BRENNAN; GRANDISON, 2012).

Os dois métodos principais usados para a secagem de alimentos perecíveis são os que pode ser conduzido por secagem ao ar ou por liofilização (KORUS, 2014). Algumas das vantagens da liofilização são a baixa temperatura empregada no processo e a ausência de água líquida, condições que normalmente conferem ao produto melhor valor nutricional e maior vida útil. Já a secagem ao ar é preferida devido ao menor custo e maior velocidade do processo (KATSUBE et al., 2009).

Para ser desidratado, o vegetal deve receber um pré-tratamento (uso de antioxidante ou branqueamento) cujo objetivo principal é evitar o escurecimento enzimático, reação que é acelerada durante a secagem, devido à aplicação de calor (CELESTINO, 2010).

O branqueamento é uma técnica frequentemente usada em frutas e hortaliças, com o objetivo principal de desnaturar enzimas associadas a processos de deterioração, evitando, assim alterações sensoriais e nutricionais desencadeadas por reações enzimáticas durante a estocagem, bem como reduzir a carga microbiana inicial do produto (AZEVEDO, 2012). O tempo de branqueamento vai depender do tipo de fruta ou hortaliça, do tamanho do pedaço do alimento, da temperatura e do método de aquecimento (FELLOWS, 2006).

As hortaliças desidratadas são utilizadas principalmente na indústria alimentícia, através de diferentes formas como corantes naturais (beterraba, espinafre, tomate e cenoura) (HAMERSKI; REZENDE; SILVA, 2013). As empresas que confeccionam refeições coletivas são grandes consumidores de hortaliças desidratadas, sendo os principais produtos utilizados molho de tomate em pó, batata em flocos, sopas e caldos. Outros consumidores em potencial de vegetais desidratados são os laboratórios farmacêuticos e as indústrias de cosméticos e também programas institucionais de alimentação, como merendas escolares (RIBEIRO, 1996).

2.3 ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE PÃES

Vários estudos têm sido realizados com a finalidade de melhorar o valor nutritivo de pães, principalmente quanto ao teor e qualidade protéica, além do conteúdo de minerais, vitaminas e fibras alimentares (BORGES et al., 2011). Pães obtidos a partir de farinhas mistas e farinhas integrais ou com adição de micro ou macronutrientes têm despertado a atenção de consumidores por sua contribuição ao suprimento de necessidades nutricionais diárias ou por disponibilizar substâncias com alegações de propriedades funcionais, que previnem ou auxiliam o tratamento de doenças, como câncer, diabetes e hipertensão, entre outras (SKRBIC e FILIPCEV, 2008; HU et al., 2009).

Na tentativa de estimular o maior consumo de hortaliças, alguns autores têm proposto a substituição parcial da farinha de trigo por farinhas obtidas a partir desses vegetais. HOBBS et al. (2014) testaram a aceitação sensorial de pães adicionados de beterraba e cenoura, recomendando a inclusão desses produtos na dieta como forma de aumentar a ingestão diária de hortaliças.

LÓPEZ-NICOLÁS et al. (2014) observaram que o consumo de duas porções por dia (56g cada) de pão fortificado com acelga e espinafre satisfaziam os requisitos de ácido fólico para adultos e para mulheres em idade fértil. Gawlik-Dziki et al. (2013) verificaram que uma suplementação de 2-3% de casca de cebola desidratada promoveu melhora no potencial antioxidante do pão, sem comprometer sua qualidade sensorial.

Man e Paucean (2013) com o objetivo de obterem pães com maior valor nutricional, desenvolveram pães adicionados de vegetais desidratados (flocos de batata, cebola, alho e alho-poró) em diferentes concentrações e concluíram que as formulações de pães com a adição de vegetais desidratados em níveis entre 0,5-4% são inovadoras e bem sucedidas quanto as características físico-químicas e sensoriais.

Das, Raychaudhuri e Chakraborty (2012) investigaram os efeitos da substituição de farinha de trigo por folhas de coentro desidratadas, em concentrações que variaram de 1-7%, sobre as características químicas e sensoriais. A adição desse vegetal nos pães promoveu aumento acentuado na atividade antioxidante, quando comparado ao pão controle e a aceitação dos consumidores foi maior para os pães contendo 3% e 5% de coentro desidratado.

2.4 MICROMINERAIS COBRE E MANGANÊS

Os minerais são mais tradicionalmente divididos em macrominerais (necessidade de $\geq 100\text{mg}/\text{dia}$) e microminerais ou elementos-traço (necessidade de $< 15\text{mg}/\text{dia}$). Esses microminerais, mesmo em quantidades mínimas nos tecidos corporais são essenciais para o crescimento, a saúde e o desenvolvimento ótimo dos seres humanos (MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2012).

O cobre é um micronutriente essencial envolvido numa variedade de processos biológicos indispensáveis para sustentação da vida. Ao mesmo tempo, ele pode ser tóxico quando presente em excesso, porém, a evidência atual sugere que a deficiência de cobre pode ser mais prevalente do que se pensava, enquanto toxicidade do cobre é incomum sob condições de vida diária habitual (ROMAÑA et al., 2011).

Esse micronutriente está amplamente distribuído nos alimentos, inclusive nos produtos de origem animal (exceto o leite). Os alimentos considerados ricos em cobre são os mariscos (ostras), as vísceras (fígado, rim), as carnes (músculos), o chocolate, as nozes, os grãos de cereais, as leguminosas e as frutas secas. Em geral, as frutas e os vegetais contêm pouco cobre (MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2012).

A recomendação de ingestão diária para cobre é de $900\text{ mcg}/\text{dia}$ ($0,9\text{ mg}/\text{dia}$) para adolescentes e adultos de ambos os gêneros. Para lactentes, a ingestão de cobre deve variar entre $200\text{-}220\text{ mcg}/\text{dia}$ e para crianças entre $340\text{-}344\text{ mcg}/\text{dia}$ (IOM, 2001).

A deficiência de cobre é caracterizada por anemia, neutropenia (diminuição no número de neutrófilos) e anormalidades esqueléticas, especialmente desmineralização. Outras alterações também podem se desenvolver, inclusive hemorragias subperiosteais, despigmentação da pele e do cabelo e formação de elastina defeituosa (MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2012). Griffith et al. (2009) verificaram que a deficiência de cobre nos Estados Unidos é relativamente rara mas tem sido atribuída a utilização de nutrição parenteral e alimentação crônica por sonda, e em várias síndromes de má absorção, incluindo gastrectomia e cirurgia bariátrica.

O manganês (Mn) é um micronutriente que está associado à formação dos tecidos conjuntivo e esquelético, ao crescimento e à reprodução (MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2012), bem como um elemento essencial necessário para funcionamento

adequado do sistema nervoso central (SNC) (ROELS et al., 2012). Segundo Medivan et al. (2004) o manganês é um cofator de enzimas que atuam no metabolismo de aminoácidos, colesterol e carboidratos.

As fontes alimentares de manganês são cereais integrais, nozes, chá e folhas de vegetais. Cereais refinados, carnes, produtos do mar e produtos lácteos são fontes pobres desse elemento (SILVA; MURA, 2010). Quanto a sua ingestão dietética de referência, são de 2,3 mg/dia para homens e 1,8 mg/dia para mulheres. Para crianças a partir de 9 anos de idade, são de 1,9 a 2,2 mg/dia para meninos e de 1,6 mg/dia para meninas.

Quanto à deficiência de manganês, Wood (2009), verificou que os baixos níveis desse mineral no sangue podem estar associados ao retardamento do crescimento fetal intra-uterino e ao baixo peso ao nascer em humanos. Em relação à toxicidade por manganês, Puli et al. (2006) verificaram que em excesso leva à neurotoxicidade, prejudicando o metabolismo energético e provocando morte celular. Essa alteração no metabolismo de carboidratos ocorre pela destruição das células β do pâncreas, o que resulta em menor utilização da glicose e redução na insulina pancreática (SILVA; MURA, 2010).

Segundo Khouzam, Pohl e Lobinski (2011), tanto o cobre como o manganês são componentes de enzimas essenciais para a vida, e devem ser fornecidos para o corpo humano, de preferência a partir da dieta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Amostras de couve (*B. oleracea acephala*), cultivar manteiga Geórgia (Figura 1), foram coletadas em uma fazenda produtora de hortaliças, localizada na cidade de Sapé, Paraíba, Brasil. No total foram realizadas 5 coletas entre os meses de março, julho e setembro do ano de 2012 e nos meses de abril e agosto de 2013. Em cada coleta, 10 maços de amostra foram obtidos, sendo cada um composto por 5-6 folhas, que foram acondicionadas em sacos de polietileno e mantidas a temperatura ambiente durante o transporte até a Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

Figura 1 – Couve (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala*) cultivar manteiga Geórgia utilizada na pesquisa.



3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

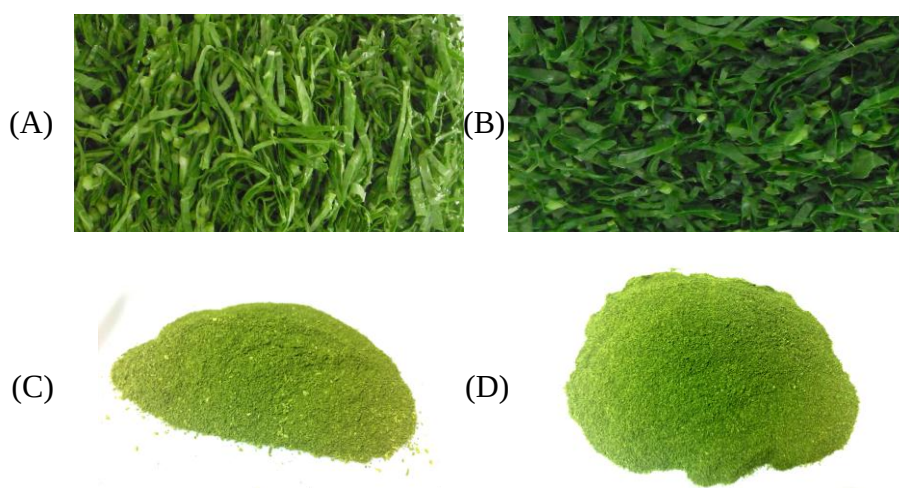
O preparo da couve consistiu em descarte dos talos e avaliação visual das folhas, mantendo somente aquelas sem injúrias e uniformes quanto à cor e textura. Posteriormente, as folhas selecionadas foram lavadas com água corrente e imersas durante 15 minutos em água clorada (150 ppm). Em seguida, foram enxaguadas com água destilada, sendo o excesso de água retirado com papel toalha.

As folhas higienizadas foram cortadas e separadas em duas frações, sendo uma mantida *in natura* e outra submetida ao branqueamento, que foi realizado por meio de exposição das folhas ao vapor de água (100°C) durante 3 minutos, com posterior resfriamento a temperatura de aproximadamente 5°C $\pm$ 2°C.

As folhas branqueadas e não branqueadas foram, posteriormente, subdivididas em duas frações: uma para análise direta, após trituração e outra para o processo de secagem, totalizando 4 amostras (FIGURA 2) (A: folhas não branqueadas; C: folhas não branqueadas desidratadas; B: folhas branqueadas; D: folhas branqueadas desidratadas).

Para a obtenção das folhas branqueadas e não branqueadas desidratadas, essas foram secas, separadamente, por um período de, aproximadamente, 5 horas, em um secador de cabine, nas condições de velocidade de ar média de 1,00 m.s⁻¹, medida em anemômetro (VELOCI CHECK, modelo 8330-M, São Paulo), temperatura do ar de 55°C $\pm$ 2°C e umidade relativa aproximada de 13%, ambos medidos com um termômetro de bulbo úmido e seco (LAMBRECHT), fixado na parte superior da entrada da câmara de secagem. Depois de secas, as folhas foram trituradas em processador de alimentos tipo Mix (MAGIC BULLET, modelo MB-1001, USA) na máxima velocidade e peneiradas em malha de 60 mesh até a obtenção de um pó homogêneo. O pó obtido foi embalado a vácuo (SELOVAC, 120-B, São Paulo) e acondicionado em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade.

Figura 2 – Couve não branqueadas (A), branqueadas (B), não branqueadas desidratadas (C) e branqueadas desidratadas (D).



3.3 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE FOLHAS DE COUVE NÃO BRANQUEADAS, BRANQUEADAS E BRANQUEADAS DESIDRATADAS

As amostras de folhas de couve descritas no item 3.2 foram submetidas às análises de composição química, tendo essas sido realizadas em triplicata, em 5 repetições distintas.

3.3.1 Análise dos nutrientes

Todas as amostras foram submetidas às determinações de: umidade, por secagem em estufa a 105°C até peso constante, resíduo mineral fixo realizado por gravimetria, carbonização e seguida de incineração a 550°C, proteínas através de tubo de *Kjeldhal*, tendo sido utilizado o fator de conversão nitrogênio/proteína igual a 6,25 e fibra alimentar total pelo método enzimático gravimétrico, conforme métodos descritos pela AOAC (2005). Para a determinação de lipídios, a metodologia aplicada foi a de Bligh e Dyer (1959), com utilização de clorofórmio-metanol. Açúcares redutores e totais foram determinados conforme descrito por Somogy (1945), utilizando-se glicose (1000 mg/mL) (MERCK) como padrão. A determinação de minerais foi realizada através do método de fotometria de chama para K (potássio), enquanto Ca (cálcio), Mg (magnésio), Cu (cobre), Fe (ferro), Mn (manganês) e Zn (zinco) foram determinados pela técnica da espectrofotometria de absorção atômica em aparelho espectrofotômetro Varian, modelo Spectr AA-200 VARIAN (AOAC, 2005). O teor de fósforo foi determinado em espectrofotômetro UV/vis (QUIMIS, Q798U, São Paulo) a 660 nm, segundo a metodologia descrita por Ranganna (1979).

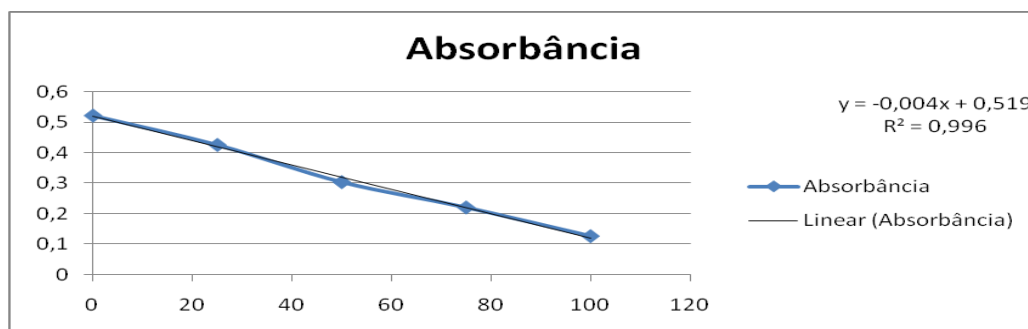
3.3.2 Análise dos fatores interferentes na biodisponibilidade de nutrientes

Para determinação do teor de ácido oxálico total, foi utilizado o método descrito por Moir (1953), sendo 2,5 g de cada amostra adicionada de ácido clorídrico, homogeneizada e mantida em banho-maria a 70°C $\pm$ 2°C, durante uma hora. Em seguida, o material foi filtrado, sendo 5 mL transferidos para tubos de vidro (15 mL) e mantidos a 4°C $\pm$ 2°C, durante 12 horas. Decorrido esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 3.500g durante 20 minutos,

sendo o precipitado obtido dissolvido em solução de ácido clorídrico e adicionado de reagente de precipitação (acetato de sódio/acetato de cálcio/ácido acético), sob agitação. Após refrigeração a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 12 horas, foi realizada centrifugação nas mesmas condições, com posterior descarte do sobrenadante e nova lavagem por centrifugação do precipitado com solução de hidróxido de amônio e etanol 96% (2:1 v/v). Após descarte do sobrenadante, o precipitado foi seco em estufa a 100°C , por 30 minutos, dissolvido com ácido sulfúrico, aquecido em água fervente e titulado com permanganato de potássio. O conteúdo de ácido oxálico (%) foi calculado conforme a formula: volume (mL) de permanganato de potássio $\times 1,80 = \%$ de ácido oxálico. Para a determinação de ácido oxálico solúvel, foi utilizada a metodologia descrita por SAVAGE et al. (2000), que diferiu da metodologia descrita anteriormente apenas na substituição do ácido clorídrico por água destilada.

Na determinação do teor de ácido fítico, inicialmente foi extraído das amostras desengorduradas com éter de petróleo e lavadas com ácido clorídrico a 2,4% em triplicata, segundo Gao et al. (2007). O extrato das couve não branqueada, couve branqueada, couve não branqueada desidratada e couve branqueada desidratada, obtidos na primeira etapa, foi adicionado de 2,9 mL de água destilada e 1 mL do reagente de Wade recentemente preparado (0,03 % de cloreto férrico $\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 0,3 % de ácido sulfossalicílico) em um tubo Falcon de 15 mL, sendo em seguida centrifugados a 5500 rpm, a 10°C por 10 min. A curva analítica (FIGURA 3) foi construída com pontos entre 0 – 100 mg/ mL de ácido fítico, preparada pela diluição de 10 mg/ mL de solução mãe de ácido fítico com água destilada. A leitura das amostras e padrões foi realizada em espectrofotômetro UV-vis (model UV-2550, Shimadzu, Japão) a 500 nm, utilizando a água destilada como branco. Os resultados foram expressos em mg de ácido fítico por g de amostra (mg de AF/ g) numa base de peso seco (XU; CHANG, 2009).

Figura 3 – Curva analítica utilizada para a determinação do teor de ácido fítico.



Os taninos foram determinados pelo método colorimétrico baseado na redução do fosfotungstomolibidico (Folin-Dennis). Pesou-se 5 g da amostra em água deionizada (400 mL) e levou-se ao aquecimento durante 30 minutos. Após resfriamento, a mistura foi filtrada, sendo retirada uma alíquota de 5 mL, que recebeu a adição de 5 mL do reagente de Folin-Dennis e 10 mL de carbonato de sódio (8%). Os taninos foram quantificados após 30 minutos de revelação da cor, e submetidos à leitura em espectrofotômetro UV/vis (QUIMIS, Q798U, São Paulo) a 760 nm segundo os métodos da AOAC (2000) (952.03). Foi utilizada uma curva padrão de ácido tânico de grau analítico de 0,1 mg/1 mL.

3.3.3 Análise dos compostos bioativos

Na análise de clorofila total, as amostras foram trituradas em almofariz na presença de 5 mL de acetona/água (80:20, v/v) e 5 mg de carbonato de cálcio. O material obtido foi mantido 24 h no escuro a 4°C, sendo posteriormente submetido à leitura em espectrofotômetro UV/vis (QUIMIS, Q798U, São Paulo) a 652 nm, de acordo com o método descrito por Arnon (1985).

Os carotenoides totais foram quantificados nas amostras de acordo com a metodologia de descrita por Higby (1962), com modificações. Nesta análise, amostras foram adicionadas de 5 mL de acetona/água (50:50, v/v) e 0,5 g de cloreto de cálcio, para controle do pH. Em seguida, as amostras foram adicionadas de 10 mL de hexano e armazenadas a 4 °C, durante 24 horas. Os carotenóides foram quantificados através de leitura em espectrofotômetro UV/vis (QUIMIS, Q798U, São Paulo) a 450 nm.

O teor de ácido ascórbico total foi determinado pelo método da AOAC (2000), sendo 10g de cada amostra pesadas e adicionados de ácido metafosfórico/água (2:80, v/v), para preparação dos extratos. Em seguida, 5 mL de cada extrato foram adicionados de 5 mL de ácido metafosfórico/água (2:80, v/v) e 10 mL de solução 2,6-diclorofenolindofenol. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/vis (QUIMIS, Q798U, São Paulo) a 545nm.

Os compostos fenólicos totais foram extraídos a partir de 10 g de cada amostra. Essas, foram adicionados de 40 mL de etanol /água (50:50, v/v), sendo a mistura mantida em banho termostatzado a 80 °C, por 1 hora. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 2500 g, durante

15 minutos, tendo o sobrenadante sido filtrado e transferido para um balão volumétrico de 100 mL. O precipitado resultante da centrifugação foi adicionado de 40 mL de acetona/água (70:30, v/v), homogeneizado a 25 °C, por 1 hora e novamente centrifugado por 15 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi misturado ao obtido na primeira centrifugação, sendo o volume final aferido com etanol até 100 mL. Para a determinação dos compostos fenólicos extraíveis totais, de acordo com o método colorimétrico Folin-Ciocalteu (OBANDA, OWUOR, 1997), uma alíquota de cada extrato etanólico (0,1 mL) foi colocada em tubos de ensaio e acrescida de 0,9 mL de água destilada. Esse extrato foi misturado a 1mL do reagente Folin-Ciocalteu, 2 ml de carbonato de sódio (20%) e 2 mL de água destilada. A mistura foi agitada e mantida no escuro por 2 horas. A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-vis (SHIMADZU, UV-2550, Japão) a 765 nm, juntamente com o controle que continha somente água e os reagentes. A concentração de compostos fenólicos foi estimada usando curva de calibração de ácido gálico (50-500 mg/L), sendo os resultados expressos mg equivalente de ácido gálico (GAE) em cada grama de extrato.

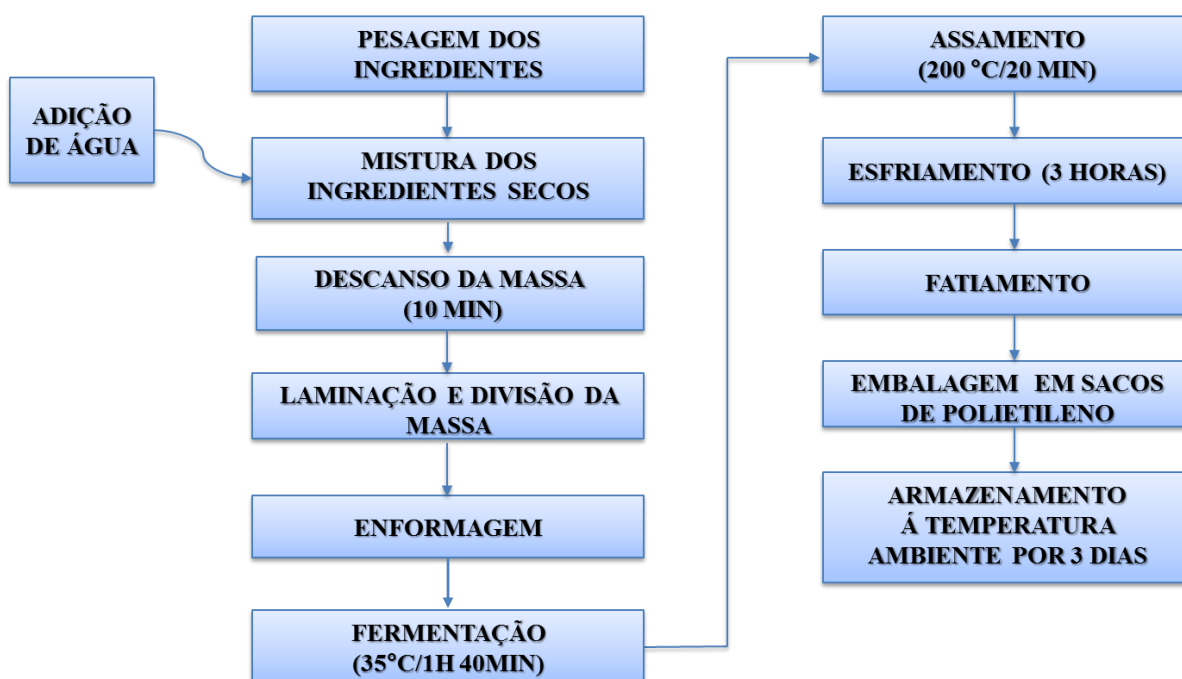
3.4 PROCESSO DE ELABORAÇÃO DOS PÃES

Foram elaboradas três formulações de pães de forma, sendo duas com adição de couve branqueada desidratada, nas concentrações de 2,5% (F1) e 5,0% (F2), tomando como base 100g de farinha de trigo, e uma de pão controle, sem couve. A seleção das concentrações de couve utilizadas nessa pesquisa foi baseada em ensaios preliminares, sendo excluídas formulações com concentrações acima de 5%, por apresentarem baixo volume específico. Os ingredientes básicos usados na formulação dos pães foram: farinha de trigo especial (100 g), água (52 g), fermento biológico seco instantâneo (1,5 g), sal (1,8 g), açúcar cristal (6,0 g), melhorador (1,0 g) e gordura vegetal hidrogenada (3,0 g).

A produção dos pães de forma seguiu o procedimento de massa direta (FIGURA 4). Os ingredientes secos foram homogeneizados em um misturador do tipo espiral (Steel, ST-005, São Paulo, Brasil), em velocidade lenta por 5 minutos e rápida por 10 minutos (até atingir o ponto de véu), sendo feita a adição gradual de água refrigerada a aproximadamente 10 °C. Em seguida, a massa fresca que se encontrava com temperatura em torno de 24 °C foi boleada, submetida a descanso de 10 minutos e dividida em unidades de 650 g. Após

modelagem manual, porções individuais foram colocadas em formas (22 cm x 11 cm x 7 cm) previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e transportadas até a câmara de fermentação (Nova Ética, série 400D, São Paulo, Brasil), permanecendo por aproximadamente 1 hora e 40 minutos, a 35 ± 1 °C. Ao final desse período, os pães foram assados em forno a gás (Turbo Progás, Caxias do Sul, RS, Brasil) por 20 minutos, a 200 °C e resfriados por três horas, sendo posteriormente fatiados, embalados em sacos plásticos de polietileno e armazenados à temperatura ambiente até a realização das análises.

Figura 4 – Fluxograma de elaboração dos pães de forma



3.5 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS PÃES

3.5.1 pH e Acidez total titulável (ATT)

O pH foi determinado em potenciômetro (Quimis, 0400, São Paulo, Brasil), previamente calibrado e a acidez foi titulada com solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ até pH final de 8,5 sendo expressa em mL de NaOH 0,1 mol/L (ROBERT et al., 2006; AOAC, 2000).

3.5.2 Volume específico

O volume específico dos pães foi determinado 24 horas após o processamento, pelo método 10-11 da AACCC (2000). Após pesagem em balança semi-analítica, o volume dos pães foi medido por deslocamento das sementes de painço, e o volume específico (cm^3/g) foi calculado com base na razão entre o volume (cm^3) e a massa dos pães (g).

3.5.3 Atividade de água (A_w)

A atividade de água no miolo dos pães foi determinada em equipamento AQUALAB (Series 3, Decagon, USA), conforme procedimento AOAC (2000).

3.5.4 Textura

O perfil de textura dos pães foi realizado com o auxílio do texturômetro modelo TAXtplus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido), equipado com probe cilíndrico de compressão, com 35 mm de diâmetro. Os parâmetros de textura determinados foram firmeza, mastigabilidade, elasticidade e coesividade. A análise instrumental de textura foi realizada sob as seguintes condições: velocidade pré-teste, do teste e pós-teste de 2,0 mm/s, 5,0 mm/s e 5,0 mm/s, respectivamente; com distância de 20 mm, tipo de gatilho 20 g e tempo entre as duas compressões de 5 s. Para análise desses parâmetros, as extremidades do pão de forma foram removidas, resultando em um cilindro com aproximadamente 6,0 cm de comprimento (CARR; TADINI, 2003).

3.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL

As formulações de pão de forma contendo 2,5% e 5% de couve em pó foram submetidas ao teste de aceitação com 77 provadores não treinados (56 % do gênero feminino e 44 % masculino), recrutados entre alunos e funcionários da UFPB. Esse teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da UFPB, em cabines individuais à temperatura de 22°C, sob luz branca, sendo as amostras (um quarto de uma fatia de pão incluindo miolo e casca,

obtidas 24 h após a produção) servidas de forma monádica, em pratos brancos descartáveis numerados com três dígitos codificados aleatoriamente, acompanhadas por água mineral, juntamente com a ficha de avaliação (FIGURA 5).

Durante a análise os provadores avaliaram os atributos cor da fatia do pão, aroma, maciez do miolo, sabor e aceitação global (FIGURA 5), utilizando uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (9 “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente”), conforme Stone e Sidel (1985). Os pães foram considerados aceitos quando obtiveram médias ≥ 6 (“gostei ligeiramente”) (GIMÉNEZ et al., 2007).

Figura 5 – Ficha de avaliação utilizada no teste sensorial

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA – UFPB CENTRO DE TECNOLOGIA – CT PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - PPGCTA					
Nome: _____			Data: ____/____/____		
Faixa etária: até 20 anos () até 30 anos () acima de 30 anos ()					
1) Você está recebendo três amostras de pão de forma codificadas. Por favor, prove e avalie as amostras utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou para cada atributo quanto ao sabor, maciez, aroma, cor e aceitação global do produto.					
(9) Gostei extremamente (8) Gostei moderadamente (7) Gostei regularmente (6) Gostei ligeiramente (5) Não gostei, nem desgostei (4) Desgostei ligeiramente (3) Desgostei regularmente (2) Desgostei moderadamente (1) Desgostei extremamente	ATRIBUTOS				
CÓDIGO DA AMOSTRA	Sabor	Maciez	Aroma	Cor	Aceitação Global

O teste de aceitação foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPB (protocolo nº 0278/2013), e todos os voluntários assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PÃES DE FORMA.

As amostras de pão de forma tiveram sua composição química determinada de acordo com a metodologia descrita nos itens 3.3.1 e 3.3.2, respectivamente.

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos para amostras de couve não branqueada, branqueada e desidratada foram comparados por meio do teste t-Student, a um nível de significância de 5%. Nos resultados das análises físico-química, sensoriais e composição química dos pães de forma foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, a um nível de significância de 5%. O software utilizado foi o ASSISTAT VERSÃO 7.7 BETA.

4. REFERÊNCIAS

ACIKGOZ, F. E.; DEVECI, M. Comparative analysis of vitamin C, crude protein, elemental nitrogen and mineral content of canola greens (*Brassica napus* L.) and kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.83, p.19385-19391, dez. 2011.

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods of the AACC**. 8th ed. St. Paul, MN: Method n° 10- 11, 2000.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of analysis**. Washington, 2005. 1018 p.

ARNON, D.I. Cooper enzymes infisolated chloroplasts. Polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Washington, v.24, n.1, p.1-15, jan.1985.

AZEVEDO, A. M.; JUNIOR, V. C. A.; FERNANDES, J. S. C.; PEDROSA, C. E.; VALADARES, N. R.; FERREIRA, M. A. M.; MARTINS, R. A. V. Divergências genética e importância de caracteres morfológicos em genótipos de couve. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.1, p.48-54, jan./mar. 2014.

AZEVEDO, H. M. C. **Fundamentos da estabilidade de alimentos**. editora técnica, 2ed. rev. e ampl. – Brasília, DF: Embrapa, 2012.

AYAZ, F. A.; GLEW, R. H.; MILLSON, M.; HUANG, H.S.; CHUANG, L.T.; SANZ, C.; HAYIRLIOGLU-AYAZ, S. Nutrient contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.). **Food Chemistry**, v.96, n.4, p.572–579, jun. 2006.

BORGES, J. T. S.; PIROZI, M. R.; PAULA, C. D.; RAMOS, D. L.; CHAVES, J. B. P. Caracterização físico-química e sensorial de pão de sal enriquecido com farinha integral de linhaça. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.29, n.1, p.83-96, jan./jun. 2011.

BRENNAN J.G.; GRANDISON, A. S. **Food Processing Handbook**. 2.ed. Weinheim: John Wiley & Sons, 2012. 826p.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

CALHEIROS, K. O.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Disponibilidade de ferro, digestibilidade de proteína e teor de β -caroteno em formulados alternativos de baixo custo para alimentação enteral de idosos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.1, p.41-55, jan.-mar. 2011.

CARR, L. G.; TADINI, C. C. Influence of yeast and vegetable shortening on physical and texture parameters of frozen part baked French bread. **Lebensmittel – Wissenschaft und – Technologie**, v.36, n.6, p.609-614, 2003.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 51p.

DAS, L.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Supplementation of common white bread by coriander leaf powder. **Food Science and Biotechnology**, v.21, n.2, p.425-433, abr. 2012.

EMEBU, P. K.; ANYIKA, J. U. Vitamin and Antinutrient Composition of Kale (*Brassica oleracea*) Grown in Delta State, Nigeria. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.10, n.1, p.76-79, 2011.

FADIGAS, J. C.; SANTOS, A. M. P.; JESUS, R. M.; LIMA, D. C.; FRAGOSO, W. D.; DAVID, J. M. FERREIRA, S. L. C. Use of multivariate analysis techniques for the characterization of analytical results for the determination of the mineral composition of kale. **Microchemical Journal**, v.96, n.2, p.352–356, jun. 2010.

FEIBER, L. T.; CAETANO, R. Estudo da composição centesimal e teores de cálcio em polpas de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Alimentos e Nutrição**, v.23, n.1, p.141-145, 2012.

FELLOWS; P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**: princípios e práticas. 2ªed. Artmed 2006. 602p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008. 421 p.

FNDE - FUNDO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO. Resolução nº 38, de 16 de julho de 2009. **Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no Programa Nacional de Alimentação Escolar - PNAE**. Brasília, 16 de julho de 2009. Disponível em: <http://www.fnde.gov.br/fnde/legislacao/resolucoes/resolucoes-2009?start=30> Acesso em: 15/02/2014.

GAO, Y.; SHANG, C.; SAGHAI MAROOF, M. A.; BIYASHEV, R. M.; GRABAU, E. A.; KWANYUEN, P.; BURTON, J. W.; BUSS, G. R. A modified colorimetric method for phytic acid analysis in soybean. **Crop Science**, v.47, p.1797-1803, 2007.

GAWLIK-DZIKI, U.; S' WIECA, M.; DZIKI, D.; BARANIAK, B.; TOMIŁO, J.; CZY, J. Quality and antioxidant properties of breads enriched with dry onion (*Allium cepa* L.) skin. **Food Chemistry**, v.138, n.2-3, p.1621–1628, jun. 2013.

GIMÉNEZ, A.; VARELA, P.; SALVADOR, A.; ARES, G.; FISZMAN, S.; GARITTA, L. Shelf life estimation of brown pan bread: A consumer approach. **Food Quality and Preference**, v.18, n.2, p.196–204, mar. 2007.

GUINÉ, R. P. F.; PINHO, S.; BARROCA, M. J. Study of the convective drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*). **Journal of Food and Bioproducts Processing**, v.89, n.4, p.422-428, out. 2011.

GRIFFITH, D. P.; LIFF, D. A.; ZIEGLER, T. R.; ESPER, G. J.; WINTON, E. F. Acquired copper deficiency: a potentially serious and preventable complication following gastric bypass surgery. **Obesity**, v.17, n.4, p.827-831, abr. 2009.

GUPTA, S.; GOWRI, B. S.; LAKSHMI, A. J.; PRAKASH, J. Retention of nutrients in green leafy vegetables on dehydration. **Journal of Food Science and Technology**, v.50, n.5, p.918-925, set./out. 2013.

HAMERSKI, L.; REZENDE, M. J. C.; SILVA, B. V. Usando as cores da natureza para atender aos desejos do consumidor: substâncias naturais como corantes na indústria alimentícia. **Revista Virtual de Química**, v.5, n.3, p.394-420, 2013.

HIGBY, W. K. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene-fortified orange juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 27, n. 1, p.42-49, 1962.

HOBBS, D. A.; KAFFA, N.; GEORGE, T. W.; METHVEN, L.; LOVEGROVE, J. A. Blood pressure-lowering effects of beetroot juice and novel beetroot-enriched bread products in normotensive male subjectis. **The British Journal of Nutrition**, v.108, n.11, p.2066-2074, dez. 2012.

HU, G.; HUANG, S.; CAO, S.; MA, Z. Effect of enrichment with hemicellulose from rice bran on chemical and functional properties of bread. **Food Chemistry**, v.115, n.3, p.839-842, ago. 2009.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: aquisição alimentar domiciliar *per capita*. Rio de Janeiro, 2010a.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: avaliação nutricional da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil. Rio de Janeiro, 2010b.

IOM – Institute Of Medicine. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc.** Washington, DC: National Academy Press. 2001.

JUDPRASONG, K.; CHAROENKIATKUL, S.; SUNGPUANG, P.; VASANACHITT, K.; NAKJAMANONG, Y. Total and soluble oxalate contents in Thai vegetables, cereal grains and legume seeds and their changes after cooking. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, n.4, p.340–347, jun. 2006.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMANI, R. Efeito de adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p.222-225, mai./ago. 2003.

KATSUBE, T.; TSURUNAGA, Y.; SUGIYAMA, M.; FURUNO, T.; YAMASAKI, Y. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. **Food Chemistry**, v.113, n.4, p.964–969, 2009.

KAULMANN, A.; JONVILLE, M.; SCHNEIDER, Y.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Carotenoids, polyphenols and micronutrient profiles of *Brassica oleraceae* and plum varieties and their contribution to measures of total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v.155, n.15, p.240–250, jul. 2014.

KORUS, A. Amino acid retention and protein quality in dried kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v.38, n.2, p.676–683, abr. 2014.

KORUS, A. Effect of preliminary and technological treatments on the content of chlorophylls and carotenoids in kale (*brassica oleracea* l. var. *acephala*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v.37, n.4, p.335-344, ago. 2013.

KHOUZAMA, R. B.; POHLB, P.; LOBINSKI, R. Bioaccessibility of essential elements from white cheese, bread, fruit and vegetables. **Talanta**, v.86, p.425– 428, out. 2011.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.28, n.6, p.1313–1315, nov. 1980.

LISIEWSKA, Z.; GEBZYNSKI, P.; BERNAS, E.; KMIECIK, W. Retention of mineral constituents in frozen leafy vegetables prepared for consumption. **Journal Food Composition and Analysis**, New Jersey, v.22, n.3, p.218-223, mai. 2009.

LIGOR, M.; TRZISZKA, T.; BUSZEWSKI, B. Study of antioxidant activity of biologically active compounds isolated from green vegetables by coupled analytical techniques. **Food Analytical Methods**, v.6, n.6; p.630-636, abr. 2013.

LÓPEZ-NICOLÁS, R.; FRONTELA-SASETA, C.; GONZÁLEZ-ABELLÁN, R.; BARADO-PIQUERAS, A.; PEREZ-CONESA, D.; ROS-BERRUEZO, G. Folate fortification of white and whole-grain bread by adding Swiss chard and spinach. Acceptability by consumers. **Food Science and Technology**, p.1-7, mai. 2014.

LUCIA, C. M. D.; SILVA, E. R.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Otimização de método para análise de folatos em hortaliças folhosas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. **Química Nova**, v.34, n.2, p.335-340, 2011.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. RAYMOND, J. L. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 13ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 1227p.

MASSEY, L. K. Food oxalate: factors affecting measurement, biological variation, and bioavailability. **Journal of the American Dietetic Association**, v.107, n.7, p.1191-1194, jul. 2007.

MERDIVAN, M.; YILMAZA, E.; HAMAMCIA, C.; AYGUNC, R.S. Basic nutrients and element contents of white cheese of diyarbakır in turkey. **Food Chemistry**, v.87, n.2, p.163–171, set. 2004.

MWITHIGA, G.; OLWAL, J. O. The drying kinetics of kale (*Brassica oleraceae*) in a convective hot air dryer. **Journal of Food Engineering**, v.71, n.4, p.373–378, dez. 2005.

MOIR, K. W. Determination of oxalic acid in plant Queensland. **Journal Agricultural Science**, Cambridge, v.10, n.1. p.1-3, 1953.

MORRIS, C.; MORRIS, G. A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v.133, n.2, p.237–248, jul. 2012.

NOVO, M. C.; PRELA-PANTANO, A.; TRANI, P.; BLAT, S. F. Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Horticultura Brasileira**, v.28, n.3, p.321-325, jul./set. 2010.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavonol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, n.2, p.209–215, out. 1997.

PADALINO, L.; MASTROMATTEO, M.; LECCE, L.; COZZOLINO, F.; DEL NOBILE, M. A. Manufacture and characterization of gluten-free spaghetti enriched with vegetable flour. **Journal of Cereal Science**, v.57, n.3, p.333-342, mai. 2013.

PENÃS, E.; SIDRO, B.; ULLATE, M.; VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J. Impact of storage under ambient conditions on the vitamin content of dehydrated vegetables. **Food Science and Technology International**, v.19, n.2, p.133-141, jan. 2013.

PULI, S.; LAI, J. C. K.; EDGLEY, K. L.; DANIELS, C. K.; BHUSHAN, A. Signaling pathways mediating manganese-induced toxicity in human glioblastoma cells. **Neurochemical Research**, v.31, n.10, p.1211-1218, out. 2006.

RANGANNA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi. Tata Mcgraw-Hill, 1112 p, 1979.

RANHOTRA, G. S; GELROTH, J. A; LEINEN, S. D. Utilization of calcium in breads highly fortified with calcium as calcium carbonate or as dairy calcium. **Cereal Chemistry**, v.77, n.3, p.293-296, mai. 2000.

RIBEIRO, C.S. C. **Desidratação de hortaliças como alternativa de mercado**. Horticultura Brasileira, Brasília, v.14, n.2, 1996.

ROBERT, H.; GABRIEL, V.; LEFEBVRE, D.; RABIER, P.; VAYSSIER, Y.; FONTAGNÉ-FAUCHER, C. Study of the *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **Lebensmittel – Wissenschaft und – Technologie**, v.39, n.3, p.256-265, abr. 2006.

ROMAÑA, D. L.; OLIVARES, M.; UAUY, R.; ARAYA, M. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.25, n.1, p.3–13, jan. 2011.

ROELS, H. A.; BOWLER, R. M.; KIM, Y.; HENN, B. C.; MERGLER, D.; HOET, P.; GOCHEVA, V. V.; BELLINGER, D. C.; WRIGHT, R. O.; HARRIS, M. G.; CHANG, Y.; BOUCHARD, M. F.; RIOJAS-RODRIGUEZ, H.; MENEZES-FILHO, J. A.; TELLEZ-ROJO, M. M. Manganese exposure and cognitive deficits: A growing concern for manganese Neurotoxicity. **NeuroToxicology**, v.33, n.4, p.872–880, ago. 2012.

SABANIS, D; LEBESI, D; TZIA, C. Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. **Food Science and Technology**, v.42, n.8, p.1380-1389, 2009.

SIKORA, E.; BODZIARCZYK, I. Composition and antioxidant activity of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) raw and cooked. **Acta Scientiarum Polonorum**, v.11, n.3, p.239-248, 2012.

STONE, H., SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. Academic Press Inc., Orlando, 1985.

SILVA, S. M.; MURA, J. D. P. **Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2010. 1256p.

SOMOGYI, M. A. New reagent for determination of sugars. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 160, p. 61-68, 1945.

ŠKRBIĆ, B.; FILIPCEV, B. Nutritional and sensory evaluation of wheat breads supplemented with oleic-rich sunflower seed. **Food Chemistry**, v.108, n.1, p.119-129, mai. 2008.

TEIXEIRA, A. S.; PHILIPP, I. S. T.; LEAL, G. V. S.; ARAKI, E. L.; ESTIMA, C. C. P.; GUERREIRO, R. E. R. Substituição de refeições por lanches em adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v.30, n.3, p.330-337, 2012.

WHO - World Health Organization. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation, Geneva, 28 January - 1 February 2002. Geneva; 2002. (WHO Technical Report Series, 916).

WOOD, R. J. Manganese and birth outcome. **Nutrition Reviews**, v.67, n.7, p.416-420, jul. 2009.

XU, B.; CHANG, S. K. C. Phytochemical profiles and health-promoting effects of cool-season food legumes as influenced by thermal processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.10718-10731, 2009.

5. RESULTADOS

Os resultados estão dispostos, conforme recomendação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA/CT/UFPB), sob a forma de artigos científicos. Desta forma, os itens 5.1 e 5.2 referem-se aos dados coletados e discutidos no decorrer da pesquisa e estão formatados de acordo com as normas de publicação dos respectivos periódicos científicos selecionados para submissão.

5.1 ARTIGO 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE COUVE (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) DESIDRATADA foi submetido ao periódico CAATINGA e consta nas páginas 30 a 46.

5.2 ARTIGO 2 – PÃO DE FORMA CONTENDO *Brassica oleraceae* var. *acephala* COMO FONTE DE COBRE E MANGANÊS - foi submetido ao periódico SEMINA e consta nas páginas 47 a 64.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE COUVE (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) DESIDRATADA

RESUMO

Nesse estudo o objetivo foi obter a couve (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala*) branqueada desidratada a partir de uma variedade cultivada no Nordeste do Brasil, para fins de caracterização química e nutricional. Inicialmente, amostras de couve não branqueada e branqueada foram comparadas quanto à composição química, sendo determinadas as perdas devidas ao branqueamento. Posteriormente, foram obtidas amostras de couve não branqueada desidratada e branqueada desidratada. A couve não branqueada apresentou quantidades significativas de fibra alimentar (4,36 g/100g), cálcio (277,2 mg/100g), potássio (468,37 mg/100g), clorofila (133 mg/100g) e fenólicos totais (93,6 mg/100g). Quanto à couve branqueada, houve redução significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de zinco (40%), cálcio (29%), cobre (20%), ácido ascórbico (17%) e fenólicos totais (29%). Quanto à couve branqueada desidratada, foram observadas concentrações elevadas de fibras (39,52g/100g), cálcio (2065 mg/100g), potássio (2924,5 mg/100g), fósforo (806 mg/100g), magnésio (665,5 mg/100g), ferro (11,6 mg/100g) e manganês (2,67 mg/100g), em quantidades superiores as recomendadas para o consumo diário. Entre os antioxidantes destacam-se, clorofila (420,3 mg/100g) e fenólicos totais (224,6 mg/100g). Dos três fatores que interferem na biodisponibilidade dos nutrientes, somente o ácido oxálico apresenta limite (2 g/kg de peso corpóreo) considerado de risco à saúde e com base nesse valor a couve branqueada desidratada apresenta baixa concentração (18,43 mg/100g). Portanto, a desidratação da couve apresenta a vantagem de melhorar sua preservação, além de concentrar nutrientes e outros compostos com ação benéfica a saúde, condição que faz desse vegetal um importante ingrediente na formulação de alimentos, para fins de enriquecimento nutricional.

Palavras- chave: vegetal; valor nutricional; branqueamento.

CHEMICAL COMPOSITION AND NUTRITIONAL EVALUATION OF DEHYDRATED KALE (*Brassica oleracea* var. *acephala*)

ABSTRACT

In this research the objective was to obtain dehydrated bleached kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) from a variety grown in northeast of Brazil, in referring to chemical and nutritional characterization. Initially, samples of unbleached and bleached kale were compared regarding chemical composition, there was certain losses due to bleaching. Subsequently, samples of unbleached dehydrated and dried bleached kale were obtained. Unbleached kale showed significant amounts of dietary fiber (4.36 g/100 g), calcium (277.2 mg/100 g), potassium (468.37 mg/100 g), chlorophyll (133 mg/100 g) and total phenolics (93.6 mg/100g). In regards to bleached kale there was a significant reduction ($p < 0.05$) at concentrations of zinc (40%), calcium (29%), copper (20%), ascorbic acid (17%) and total phenolic (29%). As for dehydrated kale, high concentrations of fibers (39,52 g/100g) Calcium (mg/100g 2065), potassium (2924.5 mg/100 g), phosphorus (806 mg/100 g), magnesium (665.5 mg/100 g), iron (11.6 mg/100 g) and manganese (2.67 mg/100 g) were observed, which are quantities higher than recommended for daily ingestion. Among the antioxidants stood out: chlorophyll (420.3 mg/100g) and total phenolic (224.6 mg/100g). The quantity of oxalic acid (18.43 mg/100g) in the dehydrated kale was below the considered a risk to health. Therefore, the kale dehydration has the advantage of improving its preservation capacities, besides concentrating nutrients and other components with beneficial effects to health condition which makes this an important ingredient in vegetable food formulation for the purpose of nutritional enrichment.

Keywords: vegetable; nutritional value; bleached.

INTRODUÇÃO

A couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) é uma hortaliça folhosa verde-escuro originária da couve selvagem mediterrânea, pertencente a família Brassicaceae, que abrange algumas espécies botânicas muito importantes, como *Brassica oleracea* var. *capitata* (repolho), *Brassica oleracea* var. *botrytis* (couve-flor) e *Brassica oleracea* var. *italica* (brócolis). É uma cultura típica de outono-inverno, se desenvolvendo melhor em temperaturas mais amenas (16 a 22°C), mas pode ser plantada durante todo o ano, por apresentar certa tolerância ao calor (FILGUEIRA, 2008).

Essa hortaliça é considerada fonte de cálcio, magnésio e potássio (LISIEWSKA et al., 2009) e contém elevadas concentrações de antioxidantes (KORUS, 2013), substâncias que reduzem a concentração de radicais livres no organismo e com ação comprovada na prevenção de certas doenças crônicas degenerativas (LIGOR; TRZISZKA; BUSZEWSKI, 2013). Além disso, apresenta alto teor de fibras, que desempenham papel importante na motilidade e absorção intestinal (SIKORA; BODZIARCZYK, 2012).

Além da qualidade nutricional, a couve se destaca quando comparada a outras crucíferas, por apresentar as menores concentrações de ácido oxálico, ácido fítico e taninos (EMEBU; ANYIKA, 2011), substâncias que interferem na biodisponibilidade dos nutrientes.

Essa hortaliça apresenta alto teor de umidade e, por essa razão, não pode ser mantida por mais que alguns dias a temperatura ambiente, podendo sua vida útil ser ampliada para meses ou mesmo anos por meio de desidratação (MWITHIGA; OLWAL, 2005), processo que pode ser conduzido por secagem ao ar ou por liofilização (KORUS, 2014), sendo a secagem ao ar preferida devido ao menor custo e maior velocidade do processo (KATSUBE et al., 2009).

Para ser desidratada, a couve deve ser submetida ao processo de branqueamento, que pode ser conduzido por imersão em água ou por uso de vapor (KORUS, 2014; SIKORA; BODZIARCZYK, 2012). Esse tratamento envolve exposição ao calor e resulta em mudanças na composição química do vegetal, que irão depender do tipo e da intensidade do tratamento aplicado (KORUS, 2013).

No Brasil, alguns estudos conduzidos com couve *in natura* envolveram a determinação da composição centesimal (OLIVEIRA-CALHEIROS et al., 2008), dos minerais (FADIGAS et al., 2010) e da atividade antioxidante (MELO; FARIA, 2014), bem

como a quantificação de perdas em nutrientes e outros compostos resultantes da aplicação de calor (SANTOS, 2006; SANTOS et al., 2003). Entretanto, para couve branqueada desidratada, nenhum relato foi encontrado na literatura pesquisada.

Na Polônia, a couve desidratada foi avaliada quanto aos teores de compostos antioxidantes, proteínas e aminoácidos, sendo quantificadas as perdas decorrentes do processamento preliminar, do método de secagem e da temperatura de estocagem (KORUS, 2014, 2011).

Nessa pesquisa, o objetivo foi determinar a composição química de couve branqueada desidratada obtida a partir da variedade manteiga Geórgia cultivada no Nordeste do Brasil, quantificando as perdas decorrentes do processo de branqueamento à vapor, etapa preliminar a desidratação, bem como avaliar seu potencial nutricional para futuros estudos de enriquecimento de alimentos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material

Amostras de couve (*B. oleracea acephala*), cultivar manteiga Geórgia, foram coletadas em uma fazenda produtora de hortaliças, localizada na cidade de Sapé, Paraíba, Brasil. No total foram realizadas 5 coletas entre os meses de março, julho e setembro do ano de 2012 e nos meses de abril e agosto de 2013. Em cada coleta, 10 maços de amostra foram obtidas, sendo cada uma composta por 5-6 folhas, que foram acondicionadas em sacos de polietileno e mantidas a temperatura ambiente durante o transporte até a Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

Preparo da amostra

No laboratório, o preparo da couve incluiu descarte dos talos, avaliação visual das folhas, com eliminação das que apresentavam injúrias e falta de uniformidade quanto à cor e textura, lavagem com água corrente e água destilada, imersão em água clorada (150 ppm), durante 15 minutos, enxágüe com água destilada e retirada do excesso de água com papel toalha.

As folhas higienizadas foram cortadas e separadas em duas frações, sendo uma não branqueada (CNB) e outra submetida ao branqueamento (CB), que foi realizado por meio de exposição das folhas ao vapor de água (100°C) durante 3 minutos, com posterior resfriamento a temperatura de aproximadamente 5°C.

Obtenção da couve branqueada desidratada

Para a obtenção da couve branqueada desidratada (CBD) e couve não branqueada desidratada (CNBD) foram secas, por um período de, aproximadamente, 5 horas, em um secador de cabine, nas condições de velocidade de ar média de 1,00 m.s⁻¹, medida em anemômetro (VELOCI CHECK, modelo 8330-M), temperatura do ar de 55°C ± 2°C e umidade relativa aproximada de 13%, ambos medidos com um termômetro de bulbo úmido e seco (LAMBRECHT), fixado na parte superior da entrada da câmara de secagem. Depois de secas, as folhas foram trituradas em processador de alimentos tipo Mix (modelo MB-1001, USA) na máxima velocidade e peneiradas em malha de 60 mesh até a obtenção de um pó homogêneo, que foi embalado a vácuo (SELOVAC, 120-B) e acondicionado em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade.

Métodos analíticos

Amostras de couve não branqueada, branqueada, não branqueada desidratada e branqueada desidratada foram submetidas às seguintes análises:

- Umidade, cinzas, proteínas e fibra alimentar total, segundo os procedimentos analíticos da AOAC (2005);
- Lipídios pela metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959);
- Açúcares redutores e totais, conforme descrito por Somogyi (1945);
- Minerais, pela técnica da espectrofotometria de absorção atômica em aparelho espectrofotômetro Varian, modelo Spectr AA-200 VARIAN para Ca (cálcio), Mg (magnésio), Cu (cobre), Fe (ferro), Mn (manganês) e Zn (zinco); pelo método de fotometria de chama para K (potássio) (AOAC, 2005) e pela técnica de espectrofotometria UV/vis (QUIMIS, Q798U, São Paulo) a 660 nm, para P (fósforo), metodologia descrita por Ranganna (1979).

- Ácido oxálico, pelo método descrito por Moir (1953);
- Ácido fítico, foi determinado segundo o método colorimétrico descrito por Latta e Eskin (1980);
- Taninos foram determinados pelo método colorimétrico, baseado na redução do fosfotungstomolibidico (Folin-Dennis), segundo AOAC, 2000;
- Fenólicos totais, por método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteau (Merck), segundo metodologia descrita por Obanda e Owuor, 1997;
- Clorofila total, de acordo com a metodologia descrita por Arnon, (1985);
- Carotenóides totais de acordo com a metodologia descrita por Higby (1962);
- Ácido ascórbico, segundo os procedimentos analíticos da AOAC, 2000;

Ainda, foram determinados pH realizada em pHmetro digital, de acordo com as normas da AOAC (2000) e acidez das amostras de acordo com as metodologia descrita por Robert et al. (2006). Todas as análises foram realizadas em triplicata, com 5 repetições distintas.

Análise estatística

Os resultados obtidos para amostras de couve não branqueada (CNB) e branqueada (CB) foram comparados por meio do teste t-Student, a um nível de significância de 5%. O software usado foi o ASSISTAT VERSÃO 7.7 BETA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição química

Os resultados das análises de composição química da couve não branqueada e da couve branqueada estão descritos na Tabela 1.

A couve não branqueada apresentou quantidades significativas de fibra alimentar, cálcio e potássio, destacando-se entre os antioxidantes a clorofila e fenólicos totais (Tabela 1). Quanto aos fatores que interferem na biodisponibilidade de nutrientes, foi observada maior concentração de taninos, seguido por ácido oxálico e ácido fítico, entretanto, em valores

baixos, quando comparados com os citados para outras crucíferas como couve-flor, couve chinesa e repolho (7-27mg/100g) (JUDPRASONG et al., 2006) e outras hortaliças folhosas verde-escuro como o espinafre e ruibarbo (400-1235 mg/100g) (MASSEY, 2007).

Quando os resultados obtidos para esse vegetal (Tabela 1) foram comparados com os relatados por outros autores, foi verificada bastante variação, o que era esperado, tendo em vista as diferenças entre cultivares, grau de maturação, local e clima (ACIKGOZ; DEVECI, 2011; LISIEWSKA et al., 2009), além das diferenças nos parâmetros aplicados para o branqueamento.

Quanto à couve branqueada, houve redução significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de todos os componentes analisados (0,79%-40%), entretanto, destacaram-se as perdas de zinco (40%), cálcio (29%), cobre (20%), ácido ascórbico (17%) e fenólicos totais (29%), substâncias que exercem importantes funções no organismo. Apesar dessas perdas, a quantidade mantida de cálcio foi suficiente para classificar a couve como alimento fonte desse nutriente. Ainda, foi verificada uma redução em torno de 20% no teor de ácido oxálico, o que é desejável, pois este, além de interferir na biodisponibilidade de nutrientes, também pode causar problemas de saúde tais como formação de cálculos renais e irritação gastrointestinal (CHAI; LIEBMAN, 2005).

Na literatura pesquisada, foram observados relatos de perdas desses componentes, entretanto, o processo de branqueamento adotado foi o de imersão em água, tendo sido verificadas maiores perdas que as registradas nessa pesquisa para manganês (25,6%), magnésio (30%), potássio (36%) e ácido oxálico (53%) (JUDPRASONG et al., 2012; LISIEWSKA et al., 2009). Com relação às proteínas, foi encontrado somente um estudo realizado por Korus (2014), que utilizou branqueamento por imersão em água por 2,5 minutos, obtendo perdas de 4,56%. Esse mesmo autor analisou as perdas nos antioxidantes clorofila, carotenóides, vitamina C e fenólicos totais encontrando perdas de 2,5%, 0,36%, 15% e 32,2%, respectivamente.

Tabela 1 – Teores médios da composição química de couve não branqueada (CNB) e de couve branqueada (CB).

Composição	CNB	CB	% de Perdas
Umidade (%)	89,01 ^b ± 0,04	89,91 ^a ± 0,10	-
Proteína (g/100g)	2,82 ^a ± 0,03	2,65 ^b ± 0,02	6,03
Lipídios (g/100g)	0,31 ^a ± 0,05	0,28 ^b ± 0,02	6,67
Cinzas (g/100g)	1,83 ^a ± 0,01	1,41 ^b ± 0,00	22,95
Açúcares totais (g/100g)	0,55 ^a ± 0,00	0,50 ^b ± 0,00	9,09
Açúcares redutores (g/100g)	0,38 ^a ± 0,00	0,23 ^b ± 0,00	39,47
Fibra Alimentar (g/100g)	4,36 ^a ±0,03	3,95 ^b ±0,03	9,40
Cálcio (mg/100g)	277,2 ^a ±0,10	197,4 ^b ±0,59	29,0
Fósforo (mg/100g)	89,79 ^a ±0,24	89,11 ^b ±0,20	0,76
Potássio (mg/100g)	468,37 ^a ±0,21	435,18 ^b ±0,24	7,09
Ferro (mg/100g)	0,7 ^a ±0,01	0,65 ^b ±0,01	7,14
Zinco (mg/100g)	0,6 ^a ±0,01	0,36 ^b ±0,01	40,0
Magnésio (mg/100g)	66,17 ^a ±0,15	65,34 ^b ±0,40	1,25
Manganês (mg/100g)	0,24 ^a ±0,01	0,23 ^b ±0,01	4,17
Cobre (mg/100g)	0,05 ^a ±0,01	0,04 ^b ±0,00	20,0
Ácido oxálico Total (mg/100g)	2,61 ^a ± 0,04	2,09 ^b ±0,03	19,92
Ác. oxálico solúvel (mg/100g)	1,30 ^a ±0,1	1,12 ^b ±0,06	13,85
Ácido fítico (mg/100g)	1,28 ^a ±0,06	1,14 ^b ±0,04	10,94
Taninos (mg/100g)	3,08 ^a ±0,01	2,85 ^b ±0,01	7,47
Clorofila (mg/100g)	133 ^a ±1,09	125 ^b ±3,21	6,02
Carotenóides (mg.100 g)	22,4 ^a ±0,42	21,73 ^b ±0,06	2,99
Ácido ascórbico (mg/100g)	56,51 ^a ±3,18	47,11 ^b ±1,84	17
Fenólicos totais (mg/100g)	93,6 ^a ±1,54	66,13 ^b ±0,20	29
pH	5,92±0,03	6,32±0,02	-
Acidez	0,50±0,07	0,38±0,07	-

Média±desvio padrão dos resultados. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de t-Student ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados das análises de composição química da couve não branqueada desidratada e da couve branqueada desidratada estão descritos na Tabela 2. Em todos os constituintes analisados foi verificado que a couve branqueada desidratada apresentou menores concentrações em comparação com a couve não branqueada desidratada, o que era esperado considerado que já foram avaliadas as perdas decorrentes do branqueamento.

Na couve branqueada desidratada, as proteínas e lipídios alcançaram concentrações significativas (Tabela 2), correspondendo a 41% e 24%, respectivamente, da necessidade de ingestão diária para homens adultos, cujas recomendações são superiores as das mulheres (IOM, 2005). Esses nutrientes têm sido exaltados quanto à qualidade, devido à natureza de seus constituintes.

Tabela 2 – Teores médios da composição química de couve não branqueada desidratada (CNBD) e de couve branqueada desidratada (CBD).

Composição	CNBD	CBD
Umidade(%)	5,04 ^b ±0,01	5,56 ^a ±0,02
Proteína (g/100g)	24,02 ^a ±0,10	22,83 ^b ±0,01
Lipídios (g/100g)	7,81 ^a ±0,03	7,36 ^b ±0,03
Cinzas (g/100g)	18,31 ^a ±0,07	17,37 ^b ±0,02
Açúcares totais (g/100g)	3,39 ^a ±0,17	2,41 ^b ±0,04
Açúcares redutores (g/100g)	2,74 ^a ±0,03	1,38 ^b ±0,04
Fibra Alimentar (g/100g)	42,61 ^a ±0,32	39,52 ^b ±0,47
Cálcio (mg/100g)	2124,33 ^a ±0,80	2065,22 ^b ±0,44
Fósforo (mg/ 100g)	816,44 ^a ±0,53	806,11 ^b ±0,78
Magnésio (mg/100g)	673,44 ^a ±0,50	665,56 ^b ±0,53
Potássio (mg/100g)	3217,56 ^a ±0,73	2924,56 ^b ±0,53
Ferro (mg/100g)	12,39 ^a ±0,06	11,6 ^b ±0,15
Zinco (mg/100g)	4,67 ^a ±0,01	4,58 ^b ±0,01
Manganês (mg/100g)	2,73 ^a ±0,01	2,67 ^b ±0,03
Cobre (mg/100g)	0,83 ^a ±0,01	0,82 ^b ±0,01
Ácido oxálico Total (mg/100g)	23,42 ^a ±0,17	18,43 ^b ±0,66
Ácido oxálico solúvel (mg/100g)	20,32 ^a ±0,73	11,32 ^b ±0,93

Ácido fítico (mg/100g)	18,74 ^a ±0,35	15,80 ^b ±0,36
Taninos (mg/100g)	20,43 ^a ±0,43	18,94 ^b ±0,93
Clorofila (mg/100g)	426,26 ^a ±0,47	420,30 ^b ±0,55
Carotenóides (mg/100 g)	96,70 ^a ±0,53	93,84 ^b ±0,35
Ácido ascórbico (mg/100g)	169,94 ^a ±2,61	130,10 ^b ±3,16
Fenólicos totais (mg/100g)	313,43 ^a ±0,45	224,63 ^b ±0,61
pH	5,85 ^b ±0,09	6,02 ^a ±0,02
Acidez	4,97 ^a ±0,15	4,29 ^b ±0,21

Média±desvio padrão dos resultados. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de t-Student ao nível de 5% de probabilidade.

Para fibra alimentar, a concentração obtida (Tabela 2) na couve branqueada desidratada foi acima do valor recomendado (25-38g/dia) para o consumo diário dos adultos (IOM, 2005). Segundo Cooper et al. (2012) e Anderson et al. (2009), o consumo de fibras auxilia na prevenção da constipação, neoplasias intestinais e Diabetes Mellitus tipo 2.

Dos oito minerais analisados, cálcio, potássio, fósforo, magnésio, ferro e manganês foram os que apresentaram valor suficiente para suprir 100% da necessidade de ingestão diária recomendada para homens e mulheres (IOM, 2011, 2005). Considerando que no Brasil a dieta da população (IBGE, 2011) apresenta inadequações em relação a cálcio e magnésio, é importante que seja estimulado o consumo da couve branqueada desidratada, tendo em vista que a mesma apresenta elevadas quantidades desses minerais.

Quanto aos antioxidantes, predominaram clorofila e fenólicos totais. Entre os efeitos biológicos que podem advir da ingestão da clorofila destacam-se as atividades antiinflamatória, antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica (HSU et al., 2013; SUBRAMONIAM et al., 2012). Vale ressaltar que alguns dos produtos da degradação térmica da clorofila também apresentam atividade biológica benéfica a saúde, podendo esta ser até maior que a da própria clorofila, condição observada para feofitina quanto à atividade antioxidante (HSU et al., 2013). Para compostos fenólicos, os principais benefícios citados se referem à atuação na prevenção do estresse oxidativo, relacionado com diversas patologias crônico-degenerativas como diabetes, câncer e processos inflamatórios (ROCHA et al., 2011).

Dos três fatores que interferem na biodisponibilidade dos nutrientes, somente o ácido oxálico apresenta limite (2 g/kg de peso corpóreo) considerado de risco a saúde (RADEK;

SAVAGE, 2008) e com base nesse valor, verifica-se que a couve branqueada desidratada apresenta baixa concentração (Tabela 2), condição que contribui para a maior biodisponibilidade de seus nutrientes. Quanto ao ácido fítico e taninos, apesar de terem sido associados a efeitos negativos nas dietas, em alguns estudos foram verificadas propriedades antioxidantes benéficas para esses compostos. Segundo AHN et al. (2004) o ácido fítico se liga a íons minerais, bloqueando a oxidação lipídica, agindo como um potente antioxidante. Já o tanino tem sido associado com a redução do colesterol sérico e triglicerídeos, prevenção de câncer de cólon e ação antioxidante (KUMARI; JAIN, 2012)

Com base no exposto, a couve branqueada desidratada pode ser considerada como importante ingrediente na formulação de alimentos processados, para fins de enriquecimento, ficando sua contribuição dependente da quantidade a ser acrescentada. Entre os produtos enriquecidos com vegetais desidratados estão sucos (SUNA et al., 2013), massas alimentícias (SILVA et al., 2013) e produtos de panificação (MAN; PAUCEAN, 2013) entre outros.

CONCLUSÃO

A couve branqueada desidratada apresentou elevadas quantidades de nutrientes e outros compostos, destacando-se fibras, cálcio, magnésio, clorofila e fenólicos totais, apesar das perdas decorrentes do processo de branqueamento, etapa preliminar a desidratação. Vale ressaltar que a couve apresenta baixo teor de ácido oxálico, quando comparada a outras crucíferas, condição que favorece maior biodisponibilidade dos seus nutrientes. Portanto, a inclusão da couve branqueada desidratada na dieta se constitui como excelente alternativa para prevenir inadequações nutricionais, especialmente de minerais.

REFERÊNCIAS

ACIKGOZ, F. E.; DEVECI, M. Comparative analysis of vitamin C, crude protein, elemental nitrogen and mineral content of canola greens (*Brassica napus* L.) and kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.83, p.19385-19391, dez. 2011.

AHN, H.; KIM, J.; JO, C.; KIM, M.; BYUN, M. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.88, n.2, p.173-178, nov. 2004.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTRY – AACC. **Approved methods of the AACC**. 8th ed. St. Paul, MN: Method, 2000.

ANDERSON, J. W.; BAIRD, P.; JR, R. H. D.; FERRERI, S.; KNUDTSON, M.; KORAYM, A.; WATERS, V.; WILLIAMS, C. L. Health benefits of dietary fiber. **Nutrition Reviews**, v.67, n.4, p.188–205, abr. 2009.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. Washington, 2005. 1018p.

ARNON, D.I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**. Washington, v.24, n.1, p.1-15, jan.1985.

AYAZ, F. A.; GLEW, R. H.; MILLSON, M.; HUANG, H.S.; CHUANG, L.T.; SANZ, C.; HAYIRLIOGLU-AYAZ, S. Nutrient contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.). **Food Chemistry**, v.96, n.4, p.572–579, jun. 2006.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

CHAI, W.; LIEBMAN, M. Effect of Different Cooking Methods on Vegetable Oxalate Content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.8, p.3027-3030, abr. 2005.

COOPER, A. J.; SHARP, S. J.; LENTJES, M. A. H.; LUBEN, R. N.; KHAW, K.; WAREHAM, N. J.; FOROUHI, N. G. A Prospective study of the association between quantity and variety of fruit and vegetable intake and incident type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.35, n.6, p.1293-1300, jun. 2012.

EMEBU, P. K.; ANYIKA, J. U. Vitamin and Antinutrient Composition of Kale *Brassica oleracea*) Grown in Delta State, Nigeria. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.10, n.1, p.76-79, 2011.

FADIGAS, J. C. et al. Use of multivariate analysis techniques for the characterization of analytical results for the determination of the mineral composition of kale. **Microchemical Journal**, v.96, n.2, p.352–356, jun. 2010.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008. 421 p.

HIGBY, W. K. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene-fortified orange juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v.27, n.1, p.42-49, jan. 1962.

HSU, C.; CHAO, P.; HU, S.; YANG, C. The antioxidant and free radical scavenging activities of chlorophylls and pheophytins. **Food and Nutrition Sciences**, v.4, n.8, p.1-8, ago. 2013.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro, 2011.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for calcium and vitamin D**. Washington, DC: The National Academies Press, 2011.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. Washington (DC): National Academy Press; 2005.

JUDPRASONG, K.; CHAROENKIATKUL, S.; SUNGPUANG, P.; VASANACHITT, K.; NAKJAMANONG, Y. Total and soluble oxalate contents in Thai vegetables, cereal grains and legume seeds and their changes after cooking. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, n.4, p.340–347, jun. 2006.

KATSUBE, T.; TSURUNAGA, Y.; SUGIYAMA, M.; FURUNO, T.; YAMASAKI, Y. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. **Food Chemistry**, v.113, n.4, p.964–969, abr. 2009.

KORUS, A. Amino acid retention and protein quality in dried kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v.38, n.2, p.676–683, abr. 2014.

KORUS, A. Effect of preliminary and technological treatments on the content of chlorophylls and carotenoids in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v.37, n.4, p.335–344, ago. 2013.

KORUS, A. Effect of preliminary processing, method of drying and storage temperature on the level of antioxidants in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) leaves. **Food Science and Technology**, v.44, n.8, p.1711–1716, out. 2011.

KUMARI, M.; JAIN S. Tannins: an antinutrient with positive effect to manage diabetes. **Research Journal of Recent Sciences**, v.1, n.12, p.70-73, dez. 2012.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.28, n.6, p.1313–1315, nov. 1980.

LIGOR, M.; TRZISZKA, T.; BUSZEWSKI, B. Study of antioxidant activity of biologically active compounds isolated from green vegetables by coupled analytical techniques. **Food Analytical Methods**, v.6, n.6, p.630-636, abr. 2013.

LISIEWSKA, Z.; GEBZYNSKI, P.; BERNAS, E.; KMIECIK, W. Retention of mineral constituents in frozen leafy vegetables prepared for consumption. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.22, n.3, p.218–223, mai. 2009.

MAN, S.; PĂUCEAN, A. Using dehydrated vegetables in some brown bread types. **Food Science and Technology**, v.70, n.1, p.72-73, 2013.

MASSEY, L. K. Food oxalate: factors affecting measurement, biological variation, and bioavailability. **Journal of the American Dietetic Association**, v.107, n.7, p.1191-1194, jul. 2007.

MELO, C. M. T.; FARIA, J. V. Composição centesimal, compostos fenólicos e atividade antioxidante em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.1, p.93-100, Jan./Feb. 2014.

MOIR, K. W. Determination of oxalic acid in plant Queensland. **Journal Agricultural Science**, Cambridge, v.10, n.1, p.1-3, 1953.

MWITHIGA, G.; OLWAL, J. O. The drying kinetics of kale (*Brassica oleraceae*) in a convective hot air dryer. **Journal of Food Engineering**, v.71, n.4, p.373–378, dez. 2005.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavonol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, n.2, p.209–215, out. 1997.

OLIVEIRA-CALHEIROS, K.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SOUZA, M. C. Avaliação da disponibilidade do ferro em dieta complementada com couve manteiga. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.1, p.37-42, jan./mar. 2008.

RADEK, M.; SAVAGE, G.P. Oxalates in some Indian green leafy vegetables. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.59, n.3, p.246–260, mai. 2008.

RANGANNA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi. Tata Mcgraw-Hill, 1112 p, 1979.

ROBERT, H.; GABRIEL, V.; LEFEBVRE, D.; RABIER, P.; VAYSSIER, Y.; FONTAGNÉ-FAUCHER, C. Study of the *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **Lebensmittel – Wissenschaft und – Technologie**, v.39, n.3, p.256-265, abr. 2006.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.4, p.1215-1221, dez. 2011.

SANTOS, M. A. T.; ABREU, C. M. P.; CARVALHO, V. D. Efeito de diferentes tempos de cozimento nos teores de minerais em folhas de brócolis, couve-flor e couve (*Brassica oleracea* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.3, p.597-604, mai./jun. 2003.

SANTOS, M. A. T. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócolis, couve-flor e couve. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.294-301, mar./abr., 2006.

SIKORA, E.; BODZIARCZYK, I. Composition and antioxidant activity of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) raw and cooked. **Acta Scientiarum Polonorum**, v.11, n.3, p.239-248, jul./set. 2012.

SILVA, E.; GERRITSEN, L.; DEKKER, M.; LINDENA, E. V.; SCHOLTEN, E. High amounts of broccoli in pasta-like products: nutritional evaluation and sensory acceptability. **Food Function**, v.4, n.11, p.1700–1708, nov. 2013.

SOMOGYI, M. A. New reagent for determination of sugars. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 160, p. 61-68, 1945.

SUBRAMONIAM, A.; ASHA, V. V.; NAIR, S. A.; SASIDHARAN, S. P.,; SURESHKUMAR, P. K.; RAJENDRAN, K. N.; KARUNAGARAN, D.; RAMALINGAM, K. Chlorophyll revisited: anti-inflammatory activities of chlorophyll and inhibition of expression of TNF- α gene by the same. **Inflammation**, v.35, n.3, p.959-966, jun. 2012.

SUNA, S.; TAMER, C. E.; ÇOPUR, Ö. U.; TURAN, M. A. Determination of antioxidant activity, total phenolics and mineral contents of some functional vegetable juice. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.11, n.2, p.213-218, 2013.

WHO - World Health Organization. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. report of a joint WHO/FAO expert consultation. Geneva: WHO; 2003. (Technical Report Series, n. 916).

PÃO DE FORMA CONTENDO *Brassica oleraceae* var. *acephala* COMO FONTE DE COBRE E MANGANÊS

RESUMO

Nesse estudo o objetivo foi adicionar couve (*Brassica oleraceae* var. *acephala*) branqueada desidratada às formulações de pão de forma, nas concentrações de 2,5% e 5%, e submeter os produtos obtidos às análises físico-químicas, sensoriais e de composição química. Ainda, foi elaborado um pão controle, para fins de comparação. A adição de couve branqueada desidratada promoveu elevação no pH e acidez dos pães, entretanto, não interferiu no volume específico, que variou de 4,57 a 4,08 cm³/g, e na atividade de água, que foi de 0,95, sendo possível obter produtos com características tecnológicas satisfatórias. No teste sensorial, os pães adicionados de couve branqueada desidratada apresentaram boa aceitação, com escores médios variando de 6,5 a 8,4, destacando-se quanto à maciez. A cor do pão com 5% de couve foi o único atributo que obteve escore médio abaixo do obtido para o pão controle. A adição de couve branqueada desidratada promoveu maior elevação no teor de fibras (133-281%), cálcio (176-297%), fósforo (201-232%), potássio (208-318%) e magnésio (181-300%) dos pães, entretanto, somente para cobre (140-160%) e manganês (76-118%) os incrementos foram suficientes para tornar os produtos fonte desses minerais. Quanto aos teores de ácido oxálico, as concentrações obtidas foram bem abaixo do considerado de risco à saúde. Portanto, a adição de couve branqueada desidratada à formulação de pão de forma resultou em produtos com boa aceitação sensorial, com incrementos no valor nutricional, além de oferecer ao consumidor uma nova opção de consumo desse tipo de pão.

Palavras-chave: couve, pão de forma e aceitação.

LOAF BREAD WITH *Brassica oleraceae* var. *acephala* AS SOURCE OF COPPER AND MANGANESE

ABSTRACT

The objective of this study was to add dehydrated bleached kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) to bread loaf formula at concentrations of 2.5% and 5%, and submit the final products to physic-chemical, sensorial and chemical composition analyzes. A regular bread loaf was used as control group. The addition of dehydrated kale promoted a pH and acidity increase in the bread, however, did not affect the specific volume, which ranged from 4.57 to 4.08 cm³/g, nor water activity, which was 0.95, so it was possible to obtain products with satisfactory technological characteristics. In the sensorial test, the kale bread showed good acceptance, with average scores ranging from 6.5 to 8.4, with standing out softness. The color of the 5% kale bread was the only attribute that obtained a score lower than the control group bread. The addition of dehydrated kale increased fiber (133-281%), calcium (176-297%), phosphorus (201-232%), potassium (208-318%) and magnesium levels (181-300%) in the breads, however, only for copper (140-160%) and manganese (76-118%) the gain was enough to render kale bread a source of these minerals. As for the oxalic acid levels, the obtained concentrations were well below what is considered a risk to health. Therefore, the addition of dehydrated kale to the formulation of bread loafs resulted in products with good sensorial acceptance, increased its nutritional value, and offered consumers a new choice for consumption of this type of bread.

Palavras- chave: kale, bread loaf and sensorial acceptance.

Introdução

A couve (*Brassica oleraceae* var. *acephala*) é considerada fonte de cálcio, magnésio e potássio (LISIEWSKA et al., 2009) além de contém elevadas concentrações de antioxidantes ácido ascórbico (CAMPOS et al., 2009), carotenóides e clorofila (KORUS, 2013), substâncias que reduzem a concentração de radicais livres no organismo e com ação comprovada na prevenção de certas doenças crônicas degenerativas (LIGOR; TRZISZKA; BUSZEWSKI, 2013). Além disso, apresenta alto teor de fibras que desempenham papel importante na motilidade e absorção intestinal (SIKORA; BODZIARCZYK, 2012).

Essa hortaliça apresenta alto teor de umidade e, por essa razão, não pode ser mantida por mais que alguns dias a temperatura ambiente, podendo sua vida útil ser ampliada para meses ou mesmo anos por meio da aplicação de desidratação (MWITHIGA; OLWAL, 2005), processo que promove a concentração de nutrientes e demais compostos presentes na couve. Neste caso, além de fornecer quantidades significativas de fibras e minerais, a couve branqueada desidratada passa também a ser considerada boa fonte de proteínas.

Entre os vegetais amplamente utilizados pela indústria de alimentos na forma desidratada, destacam-se espinafre, beterraba e cenoura (HAMERSKI; REZENDE; SILVA, 2013), enquanto para couve, ainda predomina o consumo a nível doméstico, podendo esta ser adicionada *in natura* na preparação de sucos (FEIBER; CAETANO, 2012), refogada (LUCIA et al., 2011) ou cozida, quando utilizada como ingrediente em dieta enteral ou pratos como sopas e arroz (CALHEIROS; CANNIATTI-BRAZACA, 2011; AYAZ et al., 2006).

Portanto, a utilização da couve branqueada desidratada na formulação de alimentos industrializados se constitui como uma excelente alternativa para aumentar o consumo desse vegetal, especialmente por pessoas que residem em áreas urbanas e que se alimentam cada vez mais fora de casa, substituindo refeições principais por lanches (IBGE, 2010), destacando-se o consumo de pães na forma de sanduíches (TEIXEIRA et al., 2012).

Os pães têm sido muito utilizados para fins de enriquecimento, por serem alimentos amplamente consumidos por indivíduos de diferentes grupos etários e classes sociais em todo o mundo (HOBBS, et al., 2014; LÓPEZ-NICOLÁS, et al., 2014) e por apresentarem deficiências em nutrientes essenciais à saúde como minerais e vitaminas (SABANIS, LEBESI; TZIA, 2009).

Nesse estudo, o objetivo foi enriquecer pão de forma com couve branqueada desidratada, em concentrações que promovessem melhoria de seu valor nutricional e que resultassem em produtos com boa aceitação sensorial.

Material e Métodos

Material

Os ingredientes farinha de trigo especial, fermento biológico seco instantâneo, sal, açúcar cristal, melhorador e gordura vegetal hidrogenada, usados na produção dos pães, foram adquiridos em estabelecimento comercial da cidade de João Pessoa-PB.

Obtenção da couve branqueada desidratada

O processo de obtenção da couve branqueada desidratada consistiu nas etapas de seleção, higienização, branqueamento e secagem das folhas de couve.

Inicialmente, foi realizado o descarte dos talos e avaliação visual das folhas, mantendo somente aquelas sem injúrias e uniformes quanto à cor e textura. Posteriormente, as folhas selecionadas foram lavadas com água corrente e imersas durante 15 minutos em água clorada (150 ppm). Em seguida, foram enxaguadas com água destilada, sendo o excesso retirado com papel toalha.

As folhas higienizadas foram cortadas e submetidas ao branqueamento, que foi realizado por meio de exposição das folhas ao vapor de água (100°C) durante 3 minutos, com posterior resfriamento a temperatura de aproximadamente 5°C ± 2°C.

Para a secagem, as folhas branqueadas foram mantidas em um secador de cabine por um período de, aproximadamente, 5 horas, nas condições de velocidade de ar média de 1,00 m.s⁻¹, medida em anemômetro (VELOCI CHECK, modelo 8330-M, São Paulo), temperatura do ar de 55°C ± 2°C e umidade relativa aproximada de 13%, ambos medidos com um termômetro de bulbo úmido e seco (LAMBRECHT), fixado na parte superior da entrada da câmara de secagem. Depois de secas, as folhas foram trituradas em processador de alimentos tipo Mix (MAGIC BULLET, modelo MB-1001, USA) na máxima velocidade e peneiradas em malha de 60 mesh até a obtenção de um pó homogêneo. O pó obtido foi embalado a vácuo

(SELOVAC, 120-B, São Paulo) e acondicionado em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade.

Elaboração dos pães

Formulação

Foram elaboradas três formulações de pães de forma, sendo duas com adição de couve branqueada desidratada, nas concentrações de 2,5% (F1) e 5,0% (F2), tomando como base 100g de farinha de trigo, e uma de pão controle, sem couve. A seleção das concentrações de couve utilizadas nessa pesquisa foi baseada em ensaios preliminares, sendo excluídas formulações com concentrações acima de 5%, por apresentarem baixo volume específico. Os ingredientes básicos usados na formulação dos pães foram: farinha de trigo especial (100g), água (52g), fermento biológico seco instantâneo (1,5g), sal (1,8g), açúcar cristal (6,0 g), melhorador (1,0g) e gordura vegetal hidrogenada (3,0g).

Processo de elaboração

A produção dos pães de forma seguiu o procedimento de massa direta. Os ingredientes secos foram homogeneizados em um misturador do tipo espiral (Steel, ST-005, São Paulo, Brasil), em velocidade lenta por 5 minutos e rápida por 10 minutos (até atingir o ponto de véu), sendo feita a adição gradual de água refrigerada a aproximadamente 10 °C. Em seguida, a massa fresca que se encontrava com temperatura em torno de 24 °C foi boleada, submetida a descanso de 10 minutos e dividida em unidades de 650 g. Após modelagem manual, porções individuais foram colocadas em formas (22 cm x 11 cm x 7 cm) previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e transportadas até a câmara de fermentação (Nova Ética, série 400D, São Paulo, Brasil), permanecendo por aproximadamente 1 hora e 40 minutos, a 35 ± 1 °C. Ao final desse período, os pães foram assados em forno a gás (Turbo Progás, Caxias do Sul, RS, Brasil) por 20 minutos, a 200 °C e resfriados por três horas, sendo posteriormente fatiados, embalados em sacos plásticos de polietileno e armazenados à temperatura ambiente até a realização das análises.

Avaliação físico-química dos pães

pH e Acidez total titulável (ATT)

O pH foi determinado em potenciômetro (Quimis, 0400, São Paulo, Brasil), previamente calibrado e a acidez foi titulada com solução de NaOH 0,1 mol/L até pH final de 8,5 sendo expressa em mL de NaOH 0,1 mol/L (Robert et al., 2006).

Volume específico

O volume específico dos pães foi determinado 24 horas após o processamento, pelo método 10-11 da AACC (2000). Após pesagem em balança semi-analítica, o volume dos pães foi medido por deslocamento das sementes de painço, e o volume específico (cm^3/g) foi calculado com base na razão entre o volume (cm^3) e a massa dos pães (g).

Atividade de água (A_w)

A atividade de água no miolo dos pães foi determinada em equipamento AQUALAB (Series 3, Decagon, USA), conforme procedimento citado por Labuza et al. (1976).

Textura

O perfil de textura dos pães foi realizado com o auxílio do texturômetro modelo TAXtplus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido), equipado com probe cilíndrico de compressão, com 35 mm de diâmetro. Os parâmetros de textura determinados foram firmeza, mastigabilidade, elasticidade e coesividade. A análise instrumental de textura foi realizada sob as seguintes condições: velocidade pré-teste, do teste e pós-teste de 2,0 mm/s, 5,0 mm/s e 5,0 mm/s, respectivamente; com distância de 20 mm, tipo de gatilho 20 g e tempo entre as duas compressões de 5 s. Para análise desses parâmetros, as extremidades do pão de forma foram removidas, resultando em um cilindro com aproximadamente 6,0 cm de comprimento (CARR; TADINI, 2003).

Avaliação sensorial

As formulações de pão de forma contendo 2,5% e 5% de couve em pó foram submetidas ao teste de aceitação com 77 provadores não treinados (56 % do gênero feminino e 44 % masculino), recrutados entre alunos e funcionários da UFPB. Esse teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da UFPB, em cabines individuais à temperatura de 22°C, sob luz branca, sendo as amostras (um quarto de uma fatia de pão incluindo miolo e casca, obtidas 24 h após a produção) servidas de forma monádica, em pratos brancos descartáveis numerados com três dígitos codificados aleatoriamente, acompanhadas por água mineral.

Durante a análise os provadores avaliaram os atributos cor da fatia do pão, aroma, maciez do miolo, sabor e aceitação global, utilizando uma escala hedônica de 9 pontos (9 “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente”), conforme IAL (2005). Os pães foram considerados aceitos quando obtiveram médias ≥ 6 (“gostei ligeiramente”) (Rocha & Cardoso Santiago, 2009). No teste de intenção de compra, utilizou-se uma escala de 5 pontos (1=certamente não compraria e 5=certamente compraria).

O teste de aceitação foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPB (protocolo nº 0278/2013), e todos os voluntários assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Composição química dos pães

As amostras de pão de forma foram avaliadas quanto a sua composição química de acordo com as seguintes metodologias:

- Umidade, cinzas, proteínas e fibra alimentar total, segundo os procedimentos analíticos da AOAC (2005);
- Lipídios pela metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959);
- Açúcares redutores e totais, conforme descrito por Somogyi (1945);
- Minerais, pela técnica da espectrofotometria de absorção atômica em aparelho espectrofotômetro Varian, modelo Spectr AA-200 VARIAN para Ca (cálcio), Mg (magnésio), Cu (cobre), Fe (ferro), Mn (manganês) e Zn (zinco); pelo método de fotometria de chama para K (potássio) (AOAC, 2005) e pela técnica de

espectrofotometria UV/vis (QUIMIS, Q798U, São Paulo) a 660 nm, para P (fósforo), metodologia descrita por Ranganna (1979).

- Ácido oxálico, pelo método descrito por Moir (1953);
- Ácido fítico, foi determinado segundo o método colorimétrico descrito por Latta e Eskin (1980);
- Taninos foram determinados pelo método colorimétrico, baseado na redução do fosfotungstomolibidico (Folin-Dennis), segundo AOAC, 2000;

Ainda, foram determinados pH realizada em pHmetro digital, de acordo com as normas da AOAC (2000) e acidez das amostras de acordo com as metodologia descrita por Robert et al. (2006). Todas as análises foram realizadas em triplicata, com 5 repetições distintas.

Análise estatística

Os resultados das análises físico-químicas, sensoriais e de composição química dos pães de forma, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, a um nível de significância de 5%. O software utilizado foi o ASSISTAT VERSÃO 7.7 BETA.

Resultados e Discussão

Avaliação físico-química dos pães

Tabela 1 - Resultados das análises físico-químicas dos pães de forma

Parâmetros	Formulações		
	PC	2,5%	5%
pH	6,22 ^c ±0,01	6,28 ^b ±0,03	6,39 ^a ±0,01
Acidez (mL de NaOH 0,1N/10g de pão)	2,55 ^b ±0,16	2,83 ^a ±0,75	2,89 ^a ±0,27
Volume Específico (cm ³ /g)	4,57 ^a ±0,36	4,51 ^a ±0,31	4,08 ^a ±0,23
Atividade de água	0,95 ^a ±0,01	0,95 ^a ±0,00	0,95 ^a ±0,00

PC – Pão controle. Média±desvio padrão das análises realizadas em triplicata, com cinco repetições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os pães adicionados de couve branqueada desidratada apresentaram elevação de pH e acidez, quando comparados ao pão controle (Tabela 1). Os valores relatados na literatura

pesquisada para pH e acidez de pão de forma tradicional variaram nas faixas de 5,2 a 5,64 e 3,23 a 4,41, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2011; LIMA et al., 2009).

Com relação ao volume específico, foram observados valores superiores a 4,0, resultados satisfatórios quando comparados aos obtidos (4,45-5,41) em outros estudos envolvendo pães de forma (OLIVEIRA et al., 2011; SILVA et al., 2009). A elevação no pH dos pães com couve poderia ter prejudicado a ação das leveduras responsáveis pela fermentação (QUILEZ; RUIZ; ROMERO, 2006), o que resultaria em redução significativa de volume, entretanto, não foi verificada diferença entre pão controle e pães com couve branqueada desidratada, quanto a essa característica.

Para a atividade de água, os valores observados nas três formulações foram semelhantes e próximos dos citados na literatura para pão de forma (LAZARIDOU; BILIADERIS, 2007).

Os resultados do perfil de textura estão apresentados na Tabela 2. A adição de couve branqueada desidratada à formulação de pão de forma promoveu aumento na firmeza e mastigabilidade, enquanto a coesividade foi reduzida a partir da concentração de 5%. Quanto à elasticidade, não foi verificada diferença significativa entre as amostras ($p > 0,05$). Resultados semelhantes foram observados em pães enriquecidos com inulina e farinha de Okara (SILVA et al., 2009; PERESSINI; SENSIDONI, 2009).

Segundo Gandra et al. (2008) e Oliveira et al. (2007) o aumento no teor de fibras promove aumento na firmeza dos pães. Considerando que a couve, assim como inulina e farinha de Okara, apresenta elevado teor de fibras, é possível que o aumento na firmeza dos pães com couve branqueada desidratada esteja relacionado com o aumento no teor de fibras.

Outros fatores contribuem para as alterações na textura dos pães, como quantidade de água na massa, diferenças na capacidade de retenção de umidade da farinha de trigo, tempo de estocagem do produto e redução no conteúdo de proteínas do trigo (SILVA et al., 2009; ESTELLER; LANNES, 2008).

Tabela 2 – Resultados da avaliação de textura dos pães de forma.

Perfil de Textura	Formulações		
	PC	2,5%	5%
Firmeza (N)	2,93 ^c ±0,29	3,49 ^b ±0,25	4,92 ^a ±0,07
Elasticidade	0,97 ^a ±0,01	0,97 ^a ±0,00	0,96 ^a ±0,01
Coesividade	0,71 ^a ±0,04	0,69 ^{ab} ±0,01	0,66 ^b ±0,01
Mastigabilidade (J)	2,01 ^b ±0,21	1,96 ^b ±0,22	3,11 ^a ±0,12

PC – Pão controle. Média±desvio padrão das análises realizadas em triplicata, com cinco repetições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Avaliação sensorial

Os resultados do teste de aceitação das duas formulações de pão de forma com couve branqueada desidratada e do pão controle estão apresentados na Tabela 3. Todas as amostras avaliadas no teste sensorial estavam aptas ao consumo, de acordo com resultados obtidos em análise microbiológica realizada previamente.

As três formulações testadas foram aceitas em todos os atributos avaliados, com escores médios variando de 6,5 a 8,4, valores situados entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei extremamente”.

O pão adicionado de couve branqueada desidratada, na concentração 2,5%, apresentou melhor aroma e maciez, quando comparado ao pão controle, não diferindo deste nos atributos cor e sabor. Com a elevação no teor desse ingrediente para 5%, houve redução significativa na aceitação da cor, tendo a aceitação quanto à maciez se mantido superior, enquanto sabor e aroma apresentaram aceitação semelhante a do pão controle. A melhor aceitação dos pães com couve quanto a maciez não era esperada, tendo em vista o aumento de firmeza e mastigabilidade devido a adição desse ingrediente.

Apesar dos pães com 5% de couve branqueada desidratada terem apresentado menor aceitação que o pão com 2,5% desse ingrediente, quanto aos atributos aroma, sabor e cor, vale ressaltar que sua aceitação foi similar a do pão controle, com exceção da cor. Portanto, a inclusão de pão com 5% de couve na dieta deve ser incentivada, pois a mesma fornece mais nutrientes que o pão com 2,5% do mesmo ingrediente. Quanto a cor, a realização de campanhas educativas salientando a importância do consumo desse vegetal para a saúde, pode contribuir para aumentar a aceitação.

Tabela 3 – Valores de médias e desvios-padrão dos escores obtidos no teste de aceitação sensorial dos pães de forma.

Atributos	Formulações		
	PC	2,5%	5%
Cor	7,5 ^a ± 1,35	7,5 ^a ± 1,21	6,5 ^b ± 1,74
Aroma	7,1 ^b ± 1,26	7,6 ^a ± 1,21	7,0 ^b ± 1,49
Sabor	7,3 ^{ab} ± 1,19	7,8 ^a ± 1,09	7,1 ^b ± 1,59
Maciez	7,2 ^b ± 1,15	8,4 ^a ± 0,88	8,3 ^a ± 1,03
Aceitação Global	7,4 ^{ab} ± 1,05	7,8 ^a ± 0,89	7,1 ^b ± 1,26

PC – Pão controle. Média±desvio padrão das análises realizadas em triplicata, com cinco repetições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Composição química dos pães de forma

O teor médio de umidade dos pães variou de 34,37% a 35,57% (Tabela 4), valores próximos dos encontrados por Borges et al. (2012) e Oliveira et al. (2011) em pão de forma tradicional (35,43% e 34,85%, respectivamente). Quanto aos limites máximos e mínimos de umidade desejáveis em pães, não foram encontrados relatos na literatura pesquisada. No Brasil, o limite máximo permitido era 38%, entretanto, a resolução que estabelecia esse padrão (BRASIL, 2000) foi revogada em 2005 (BRASIL, 2005).

Tabela 4 – Teores médios da composição química dos pães de forma.

Composição	Formulações		
	PC	2,5%	5%
Umidade (%)	34,65 ^b ±0,49	34,86 ^{ab} ±1,33	35,57 ^a ±1,12
Proteínas (g/100g)	8,33 ^b ±0,05	8,61 ^a ±0,08	8,66 ^a ±0,03
Lipídios (g/100g)	3,72 ^a ±0,21	3,30 ^b ±0,09	3,22 ^b ±0,05
Cinzas (g/100g)	1,64 ^c ±0,05	1,77 ^b ±0,03	1,93 ^a ±0,04
Amido (g/100g)	39,75 ^a ±0,41	37,68 ^b ±0,52	36,75 ^b ±0,62
Fibra Alimentar (g/100g)	0,52 ^c ±0,05	1,21 ^b ±0,04	1,98 ^a ±0,04
Cálcio (mg/100g)	32,81 ^c ±0,43	90,61 ^b ±0,06	130,34 ^a ±0,05
Fósforo (mg/100g)	27,57 ^c ±0,41	83 ^b ±0,15	91,63 ^a ±0,21
Potássio (mg/100g)	35,43 ^c ±0,27	108,98 ^b ±0,09	148,11 ^a ±0,19

Magnésio (mg/100g)	8,43 ^c ±0,11	23,74 ^b ±0,06	33,75 ^a ±0,08
Ferro (mg/100g)	2,23 ^c ±0,01	2,95 ^b ±0,01	3,48 ^a ±0,01
Zinco (mg/100g)	0,56 ^c ±0,01	0,72 ^b ±0,01	0,86 ^a ±0,01
Manganês (mg/100g)	0,17 ^c ±0,02	0,30 ^b ±0,01	0,37 ^a ±0,00
Cobre (mg/100g)	0,05 ^c ±0,01	0,12 ^b ±0,01	0,13 ^a ±0,00
Ácido oxálico total (mg/100g)	0,05 ^c ±0,13	0,38 ^b ±0,12	0,51 ^a ±0,21
Ácido fítico (mg/100g)	0,04 ^c ±0,02	0,12 ^b ±0,04	0,34 ^a ±0,01
Taninos (mg/100g)	0,09 ^c ±0,00	0,41 ^b ±0,03	0,63 ^a ±0,03

PC – Pão controle; F1 - Pão com 2,5% de couve em pó; F2 - Pão com 5% de couve em pó. Média±desvio padrão das análises realizadas em triplicata, com cinco repetições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A adição da couve branqueada desidratada promoveu elevações significativas no teor de fibras, potássio, fósforo, cálcio e magnésio dos pães, na ordem de 133-280%, 208-318%, 201-232%, 176-197% e 181-300%, respectivamente (Tabela 4). Apesar dos incrementos significativos ($p < 0,05$), os pães com couve não puderam ser classificados como fontes desses nutrientes, por não apresentarem a quantidade mínima de 15% da IDR, estabelecida na legislação brasileira para alimentos sólidos (BRASIL, 2012). No caso do cálcio, a quantidade mínima exigida corresponde a 150 mg/100 g, tendo sido obtido nessa pesquisa 130 mg/100 g no pão com 5% de couve branqueada desidratada, valor muito próximo do recomendado. Portanto, a quantidade alcançada contribui significativamente para que se alcance o aporte diário desse mineral.

Para cobre e manganês, os aumentos observados foram suficientes para classificar o pão contendo 2,5% de couve branqueada desidratada como fonte de manganês e o pão com 5% com fonte de manganês e cobre. O cobre é importante como cofator das enzimas que atuam no metabolismo do ferro, podendo prevenir anomalias hematológicas, entre essas a anemia (GRIFFITH et al., 2009). O manganês atua na formação dos ossos e como cofator de enzimas que atuam no metabolismo de aminoácidos, colesterol e carboidratos (MEDIVAN et al., 2004).

Quanto ao ferro e proteínas, as quantidades presentes no pão controle já atendiam ao exigido na legislação para classificar o pão como fonte desses nutrientes. Tendo em vista que adição de couve promoveu incrementos nesses nutrientes, as duas formulações adicionadas

desse ingrediente também podem ser classificadas como fontes de ferro e proteínas (BRASIL, 2012).

A adição de couve branqueada desidratada aos pães de forma também promoveu aumento na concentração dos fatores que afetam a biodisponibilidade dos nutrientes. Para o ácido oxálico, a quantidade obtida (Tabela 4) foi bem abaixo do limite considerado de risco a saúde (2g/kg de peso corpóreo) (SAVAGE, 2000), enquanto para ácido fítico e taninos, não foram encontrados relatos na literatura pesquisada.

Conclusão

A adição de 5% couve branqueada desidratada a formulação de pão de forma promoveu elevação significativa nos teores de fibras e minerais, destacando-se cobre e manganês que alcançaram quantidades suficientes para classificar o pão como alimento fonte desses minerais. Além do maior valor nutricional, os pães com 5% de couve foram aceitos no teste sensorial e com exceção da cor, apresentaram aceitação semelhante a do pão controle. Portanto, a comercialização de pães com couve se constitui como excelente alternativa para estimular o consumo dessa hortaliça, especialmente por pessoas que possuem o hábito de substituir refeições principais por lanches.

Referencias

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the AACC**. 8th ed. St. Paul, MN: Method nº 10- 11, 2000.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17 ed. Washington, 2000.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. Washington, 2005. 1018 p.

AYAZ, F. A.; GLEW, R. H.; MILLSON, M.; HUANG, H.S.; CHUANG, L.T.; SANZ, C.; HAYIRLIOGLU-AYAZ, S. Nutrient contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.). **Food Chemistry**, v.96, n.4, p.572–579, jun. 2006.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BORGES, J. T. S.; PAULA, C. D.; PIROZI, M. R.; OLIVEIRA, K. Qualidade nutricional de pão de forma enriquecido com farinha de quinoa. **Revista Alimentos Hoy**, v.21, n.27, p.55-67, dez. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 de novembro de 2012. Seção1, p.15.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº263 DE 22 de setembro de 2005. **Dispões sobre o Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, p. 10, 19 mai 2005, Seção 1.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Agência Portaria RDC nº90, de 18 de outubro de 2000. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do pão**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2000.

CALHEIROS, K. O.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Disponibilidade de ferro, digestibilidade de proteína e teor de β -caroteno em formulados alternativos de baixo custo para alimentação enteral de idosos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.1, p.41-55, 2011.

CAMPOS, F. M.; RIBEIRO, S. M. R.; LUCIA, C. M. D.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. **Química Nova**, v.32, n.1, p.87-91, dez. 2009.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. S. Production and characterization bread using scaldedrye. **Journal of Texture Studies**, USA, v.39, n.1, p.56-67. 2008.

FEIBER, L. T.; CAETANO, R. Estudo da composição centesimal e teores de cálcio em polpas de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v.23, n.1, p.141-145, 2012.

GANDRA, K. M.; DEL BIANCHI, M.; GODOY, V. P.; QUEIROZ, F. P. C.; JOY, S. C. Aplicação de lipase e monoglicerídeo em pão de forma enriquecido com fibras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 182-192, jan.-mar., 2008.

GRIFFITH, D. P.; LIFF, D. A.; ZIEGLER, T. R.; ESPER, G. J.; WINTON, E. F. Acquired copper deficiency: a potentially serious and preventable complication following gastric bypass surgery. **Obesity**, v.17, n.4, p.827-831, abr. 2009.

HAMERSKI, L.; REZENDE, M. J. C.; SILVA, B. V. Usando as cores da natureza para atender aos desejos do consumidor: substâncias naturais como corantes na indústria alimentícia. **Revista Virtual de Química**, v.5, n.3, p.394-420, 2013.

HOBBS, D.A.; ASHOURI, A.; GEORGE, T.W.; LOVEGROVE, J.A.; METHVEN, L. The consumer acceptance of novel vegetable-enriched bread products as a potential vehicle to increase vegetable consumption. **Food Research International**, v.58, p.15–22, 2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: avaliação nutricional da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil. Rio de Janeiro, 2010.

KORUS, A. Effect of preliminary and technological treatments on the content of chlorophylls and carotenoids in kale (*brassica oleracea* l. var. *acephala*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v.37, n.4, p.335-344, ago. 2013.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.28, n.6, p.1313–1315, nov. 1980.

LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C. G. Molecular aspects of cereal b-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. **Journal of Cereal Science**, London, v. 46, n. 2, p. 101-118, sep. 2007.

LIGOR, M.; TRZISZKA, T.; BUSZEWSKI, B. Study of antioxidant activity of biologically active compounds isolated from green vegetables by coupled analytical techniques. **Food Analytical Methods**, v.6, n.2, p.630–636, 2013.

LIMA, A. S.; MACIEL, J. F.; QUEIROGA, R. C. R. E.; NETO, E. A. L.; ANJOS, U. U.; FARIAS, L. R. G. Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.68, n.3, p.366-372, 2009.

LISIEWSKA, Z.; GEBCZYNSKI, P.; BERNAS, E.; KMIECIK, W. Retention of mineral constituents in frozen leafy vegetables prepared for consumption. **Journal Food Composition and Analysis**, New Jersey, v.22, n.3, p.218-223, mai. 2009.

LÓPEZ-NICOLÁS, R.; FRONTELA-SASETA, C.; GONZÁLEZ-ABELLÁN, R.; BARADO-PIQUERAS, A.; PEREZ-CONESA, D.; ROS-BERRUEZO, G. Folate fortification of white and whole-grain bread by adding Swiss chard and spinach. Acceptability by consumers. **Food Science and Technology**, p.1-7, 2014.

LUCIA, C. M. D.; SILVA, E. R.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Otimização de método para análise de folatos em hortaliças folhosas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. **Química Nova**, v.34, n.2, p.335-340, 2011.

MERDIVAN, M.; YILMAZA, E.; HAMAMCIA, C.; AYGUNC, R.S. Basic nutrients and element contents of white cheese of diyarbakır in turkey. **Food Chemistry**, v.87, n.2, p.163–171, set. 2004.

MOIR, K. W. Determination of oxalic acid in plant Queensland. **Journal Agricultural Science**, Cambridge, v.10, n.1. p.1-3, 1953.

MWITHIGA, G.; OLWAL, J. O. The drying kinetics of kale (*Brassica oleraceae*) in a convective hot air dryer. **Journal of Food Engineering**, v.71, n.4, p.373–378, dez. 2005.

OLIVEIRA, N. M. A. L.; MACIEL, J. F.; LIMA, A. S.; SALVINO, E. M.; MACIEL, C. E. P.; OLIVEIRA, D. P. M. N.; FARIAS, L. R. G. Características físico-químicas e sensoriais de pão de forma enriquecido com concentrado protéico de soro de leite e carbonato de cálcio. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.1, p.16-22, 2011.

OLIVEIRA, T.M.; PIROZI, M.R.; BORGES, J.T.S. Elaboração de pão de sal utilizando farinha mista de trigo e linhaça. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.2, p.141-150, abr.-jun. 2007.

PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs. **Journal of Cereal Science**, v.49, n.2, p.190-201, mar. 2009.

QUÍLEZ, J.; RUIZ, J.A.; ROMERO, M. P. Relationships between sensory flavor evaluation and volatile and nonvolatile compounds in commercial wheat bread type baguette. **Journal Food Science**, v. 71, n. 6, p. 423-427, 2006.

RANGANNA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi. Tata Mcgraw-Hill, 1979, 1112 p.

ROBERT, H.; GABRIEL, V.; LEFEBVRE, D.; RABIER, P.; VAYSSIER, Y.; FONTAGNÉ-FAUCHER, C. Study of the *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **Food Science and Technology**, v.39, n.3, p.256-265, 2006.

SAVAGE, G. P. et al. Effect of cooking on the soluble and insoluble oxalic acid content of some New Zealand foods. **Journal Food Composition and Analysis**, New Jersey, v.13, n.3, p.201-206, jun. 2000.

SIKORA, E.; BODZIARCZYK, I. Composition and antioxidant activity of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) raw and cooked. **Acta Scientiarum Polonorum**, v.11, n.3, p.239-248, 2012.

SILVA, L. H.; PAUCAR-MENACHO, L. M.; VICENTE, C. A.; SALLES, A. S.; STEEL, C. J. Desenvolvimento de pão de fôrma com a adição de farinha de “okara”. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.12, n.4, p.315-322, 2009.

SOMOGYI, M. A. New reagent for determination of sugars. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.160, n.1, p.61-68, 1945.

TEIXEIRA, A. S.; PHILIPP, I. S. T.; LEAL, G. V. S.; ARAKI, E. L.; ESTIMA, C. C. P.; GUERREIRO, R. E. R. Substituição de refeições por lanches em adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v.30, n.3, p.330-337, 2012.

6. CONCLUSÕES

- A desidratação da couve é importante para a sua conservação e resulta na concentração de nutrientes e outros compostos, destacando-se fibras, cálcio, magnésio, clorofila e fenólicos totais;
- A adição de couve branqueada desidratada a formulação de pão de forma contribuiu para a melhoria de seu valor nutricional, promovendo elevações significativas nos teores de fibras e minerais, especialmente cobre e manganês. Além do maior valor nutricional, os pães com couve apresentaram boa aceitação sensorial, destacando-se quanto à maciez.
- Portanto, a comercialização de pães com couve se constitui como excelente alternativa para estimular o consumo dessa hortaliça, especialmente por pessoas que possuem o hábito de substituir refeições principais por lanches.

ANEXO A – Certidão do Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 8ª Reunião realizada no dia 20/08/2013, o projeto de pesquisa intitulado: “AVALIAÇÃO SENSORIAL DE PÃO DE FORMA ENRIQUECIDO COM FOLHAS DE COUVE MANTEIGA EM PÓ” da Pesquisadora Érica Menezes Salvino. Prot. nº 0278/13. CAAE: 15543513.2.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do resumo do estudo proposto à apreciação do Comitê.


Drª Eliane Marques de Sousa
Coordenadora CEP/CCS/UFPB
Mat. SIAPE: 0332618

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (fls 01)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre a obtenção de folhas de couve manteiga em pó para aplicação em alimentos e está sendo desenvolvida por Érica Menezes Salvino, aluna de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do(a) Prof(a) Dr(a) Janeeyre Ferreira Maciel.

O objetivo do estudo é a elaboração de pães de forma enriquecidos com folhas de couve manteiga em pó.

A finalidade deste trabalho é contribuir para o desenvolvimento de um alimento com valor nutricional mais elevado quando comparado a um produto convencional, bem como disponibilizar nutrientes essenciais que auxiliam no combate de doenças crônicas degenerativas, como câncer, diabetes, hipertensão etc.

Por se tratar de uma pesquisa envolvendo seres humanos, o teste será realizado com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos, para atender as exigências éticas e científicas dispostas na Resolução 196, de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 1996). Com isso solicitamos a sua colaboração para provar um pão de forma elaborado com ingredientes como farinha de trigo, sal, açúcar, gordura vegetal hidrogenada, fermento biológico seco, água e folhas de couve em pó, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de ciência de alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.



APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido (fls 02)

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa
ou Responsável Legal

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o (a) pesquisador (a) Érica Menezes Salvino.

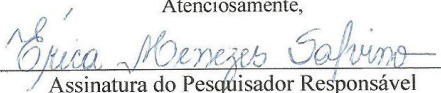
Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal da Paraíba – UFPB , Cidade Universitária - João Pessoa - PB - Brasil - CEP: 58051-900 (praça do centro de tecnologia, 1º andar – sala de estudos dos alunos do PPGCTA – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos)

Telefone: (83) 88871003

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – Campus I – Cidade Universitária – Bloco Arnaldo Tavares – Sala 812 – 1º andar – CCS- (83) 3216 7791 - E-mail: eticaccsufpb@hotmail.com.

OBS: Em virtude que este TCL encontra-se em mais de uma página, as demais serão rubricadas pelo pesquisador e sujeito da pesquisa.

Atenciosamente,


Assinatura do Pesquisador Responsável