

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

JULIANA LINS SOLORZANO

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE QUINOA REAL:  
UMA ALTERNATIVA AO LEITE DE VACA

Brasília  
2013

**JULIANA LINS SOLORZANO**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE QUINOA REAL:  
UMA ALTERNATIVA AO LEITE DE VACA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dra Lívia de Lacerda de Oliveira Pineli

Coorientadora: Dra Renata Puppim Zandonadi

Brasília  
2013

**JULIANA LINS SOLORZANO**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE QUINOA REAL:  
UMA ALTERNATIVA AO LEITE DE VACA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em:

**MEMBROS DA BANCA:**

---

Professora Doutora Lívia de Lacerda de Oliveira Pineli  
(Presidente da Banca – Universidade de Brasília)

---

Professora Doutora Raquel Braz Assunção Botelho  
(Membro Interno – Universidade de Brasília)

---

Professor Doutor Luiz Antônio Borgo  
(Membro Interno – Universidade de Brasília)

---

Professor Doutor Ernandes Rodrigues de Alencar  
(Membro Interno – Universidade de Brasília)

Brasília  
2013

Solorzano, Juliana Lins

Desenvolvimento de bebida à base de quinoa: uma alternativa ao leite de vaca/Juliana Lins Solorzano  
Dissertação de mestrado/ Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.  
Brasília, 2013.

Área de Concentração: Nutrição humana

Orientador: Dra. Lívia de Lacerda de Oliveira Pineli

1. Bebida vegetal 2. Quinoa real 3. Proteínas 4. Alergia alimentar 5. Intolerância alimentar.  
6. Lactose

## AGRADECIMENTOS

A Deus e meus mentores de luz que trouxeram sabedoria, paz, perseverança e discernimento ao longo dessa jornada.

Aos meus pais e minha irmã que sempre me apoiaram e acreditaram no meu trabalho como fruto de um sonho concretizado.

Ao meu namorado Felipe e sua família que me acolheram em seu lar e sempre me apoiaram e ajudaram nas mais diversas situações.

À minha filha Marina que participou ativamente no meu ventre no final desta jornada, me apoiando e ajudando nas escolhas certas.

À minha orientadora, Dra Livia de Lacerda de Oliveira Pineli, que aceitou me orientar abraçando meu projeto e ensinado a ser verdadeiramente uma pesquisadora. Grata por acreditar em minhas ideias e pela confiança nas modificações e manutenção do Laboratório de Análise de Alimentos do Núcleo de Medicina Tropical e no Laboratório de Análise Sensorial.

A minha coorientadora, Renata Puppim Zandonadi, que acreditou no meu projeto e muito me apoiou no início da pesquisa, auxiliado sempre no aprendizado da redação científica.

À Maria do Desterro Pereira Ferreira Ibiapina, pela amizade, pelos conselhos, apoio e auxílio nos entraves da burocracia do sistema. Pela ajuda no recrutamento das análises sensoriais.

Ao Guilherme, companheiro de trabalho de todas as horas e dias (domingos e feriados), pela paciência, dedicação, cuidado, amizade e conselhos nas mais diversas situações.

A Prof<sup>a</sup> Marileusa Dosolina Chiarello, por permitir a utilização do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Católica de Brasília.

Ao técnico Marcos Sodré pela paciência, apoio e auxílio no início da pesquisa.

Ao Prof Luiz Antônio Borgo, pelo carinho, pelos conselhos nos momentos difíceis e por desde a graduação acreditar no meu trabalho sempre me apoiando e concedendo a utilização do Laboratório de Análise de Alimentos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária.

A Andréia Alves Rosa Campos, pela amizade, pelos conselhos nos momentos de alegria e dificuldades, e pelo auxílio no laboratório.

Aos queridos Márcio Mendonça e Glauber, dupla dinâmica que sempre alegrava os inúmeros dias de trabalho, pelo auxílio, paciência e dedicação no aprendizado técnico na bancada, pelos conselhos fraternos nos momentos de dificuldades e felicidades.

As amigas de pesquisa Izabel Lucena, Lorena Andrade de Aguiar e Mariana Veras por todo carinho, apoio e aprendizado.

Aos amigos queridos Janaína Baiocchi, Flávia Giussani, Letícia Torres, Pedro Borges, Thanise Silva e Micheline Visconde pelo apoio, auxílio, companheirismo e carinho ao longo da minha jornada.

E por todos aqueles que não citei, mas que fizeram parte dessa conquista.

**“O conhecimento é como o horizonte,  
Infinito aos olhos de quem o busca.”  
Juliana Lins Solorzano**

## RESUMO

A alergia alimentar ao leite de vaca e a intolerância à lactose vêm aumentando sua incidência na população. Neste contexto, as bebidas vegetais, utilizadas como substitutas do leite de vaca, ganham mercado e são cada vez mais utilizadas. Geralmente se utilizam leguminosas, cereais e oleaginosas, como a soja, o arroz e as castanhas. Porém, algumas vezes, esses componentes isolados não proporcionam uma fonte balanceada de todos os macronutrientes e, também, apresentam alta incidência de reações adversas aos alimentos. Frente à dificuldade de encontrar substitutos do leite de vaca que apresentem características nutricionais, sensoriais e tecnológicas semelhantes às deste produto e que apresentem baixa capacidade de desencadear reações adversas no organismo, destaca-se a possibilidade de utilização da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), por conter aminoácidos essenciais, especialmente, lisina, triptofano, cisteína e leucina. Por esta razão, este trabalho objetivou o desenvolvimento de uma bebida à base de quinoa real, enfatizando a valorização dos seus atributos nutricionais, como alternativa ao leite de vaca. A bebida de quinoa foi preparada a partir de uma sequência de 16 experimentos, que visou a solubilizar as proteínas do grão da quinoa e obter uma bebida fluida. Para isso, foram realizados testes para determinação das proporções de grão e de água para cozimento (1:4, 1:5, 1:6, 1:7 e 1:8), com diferentes tratamentos enzimáticos, e diferentes concentrações salinas (0, 0,009, 0,03, 0,05, 0,051, 0,06 e 0,07 mol/L) e pH (4, 5 e 6), em delineamento composto centralizado rotacional (DCCR). Além disso, foram realizados testes para estudo da interferência das saponinas na solubilidade das proteínas, e testes de aceitabilidade com a bebida, natural e saborizada com baunilha e cacau. Os resultados demonstraram que a adição de cloreto de sódio para cozimento do grão auxilia na solubilidade das globulinas e melhora a aceitabilidade da bebida. Além disso, a partir dos estudos com diferentes pH. Notou-se que a acidificação, com teores mais ácidos – pH 4 e 5 – é essencial para otimização do teor proteico e melhora do paladar. Assim, tanto a concentração salina, quanto o pH são variáveis independentes, enquanto o teor proteico e a aceitação são variáveis dependentes. No teste de aceitação, observou-se que o emprego de aroma de baunilha melhorou a aceitabilidade do produto final. Os tratamentos com proporção de grão e solução salina de 1:7, com 0,03 mol/L e pH 4 e 5, foram escolhidos para ser realizada a composição centesimal. O valor nutricional final das bebidas apresentou teor proteico (1,21 e 1,39 g/100g MF, nos pH 4 e 5, respectivamente) elevado e teor de sódio reduzido (20,28 mg/100g), quando comparado aos das bebidas de arroz e aveia. Os testes de aceitabilidade apontaram boa aceitação da bebida por um grupo de pessoas que consome esse tipo de produto com frequência e que relataram apresentar algum tipo de alergia ou intolerância ao leite de vaca, ao de soja e a castanhas. Dessa forma, a bebida de quinoa apresenta-se como alternativa às bebidas vegetais de arroz, aveia e soja, por seu valor nutricional e baixa alergenicidade. Porém, até o momento, seu emprego como substituta do leite de vaca ainda é limitado, por causa de sua composição centesimal.

Palavra-chave: bebida vegetal, quinoa real, proteínas, alergia alimentar, intolerância alimentar, lactose.

## ABSTRACT

Food allergy to cow's milk and lactose intolerance is increasing its incidence in the population . In this context, vegetable drinks used as a substitute to cow's milk gain market and are increasingly used . These generally used leguminous, cereals and oilseeds , such as soybeans, rice and nuts . However, sometimes these components alone do not provide a balanced source of all macronutrients and also have a high incidence of adverse reactions to foods. Facing the difficulty of finding substitutes for cow's milk presenting nutritional , sensory characteristics , similar to the technology of this product and that has low capacity to trigger adverse reactions in the body , there is the possibility of using quinoa ( *Chenopodium quinoa* Willd ) by contain essential amino acids, especially lysine, tryptophan, cysteine and leucine. Thus, this study aimed to develop a beverage based on quinoa, emphasizing the value of its nutritional attributes as an alternative to cow's milk. The quinoa's beverage was prepared from a sequence of 16 experiments that aimed to solubilize proteins grain quinoa and get a smooth drink. To this end, tests to determine the proportion of grain to water and cooking (1:4, 1:5, 1:6 , 1:7 and 1:8 ) with different enzyme treatments,, and different salt concentrations (0, 0.009 , 0.03 , 0.05 , 0.051 , 0.06 and 0.07 mol/L) and pH (4 , 5 and 6) , and the rotational central composite design (RCCD). In addition, tests to study the interference of saponins in the protein solubility, and acceptability tests with natural and flavored drink with vanilla and cocoa were performed. The results showed that the addition of sodium chloride to the grain baking aids in the solubility of the globulins and improves the acceptability of the beverage. Furthermore, studies with different pH noted that acidification with more acidic contents - pH 4 and 5 - is essential to optimize the protein content and improves taste. Thus, both the salt concentration and the pH are independent variables, whereas the protein content and acceptance are dependent variables. At the acceptance test, it was observed that the employment of improved vanilla flavor acceptability of the final product. Treatment with grain ratio of 1:7 and saline with 0.03 mol/L and pH 4 and 5 were chosen chemical composition to be performed. The final nutritional value of drinks showed protein content (1.21 and 1.39 g/100g MF, in pH 4 and 5, respectively) high and low sodium content (20.28 mg/100g) compared rice and drinks oats. The tests showed good acceptance of acceptability of the beverage by a group of people who use this type of product often and who reported having some kind of allergy or intolerance to cow's milk, soy and nuts. Thus, the quinoa's beverage is presented as an alternative to vegetable drinks like rice, oat, and soybean against nutritional value and low allergenicity. But so far, his job as a substitute for cow's milk is still limited due to their chemical composition.

Keyword: vegetable beverage, quinoa real, proteins, food allergy, food intolerance, lactose.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> REAÇÕES ADVERSAS A ALIMENTOS (ADAPTADA DE BOYCE ET AL, 2010).....	20
<b>FIGURA 2.</b> QUINOA COZIDA COM SOLUÇÃO SALINA COM NaCl 0,05 mol/L, NA PROPORÇÃO DE 1:4 (GRÃO E SOLUÇÃO SALINA) .....	42
<b>FIGURA 3</b> QUINOA COZIDA COM SOLUÇÃO SALINA COM CaCl <sub>2</sub> 0,05 mol/L NAS PROPORÇÕES DE 1:6, 1:7 E 1:8 (GRÃO E SOLUÇÃO SALINA) .....	42
<b>FIGURA 4</b> BEBIDA DE QUINOA REAL ELABORADA COM SABORES: NATURAL, CACAU E BAUNILHA.....	47
<b>FIGURA 5.</b> MESA DE APOIO COM COPOS CODIFICADOS E ALEATORIZADOS POR PROVADOR .....	48
<b>FIGURA 6.</b> CABINE DE ANÁLISE SENSORIAL EQUIPADA COM ÁGUA, COPO DE DESCARTE, BISCOITO DE ÁGUA E SAL, E FICHAS PARA AVALIAÇÃO DA ACEITABILIDADE .....	48
<b>FIGURA 7.</b> FILTRAÇÃO DO GRÃO DA QUINOA EM VOAL PARA REMOÇÃO DAS SAPONINAS (ESQUERDA) E CORREÇÃO DA ACIDEZ COM ÁCIDO CÍTRICO (DIREITA) .....	51
<b>FIGURA 8.</b> AMOSTRAS TRATADAS COM PRÉ-TRATAMENTO (ESQUERDA), COM DESTAQUE PARA A PRESENÇA DE ESPUMAS CARACTERÍSTICA DAS SAPONINAS E AMOSTRAS QUE SOFRERAM ACIDIFICAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO (DIREITA) ....	52
<b>FIGURA 9.</b> QUINOA EM GRÃO TRITURADA E AUTOCLAVADA (ESQUERDA) E VISTA SUPERIOR DO BÉQUER (DIREITA) .....	58
<b>FIGURA 10.</b> GRÁFICO DE CONTORNO (a) E SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (b) DOS TEORES DE PROTEÍNA DAS BEBIDAS DE QUINOA EM FUNÇÃO DO pH E DA CONCENTRAÇÃO SALINA.....	71
<b>FIGURA 11.</b> DIAGRAMA DE PARETO PARA VARIÁVEL RESPOSTA TEOR DE PROTEÍNA DE BEBIDA DE QUINOA .....	72
<b>FIGURA 12.</b> GRÁFICO DE CONTORNO (a) E SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (b) DA ACEITAÇÃO DE BEBIDA DE QUINOA EM FUNÇÃO DO pH E DA CONCENTRAÇÃO SALINA .....	73
<b>FIGURA 13.</b> DIAGRAMA DE PARETO PARA ACEITAÇÃO DE BEBIDA DE QUINOA ....	74

<b>FIGURA 14.</b> GRÁFICO DE CONTORNO (a) E SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (b) DA ACEITAÇÃO DE BEBIDA DE QUINOA EM FUNÇÃO DO pH E DA CONCENTRAÇÃO SALINA.....	76
<b>FIGURA 15.</b> MAPA INTERNO DE CONSUMIDORES PARA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS BEBIDAS DE SOJA, ARROZ, QUINOA pH 4 E 5 .....	78
<b>FIGURA 16.</b> DENDOGRAMA DA ANÁLISE AGLOMERATIVA HIERÁRQUICA SEGMENTOS DE CONSUMIDORES .....	79
<b>FIGURA 17.</b> ANÁLISE DE CORRESPONDÊNCIA MÚLTIPLA.....	80

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1.</b> TRATAMENTOS PARA MELHORAR A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS NA BEBIDA DE QUINOA.....	50
<b>TABELA 2.</b> DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA DUAS VARIÁVEIS E TRÊS NÍVEIS, E SEUS VALORES CODIFICADOS E REAIS .....	53
<b>TABELA 3.</b> TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DE BEBIDA DE QUINOA FABRICADA COM TRATAMENTO ENZIMÁTICO DE ALFA-AMILASE (TERMAMYL®) E AMILOGLUCOSIDASE (AMG 300®).....	56
<b>TABELA 4.</b> MÉDIA DE PROTEÍNA NO GRÃO E NA BEBIDA DE QUINOA, UTILIZANDO TRATAMENTO-SE ENZIMÁTICO E ADIÇÃO DE 1 % E CLORETO DE SÓDIO E ÓLEO DE GIRASSOL .....	57
<b>TABELA 5.</b> TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DE BEBIDA DE QUINOA, FABRICADA COM TRATAMENTO ENZIMÁTICO DE ALFA-AMILASE (FUNGAMYL®) E AMILOGLUCOSIDASE (AMG 300®).....	57
<b>TABELA 6.</b> TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DE BEBIDA DE QUINOA, FABRICADA COM FARINHA DE QUINOA E TRATAMENTO ENZIMÁTICO COM ALFA-AMILASE (TERMAMYL®) E AMILOGLUCOSIDASE (AMG XXL®) .....	58
<b>TABELA 7.</b> COMPARAÇÃO DE COZIMENTO DAS DIVERSAS PROPORÇÕES DE QUINOA E SOLUÇÃO SALINA COM CLORETO DE CÁLCIO .....	59
<b>TABELA 8.</b> MÉDIA DE RENDIMENTO E SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DA BEBIDA DE QUINOA, FABRICADA COM SOLUÇÃO SALINA DE $\text{CaCl}_2$ EM DIFERENTES PROPORÇÕES .....	60
<b>TABELA 9.</b> MÉDIA DE RENDIMENTO, PROTEÍNAS E SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DAS BEBIDAS DE QUINOA, FABRICADAS NA PROPORÇÃO DE GRÃO E SOLUÇÃO SALINA DE $\text{NaCl}$ DE 1:7 EM DIFERENTES MOLARIDADES.....	61
<b>TABELA 10.</b> COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BEBIDA DE QUINOA NA PROPORÇÃO DE 1:7 (GRÃO: SOLUÇÃO SALINA DE $\text{NaCl}$ ) E COM 0,03 mol/L.....	62
<b>TABELA 11.</b> CONCENTRAÇÕES DE AROMAS E BEBIDAS DE QUINOA PARA DETERMINAÇÃO DO SABOR DE BAUNILHA .....	63
<b>TABELA 12.</b> CONCENTRAÇÕES DE CACAU E BEBIDA DE QUINOA PARA DETERMINAÇÃO DO SABOR DE CACAU.....	63

<b>TABELA 13.</b> ACEITABILIDADE DA BEBIDA VEGETAL DE QUINOA NATURAL EM COMPARAÇÃO AOS ADICIONADOS DE AROMA DE BAUNILHA E CACAU.....	64
<b>TABELA 14.</b> MÉDIA DOS TEORES PROTEICOS DAS BEBIDAS DE QUINOA, FABRICADAS COM MOLHO PARA REMOÇÃO DAS SAPONINAS E ALTERAÇÃO DE PH.....	65
<b>TABELA 15.</b> TEOR PROTEICO DAS AMOSTRAS ANALISADAS COM ALTERAÇÕES DE PH, SAPONINAS E MACERAÇÃO.....	66
<b>TABELA 16.</b> TEOR DE PROTEÍNA E ACEITAÇÃO DE BEBIDA DE QUINOA ELABORADA COM SOLUÇÕES DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES SALINAS E PH67	
<b>TABELA 17.</b> RESUMO DOS MODELOS .....	68
<b>TABELA 18.</b> PARÂMETROS ESTIMADOS DO MODELO DE REGRESSÃO PARA A VARIÁVEL RESPOSTA TEOR DE PROTEÍNA.....	68
<b>TABELA 19.</b> PARÂMETROS ESTIMADOS DO MODELO DE REGRESSÃO PARA ACEITAÇÃO .....	69
<b>TABELA 20.</b> ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO PARA TEOR DE PROTEÍNA .....	70
<b>TABELA 21.</b> ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO PARA ACEITAÇÃO.....	72
<b>TABELA 22.</b> RESUMO DO MODELO EXCLUINDO-SE PARÂMETROS NÃO SIGNIFICATIVOS .....	74
<b>TABELA 23.</b> PARÂMETROS ESTIMADOS DO MODELO DE REGRESSÃO, EXCLUINDO-SE PARÂMETROS NÃO SIGNIFICATIVOS.....	75
<b>TABELA 24.</b> ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO .....	75
<b>TABELA 25.</b> ACEITAÇÃO GLOBAL DAS BEBIDAS DE SOJA, ARROZ, QUINOA COM EXTRAÇÃO SALINA DE PROTEÍNAS NA CONCENTRAÇÃO DE 0,03 mol/L NO pH 4 OU 5 (n=160) .....	78
<b>TABELA 26.</b> MÉDIAS, GERAIS E POR SEGMENTOS DE CONSUMIDORES DE ACEITAÇÃO DE BEBIDAS VEGETAIS.....	82
<b>TABELA 27.</b> TEORES DE PROTEÍNAS E DE SÓDIO DAS BEBIDAS INDUSTRIALIZADA DE ARROZ, AVEIA, SOJA E DAS BEBIDAS DE QUINOA PRODUZIDAS COM PROPORÇÃO DE GRÃO E SOLUÇÃO SALINA DE 1:7, EXTRAÇÃO DE SAPONINAS E CONCENTRAÇÃO SALINA DE 0,03 mol/ L EM DIFERENTES pH .....	83

**LISTA DE ANEXOS**

ANEXO I – PROTOCOLO DE ANÁLISE DE UMIDADE .....	85
ANEXO II – PROTOCOLO DE ANÁLISE DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS .....	86
ANEXO III – PROTOCOLO DE ANÁLISE DE PH.....	87
ANEXO IV – PROTOCOLO DE ANÁLISE DE RESÍDUO MINERAL FIXO .....	88
ANEXO V – PROTOCOLO DE ANÁLISE DE TEOR DE LIPÍDEOS.....	89
ANEXO VI – PROTOCOLO DE ANÁLISE DE TEOR DE PROTEÍNAS.....	90
ANEXO VII – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – EXPERIMENTOS 10 E 15.....	91
ANEXO VIII – QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO.....	92
ANEXO IX – FICHA SENSORIAL.....	93
ANEXO X – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – EXPERIMENTO 14.....	94

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ANEXOS .....	xiii
INTRODUÇÃO .....	17
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
1.1 REAÇÕES ADVERSAS A ALIMENTOS: ALERGIAS E INTOLERÂNCIAS .....	20
1.2 ALERGIA AO LEITE DE VACA (ALV).....	22
1.3 INTOLERÂNCIA À LACTOSE .....	23
1.4 BEBIDAS VEGETAIS SUBSTITUTAS DO LEITE DE VACA.....	25
1.5 QUINOA ( <i>Chenopodium quinoa</i> WILLD).....	28
1.5.1 SAPONINAS.....	32
2. HIPÓTESES E OBJETIVOS .....	33
2.1 HIPÓTESE DA PESQUISA .....	33
2.2 OBJETIVOS .....	33
2.2.1 Objetivo geral .....	33
2.2.2. Objetivos específicos .....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.1 EXPERIMENTO 1: Pré-testes de processamento de bebida à base de quinoa real .....	34
3.1.1 <i>Pré-teste 1: Fabricação de bebida de quinoa em panela de inox com 2 tratamentos de filtração – voal e tecido de algodão com três camadas .....</i>	34
3.1.2 <i>Pré-teste 2: Fabricação de bebida de quinoa, em panela de inox, com 2 tratamentos de filtração – voal e tecido de algodão com uma camada .....</i>	36
3.1.3 <i>Pré-teste 3: Fabricação de bebida de quinoa em panela de pressão de inox e teflon, com adição de cloreto de sódio, óleo de girassol e filtração em voal .....</i>	36

<b>3.2 FABRICAÇÃO DA BEBIDA À BASE DE QUINOA REAL, UTILIZANDO-SE TRATAMENTO ENZIMÁTICO .....</b>	<b>37</b>
<b>3.2.1 EXPERIMENTO 2: Fabricação de bebida vegetal de quinoa real, utilizando-se cozimento por autoclavagem e tratamento enzimático com alfa-amilase (Termamyl®) e amiloglucosidase (AMG 300®).....</b>	<b>38</b>
<b>3.2.2 EXPERIMENTO 3: Fabricação de bebida vegetal de quinoa real, utilizando-se cozimento por autoclavagem e tratamento enzimático com alfa-amilase (Fungamyl®) e amiloglucosidase (AMG 300®).....</b>	<b>40</b>
<b>3.2.3 EXPERIMENTO 4: Fabricação de bebida vegetal de quinoa real, utilizando-se grão triturado, cozimento por autoclavagem e tratamento enzimático com alfa-amilase (Termamyl®) e amiloglucosidase (AMG XXL®) .....</b>	<b>40</b>
<b>3.2.4 EXPERIMENTO 5: Utilização de solução salina de cloreto de sódio (NaCl) com 0,05 mol/L e escolha da proporção de grão e solução salina de 1:4 ou 1:5 para cozimento em autoclave .....</b>	<b>41</b>
<b>3.2.5 EXPERIMENTO 6: Utilização de solução salina de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) com 0,05 mol/L e escolha da proporção 1:6, 1:7 ou 1:8 de grão e solução salina para cozimento em autoclave .....</b>	<b>42</b>
<b>3.2.6 EXPERIMENTO 7: Utilização de solução salina de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) com 0,05 mol/L e proporções de grão e solução salina de 1:6 e 1:7 para fabricação da bebida de quinoa.....</b>	<b>43</b>
<b>3.2.7 EXPERIMENTO 8: Efeito da força iônica na composição da bebida à base de quinoa.....</b>	<b>43</b>
<b>3.2.8 EXPERIMENTO 9: Caracterização física e química da bebida de quinoa com proporção de grão e solução salina de NaCl de 1:7 e 0,03 mol/L .....</b>	<b>44</b>
3.2.8.1 <i>Determinação analítica .....</i>	44
3.2.8.2 <i>Análise de umidade .....</i>	44
3.2.8.3 <i>Análise de sólidos solúveis totais .....</i>	44
3.2.8.4 <i>pH.....</i>	45
3.2.8.5 <i>Resíduo mineral fixo .....</i>	45
3.2.8.6 <i>Teor de lipídeos .....</i>	46
3.2.8.7 <i>Teor de proteínas .....</i>	46
3.2.8.8 <i>Teor de carboidratos.....</i>	46
<b>3.2.9 EXPERIMENTO 10: Desenvolvimento e análise sensorial de bebida vegetal de quinoa com sabores de baunilha e cacau .....</b>	<b>46</b>
3.2.9.1 <i>Fabricação de bebida vegetal de quinoa com sabores de baunilha e cacau.....</i>	46
3.2.9.2 <i>Análise sensorial de bebida vegetal de quinoa com sabores de baunilha e cacau</i>	47

<b>3.2.10 EXPERIMENTO 11: Estudo da necessidade de adição de água para liquidificação no preparo da bebida de quinoa com teste de remoção das saponinas e alteração do pH para estudo inicial da solubilidade das proteínas.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.11 EXPERIMENTO 12: Avaliação da solubilidade da proteína com pH 5, pré-tratamento com remoção de saponinas e maceração.....</b>	<b>51</b>
<b>3.2.12 EXPERIMENTO 13: Otimização da solubilidade das proteínas da bebida de quinoa, de acordo com o Delineamento Composto Centralizado Rotacional (DCCR) .....</b>	<b>52</b>
<b>3.2.13 EXPERIMENTO 14: Análise sensorial das bebidas fabricadas de acordo com o Delineamento Composto Centralizado Rotacional (DCCR) .....</b>	<b>53</b>
<b>3.2.14 EXPERIMENTO 15: Análise sensorial dos melhores tratamentos do experimento anterior, comparados com as bebidas vegetais industrializadas de soja e arroz.....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.15 EXPERIMENTO 16: análises dos teores de proteína e sódio das bebidas de quinoa com proporção de grão e solução salina com NaCl de 1:7, molaridade de 0,03 mol/L e diferentes pH .....</b>	<b>55</b>
<b>4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....</b>	<b>55</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>56</b>
<b>5.1 Fabricação da bebida à base de quinoa real, utilizando-se tratamento enzimático .....</b>	<b>56</b>
<b>5.2 Otimização da aceitação em função do pH e da concentração salina.....</b>	<b>66</b>
<b>5.3 Otimização do teor proteico e da aceitação em função do pH e da concentração salina.....</b>	<b>67</b>
<b>5.4 Aceitabilidade da bebida de quinoa, em comparação com outras bebidas vegetais .....</b>	<b>77</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>84</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>85</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>95</b>

## INTRODUÇÃO

Entre os distúrbios do organismo humano relacionados com a ingestão alimentar, destacam-se aqueles que comprometem sua integridade orgânica, como as reações adversas caracterizadas por hipersensibilidades alimentares. De uma forma simplificada e generalista, as reações de hipersensibilidade alimentar são classificadas em dois grandes grupos: alergia alimentar, em que há reação imunológica; e intolerância alimentar, em que não há reação imunológica primária, mas que pode também desencadear vários mecanismos patológicos (JOHANSSON *et al.*, 2001).

A alergia alimentar é um problema de saúde pública que afeta adultos e crianças e está aumentando sua ocorrência (BOYCE *et al.*, 2010). Cerca de 4 % da população mundial adulta apresenta alergia alimentar e, entre crianças, a ocorrência é de aproximadamente 8 % (MANSOOR; SHARMA, 2011). Essas reações adversas aos alimentos são responsáveis por restrições de grupos alimentares e obrigam os indivíduos a adotarem cuidados quanto às substituições dos alimentos (SCALIN; STONE; BUENETT, 2010).

Dentre as reações adversas aos alimentos, uma das que mais se destaca é a reação ao leite de vaca, por ser um alimento que pode compor todas as refeições (café da manhã, lanches, almoço e jantar) e que é amplamente consumido – estima-se que em 2010 o consumo mundial de leite chegou a 270 bilhões de litros (TPDI, 2011). A alergia ao leite de vaca acomete cerca de 5 % da população mundial (KATZ, 2010) e a intolerância à lactose (carboidrato presente no leite) acomete cerca de 70 % da população (ADHIKARI *et al.*, 2010).

O tratamento inicial para as reações adversas ao leite de vaca consiste na exclusão desse alimento e de seus derivados da alimentação do indivíduo, principalmente no caso das alergias (BOYCE *et al.*, 2010). No caso da intolerância à lactose, esta também pode ser tratada a partir da administração da enzima lactase antes do consumo do alimento, porém, destaca-se que a utilização da lactase por via oral apresenta limitações, por se tratar de uma enzima instável, de elevado custo e de curto tempo de ação no organismo (NICHELE; SIGNORETTO; GHEDINI, 2011). Além da possibilidade de utilização de lactase, existem no mercado produtos lácteos que apresentam redução do teor de lactose. Embora possibilitem maior variedade na alimentação, esses produtos

geralmente não apresentam qualidade sensorial satisfatória (ADHIKARI *et al*, 2010) e, dependendo do nível de intolerância à lactose que o indivíduo apresenta, também não podem ser utilizados, em função de não serem totalmente isentos de lactose. Portanto, frente à dificuldade de encontrar substitutos ao leite de vaca, que apresentem características nutricionais, sensoriais e tecnológicas adequadas e de baixa capacidade de desencadear reações adversas no organismo, constata-se a necessidade de se buscarem alternativas que apresentem essas características.

Assim, surgem como substitutos das bebidas lácteas as bebidas vegetais, fabricadas a partir de leguminosas, oleaginosas, cereais e pseudocereais – Esta última classe ocorre, na classificação, por apresentarem, seus representantes, alto teor de amido e proporções, aproximadas às dos cereais, de carboidratos, lipídeos, proteína e fibras (BHARGAVA; SHUKLA; OHRI, 2006; MEZQUITA *et al*, 2011). As bebidas a partir desses substitutos podem ser encontradas prontas para consumo, no mercado, ou podem ser preparadas de forma artesanal, embora apresentem, então, limitações em relação às características sensoriais e tecnológicas (PEÑA *et al*, 2010).

Ademais, embora as bebidas vegetais apresentem, em sua composição, proteínas, estas são limitadas quanto ao perfil de aminoácidos e ao equilíbrio dos nutrientes, além de apresentarem, também, potencial para desenvolver alergias ou intolerância (SCALIN; BURNETT, 2010). A soja, por exemplo, é um dos alimentos mais usualmente encontrado em mercados e utilizado como alternativa ao leite de vaca (ROSTANGO; PALMA; BARROSO, 2007 *apud* PEÑA *et al*, 2010). Entretanto, essa leguminosa possui cerca de 15 proteínas associadas à incidência de alergia alimentar, além de ser limitada quanto a alguns aminoácidos, como a metionina e a cisteína (JUNIOR *et al*, 2010). Além disso, estima-se que, entre indivíduos com reação ao leite de vaca, 60 % apresentam reações concomitantes à soja (ZEIGER *et al*, 1999), o que dificulta a utilização dessa leguminosa como substituta do leite de vaca por esse grupo.

Também alimentos como o extrato hidrossolúvel de aveia, largamente utilizado como alternativa à soja e ao leite, mostra problemas, pela presença do glúten, proteína associada com as respostas imune-inflamatórias, em pacientes que apresentam reações adversas a esta proteína, como a doença celíaca, a alergia ao glúten e a sensibilidade ao glúten (SCALIN; STONE; BUENETT, 2010).

Outra alternativa de destaque é a bebida à base de amêndoas, que é comercializada industrialmente e pode ser fabricada artesanalmente. Porém, apesar de seu importante valor nutricional, devido à presença de vitaminas, minerais e fibras, a amêndoa está entre os oitos alimentos que induzem a reações adversas (TIWARI *et al*, 2010) e é um produto de custo elevado, limitando a sua utilização pela população de baixa renda.

A bebida à base de arroz também representa uma importante opção, por sua popularização de consumo e seu baixo custo. Entretanto, ela tem limitação quanto ao seu valor nutricional, uma vez que apresenta baixo teor de proteínas e alto teor de carboidratos, quando comparada com outras bebidas vegetais (FACCIN *et al*, 2009). Destaca-se que, comparado ao índice glicêmico do leite de vaca (IG= 39), o da bebida à base de arroz é mais que o dobro (IG= 86). Portanto, o consumo constante desse produto pode favorecer o surgimento de doenças crônicas, como diabetes, obesidade, hipertrigliceridemia (FOSTER-POWELL; HOLT; BRAND-MILLER, 2002).

Frente à dificuldade de se encontrarem substitutos do leite de vaca que apresentem características nutricionais, sensoriais, tecnológicas e de baixa capacidade de desencadear reações adversas no organismo, constata-se a necessidade de buscar alternativas que apresentem essas características.

Destaca-se, nesse contexto, a possibilidade de utilização da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)<sup>1</sup> como ingrediente base para formulação de bebida vegetal. Por conter aminoácidos essenciais, especialmente lisina, triptofano, cisteína e leucina; minerais, principalmente cálcio, ferro, magnésio, potássio e fósforo; e teor de lipídios semelhante ao do leite de vaca, demonstra ser, por suas características nutricionais, boa alternativa ao leite de vaca (MEZQUITA *et al*, 2011; MEDINA *et al*, 2011).

Por essas razões, este estudo visa a apresentar uma nova proposta para as bebidas vegetais, com foco em um produto nutricionalmente equilibrado, pronto para consumo, hipoalergênico e livre de quaisquer aditivos químicos ou ingrediente adicional para dulçor, tendo como base de formulação a quinoa em grão.

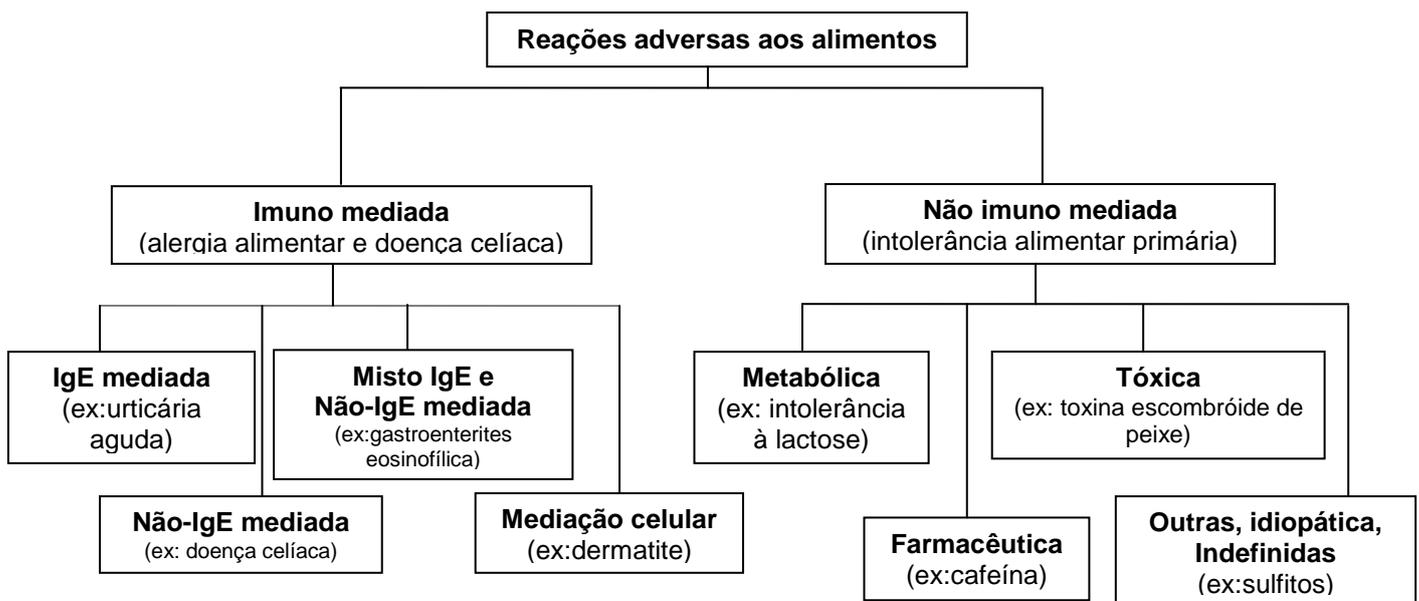
---

<sup>1</sup> A quinoa pertence à família Chenopodiaceae, a mesma do espinafre e da beterraba, e trata-se de uma granífera dicotiledônea (SPEHAR, 2007; COMAI *et al*, 2007) caracterizada como pseudocereal.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 REAÇÕES ADVERSAS A ALIMENTOS: ALERGIAS E INTOLERÂNCIAS

O consumo de certos alimentos, ou de determinado ingrediente de uma preparação, ou, ainda, de determinado componente estrutural de um alimento, pode gerar reações adversas em quem o consome (MAHONEY; VELING; MIMS, 2011), que são caracterizadas, no organismo humano, por sintomas que podem variar de desconforto leve até risco de vida, por anafilaxia. A diferença de resposta do organismo está associada aos tipos de mecanismos de ação provocados, podendo ser imuno mediada ou não imuno mediada (Figura 1)(BOYCE *et al*, 2010).



**Figura 1.** Reações adversas a alimentos (adaptada de Boyce et al, 2010)

As reações imuno mediadas se referem às alergias ou hipersensibilidades alimentares e são definidas como respostas imunológicas adversas às proteínas dos alimentos. A manifestação dos sintomas das reações alimentares imuno mediadas ocorre após a ingestão do alérgeno alimentar e pode aparecer dentro de minutos, ou levar algumas horas para se manifestar (AJALA *et al*, 2010). Os sintomas são caracterizados por reações imediatas em partes específicas do corpo, como: pele, sistema respiratório e trato gastrointestinal; ou por reações generalizadas, como a anafilaxia. Reações

envolvendo a pele e a membrana de mucosas são as manifestações mais comuns na alergia alimentar. Dessa forma, a alergia alimentar não só afeta a qualidade de vida – uma vez que são necessários cuidados quanto à escolha dos alimentos, dos locais socialmente frequentados e de escolhas alimentares em viagens, como também pode ser potencialmente fatal (MAHONEY; VELING; MIMS, 2011).

Além disso, os fatores de riscos genéticos predispõem à incidência de alergia alimentar, somada a outros fatores como: idade, frequência de ingestão do alérgeno e a qualidade e quantidade do alimento ingerido (MAHONEY; VELING; MIMS, 2011; SICHERER; SAMPSON, 2010).

Nos Estados Unidos, oito alimentos representam 90 % das reações alérgicas alimentares presentes na população, que, em ordem de prevalência são leite, ovo, trigo, soja, amendoim, nozes, peixes e mariscos (GROETCH *et al*, 2010); possivelmente, um dos fatores que influencia na alta prevalência de reações adversas a esses alimentos é a alta frequência de seu consumo. Além disso, as reações graves, causadas por alergias alimentares, são responsáveis por cerca de 30 mil casos de emergência médica e cerca de 200 mortes por ano, naquele país (AJALA *et al*, 2010).

A restrição do alimento que desencadeia a reação alérgica consiste em uma importante etapa para o tratamento, somada à utilização de medicamentos anti-histamínicos no controle dos sintomas gerados em crises alérgicas - tendo em vista o alto risco dessas reações (BOYCE *et al*, 2010).

As reações não imuno mediadas, ou intolerâncias alimentares, envolvem a ausência ou a baixa produção de enzimas digestivas, o que compromete a digestão, interfere na fermentação intestinal e pode provocar dor abdominal, flatulência, inchaço, dentre outros sintomas. Assim, embora os alimentos ou ingredientes que provocam intolerâncias alimentares não sejam considerados alérgenos alimentares (AJALA *et al*, 2010), também devem ser retirados da alimentação, para tratamento desta reação.

As intolerâncias alimentares incluem mecanismos metabólicos, farmacológicos, tóxicos e outros ainda indefinidos. Como exemplos, têm-se a intolerância à lactose, à cafeína, ao óleo de peixe e aos sulfitos, respectivamente. Em alguns casos, as reações não-imunes podem gerar reações típicas de uma resposta imunológica, como dor abdominal e diarreia. Por isso, é importante uma anamnese criteriosa e realização de

exames específicos, para se avaliarem reações adversas aos alimentos (BOYCE *et al*, 2010).

É importante distinguir alergia alimentar de reações alimentares não imunológicas, uma vez que esta é muito mais frequente que aquela e que, muitas vezes, são confundidas, gerando possibilidades de tratamento inadequado (MANSOOR; SHARMA, 2011). Embora cerca de 30 % da população reporte apresentar alergia alimentar, em si próprios, ou em seus filhos, a prevalência de alergia alimentar estimada é de cerca de 8 %, em crianças, e de cerca de 4 %, em adultos, na população mundial. Portanto, muitas reações alimentares adversas não imunes são incorretamente classificadas e tratadas como alergia (MANSOOR; SHARMA, 2011).

Dentre as reações adversas mais relatadas e comuns em humanos estão as reações ao leite de vaca, das quais se destacam a alergia ao leite de vaca e a intolerância à lactose (BOYCE *et al*, 2010).

## **1.2 ALERGIA AO LEITE DE VACA (ALV)**

Um dos alimentos mais associados às alergias alimentares é o leite de vaca por conter cerca de 20 proteínas potencialmente sensibilizantes ao organismo humano. Elas são encontradas principalmente nas frações de caseína e no soro do leite, e representam, aproximadamente, 80 e 20 % do total de proteínas do leite, respectivamente. Os alérgenos mais importantes do soro do leite são as  $\alpha$ -lactoalbumina e a  $\beta$ -lactoglobulina, que correspondem a 5 % e 10 % do total de proteínas do leite (FIOCCHI *et al*, 2010; KATTAN; COCCO; JÄRVINEN, 2011).

As manifestações clínicas da ALV normalmente aparecem por volta do primeiro mês de vida, em especial em crianças que utilizam fórmulas lácteas (KATTAN; COCCO; JÄRVINEN, 2011). Do ponto de vista clínico, pacientes com ALV podem apresentar uma ampla variedade de sintomas que envolvem, principalmente, reações cutâneas, alterações gastrointestinais e respiratórias e anafilaxia, entre outras. Esta última pode ocorrer pouco tempo após a ingestão de leite ou derivados, ou até duas horas após seu consumo (FIOCCHI *et al*, 2010). Ressalta-se que com o desenvolvimento da criança e a maturação do sistema imunológico, ela pode, no futuro, apresentar ou não a alergia ao leite de vaca.

Estudo realizado em um hospital universitário dos Estados Unidos apontou que praticamente todas as crianças que tinham ALV desenvolveram esta condição no primeiro ano de vida, com tolerância clínica em desenvolvimento em cerca de 80 %, em seu quinto aniversário. Dessas, aproximadamente 35 % desenvolveram também alergias a outros alimentos (BOYCE *et al*, 2010).

Inquérito telefônico realizado na Europa com mais de 44 000 contatos, relevou que, destes, 5 mil pessoas relataram ser alérgicas ao leite de vaca, sendo a maioria mulheres adultas (FIOCCHI *et al*, 2010). Segundo Mahoney, Veling e Mims (2011), a ALV afeta aproximadamente 2,5 % das crianças e 79 % dos adolescentes entre 16 e 19 anos.

Ademais, há um aumento das taxas de ALV devido a: infecções e alterações na microbiota intestinal; à idade da primeira exposição ao leite; à dieta da mãe; à transmissão de antígenos através do leite materno; bem como à natureza, quantidade e frequência de carga de antígenos, e predisposição genética (FIOCCHI *et al*, 2010).

Embora muito prevalente e bastante estudada, até o momento, o único tratamento seguro para a ALV é a restrição às proteínas do leite de vaca. Sendo assim, é necessário um planejamento nutricional com exclusão de produtos lácteos para suprir as necessidades diárias do indivíduo, sem alterar a qualidade sensorial dos produtos ofertados (FIOCCHI *et al*, 2010).

### **1.3 INTOLERÂNCIA À LACTOSE**

A lactose é o carboidrato mais abundante no leite dos mamíferos. Trata-se de um dissacarídeo constituído de dois monossacarídeos, D-glicose e D-galactose, que estão ligados covalentemente por uma ligação glicosídica do tipo  $\beta 1 \rightarrow 4$ . Quando consumida, a lactose é hidrolisada no intestino delgado pela enzima lactase em glicose e galactose. Porém, quando há ausência ou baixa atividade enzimática da galactase, a quebra da lactose é dificultada e resulta em sintomas gastrointestinais, que incluem dor abdominal, inchaço, cólicas, flatulência, entre outros. Essa alteração enzimática é denominada intolerância à lactose e pode ser sintomática ou assintomática (KWKA; LEE; LEE, 2012).

Esse processo ocorre quando há uma digestão inadequada da lactose no intestino delgado, por causa de a quantidade deste carboidrato exceder a quantidade compatível com a atividade enzimática. Os sintomas podem aparecer entre 30 minutos e 2 horas

após a ingestão do alimento que contém lactose (BROWN-ESTERS; SAVAIANO, 2012; MURILLO, 2009).

Em humanos, na oitava semana de gestação, é possível detectar a atividade da lactase na mucosa intestinal do bebê. Esta atividade aumenta até a 34ª semana e alcança seu máximo no nascimento (MURILLO, 2009). Porém, após o desmame ocorre uma redução acentuada da lactase, até a idade adulta, em aproximadamente 75 % da população (BROWN-ESTERS; SAVAIANO, 2012).

Dessa forma, mais de 70 % da população mundial apresenta intolerância à lactose, existindo variações entre faixa etária e etnias (MESSIA; CANDIGLIOTA; MARCONI, 2007 *apud* ADHIKARI *et al*, 2010). Nas sociedades em que não se consomem produtos lácteos habitualmente, a produção de lactase decresce em aproximadamente 90 %, durante os primeiros quatro anos de vida, embora este decréscimo varie com o tempo. Os grupos étnicos mais afetados com este distúrbio são, nesta ordem, os asiáticos, os africanos, os mexicanos, os esquimós e os árabes (MURILLO, 2009).

Em todo o mundo, muitas crianças são alimentadas apenas com leite de vaca durante os primeiros meses de vida, o que torna comum a ocorrência de má digestão de leite de vaca nestes indivíduos, apesar de possuírem atividade da lactase intestinal alta. Esta ocorrência de intolerância à lactose também é comum em adultos com baixa atividade da lactase intestinal (BROWN-ESTERS; SAVAIANO, 2012).

A intolerância à lactose pode ser classificada em três tipos. Na deficiência primária, de lactose constata-se a redução normal, que ocorre após desmame, da maioria da lactase intestinal, sendo mais recorrente entre os 3 e 5 anos de idade. É estimado que aproximadamente 75 % da população mundial apresentem deficiência primária de lactose (BROWN-ESTERS; SAVAIANO, 2012). Além disso, segundo Enattah *et al* (2002, *apud* MURILLO, 2009), a intolerância primária é induzida pelo ambiente, quando a criança vive em uma cultura na qual não se tem o hábito de consumir produtos lácteos.

A intolerância secundária ou adquirida, ou recessiva/temporal, ocorre como uma consequência de danos no revestimento do intestino delgado, provocados por uso de medicamentos, por doença, por cirurgia, por radiação ou por terapia para os enterócitos. Assim, no caso da intolerância secundária, pode ocorrer reversão do quadro de intolerância a partir da restauração da microbiota intestinal (BROWN-ESTERS; SAVAIANO, 2012).

A deficiência congênita de lactase, por sua vez, é um transtorno autossômico recessivo, cujo mecanismo molecular ainda não é conhecido com exatidão. As alterações genéticas estão presentes no nascimento e seu diagnóstico é feito ainda na infância. O único tratamento, nesse caso, é evitar a ingestão de lactose desde o nascimento (MURILLO, 2009).

Destaca-se que a quantidade de lactose que pode ser tolerada varia de pessoa para pessoa, dependendo da quantidade de lactose produzida e da intensidade dos sintomas. Por não envolver sistema imunológico, a intolerância à lactose não apresenta ameaça adicional para a saúde, mas causa desconfortos que podem conduzir até a uma restrição social do indivíduo. O tratamento consiste no controle dietético para reduzir a incidência e a intensidade dos sintomas (MURILLO, 2009).

As formas de tratamento para a intolerância à lactose são: utilização de alimentos isentos de lactose ou utilização de suplemento enzimático de lactase. Em função do custo e da disponibilidade, o tratamento mais utilizado é a substituição dos alimentos ricos em lactose por outros isentos dela. É possível encontrar, no mercado, leite de vaca com teor reduzido de lactose, mas indivíduos totalmente intolerantes à lactose apresentam reação também a esse produto. Ademais, há indivíduos que apresentam alergias e intolerâncias ao leite de vaca associadas e, portanto, não podem consumir os leites reduzidos em lactose, por estimularem o sistema imunológico pela presença das proteínas. Portanto, dentre os alimentos mais utilizados como substituto do leite de vaca, destacam-se as bebidas vegetais.

#### **1.4 BEBIDAS VEGETAIS SUBSTITUTAS DO LEITE DE VACA**

A produção de bebidas vegetais à base de leguminosas é uma tecnologia antiga, que remonta a antes do século XIII (SMITH; CIRCLE, 1972 *apud* AIDOO *et al*, 2010). Elas são tradicionalmente fabricadas a partir de uma mistura de cereal, ou leguminosa, ou oleaginosa, ou, ainda, de pseudocereal; água; óleo; cloreto de sódio e, ou, alguns aditivos alimentares, como corantes, aromatizantes e estabilizantes e, frequentemente, são submetidas a processos enzimáticos. Assim, são caracterizadas por emulsões de bebidas termodinamicamente instáveis, em função de sua energia livre, necessária para aumentar

a área de contato entre o óleo e a água, e da diferença de densidade entre estas duas fases (GHARIBZAHEDI *et al*, 2012).

Dentre as bebidas vegetais mais desenvolvidas e consumidas destaca-se a de soja (ROSTANGO; PALMA; BARROSO, 2007 *apud* PEÑA *et al*, 2010). O mercado dessa leguminosa apresenta forte crescimento, no segmento de bebidas, quando comparado com o dos produtos tradicionais (JAEKEL; RODRIGUES; SILVA, 2010). O extrato aquoso de soja é amplamente utilizado como substituto do leite de vaca e também decorre da busca do consumidor por produtos saudáveis e práticos (BARBOSA, 2007).

Contudo, a soja contém fatores antinutricionais, como os inibidores de proteases, que representam de 2 % a 6 % de suas proteínas, com destaque para o Inibidor de Tripsina Kunitz (KTI) e o Inibidor Bowman-Birk (BBI). O primeiro tem forte atuação na inibição da tripsina e mais fraca inibição sobre a quimotripsina; o segundo pode inibir fortemente a tripsina e a quimotripsina, duas importantes enzimas pancreáticas responsáveis pela digestão de proteínas no trato gastrointestinal. Ambos os inibidores são termo-lábeis e podem ser inativados por cozimento durante o processamento de produtos de soja. No entanto, a atividade dos inibidores de protease, residuais nos alimentos de diferentes fabricantes de derivados de soja, poderia ser bastante variável, como resultado da não padronização dos processos de fabricação. Além disso, seus conteúdos não são monitorados e não foram estabelecidos níveis de segurança (XIAO *et al*, 2012).

Ademais, a soja possui 15 proteínas associadas à incidência de alergias alimentares (JUNIOR *et al*, 2010), além de ser limitada quanto a alguns aminoácidos, como a metionina e a cisteína (HAARD; CHISM, 1996). Kattan, Cocco e Järvinen (2011) destacam que cerca de 10 % a 14 % dos indivíduos com alergia ao leite de vaca também apresentam alergia à proteína da soja. Além disso, o extrato de soja possui sabor e cor muito diferentes dos do leite de vaca, acarretando prejuízos sensoriais aos produtos modificados. Portanto, o extrato de soja não deve ser considerado uma boa alternativa para o leite de vaca.

Além do extrato de soja, existem diversos outros extratos vegetais sendo utilizados como alternativas ao leite de vaca. A bebida à base de amêndoas é bastante popular nos países que banham o Mar Mediterrâneo e foi um alimento muito utilizado na Idade Média, pois o leite de vaca era altamente perecível, por causas das limitações higiênico-sanitárias e de armazenamento, e normalmente era transformado em manteiga ou queijo.

Quanto ao valor nutricional das amêndoas, essas se destacam pela presença de vitamina E, manganês, magnésio, cobre, fosfato, fibras, riboflavina, ácidos graxos insaturados e proteínas. Além disso, esta oleaginosa possui baixo índice glicêmico e excelente biodisponibilidade de  $\alpha$ -tocoferol – composto bioativo responsável por reduzir a oxidação de LDL (FASOLI *et al*, 2011).

Todavia, os benefícios nutricionais resultantes do consumo de amêndoas não se aplicam a todas as pessoas, uma vez que esta oleaginosa está entre os oitos alimentos que induzem reações adversas (TIWARI *et al*, 2010). Nos Estados Unidos, a alergia alimentar às amêndoas acomete aproximadamente 1,15 % da população e está aumentando sua incidência nas crianças (SICHERER *et al*, 2010 *apud* RÖDER; VIETHS; HOLZHAUSER, 2011), o que reduz a possibilidade de utilização do extrato de amêndoa como substituto do leite de vaca.

Como alternativa, as bebidas à base de arroz vêm ganhando destaque nos estudos científicos, principalmente no desenvolvimento de fórmulas hidrolisadas para crianças alérgicas ao leite de vaca (RECHE *et al*, 2010). Em um estudo realizado com 92 crianças, com idade média de 4,3 meses, foi avaliada a aceitação de uma fórmula infantil de hidrolisado de arroz. Mais de 90 % das crianças com alergia ao leite de vaca apresentaram boa aceitação à formulação (RECHE *et al*, 2010).

Entretanto, FACCIN *et al* (2009) destacam que, apesar de a bebida à base de arroz não desencadear reações alérgicas, ela apresenta limitação quanto ao baixo teor de proteínas e ao alto teor de carboidratos, em comparação com outras bebidas vegetais. Somado a isso, os autores destacam que este tipo de bebida requer atenção quanto ao uso de agrotóxicos e ao armazenamento do produto, após o processamento, pois podem gerar riscos químicos e microbiológicos.

Além das bebidas citadas anteriormente, há, também, no mercado, bebidas à base de aveia (SMEDMAN *et al*, 2010), que se destacam pela presença da fibra solúvel  $\beta$ -glucana, que está associada a muitos benefícios à saúde, como a redução do colesterol, dos níveis de insulina sanguíneos e do índice glicêmico (LYLY *et al*, 2010). Porém, apesar de seus benefícios, a aveia tem em sua composição a proteína associada ao desenvolvimento da doença celíaca (DC), o glúten, o que limita sua utilização por portadores dessa doença ou outras que apresentem sensibilidade a ela (SCALIN, 2010). Ressalta-se que é muito comum a intolerância à lactose, associada à doença celíaca, em

função da alteração da mucosa intestinal promovida pela DC, e que, portanto, os indivíduos apresentariam mais uma restrição alimentar e a veia não seria uma alternativa viável ao leite de vaca.

Em função das limitações apresentadas por cada um dos extratos vegetais, disponíveis no mercado como alternativas ao leite de vaca, ainda são necessários estudos que busquem opções que apresentem melhores características nutricionais, sensoriais e tecnológicas e não apresentem potencial para desencadear reações adversas no organismo. Portanto, observa-se como alternativa a utilização de quinoa na produção de extratos vegetais.

### **1.5 QUINOA (*Chenopodium quinoa* WILLD)**

A quinoa (*Chenopodium quinoa*) é um grão nativo dos altiplanos andinos do Chile, do Peru e da Bolívia. Evidências arqueológicas indicam que seu cultivo seja realizado desde 3000 anos antes de Cristo (BELTON; TAYLOR, 2002). Há relatos de que as populações pré-colombianas andinas usavam este grão como componente base de sua alimentação e, possivelmente, embora sem conhecimento científico, em substituição da proteína animal (VEGA-GÁLVEZ *et al*, 2011). Àquela época, por se tratar de uma planta considerada sagrada, era chamada de *grão mãe* e seu consumo era iniciado logo após o desmame materno (VALENCIA-CHAMORRO, 2004). Além disso, os incas apreciavam esse pseudocereal por ser de fácil cultivo e moagem (MIRANDA *et al*, 2010).

Quanto a seu valor nutricional, é sabido que a quinoa apresenta teores de alguns macro e micronutrientes superiores aos cereais tradicionais, como arroz, milho, trigo e aveia (EDWARDS, 2007) e sua eficiência protéica, composição de aminoácidos, digestibilidade protéica e balanço nitrogenado são comparáveis aos da proteína do leite de vaca (WILLIAMS, 1995, *apud* SCALIN; BURNETT, 2010). Em relação aos aminoácidos, a quinoa é particularmente rica em lisina, metionina, cisteína (KOZIOL, 1992) e histidina, um aminoácido essencial para o desenvolvimento infantil e para pessoas com doenças crônicas (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005). Ressalta-se que é raro uma proteína vegetal apresentar composição tão similar à da proteína de origem animal como as da quinoa (SCALIN; STONE; BUENETT, 2010) e, portanto, estima-se que

seja uma boa alternativa para a produção de extrato vegetal hidrossolúvel, em substituição ao leite de vaca.

Com relação aos carboidratos, estes representam o componente mais abundante do grão, variando entre 67 % a 74 % do peso seco, sendo 51 % a 61 % constituídos por amido (CORDEIRO *et al*, 2012). Quanto às fibras, a quinoa apresenta até 16 % em sua composição, muito superior ao que apresentam o arroz (0,4 %), o trigo (2,7 %), e o milho (1,7 %), contribuindo de forma importante para a saúde humana, uma vez que pode proporcionar redução do impacto glicêmico das refeições; saciedade; regulação intestinal; redução da absorção do colesterol, dentre outros benefícios (ALVAREZ-JUBETE; ARENDT; GALLAGHER, 2010).

Quanto ao teor de lipídeos, aproximadamente 5 %, chega a ser até três vezes superior ao dos cereais tradicionais como cevada e trigo. Porém, os lipídeos são caracterizados por apresentarem alta concentração de ácidos graxos insaturados, dos quais 50 % constituídos pelo ácido linoleico, seguido do ácido oleico (25 %). Além disso, a quinoa também apresenta alto teor de ácido linolênico, com aproximadamente 8,3 % (ALVAREZ-JUBETE; ARENDT; GALLAGHER 2010). Segundo Simopoulos , 2001, *apud* ALVAREZ-JUBETE, ARENDT, GALLAGHER, 2010, o consumo de alimentos com alta concentração de ácido linolênico é benéfico à saúde, uma vez que o consumo de ômega 3 reduz os marcadores biológicos associados com doenças degenerativas.

Quando comparados os lipídeos da quinoa com os do leite de vaca, é possível observar uma diferença marcante quanto a teores e à qualidade. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida (2008), o leite de vaca integral apresenta, no mínimo, 3 % de lipídeos; o leite semidesnatado, entre 0,6 % e 2,9 % e, o leite desnatado, no máximo 0,5 %. Dessa forma, apesar de a quinoa apresentar maior quantidade de gordura, ela é de melhor qualidade, haja vista a presença de ácidos graxos insaturados e a ausência de colesterol, por se tratar de um alimento de origem vegetal.

As proteínas da quinoa podem ser um dos ingredientes mais promissores, capazes de complementar as proteínas de cereais ou leguminosas (ABUGOCH *et al.*, 2008). De acordo com a FAO/WHO/ONU, as proteínas da quinoa parecem atender ao padrão ideal para a nutrição das crianças. O teor proteico, em base seca, apresenta aproximadamente 14,6 % de proteínas (BELTON; TAYLOR, 2002).

As proteínas, no grão, apresentam-se em grande concentração no embrião, mas também são distribuídas nos demais tecidos. As principais frações de proteínas são as globulinas e albuminas, sendo mais predominantes os grupos 2S albuminas (35 %) e 11S globulinas (37 %) – também chamados de *chenopodin* (BRINEGAR; GOUNDAN, 1992).

Para otimizar o valor proteico da quinoa é necessária a solubilização das proteínas do grão. A solubilidade pode ser influenciada por propriedades físico-químicas intrínsecas e por várias condições da solução, como pH, força iônica e temperatura. No caso das propriedades físico-químicas, destaca-se que as albuminas são solúveis em água e as globulinas são solúveis em soluções salinas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Por essas razões, muitos estudos foram realizados para desenvolvimento de produtos, à base de quinoa, com elevado teor proteico, a partir da combinação dos elementos acima citados. Aluko, Monu (2003) desenvolveram um hidrolisado proteico de quinoa, a partir da hidrólise enzimática e combinação de pH ácidos e básicos, para extração das proteínas. Abugoch *et al.* (2008) desenvolveram isolados proteicos, preparados a partir de sementes de quinoa, por solubilização alcalina (a pH 9, chamado Q9, e a pH 11, denominado P11), seguido de precipitação isoelétrica e secagem por aspersão.

As concentrações de cálcio e de ferro são significativamente maiores, na quinoa, do que no arroz, no milho, no trigo e na aveia (EDWARDS, 2007). Somado a isso, a quinoa é considerada livre de glúten, por não apresentar a fração prolaminica, associada com as respostas imunes inflamatórias em pacientes celíacos (SCALIN; STONE; BUENETT, 2010), representando melhor alternativa de bebida vegetal que a da aveia.

Ademais, segundo Pásko *et al* (2010), o grão da quinoa contém quantidades importantes de fitoquímicos, incluindo: flavonoides, ácidos fenólicos, esqualeno, fitoesterol, saponinas, vitaminas lipossolúveis e outros componentes que podem influenciar positivamente nos parâmetros bioquímicos do organismo. Dini, Tenore, Dini (2010) também destacam a grande variedade de componentes antioxidantes, como os carotenoides, a vitamina C e os flavonoides.

Por seu valor nutricional descrito anteriormente e sua adaptabilidade às diversas condições agroecológicas, o plantio da quinoa está se tornando de crescente interesse mundial (STIKIC *et al*, 2012). Atualmente, os maiores produtores e exportadores de semente de quinoa, no mundo, são a Bolívia e o Peru (MEDINA; SKURTYYS; AGUILERA,

2010), embora já haja disseminação por todo o mundo. Jacobsen (2011 *apud* STIKIC *et al*, 2012) destaca que a produção de quinoa, na Bolívia, no último ano, sofreu um forte aumento, graças à maior demanda, por aumento do consumo mundial.

Na América do Sul, países como Peru, Bolívia, Chile, Equador, Colômbia e Argentina expandiram a produção desse pseudocereal, focando-se em tecnologia avançada e interesse comercial. Este não se limita apenas ao consumo humano, mas também ao lançamento de subprodutos que ofereçam boas alternativas nutricionais para a alimentação animal e para aplicação da quinoa na indústria farmacêutica (MIRANDA *et al*, 2010).

Ressalta-se, porém, que a produção da quinoa não se limita a essas regiões geográficas. Stikic *et al* (2012) destacam que Estados Unidos, Canadá, Índia, Inglaterra, Dinamarca, Grécia, Itália, além de outros países europeus, também são produtores desse pseudocereal. Desde 1975 a quinoa é cultivada nos Estados Unidos e na Europa, por sua capacidade adaptativa às mais diversas condições ambientais e por seu valor proteico (SCALIN; BURNETT, 2010).

Quanto à forma de comercialização da quinoa, esta não se limita apenas ao grão. Atualmente, é possível encontrar, em estabelecimentos comerciais, flocos, farinha, macarrões, pães, *cookies* e barras de cereais, das mais diversas marcas. O emprego da quinoa na indústria alimentícia está muito relacionado ao desenvolvimento de produtos isentos de glúten, principalmente por sua qualidade proteica, que proporciona características tecnológicas e nutricionais importantes para esse tipo de produtos (STIKIC *et al*, 2012). Produtos como: fórmulas infantis à base de cereais, pseudocereais e leguminosas, para crianças celíacas, entre 6 e 24 meses (MEZQUITA *et al*, 2011), massa de *spaghetti* (CHILLO *et al*, 2010), pão fresco (CALDERELLI *et al*, 2010), farinhas para o preparo de pães, bolos e bebidas fermentadas (MEDINA; SKURTYYS; AGUILERA, 2010) têm sido amplamente relatados pela literatura científica.

### 1.5.1 SAPONINAS

As saponinas são glicosídeos, presentes nas plantas, que lhes conferem um sabor amargo e formação de espuma em soluções aquosas (VILCHE; GELY; SANTALLA, 2003). Na quinoa, esses triterpenoides glicosídicos com glicose constituem de 50 ,a 80 % do peso seco e estão presentes no pericarpo (BHARGAVA; SHUKLA; OHRI, 2006).

O teor de saponinas depende da variedade da quinoa, sendo chamada *doce*, a quinoa de menor concentração e, *amarga*, a de maior (SAN MARTIN; NDJOKO; HOSTETTMANN, 2008). Na planta, elas conferem defesa contra pestes e pássaros, por serem o principal fator antinutricional presente na semente (BHARGAVA; SHUKLA; OHRI, 2006).

Para o consumo humano da quinoa, por meio do processamento do grão, é necessária a remoção das saponinas. Tradicionalmente, isso é realizado pela lavagem do grão em água corrente – sendo potencializado sob agitação, ou descascamento do grão, ou por cozimento (BELTON; TAYLOR, 2002). As sementes de quinoa mais comerciais são processadas para remover seu revestimento, por lavagem ou moagem, de modo a eliminar compostos amargos antes do consumo (DINI; TENORE; DINI, 2010).

Assim, frente a sua importância nutricional, a quinoa constitui uma matéria prima a ser utilizada como alternativa às bebidas vegetais, na substituição do leite de vaca, por pessoas que apresentam alguma reação adversa a esse alimento. O desenvolvimento de um novo produto trás novas possibilidades tecnológicas e com destacado valor comercial, tendo em vista a demanda de mercado e as alternativas existentes.

## **2. HIPÓTESES E OBJETIVOS**

### **2.1 HIPÓTESE DA PESQUISA**

A bebida vegetal à base de quinoa terá valor nutricional e características sensoriais comparáveis às do leite de vaca.

### **2.2 OBJETIVOS**

#### **2.2.1 Objetivo geral**

Desenvolver bebida vegetal à base de quinoa real como substituta do leite de vaca.

#### **2.2.2. Objetivos específicos**

- Definir os parâmetros de processo para o desenvolvimento de formulação de bebida à base de quinoa real, como teor de matéria-prima, concentração iônica e binômio tempo/ temperatura para ação enzimática.
- Definir a composição centesimal da bebida à base de quinoa.
- Verificar a aceitabilidade da bebida à base de quinoa.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

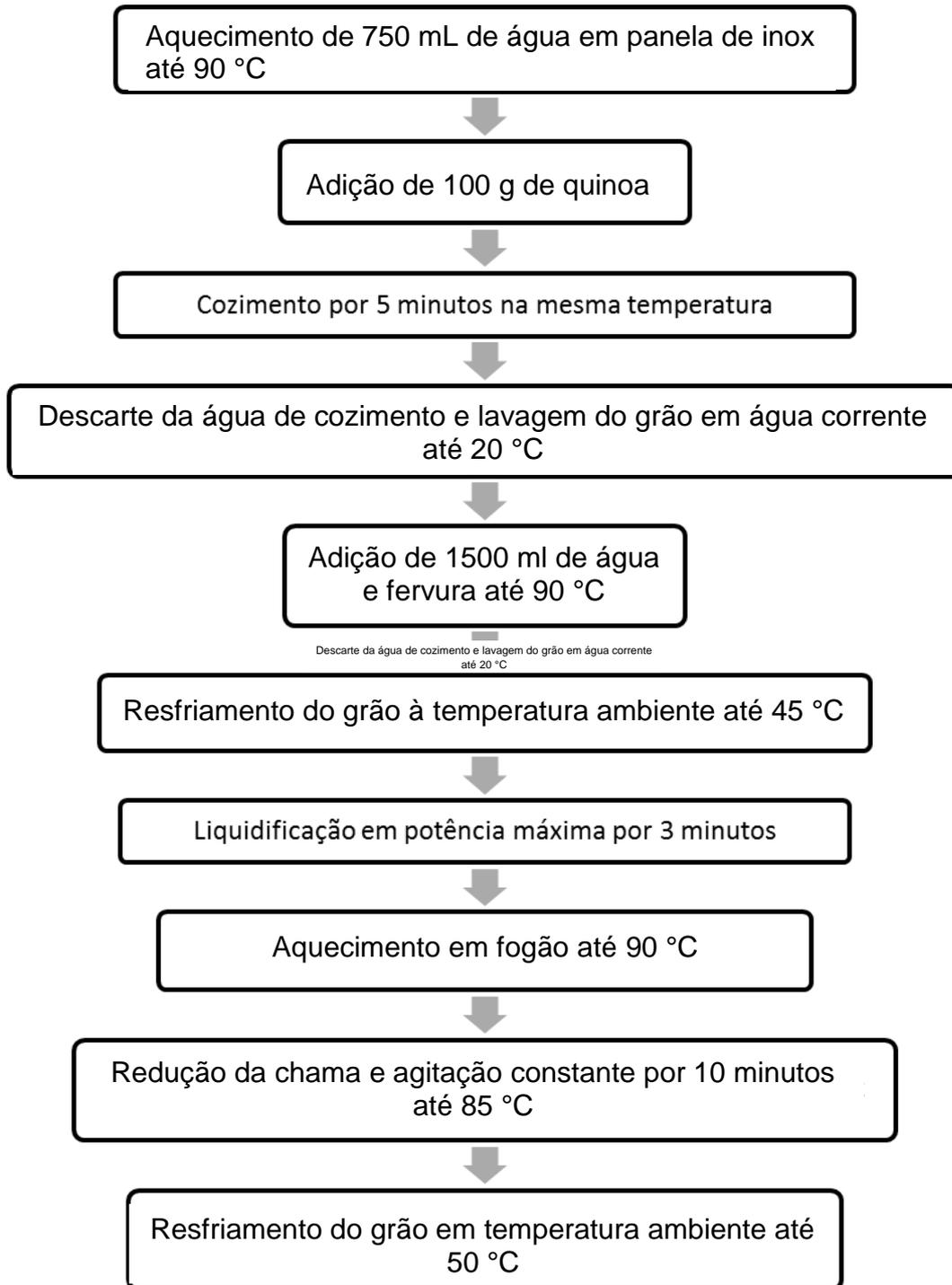
#### 3.1 EXPERIMENTO 1: Pré-testes de processamento de bebida à base de quinoa real

Inicialmente, foram realizados pré-testes para verificar a viabilidade do processamento da bebida de quinoa real, para reprodução caseira, e para observar os aspectos sensoriais de aparência e sabor – que foram avaliados, apenas, pelos pesquisadores. Naquele momento, o objetivo principal era apenas a confecção de uma bebida vegetal. A metodologia foi baseada na de fabricação de extrato de soja, segundo Botelho, Camargo (2008), com adaptações. Os testes foram realizados em janeiro de 2012, no Laboratório de Técnica Dietética, da Universidade de Brasília, e constituíram-se de 3 experimentações descritas a seguir.

##### **3.1.1 Pré-teste 1: Fabricação de bebida de quinoa em panela de inox com 2 tratamentos de filtragem – voal e tecido de algodão com três camadas**

O preparo da bebida foi realizado conforme fluxograma 1. Para a filtragem do produto final foram testados 2 tratamentos. O primeiro consistiu em filtrar a bebida em voal, no qual se obteve um rendimento final de 1180 mL. Nesse tratamento observou-se que a bebida apresentou textura de mingau amolecido e aglomerados de quinoa, mesmo passando pelo processo de liquidificação. Também foi notado aroma e sabor extremamente acentuado de feijão/soja. O resíduo presente no *voal* apresentava muita umidade, o que poderia indicar que parte do valor nutricional não estava na bebida.

O segundo tratamento consistiu em filtrar a bebida em tecido de algodão com três camadas, no qual se obteve um rendimento de 902 mL. Este método foi empregado seguindo a metodologia de fabricação de extrato de soja, de acordo com Botelho, Camargo (2008), com adaptações. O emprego das três camadas consistiu em tentar estabelecer um filtro com mais tramas para evitar a passagem do resíduo e obter uma bebida mais fluida. Entretanto, este método não foi satisfatório, pois apresentou dificuldades de manuseio, de higienização – por acúmulo de resíduo entre as camadas, baixo rendimento e, principalmente, por não atender aos parâmetros de melhoria sensorial da bebida. Esta apresentou textura de mingau, aroma e sabor muito forte de leguminosa.



**Fluxograma 1.** Fabricação da bebida de quinoa em panela de inox

### **3.1.2 Pré-teste 2: Fabricação de bebida de quinoa, em panela de inox, com 2 tratamentos de filtração – voal e tecido de algodão com uma camada**

Para este pré-teste foram mantidos as etapas anteriormente citadas para fabricação (Fluxograma 1), sendo apenas alterado o método de filtração. Testou-se novamente a utilização de *voal*, por ter sido o melhor tratamento no primeiro teste, e a utilização de tecido de algodão com uma camada. Os rendimentos foram de 1250 mL, para o primeiro tratamento, e 1091 mL, para o segundo.

Tendo em vista os resultados de rendimento, sabor, aroma e textura, foi escolhida a filtração utilizando *voal*. Por se tratar de um tecido sintético e de tramas menores, observou-se que o conteúdo final da bebida era mais homogêneo, o material era de mais fácil manuseio e higienização e não sofria deformação nas tramas, possibilitando, assim, a aplicação de mais força para a filtração e maior durabilidade. Somado a isso, o resíduo apresentava-se menos úmido, quando comparado com o do tratamento com tecido de algodão.

### **3.1.3 Pré-teste 3: Fabricação de bebida de quinoa em panela de pressão de inox e teflon, com adição de cloreto de sódio, óleo de girassol e filtração em voal**

O novo teste consistiu na adição de cloreto de sódio e óleo, comumente encontrados na lista de ingredientes de bebidas vegetais, especialmente as de arroz. Nesse teste foi empregado o cozimento em panela de pressão, para aumentar a temperatura de cocção do grão de quinoa e melhorar a gelatinização do amido. Foi testado o emprego de panela de pressão de inox e teflon.

A metodologia seguiu as quatro primeiras etapas descritas no fluxograma 1. Em seguida, o grão foi para cocção em panela de pressão em fogo baixo, com 1500 mL de água, por 30 minutos após iniciar pressão. Após cozimento, o fogo foi desligado e a quinoa resfriada a temperatura ambiente, até atingir 25 °C. Pesou-se 1,% de cloreto de sódio e de óleo de girassol, sobre o peso seco do grão de quinoa, sendo respectivamente 1 g de cada. Posteriormente, a quinoa cozida foi liquidificada, juntamente com o sal e o óleo, em velocidade máxima, por 7 minutos, e recondicionada, na panela, em fogo alto, por 4 minutos, para levantar fervura e atingir 90 °C. Sob agitação constante com colher, em fogo baixo, a bebida foi mexida por 10 minutos até atingir 85 °C. Por fim, a bebida foi

resfriada a temperatura ambiente até 40 °C e filtrada em *voal*. O rendimento final foi de 1047 mL.

A bebida de quinoa fabricada em panela de pressão de inox resultou em um produto final mais homogêneo, com redução de separação de fases, textura mais fluida e paladar mais agradável – com menos sabor de leguminosa. O teste feito em panela de pressão de teflon foi realizado com o objetivo de analisar possíveis mudanças na gelatinização do amido, frente a um novo instrumento. Ao final do processamento, foi observada mudança significativa no grão da quinoa, que apresentava consistência de mingau firme; isso propiciou maior facilidade para liquidificação da bebida e melhora na textura final.

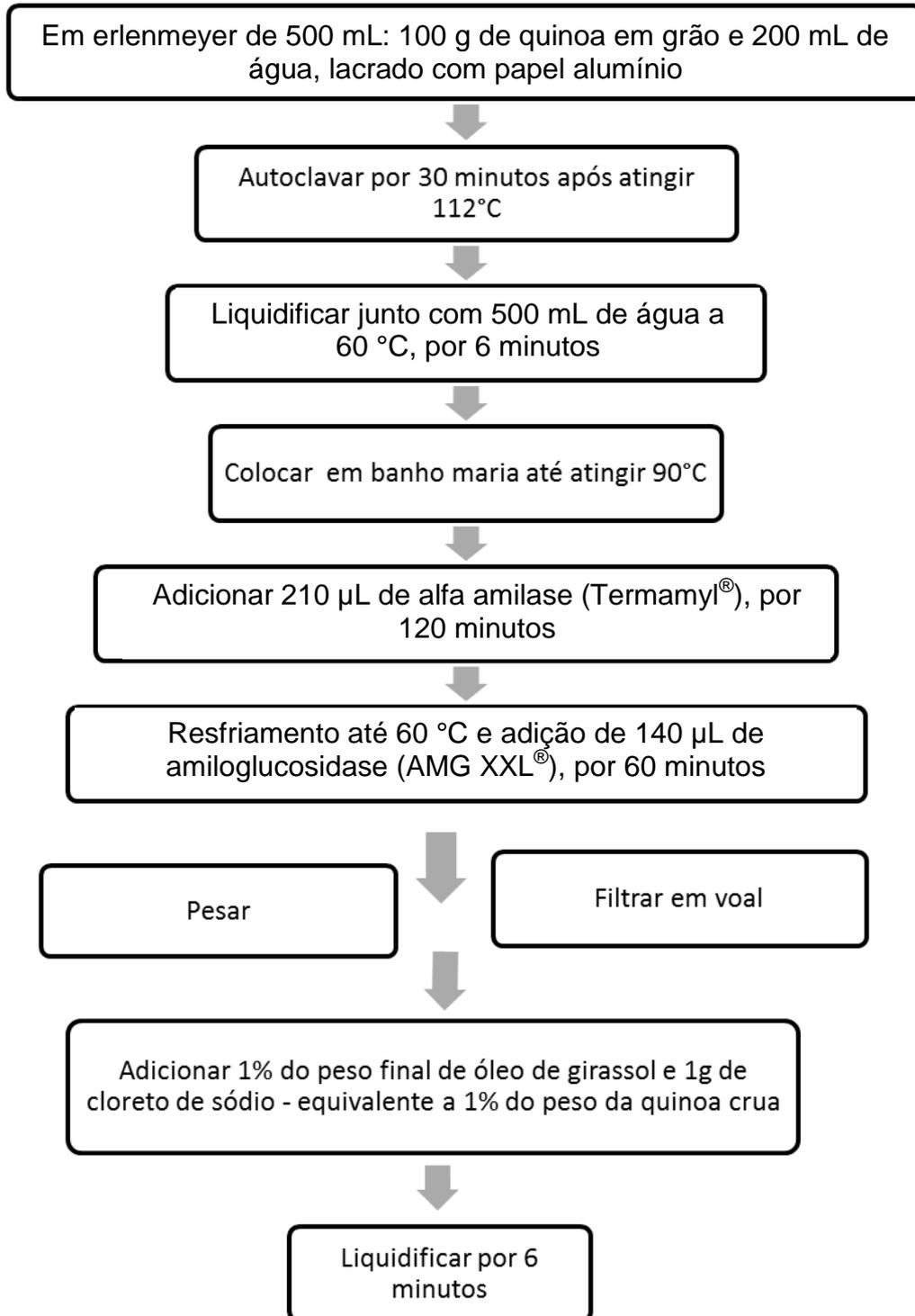
O emprego do cloreto de sódio propiciou uma melhora no paladar, tendo em vista sua utilização como realçador de sabor. A escolha do tipo de óleo foi devida a sua neutralidade de sabor residual, comparada à dos demais óleos, como os de soja, milho e canola. Somado a isso, foi observado em pesquisa de campo que as bebidas vegetais, nacionais e internacionais, utilizam o óleo de girassol – a pesquisa foi realizada pelo pesquisador, em mercado varejista do Distrito Federal e em web sites de empresas produtoras de bebidas vegetais.

### **3.2 FABRICAÇÃO DA BEBIDA À BASE DE QUINOA REAL, UTILIZANDO-SE TRATAMENTO ENZIMÁTICO**

Uma vez que os pré-testes apresentaram muitos vieses para a padronização da fabricação e o produto final não obteve características sensoriais agradáveis, optou-se por desenvolver uma bebida vegetal de quinoa real, utilizando os padrões industriais. Assim, a metodologia foi adaptada de Mitchell, Mitchell (1988), para processamento de leite de arroz, e de Aluko, Monu (2003), para obtenção de concentrado proteico de quinoa. Os testes foram realizados de março a junho de 2012, no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Católica de Brasília.

### **3.2.1 EXPERIMENTO 2: Fabricação de bebida vegetal de quinoa real, utilizando-se cozimento por autoclavagem e tratamento enzimático com alfa-amilase (Termamyl®) e amiloglucosidase (AMG 300®)**

Para testar a nova metodologia, baseada em tratamento enzimático, foi necessária a obtenção de uma pasta aquosa, obtida pela gelatinização da quinoa, e ação enzimática, para verificar as adaptações quantitativas da metodologia. Foi também preciso aperfeiçoar o binômio tempo/temperatura, na cocção do grão. Assim, utilizou-se autoclave, para maximizar a gelatinização da quinoa, no mesmo tempo estabelecido nos pré-testes. A utilização das enzimas foi necessária para obter a liquefação da pasta obtida no cozimento, inicialmente pela alfa-amilase, por meio da sacarificação e, posterior dextrinização, com a glucosidase. O fluxograma 2 mostra as etapas de fabricação da bebida de quinoa. Vale destacar que, após adição de cada uma das enzimas, foi realizada leitura dos sólidos solúveis totais, a cada 30 minutos. Também foi analisado o teor proteico desse tratamento, em triplicata, pelo método de Kjeldahl – utilizando-se a constante 6,25 para o cálculo de conversão do nitrogênio em proteína. O produto final apresentou rendimento de 632,28 mL, sabor suave de amêndoas, odor de semente de girassol, textura homogênea, leve cremosidade e cor amarelo claro.



**Fluxograma 2.** Etapas de fabricação da bebida de quinoa, utilizando-se cozimento por autoclavagem e tratamento enzimático

### **3.2.2 EXPERIMENTO 3: Fabricação de bebida vegetal de quinoa real, utilizando-se cozimento por autoclavagem e tratamento enzimático com alfa-amilase (Fungamyl®) e amiloglucosidase (AMG 300®)**

Neste experimento, foram utilizados os mesmos parâmetros do experimento 2, variando-se apenas o tipo de enzima. O objetivo do teste foi observar a aplicação de outra enzima dextrinizante para se selecionar a de melhor desempenho para fabricação da bebida. Entretanto, a possibilidade de utilização da Fungamyl® foi descartada, uma vez que a textura final da bebida ficou extremamente viscosa – o que não vai ao encontro da textura usualmente encontrada em bebidas vegetais. Como os resultados finais não revelaram melhora no desempenho da metodologia, não foi realizado o teor proteico da bebida.

### **3.2.3 EXPERIMENTO 4: Fabricação de bebida vegetal de quinoa real, utilizando-se grão triturado, cozimento por autoclavagem e tratamento enzimático com alfa-amilase (Termamyl®) e amiloglucosidase (AMG XXL®)**

Esse experimento visou à verificação da melhora da gelatinização do amido em autoclave por meio da utilização do grão triturado. Para isso, triturou-se em moinho 100 g de quinoa em grão até obtenção de uma fina farinha. Para a fabricação da bebida foi mantida a metodologia empregada no experimento 2, com a única variação no tempo de leitura dos sólidos solúveis totais que foram lidos a cada 10 minutos, por 30 minutos de análise.

Com relação a enzima de dextrinização utilizada ao longo do estudos, nota-se que nos experimentos 2 e 3 foram usadas a enzima amilase AMG 300® e, a partir do experimento 4, substituiu-se pela enzima AMG XXL®. Essa mudança deu-se pelo envio de nova amostra pelo fornecedor, tendo em vista a validade do lote e a substituição de tal produto no mercado. Segundo a ficha técnica de ambas as enzimas, a AMG XXL apresenta-se com maior eficiência na degradação do amido e atua nas mesmas condições da AMG 300.

Os testes a seguir foram realizados de janeiro a dezembro de 2013, nos laboratórios de Análise de Alimentos do Núcleo de Medicina Tropical da UnB, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UnB e no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Saúde da UnB.

### **3.2.4 EXPERIMENTO 5: Utilização de solução salina de cloreto de sódio (NaCl) com 0,05 mol/L e escolha da proporção de grão e solução salina de 1:4 ou 1:5 para cozimento em autoclave**

Este experimento visou a aplicação de solução salina para otimizar a solubilidade da proteína e definir qual a melhor proporção de grão de quinoa para solução salina, para cozimento em autoclave. Assim, inicialmente, foi fixado o valor de 0,05 mol/L de solução salina com cloreto de sódio e foram testadas as proporções de 1 parte de quinoa para 4 partes de solução e 1 parte de quinoa para 5 partes de solução. A escolha da melhor proporção foi realizada por análise visual do cozimento da quinoa, realizada pelos pesquisadores.

Primeiramente, foi preparada a solução salina 0,05 mol/L, a partir da equação  $m(g) = MM \times Volume(L) \times Molaridade$ , sendo MM a massa molar do reagente empregado. Em seguida, foi realizado o cozimento da quinoa, em autoclave, com as proporções de 1:4 e 1:5 (quinoa: solução salina), conforme a descrição a seguir:

Em erlenmeyer de 1000 mL colocaram-se 50 g de quinoa em grão, 200 mL e 250 mL de solução salina 0,05 mol/L correspondendo a 1:4 e 1:5 (quinoa: solução salina), respectivamente. Os frascos foram lacrados com papel alumínio, para evitar o aumento da umidade do sistema. A amostra foi autoclavada por 30 minutos, após atingir 112 °C. depois do cozimento, as amostras foram colocadas em placas de Petri, para avaliação da textura e sabor, pelos pesquisadores. Ambas as amostras apresentaram muitos grãos sem cozimento e, por esse motivo, as proporções de 1:4 e 1:5 não foram escolhidas para produção da bebida.

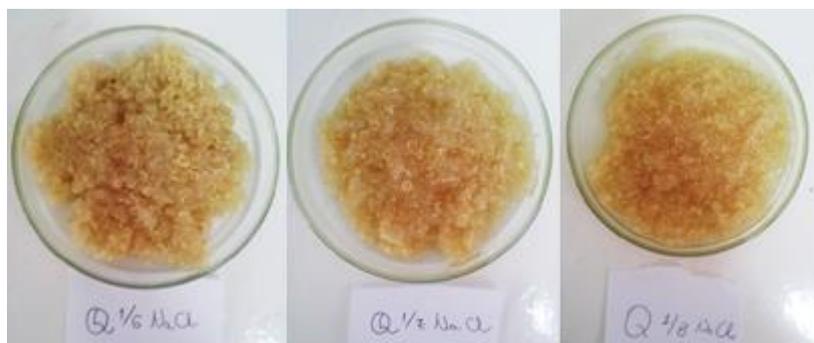


**Figura 2.** Quinoa cozida com solução salina com NaCl 0,05 mol/L, na proporção de 1:4 (grão e solução salina)

### 3.2.5 EXPERIMENTO 6: Utilização de solução salina de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) com 0,05 mol/L e escolha da proporção 1:6, 1:7 ou 1:8 de grão e solução salina para cozimento em autoclave

Tendo em vista os resultados do experimento anterior, foram avaliadas novas proporções de grão e solução salina, para o cozimento da quinoa e consequente gelatinização do amido. Somado a isso, buscou-se agregar a possibilidade de substituição do cloreto de sódio, para melhorar o valor nutritivo da bebida, enriquecendo-a com cálcio, aumentar a solubilidade das proteínas por força iônica e eliminar a adição de sódio.

Foi mantida a metodologia empregada no experimento 5, com as devidas adaptações para as proporções de 1:6, 1:7 e 1:8 (grão: solução salina). A escolha foi realizada por meio de degustação das amostras e avaliação visual do cozimento do grão – Figura 3.



**Figura 3** Quinoa cozida com solução salina com  $\text{CaCl}_2$  0,05 mol/L nas proporções de 1:6, 1:7 e 1:8 (grão e solução salina)

### **3.2.6 EXPERIMENTO 7: Utilização de solução salina de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) com 0,05 mol/L e proporções de grão e solução salina de 1:6 e 1:7 para fabricação da bebida de quinoa**

Foram testadas, em duplicata, as proporções de 1:6 e 1:7 (grão: solução salina) com solução de 0,05 mol/L de cloreto de cálcio, na fabricação da bebida de quinoa, para serem avaliados, pelos pesquisadores, o sabor, a textura e o aroma. Para este experimento, foi utilizada a metodologia de confecção da bebida do experimento 2, sendo apenas substituída a água do cozimento por solução salina, o tipo de sal e a quantidade para cada proporção testada (1:6 e 1:7, grão e solução salina).

### **3.2.7 EXPERIMENTO 8: Efeito da força iônica na composição da bebida à base de quinoa**

Tendo sido estabelecida a proporcionalidade, entre grão e solução salina, de 1:7, e o tipo de sal, foi estudada qual a melhor molaridade para potencializar a solubilidade proteica. Assim, foram testadas as concentrações salinas de 0; 0,03; 0,05 e 0,07 mol/L. As bebidas foram fabricadas em quadruplicata, de acordo com o experimento 2, com as devidas adaptações quanto à molaridade da solução salina para cozimento em autoclave. Foram coletados dados de rendimento, aceitação da bebida – ao final do experimento -, sólidos solúveis totais – a cada 30 minutos - e o teor proteico, em triplicata, pelo método de Kjeldahl – utilizando-se a constante 6,25 para o cálculo de conversão do nitrogênio em proteína.

### **3.2.8 EXPERIMENTO 9: Caracterização física e química da bebida de quinoa com proporção de grão e solução salina de NaCl de 1:7 e 0,03 mol/L**

Após a seleção da molaridade a ser utilizada na fabricação da bebida, foram realizadas 3 repetições do mesmo lote, mantendo-se as etapas de preparo anteriormente descritas. Em seguida, foram analisados o teor de sólidos solúveis totais, o pH, as cinzas totais, a umidade, o teor de lipídeos e de proteínas, e o teor de carboidratos – dado por diferença (BRASIL, 2005).

#### **3.2.8.1 Determinação analítica**

As análises de umidade, sólidos solúveis totais, pH, cinzas, lipídeos e proteínas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

#### **3.2.8.2 Análise de umidade**

A análise de umidade das bebidas foi realizada em dois estágios, primeiro em estufa, a 50 °C, até peso constante, seguido pelos procedimentos gravimétricos da estufa, a 105 °C.

O protocolo utilizado encontra-se no **ANEXO I**.

#### **3.2.8.3 Análise de sólidos solúveis totais**

Para fins de controle de qualidade, o teor de sólidos solúveis totais é, usualmente, o valor obtido com um refratômetro convertido para uma escala de sólidos solúveis, assumindo-se que esses consistem inteiramente de sacarose.

A determinação dos sólidos solúveis, quando feita com o uso de um refratômetro tipo Abbé ou manual, é um excelente exemplo de como devem ser as análises de controle de qualidade. O procedimento completo consiste em misturar e homogeneizar a amostra, colocar uma ou duas gotas da mistura no refratômetro e ler o resultado.

Para produtos que não contêm grande quantidade de sólidos suspensos, os resultados são altamente precisos e muito significativos. Na maioria dos casos, eles refletem a doçura do produto.

O teor de sólidos solúveis totais foi determinado, utilizando-se refratômetro de mesa modelo ABBE®; os resultados foram expressos em °Brix.

O protocolo utilizado encontra-se no **ANEXO II**.

#### **3.2.8.4 pH**

O pH foi determinado, por meio de leitura direta, em pHmetro digital. No procedimento, foi transferido, com, proveta, cerca de 20 mL da amostra, para um béquer de 100 mL, no qual foi feita a determinação direta do pH da amostra (MORETTO *et al*, 2008).

O protocolo utilizado encontra-se no **ANEXO III**.

#### **3.2.8.5 Resíduo mineral fixo**

Para quantificação de resíduo mineral fixo, foi utilizado o método por Incineração, que consiste em colocar as amostras em cadinho de porcelana e levar para mufla, a 600 °C, por 6 horas, seguido de resfriamento em dessecador de vidro. Posteriormente, as amostras foram pesadas. A determinação de cinzas totais foi realizada por método gravimétrico, baseado na perda de massa da amostra, quando submetida ao aquecimento a 600 °C – que representa o teor de matéria orgânica do produto. A diferença entre a massa padrão da amostra e essa perda fornece a quantidade da fração de cinzas presente no produto. As cinzas correspondem ao resíduo mineral que a amostra contém.

O protocolo utilizado encontra-se no **ANEXO IV**.

### **3.2.8.6 Teor de lipídeos**

Para a determinação do teor de lipídeos foi utilizado o aparelho ANKOM Technology Method – Version 1/30/09, pela metodologia de “Rápida Determinação de Óleo/Gordura fazendo a extração de Solvente à Alta Temperatura” (Rapid Determination of Oil/Fat Utilizing Hight Temperature Solvent Extraction).

O protocolo utilizado encontra-se no **ANEXO V**.

### **3.2.8.7 Teor de proteínas**

A análise do teor de proteínas foi realizada por meio do método Kjeldahl (AOAC, 1983). A amostra foi digerida por digestão ácida em bloco digestor, a 450 °C. Em seguida, foram realizadas a destilação do nitrogênio e a posterior titulação com HCl 0,1N até o ponto de viragem.

O protocolo utilizado encontra-se no **ANEXO VI**.

### **3.2.8.8 Teor de carboidratos**

O teor de carboidratos foi determinado por diferença, segundo equação abaixo (BRASIL, 2005):

$$\% \text{ CHO} = 100 - \% \text{PTN} - \% \text{LIP} - \% \text{Cinzas} - \% \text{Umidade}$$

## **3.2.9 EXPERIMENTO 10: Desenvolvimento e análise sensorial de bebida vegetal de quinoa com sabores de baunilha e cacau**

### **3.2.9.1 Fabricação de bebida vegetal de quinoa com sabores de baunilha e cacau**

As bebidas de quinoa foram fabricadas, fixando-se a proporção de quinoa e solução salina de NaCl de 1:7, com 0,03 mol/L. O processamento foi realizado conforme descrito anteriormente e os sabores foram adicionados ao final da preparação, após liquidificação com óleo de girassol. Foram escolhidos para o teste os sabores de baunilha

e cacau (Figura 4). Utilizaram-se aromas artificiais de baunilha e cacau em pó. Cada amostra foi degustada pelos pesquisadores e a considerada de melhor aceitação foi escolhida para o teste de aceitabilidade.



**Figura 4** Bebida de quinoa real elaborada com sabores: natural, cacau e baunilha

### **3.2.9.2 Análise sensorial de bebida vegetal de quinoa com sabores de baunilha e cacau**

Os testes de aceitabilidade das bebidas vegetais de quinoa real foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos, da Faculdade de Saúde, da Universidade de Brasília. As bebidas foram avaliadas sensorialmente por 34 provadores, entre 18 e 50 anos, não treinados (funcionários, estudantes e professores da UnB), que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (ANEXO VII) e preencheram o questionário de recrutamento (ANEXO VIII). No dia do teste de aceitabilidade, os provadores recrutados avaliaram, de maneira aleatória (Figura 5), as bebidas com relação à impressão geral e atributos de aparência, aroma, textura e sabor.



**Figura 5.** Mesa de apoio com copos codificados e aleatorizados por provador

Para o preparo das amostras, foram pipetados 25 mL de amostras cada um dos sabores (natural, baunilha e cacau), em copos de café descartáveis, codificados, à temperatura de 10 °C. As amostras foram entregues, individualmente, junto com um copo de água à temperatura ambiente, um copo vazio para descarte da amostra e um biscoito de água e sal (Figura 6). No momento da avaliação, os provadores observaram as características visuais, colocaram a amostra na boca, sugaram um pouco de ar para interagir com a amostra, resultando na avaliação das características de sabor, aroma e textura. Entre cada amostra, o provador bebia um pouco de água, para lavagem do palato, e comia um pedaço do biscoito, para neutralizar o sabor e remover possível sabor residual.



**Figura 6.** Cabine de análise sensorial equipada com água, copo de descarte, biscoito de água e sal, e fichas para avaliação da aceitabilidade

A quantificação dos atributos sensoriais foi determinada, utilizando-se uma escala não estruturada de 9 cm – ficha sensorial (ANEXO IX), em que as extremidades 0 e 9 representavam *desgostei extremamente* e *gostei extremamente*, respectivamente.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de diferença mínima significativa de Fisher ( $p < 0,05$ ).

### **3.2.10 EXPERIMENTO 11: Estudo da necessidade de adição de água para liquidificação no preparo da bebida de quinoa com teste de remoção das saponinas e alteração do pH para estudo inicial da solubilidade das proteínas**

O teste a seguir foi realizado, objetivando-se, primeiramente, reduzir a água de adição para liquidificar a quinoa autoclavada, para, assim, melhorar a textura da bebida; verificar se a alteração de pH modifica a solubilidade das proteínas e o sabor e confirmar se o pré-tratamento com molho para remoção das saponinas é efetivo para auxiliar no teor proteico. Foram utilizados os trabalhos de Chauhan; Eskin; Tkachuk (1992) – para a determinação do tempo de 6 horas para o molho das saponinas, em temperatura ambiente, nas proporções de 1 parte de quinoa em grão para 10 partes de água – e Brinegar; Goundan (1993) – para a escolha do pH 5 para melhor solubilização das globulinas da quinoa. Dessa forma, foram realizados 7 tratamentos descritos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Tratamentos para melhorar a solubilidade das proteínas na bebida de quinoa

<b>Amostras</b>	<b>Tratamentos</b>
1	Pré-tratamento de molho para remoção das saponinas por 6 horas + remoção de água para liquidificação
2	Pré-tratamento de molho para remoção das saponinas por 6 horas + adição da metade da quantidade de água para liquidificação
3	Pré-tratamento de molho para remoção das saponinas por 6 horas + adição de 1/4 da quantidade de água para liquidificação
4	Adição de solução salina com pH 5 para cozimento em autoclave + tratamento 1
5	Adição de solução salina com pH 5 para cozimento em autoclave + tratamento 2
6	Adição de solução salina com pH 5 para cozimento em autoclave + tratamento 3
7	Pré-tratamento de molho para remoção das saponinas por 17 horas + remoção de água para liquidificação

As bebidas foram fabricadas, fixando-se a proporção de quinoa e solução salina de NaCl em 1:7 e 0,03 mol/L e seguindo as etapas do experimento 2 – com as adaptações de cada um dos tratamentos descritos e utilizando-se a solução salina para cozimento. Finalizado o tempo do molho para remoção das saponinas, a quinoa foi filtrada em voal e a água do molho descartada. Em seguida, foi adicionada a solução salina ao grão e corrigido o pH, com ácido cítrico, em pHmetro digital, de acordo com cada tratamento. A Figura 7 ilustra o processamento descrito.

O teor de proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl, para escolha do melhor tratamento e para ser dada continuidade ao estudo. Como não houve diferença entre o pré-tratamento com 17 ou 6 horas, optou-se em fazer o molho para remoção das saponinas por período *over night*, por 17 horas de remolho.



**Figura 7.** Filtração do grão da quinoa em voal para remoção das saponinas (esquerda) e correção da acidez com ácido cítrico (direita)

### **3.2.11 EXPERIMENTO 12: Avaliação da solubilidade da proteína com pH 5, pré-tratamento com remoção de saponinas e maceração**

A nova etapa do delineamento experimental foi dada a partir de esquema fatorial 2x2x2, envolvendo: acidificação da solução salina para pH 5 e não alteração do pH; pré-tratamento com molho *over night* para remoção de saponinas e sem pré-tratamento; e com ou sem maceração, totalizando 8 unidades experimentais. A Figura 8 ilustra as amostras tratadas com pré-tratamento (esquerda), com destaque para a presença de espumas característica das saponinas, e as amostras que sofreram acidificação com ácido cítrico (direita). O teste foi elaborado fixando-se a proporção de quinoa e solução salina de NaCl em 1:7 com molaridades de 0,03 mol/L e seguindo as etapas do experimento anterior. As amostras foram avaliadas, em triplicata, quanto ao teor proteico, pelo método de Kjeldahl.



**Figura 8.** Amostras tratadas com pré-tratamento (esquerda), com destaque para a presença de espumas característica das saponinas e amostras que sofreram acidificação com ácido cítrico (direita)

### 3.2.12 EXPERIMENTO 13: Otimização da solubilidade das proteínas da bebida de quinoa, de acordo com o Delineamento Composto Centralizado Rotacional (DCCR)

Nesse estudo foram simulados dados de experimentos planejados segundo o fatorial completo e o delineamento composto central rotacional, para estudar a variável resposta Y, sendo, nesse caso, o teor proteico, modelada por uma superfície de resposta de segunda ordem com dois fatores A e B, pH e concentração salina, respectivamente. Os tratamentos tiveram como base o delineamento composto central rotacional, cuja codificação -1,41; -1; 0; 1; 1,41 estabeleceu a combinação entre as variáveis naturais, totalizando 8 tratamentos e 2 repetições do ponto central, como pode ser observado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Delineamento experimental para duas variáveis e três níveis, e seus valores codificados e reais

Tratamentos	Variáveis Combinadas		Variáveis Codificadas	
	pH	Concentração Salina	1	2
1	4	0,009	-1,00	-1,00
2	6	0,009	1,00	-1,00
3	4	0,051	-1,00	1,00
4	6	0,051	1,00	1,00
5	4	0,03	-1,41	0,00
6	6	0,03	1,41	0,00
7	5	0	0,00	-1,41
8	5	0,06	0,00	1,41
9	5	0,03	0,00	0,00
10	5	0,03	0,00	0,00

As bebidas foram fabricadas, respeitando-se a exigência de cada tratamento, porém todas foram submetidas ao pré-tratamento de molho *over night* para remoção das saponinas. Finalizado o procedimento, as bebidas foram analisadas quanto ao teor proteico e à aceitabilidade, para verificar se alguma amostra apresentava boa aceitação e bom valor proteico.

### 3.2.13 EXPERIMENTO 14: Análise sensorial das bebidas fabricadas de acordo com o Delineamento Composto Centralizado Rotacional (DCCR)

Os tratamentos delineados no experimento anterior, com sabor natural, foram submetidos à análise sensorial para avaliação da aceitabilidade. O teste foi realizado com 50 provadores no mês de outubro, em 2 encontros, no Laboratório de Análise Sensorial, da Faculdade de Saúde, da Universidade de Brasília. Os voluntários foram convidados a participar da pesquisa, degustando 5 amostras, no primeiro encontro, e 6, no segundo.

Cada participante recebeu em sua cabine as amostras – apresentadas aleatorizadas, uma por vez, um copo com água, um copo vazio para descarte – para o caso de alguma amostra lhe gerar desconforto – e um biscoito de água e sal. Além disso, todos os voluntários assinaram o TCLE (ANEXO X), preencheram o questionário de recrutamento (ANEXO VIII) e a ficha de avaliação sensorial (ANEXO XI), que avaliava o produto quanto à aceitação global, aparência, aroma e sabor. A quantificação dos atributos sensoriais foi determinada, utilizando-se uma escala não estruturada de 9 cm, em que as extremidades 0 e 9 representavam *desgostei extremamente* e *gostei extremamente*, respectivamente.

As bebidas de quinoa que tiveram melhor aceitação foram comparadas com as bebidas vegetais, industrializadas, de soja e de arroz, mais facilmente encontradas no mercado varejista de Brasília.

#### **3.2.14 EXPERIMENTO 15: Análise sensorial dos melhores tratamentos do experimento anterior, comparados com as bebidas vegetais industrializadas de soja e arroz**

Este experimento foi realizado em novembro, no mesmo local dos demais testes de aceitação, e contou com 160 participantes. Foram avaliados os critérios de aceitação global, aparência, aroma e sabor de 4 amostras de bebidas vegetais, sendo 2 bebidas de quinoa com proporção de 1:7 (grão: solução salina de NaCl), molaridade de 0,03 mol/L e pH 4 e 5; 1 bebida de soja, sem adição de açúcar, e 1 bebida de arroz. Optou-se pela bebida de soja sem açúcar, pois as demais amostras não apresentam açúcar adicional na composição, sendo a bebida de arroz fabricada por processamento enzimático, assim como as de quinoa. As cabines foram montadas, respeitando-se os critérios estabelecidos nos testes de aceitação anteriores e o TCLE (ANEXO VII), o questionário de recrutamento (ANEXO VIII) e a ficha de análise sensorial (ANEXO IX) foram devidamente preenchidas, respeitando-se as adaptações cabíveis para esse experimento.

### **3.2.15 EXPERIMENTO 16: análises dos teores de proteína e sódio das bebidas de quinoa com proporção de grão e solução salina com NaCl de 1:7, molaridade de 0,03 mol/L e diferentes pH**

Esse experimento visou a analisar os teores de proteínas e sódio das bebidas de quinoa que foram utilizadas no experimento anterior. Foram fabricadas 3 repetições de cada bebida de quinoa, para serem analisadas, em triplicata.

## **4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância e resultados significativos foram analisados pelo teste de comparação de médias de Fisher ( $p < 0,05$ ) usando-se o programa estatístico XLSTAT 2010 – para verificação das diferenças estatísticas entre os resultados.

Os tratamentos com o DCCR foram realizados no programa SigmaXL.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Fabricação da bebida à base de quinoa real, utilizando-se tratamento enzimático

A metodologia empregada na fabricação da bebida à base de quinoa teve como embasamento os trabalhos de Mitchell, Mitchell (1988) e de Aluko, Monu (2003). Em ambos os estudos observou-se o emprego de enzimas no processo de hidrólise, tanto em carboidratos, como em proteínas. Assim, inicialmente, para o estudo da fabricação da bebida de quinoa, foi fixado o tempo e a quantidade de enzimas e adicionou-se o cloreto de sódio ao final da preparação.

Dessa forma, foi realizada a fabricação da bebida e após adição de cada uma das enzimas foi realizada leitura dos sólidos solúveis totais, a cada 30 minutos. Foi empregado esse intervalo para acompanhar o grau de hidrólise do produto, tendo em vista o aumento do teor de dulçor.

A Tabela 3 mostra a variação do teor de sólidos solúveis totais, ao longo do processamento. O aumento gradativo dos sólidos solúveis totais confirma a ação enzimática.

**Tabela 3.** Teor de sólidos solúveis totais de bebida de quinoa fabricada com tratamento enzimático de alfa-amilase (Termamyl®) e amiloglucosidase (AMG 300®)

Enzimas	Tempo (minutos)				
	0	30	60	90	120
Termamyl®	8 °Brix	8 °Brix	8 °Brix	8 °Brix	9 °Brix
AMG 300®	9 °Brix	9 °Brix	9,5 °Brix	-	-

Como pode ser observado na Tabela 4, a maior parte da proteína presente no grão estava no resíduo (6,99 %). Esse resultado pode ter ocorrido pelo emprego do cloreto de sódio na etapa final do preparo, desempenhando apenas função de realçador de sabor. Destaca-se que o teor proteico encontrado na matéria prima, 9,52 %, foi inferior aos encontrados na literatura, de 11,3 % a 16,1 % (MIRANDA *et al.*, 2012). Esse resultado pode ter ocorrido por causa da variação de nutrientes da matéria prima, em função das condições de plantio e colheita.

**Tabela 4.** Média de proteína no grão e na bebida de quinoa, utilizando tratamento-se enzimático e adição de 1 % e cloreto de sódio e óleo de girassol

<b>Amostra</b>	<b>Proteína (%)</b>
<b>Bebida</b>	0,49 ± 0,0
<b>Resíduo</b>	6,99 ± 0,7
<b>Grão</b>	9,52 ± 0,5

Quanto às características de textura, observadas nos experimentos 2 e 3, foi notado que a diferença na cremosidade estava relacionada à diferença no tipo de enzima utilizada para sacarificação. A enzima Termamyl® é uma alfa-amilase, produzida a partir de *Bacillus licheniformis*, e a enzima Fungamyl® é uma alfa-amilase fúngica, empregada, segundo indicações do fabricante, no processo de panificação. Optou-se por testar esta última, pois a bebida de arroz desenvolvida por Mitchell & Mitchell (1988) empregava alfa-amilase fúngica.

Entretanto, a possibilidade de utilização da Fungamyl® foi descartada, uma vez que não foi observada variação de sólidos solúveis totais ao longo de sua ação (Tabela 5), e a textura final da bebida ficou extremamente viscosa.

**Tabela 5.** Teor de sólidos solúveis totais de bebida de quinoa, fabricada com tratamento enzimático de alfa-amilase (Fungamyl®) e amiloglucosidase (AMG 300®)

<b>Enzimas</b>	<b>Tempo (minutos)</b>				
	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90</b>	<b>120</b>
<b>Fungamyl®</b>	8° Brix	8° Brix	8° Brix	8° Brix	8° Brix
<b>AMG 300®</b>	8° Brix	9° Brix	9° Brix	-	-

Estabelecidas às enzimas a serem utilizadas, voltou-se novamente o foco para o aprimoramento da solubilidade proteica. Assim, foi utilizada a quinoa triturada no, experimento 4, com o objetivo de aumentar a superfície de contato do embrião – área de maior concentração proteica. Os estudos (CHAUHAN; ESKIN; MILLS,1999; CHAUHAN; CUI; ESKIN,1999; KOZIOL, 1992) vistos até então utilizaram sempre a farinha do grão, para depois efetivar o processamento do produto.

Para observação da hidrólise das enzimas foi realizada leitura dos sólidos solúveis totais, a cada 10 minutos, por 30 minutos de análise, conforme tabela abaixo (Tabela 6). Nota-se um aumento relevante quando se compara aos resultados do experimento anterior.

**Tabela 6.** Teor de sólidos solúveis totais de bebida de quinoa, fabricada com farinha de quinoa e tratamento enzimático com alfa-amilase (Termamyl®) e amiloglicosidase (AMG XXL®)

Enzimas	Tempo (minutos)			
	0	10	20	30
Termamyl®	7 °Brix	7,5 °Brix	8 °Brix	8 °Brix
AMG XXL®	8 °Brix	8 °Brix	10 °Brix	11 °Brix

Entretanto, foi observada a sedimentação da farinha de quinoa, no frasco, após o cozimento, o que causou uma gelatinização não homogênea da amostra, tendo em vista que a dispersão dos grãos no béquer gerou diferentes graus de cozimento, como mostra a Figura 9. Os resultados foram a compactação da maioria da farinha, no fundo, e o centro muito aquoso. Apesar disso, o experimento seguiu até a fase final.

A bebida teve rendimento de 683,85 mL, coloração acinzentada, sabor salgado e textura bem líquida. O experimento demonstrou que essa metodologia não atendeu ao aprimoramento da técnica de fabricação da bebida de quinoa, sendo o produto final de baixa aceitação. Por essas razões, não foi realizada a análise do teor proteico da bebida.



**Figura 9.** Quinoa em grão triturada e autoclavada (esquerda) e vista superior do béquer (direita)

No experimento 5 foi avaliada a adição de solução salina de NaCl 0,05 mol/L ao grão para cozimento. Essa mudança na metodologia deu-se com o aprimoramento do estudo da solubilização das proteínas majoritárias da quinoa – albuminas e globulinas (BRINEGAR; GOUDAN, 1983; CHAUHAN; ESKIN; MILLS, 1999; CHAUHAN; CUI; ESKIN, 1999). Uma vez que a primeira é solúvel em água e até aquele momento não foi observada melhoria no teor de proteínas da bebida, investiu-se na otimização da solubilidade das globulinas – solúveis em soluções salinas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Sabendo da necessidade do emprego de solução salina para solubilização das globulinas, buscou-se escolher um cloreto que agregasse maior valor nutricional à bebida. A partir dos estudos de Koziol (1990), Chauhan, Eskin, Tkachuk (1992), Ruales, Nair (1993), de quantificação do teor de cálcio na quinoa, variando entre 87 mg/100g e 110 mg/100g, foi observada a necessidade de suplementação deste mineral. Como não foi encontrada na literatura menção do emprego de  $\text{CaCl}_2$  na solubilização das proteínas da quinoa, nem de qualquer produto que utilizasse essa matéria prima, utilizou-se a mesma molaridade empregada para NaCl.

Assim, no Experimento 6, testaram-se as proporções de quinoa e solução salina de 1:6, 1:7 e 1:8. As proporções de 1:6 e 1:7 (grão: solução salina) foram escolhidas para teste com a fabricação da bebida, por apresentarem melhor consistência do grão e paladar mais agradável. A proporção de 1:8 (grão: solução salina) foi descartada, pois os grãos apresentavam demasiado amolecimento, demonstrando cozimento excessivo, o que poderia também estar relacionado a uma possível perda proteica por desnaturação, tendo em vista a grande quantidade de água formada. Tabela 7 mostra o peso final de cada amostra.

**Tabela 7.** Comparação de cozimento das diversas proporções de quinoa e solução salina com cloreto de cálcio

<b>Proporção</b>	<b>Peso quinoa grão (g)</b>	<b>Solução <math>\text{CaCl}_2</math> 0,05 mol/L (mL)</b>	<b>Peso pós cozimento em autoclave (g)</b>
<b>1:6</b>	50	300	337,13
<b>1:7</b>	50	350	387,34
<b>1:8</b>	50	400	429,92

Hipoteticamente, a utilização de cloreto de cálcio atenderia aos quesitos de: suplementação de cálcio na bebida, redução do teor de sódio e solubilidade das globulinas. Entretanto, observou-se, no experimento 7, que seu emprego era limitante, uma vez que a bebida apresentou gosto e aroma fortes de gramínea, apesar do gosto doce proveniente da hidrólise do amido pelo tratamento enzimático. Além disso, houve redução do teor de sólidos solúveis totais – como pode ser observado na Tabela 8.

Assim, excluiu-se a possibilidade de utilização desse tipo de sal na fabricação da bebida. Quanto à proporção de grão para solução salina, foi escolhida a de 1:7 por apresentar melhor rendimento e textura mais líquida, quando comparada à da proporção de 1:6.

**Tabela 8.** Média de rendimento e sólidos solúveis totais da bebida de quinoa, fabricada com solução salina de  $\text{CaCl}_2$  em diferentes proporções

Amostra	Rendimento (mL)	Sólidos solúveis totais (°Brix)					
		Termamyl				AMG XXL	
		Tempo (minutos)					
		30	60	90	120	30	60
1:6	402,24	6,9	6,9	6,8	7	7	7
1:7	448,26	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,95

Concentrando-se o delineamento da pesquisa no estudo da força iônica para melhoria do teor proteico, ampliou-se a margem da molaridade empregada na fabricação da bebida à base de quinoa. Foram utilizadas concentrações de 0; 0,03; 0,05 e 0,07 mol/L. As molaridades de 0 e 0,07 foram escolhidas como extremidades mínima e máxima para o emprego da solução salina de NaCl (Experimento 8). Porém, os estudos acima citados extrapolaram o limite máximo estabelecido neste trabalho, além de utilizarem soluções não aquosas para o preparo dos concentrados proteicos.

Como se observa na Tabela 9, não houve diferença estatística das médias das proteínas entre as amostras. Quanto ao teor de sólidos solúveis totais, a amostra com 0,07 mol/L apresentou maior concentração, apesar de sensorialmente ser extremamente salgada. Vale ressaltar que, comparado com o do experimento inicial, houve uma melhora

do teor proteico da bebida com o aprimoramento da metodologia, 0,49 g/100g e 0,79 g/100g, respectivamente.

Quanto à análise sensorial, foi observado pelos pesquisadores que: a amostra com 0 mol/L obteve sabor extremamente doce, tornando a bebida muito enjoativa; não foi observada diferença no paladar entre as amostras 0,03 e 0,05 mol/L, sendo moderadamente doce; e a amostra com 0,07 mol/L apresentou paladar extremamente salgado e amargo. Assim, como as amostras com 0 mol/L e 0,07 mol/L apresentaram sabores extremos, elas foram excluídas do estudo. As amostras com 0,03 mol/L e 0,05 mol/L não apresentaram diferença no paladar, nem no valor proteico. Assim, foi escolhida a amostra de 0,03 mol/L para dar continuidade à pesquisa.

**Tabela 9.** Média de rendimento, proteínas e sólidos solúveis totais das bebidas de quinoa, fabricadas na proporção de grão e solução salina de NaCl de 1:7 em diferentes molaridades

Amostra (mol/L)	Rendimento (mL)	Proteínas (g)	Sólidos solúveis totais (°Brix)					
			Termamyl				AMG XXL	
			Tempo (minutos)					
			30	60	90	120	30	60
<b>0</b>	457,06 ± 5,6	0,79 <sup>A</sup> ± 0,0	6,6	6,6	6,6	6,6	6,7	6,7
<b>0,03</b>	471,43 ± 4,9	0,75 <sup>A</sup> ± 0,0	6,6	6,7	6,6	6,7	6,8	6,8
<b>0,05</b>	469,36 ± 13,2	0,72 <sup>A</sup> ± 0,1	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,8
<b>0,07</b>	456,27 ± 13,7	0,76 <sup>A</sup> ± 0,0	6,8	7,0	7,0	7,0	7,2	7,2

Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Fisher.

A partir da seleção da bebida de quinoa, com proporção de grão e solução salina de NaCl de 1:7 e 0,03 mol/L, fez-se a caracterização físico-química Experimento 9, conforme Tabela 10. Foram analisados o teor de sólidos solúveis totais, o pH, as cinzas totais, a umidade, o teor de lipídeos e proteínas e o valor de carboidratos – dado por diferença. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados representam a média dos valores encontrados.

**Tabela 10.** Composição centesimal da bebida de quinoa na proporção de 1:7 (grão: solução salina de NaCl) e com 0,03 mol/ L

<b>Amostras</b>	<b>Bebida de quinoa 1:7 e 0,03 mol/ L</b>
<b>pH</b>	6,4 ± 0,3
<b>Sólidos solúveis totais (°Brix)</b>	6,3 ± 0,3
<b>Proteínas (g)</b>	0,82 ± 0,0
<b>Lipídeos (g)</b>	0,84 ± 0,0
<b>Cinzas (g)</b>	0,10 ± 0,1
<b>Umidade (%)</b>	92,3 ± 0,2
<b>Carboidratos (g)</b>	5,91 ± 0,2

Dessa forma, a bebida de quinoa foi caracterizada com: pH alcalino, igual ao encontrado em bebida de arroz saborizada (FACCIN *et al.*, 2009); o teor de sólidos solúveis totais foi menor, quando comparado com o das bebidas preparadas com as metodologias inicialmente utilizadas, e menor do que o encontrado em bebida mista de arroz e soja (JAEKEL; RODRIGUES; SILVA, 2010); o teor de proteínas foi maior do que o encontrado no experimento anterior (0,75g) – isso pode ter ocorrido em função de variação de nutrientes na matéria prima, uma vez que as condições de análise foram as mesmas; baixo teor de lipídeos, cinzas e carboidratos; elevado percentual de umidade. Um dos motivos para o baixo valor nutricional da bebida pode estar relacionado ao grau de diluição, pela elevada quantidade de água.

Sabendo-se da composição centesimal, foi realizado teste sensorial para averiguar a aceitabilidade do produto, experimento 10. Tendo em vista que se trata de um produto não usual para a maioria das pessoas, optou-se por saborizar a bebida de quinoa com baunilha e com cacau, mantendo também o sabor natural. O aroma de baunilha foi escolhido para observar a similaridade com a bebida vegetal à base de soja. O cacau, por ser um ingrediente popularmente utilizado na composição de bebidas sabor chocolate. E o natural, para verificar a aceitação do produto com sua composição original.

As Tabelas 11 e 12 trazem a concentração de aroma e de cacau, para a determinação do sabor. As quantidades adicionadas, de 1 % e 2 %, de aroma de baunilha, em relação à quantidade de bebida, apresentaram grau de intensidade fraca, com baixa identificação do sabor baunilha. Entretanto, a quantidade de 4 % apresentou forte intensidade de sabor. Desse modo, o tratamento escolhido foi o com 3 % de aroma

adicionado, que apresentou sabor mais agradável ao paladar. Assim, estabeleceu-se a proporção de 28,40 mL de bebida para 750 µL de aroma.

**Tabela 11.** Concentrações de aromas e bebidas de quinoa para determinação do sabor de baunilha

<b>Quantidade de bebida (mL)</b>	<b>Quantidade de aroma (µL)</b>
<b>26,40</b>	264 (1%)
<b>28,51</b>	570 (2%)
<b>28,40</b>	852 (3%)
<b>25,00</b>	1000 (4%)

Os valores de intensidade do sabor, a respeito da adição de cacau, são descritos na Tabela 12. De acordo com os dados apresentados, pode-se inferir que quantidades de adição de cacau acima de 2 %, em relação à amostra de referência de bebida vegetal, apresentam intensidade de sabor forte, com elevação dessa percepção ante seu aumento gradual. O valor de 1,5 % de adição foi selecionado para o encaminhamento à aceitabilidade com o público em geral, pois apresentou intensidade média, quando comparada com a dos demais tratamentos.

**Tabela 12.** Concentrações de cacau e bebida de quinoa para determinação do sabor de cacau

<b>Quantidade de bebida (mL)</b>	<b>Quantidade de cacau (%)</b>
<b>26,78</b>	1
<b>24,61</b>	1,5
<b>25,48</b>	2
<b>26,15</b>	2,5
<b>27,87</b>	5
<b>24,45</b>	10

Na Tabela 13 estão descritos os resultados referentes à aceitabilidade da bebida de quinoa real com diferentes sabores. Pode-se observar que a bebida elaborada com aroma artificial de baunilha apresentou maior aceitabilidade, quanto aos aspectos de

avaliação global, sabor e aroma, frente aos demais tratamentos. No entanto, no que tange ao aspecto de aparência, o público avaliador preferiu a formulação natural. Não foi observada diferença estatística nas amostras natural e com cacau, quanto à avaliação global, sabor e aroma. Vale ressaltar que, apesar das diferenças descritas, todas as amostras tiveram média de aceitação ruim ou indiferente pela escala hedônica de 9 pontos.

**Tabela 13.** Aceitabilidade da bebida vegetal de quinoa natural em comparação aos adicionados de aroma de baunilha e cacau

Sabores	Avaliação global	Sabor	Aroma	Aparência
Baunilha	5,00 <sup>a</sup>	4,89 <sup>a</sup>	6,09 <sup>a</sup>	4,45 <sup>b</sup>
Natural	3,49 <sup>b</sup>	3,03 <sup>b</sup>	4,05 <sup>b</sup>	5,44 <sup>a</sup>
Cacau	3,45 <sup>b</sup>	3,28 <sup>b</sup>	3,60 <sup>b</sup>	4,03 <sup>b</sup>

Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Fisher

Com os baixos resultados da aceitabilidade da bebida e o alto grau de diluição dos nutrientes, foi realizado novo experimento para aperfeiçoar a metodologia. Assim, foram delineados 7 tratamentos, visando à melhora do teor proteico e à redução do sabor amargo pela remoção das saponinas – Experimento 11.

A Tabela 14 mostra que as médias de proteínas dos tratamentos 1 (remoção da água para liquidificação, antes do tratamento enzimático), 4 (adição de solução salina com pH 5. para cozimento em autoclave e remoção da água para liquidificação. antes do tratamento enzimático) e 7 (pré-tratamento de molho para remoção das saponinas por 17 horas e remoção da água para liquidificação. antes do tratamento enzimático) obtiveram as melhores médias de proteínas. Ou seja, é efetiva a otimização do valor proteico pela remoção das saponinas e o tempo de extração dessas não interfere na solubilização das proteínas.

Vale destacar o progresso quanto ao teor de proteínas encontrado nas amostras citadas anteriormente, tendo em vista que o primeiro experimento da pesquisa obteve 0,49%. A remoção de saponinas aumenta a eficiência proteica e reduz as propriedades de formação de espuma (CHAUHAN; ESKIN; MILLS, 1999; CHAUHAN; CUI; ESKIN, 1999).

**Tabela 14.** Média dos teores proteicos das bebidas de quinoa, fabricadas com molho para remoção das saponinas e alteração de pH

<b>Amostras</b>	<b>Teor proteico (%)</b>
<b>1</b>	1,23 <sup>a</sup> ± 0,03
<b>2</b>	1,06 <sup>b</sup> ± 0,02
<b>3</b>	1,09 <sup>b</sup> ± 0,06
<b>4</b>	1,24 <sup>a</sup> ± 0,03
<b>5</b>	0,89 <sup>c</sup> ± 0,02
<b>6</b>	1,14 <sup>ab</sup> ± 0,01
<b>7</b>	1,24 <sup>a</sup> ± 0,16

Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Fisher.

Para confirmar os resultados obtidos no experimento descrito anteriormente, foi realizado novo teste com cada um dos parâmetros utilizados e com as possíveis combinações – Experimento 12. A Tabela 15 apresenta os valores médios de proteína encontrados em cada tratamento. De acordo com os dados, pode-se inferir que o tratamento CS, CA (com remolho para remoção de saponinas e solução salina acidificada para pH 5) apresentou maior concentração de proteína, 1,72 %. O segundo tratamento de melhor teor proteico é o CA (solução salina acidificada para pH 5) com 1,16 %. Desse modo, percebe-se que a acidificação do meio interfere positivamente na solubilização das proteínas da bebida. Entretanto, deve-se ressaltar que a remoção das saponinas de modo isolado (CS) não representa fator determinante no valor proteico. De acordo com a literatura, meios com pH mais baixo ( $< \text{pH}6$ ) apresentam maior solubilidade de proteínas por causa do excesso de cargas positivas que causam repulsão das moléculas (SGARBIERI, 1996).

Observa-se, assim, que a amostra que foi submetida ao pré-tratamento com molho para remoção das saponinas e sofreu acidificação apresentou o melhor teor proteico, sendo escolhida para dar continuidade ao estudo.

**Tabela 15.** Teor proteico das amostras analisadas com alterações de pH, saponinas e maceração

Tratamentos	Teor proteico (%)
Ø	0,80 <sup>cd</sup> ± 0,01
CA	1,16 <sup>b</sup> ± 0,51
CM	0,73 <sup>d</sup> ± 0,06
CS	0,84 <sup>cd</sup> ± 0,0
CM, CA	0,82 <sup>cd</sup> ± 0,01
CS, CA	1,72 <sup>a</sup> ± 0,01
CS, CM	0,99 <sup>bc</sup> ± 0,04
CS, CM, CA	0,79 <sup>cd</sup> ± 0,01

Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Fisher.

Ø: sem remolho para remoção de saponinas, sem acidificação e sem maceração;

CA: solução salina acidificada para pH 5;

CM: com maceração;

CS: com remolho para remoção de saponinas;

CM, CA: com maceração e solução salina acidificada para pH 5;

CS, CA: com remolho para remoção de saponinas e solução salina acidificada para pH 5;

CS, CM: com remolho para remoção de saponinas e maceração;

CS, CM, CA: com remolho para remoção de saponinas, maceração e solução salina acidificada para pH 5.

## 5.2 Otimização da aceitação em função do pH e da concentração salina.

Para compreender o efeito das estratégias de extração proteica na aceitação das bebidas, foi montado um experimento, em delineamento composto centralizado rotacional, com dois fatores: pH e concentração salina, usados no processamento de bebida de quinoa.

A Análise de Variância e o teste *post-hoc* de Fisher (Tabela 16) indicam que os tratamentos com pH 5 ou 4 e 0,03mol/L diferiram estatisticamente do tratamento com pH 5 e sem adição de sal, sendo que os demais tratamentos apresentaram médias de aceitação intermediárias.

**Tabela 16.** Teor de proteína e aceitação de bebida de quinoa elaborada com soluções de diferentes concentrações salinas e pH

Tratamento	A: pH	B: Sal	Proteína (g/100g MF)	Aceitação geral
1	4,0	0,03	1,07 <sup>cd</sup> ± 0,01	5,00 <sup>a</sup> ± 1,6
2	6,0	0,03	1,145 <sup>b</sup> ± 0,05	4,81 <sup>ab</sup> ± 1,2
3	5,7	0,009	1,25 <sup>a</sup> ± 0,04	4,31 <sup>ab</sup> ± 1,3
4	4,3	0,051	1,01 <sup>d</sup> ± 0,07	4,87 <sup>ab</sup> ± 1,0
5	5,0	0,03	1,22 <sup>a</sup> ± 0,03	5,00 <sup>a</sup> ± 1,3
6	5,0	0	1,00 <sup>d</sup> ± 0,06	4,02 <sup>b</sup> ± 1,5
7	5,0	0,03	1,22 <sup>a</sup> ± 0,03	5,01 <sup>a</sup> ± 1,4
8	4,3	0,009	1,09 <sup>bc</sup> ± 0,02	4,52 <sup>a</sup> <sup>b</sup> ± 1,3
9	5,0	0,06	1,25 <sup>a</sup> ± 0,03	4,40 <sup>ab</sup> ± 1,3
10	5,7	0,051	1,03 <sup>cd</sup> ± 0,05	4,56 <sup>ab</sup> ± 1,5

Nas colunas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Fisher ( $p > 0,05$ )

### 5.3 Otimização do teor proteico e da aceitação em função do pH e da concentração salina.

Os teores de proteínas das bebidas variaram de 1,0 g/100g MF até 1,25g/100g MF (Tabela 16). Esses valores são próximos dos encontrados em bebida de aveia (SMEDMAN *et al.* 2010) e bebida mista de arroz e soja (JAEKEL; RODRIGUES; SILVA, 2010). Os tratamentos de concentração salina e pH, que resultaram em teores de proteína significativamente superiores, foram aqueles com pH 5 e concentrações salinas 0,03 mol/L e 0,06 mol/L e com pH 5,7 e concentração salina de 0,009 mol/L, enquanto as menores concentrações foram encontradas em bebidas elaboradas com soluções pH 5 e 0 % de sal, ou pH 4,3 e concentração salina de 0,051 mol /L.

Já a aceitação das bebidas apresentou médias entre 4 e 5, entre os termos hedônicos *desgostei ligeiramente* e *não gostei nem desgostei* (Tabela 16), o que revela que ajustes sensoriais ainda são necessários, como adição de aromatizantes para melhorar o sabor da bebida. As maiores médias foram encontradas para as bebidas com

pH 4 e concentração salina de 0,03 mol/L, ou com pH 5 e concentração salina de 0,03 mol/L.

As análises de regressão dos modelos são apresentadas na Tabela 17. Pela análise de regressão, é possível observar que o modelo gerado para aceitação pode ser considerado um bom ajustamento aos dados experimentais, uma vez que o  $R^2$  foi de 0,9918 e o desvio padrão foi de apenas 0,046 para uma escala de notas de 9 pontos.

**Tabela 17.** Resumo dos modelos

	Teor de proteína	Aceitação
<b>R<sup>2</sup></b>	36,91%	99,18%
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	23,77%	98,17%
<b>Desvio-padrão</b>	0,091085714	0,04622297

Já o ajuste de modelo gerado para proteínas não foi satisfatório, de acordo com os mesmos critérios adotados, o que indica que a superfície gerada explica uma proporção pequena da variação de y (proteína) em  $x_1$  (pH) e  $x_2$  (concentração salina).

Os parâmetros estimados dos modelos de regressão são apresentados nas Tabelas 18 e 19.

**Tabela 18.** Parâmetros estimados do modelo de regressão para a variável resposta teor de proteína

Termo do modelo	Coefficiente	Erro padrão (SE) do Coeficiente	T	P	VIF	Tolerância
Constante	1,22	0,037185587	32,808	<b>0,0000</b>		
A: pH	0,036433802	0,018592794	1,960	0,0618	1	1
B: Sal	0,008203057	0,018592794	0,441196	0,6630	1	1
AB	-0,037916667	0,026294181	-1,442	0,1622	1	1
AA	-0,0625	0,024595954	-2,541	<b>0,0179</b>	1,225	0,816326531
BB	-0,05375	0,024595954	-2,185	<b>0,0389</b>	1,225	0,816326531

Valores em negrito são significativos ( $p < 0,05$ )

Dos parâmetros estimados do modelo para a variável resposta proteína, apenas os parâmetros dos modelos quadráticos de pH e de sal e a constante foram significativos, de acordo com o teste t aplicado ( $p < 0,05$ ). Os coeficientes negativos quadráticos são indicadores de pontos ótimos ou ideais desses fatores para a maximização do teor de proteína.

**Tabela 19.** Parâmetros estimados do modelo de regressão para aceitação

Termo do modelo	Coeficiente	Erro padrão (SE) do Coeficiente	T	P	VIF	Tolerância
<b>Constante</b>	5,005	0,032684576	153,13	<b>0,0000</b>		
<b>A: pH</b>	-0,098587572	0,016342288	-6,033	<b>0,0038</b>	1	1
<b>B: Sal</b>	0,142175144	0,016342288	8,700	<b>0,0010</b>	1	1
<b>AB</b>	-0,025	0,023111485	-1,0817133	0,3402	1	1
<b>AA</b>	-0,048125	0,021618815	-2,226	0,0900	1,225	0,816326531
<b>BB</b>	-0,395625	0,021618815	-18,300	<b>0,0001</b>	1,225	0,816326531

Valores em negrito são significativos ( $p < 0,05$ )

Dos parâmetros estimados do modelo para a variável resposta aceitação, a interação entre pH e sal e o quadrado do pH não foram significativos, de acordo com o teste t aplicado ( $p > 0,05$ ). O modelo quadrático para sal sugere influência da concentração salina na aceitação da bebida, com um ponto ótimo ou ideal, ou seja, a aceitação aumenta com o aumento da concentração salina, até certo ponto, a partir do qual incrementos na concentração salina causam queda na apreciação da bebida. Já o modelo linear para pH indica um aumento linear da aceitação, com a queda do pH (coeficiente negativo). Logo, o menor valor testado para esse fator maximizaria a aceitação. Provavelmente, se estudos posteriores adotarem uma faixa de pH mais ampla, com pH mais baixos, será possível encontrar modelo quadrático significativo para pH, definindo-se também um ponto ótimo ou ideal.

Na análise de variância dos modelos ajustados, o valor indica a probabilidade de se aceitar que os valores obtidos no modelo são verdadeiros, quando, na verdade, são

falsos. Quando  $p > 0,05$ , não há evidências estatísticas (com 95,% de confiança) para se afirmar que os coeficientes dos modelos sejam diferentes de zero (CORNELL, 1990, *apud* AFONSO, 2006).

A falta de ajuste sugere um tipo diferente de aproximação para se determinar um modelo apropriado, indicando se o modelo obtido é adequado, ou não, para as respostas obtidas. Essa aproximação admite, inicialmente, que as suposições de normalidade, independência e variância constante dos erros são válidas. Caso o valor da falta de ajuste seja inferior a 0,05, pode-se inferir que há evidências estatísticas suficientes de que o modelo não está adequadamente ajustado aos dados (AFONSO, 2006).

A análise de variância do modelo para a variável resposta teor de proteína (Tabela 20) indica que o ajuste do modelo foi significativo, assim como a falta de ajuste, indicando que as suposições de normalidade e de variância constante dos erros não foram adequadas.

**Tabela 20.** Análise de Variância do modelo para teor de proteína

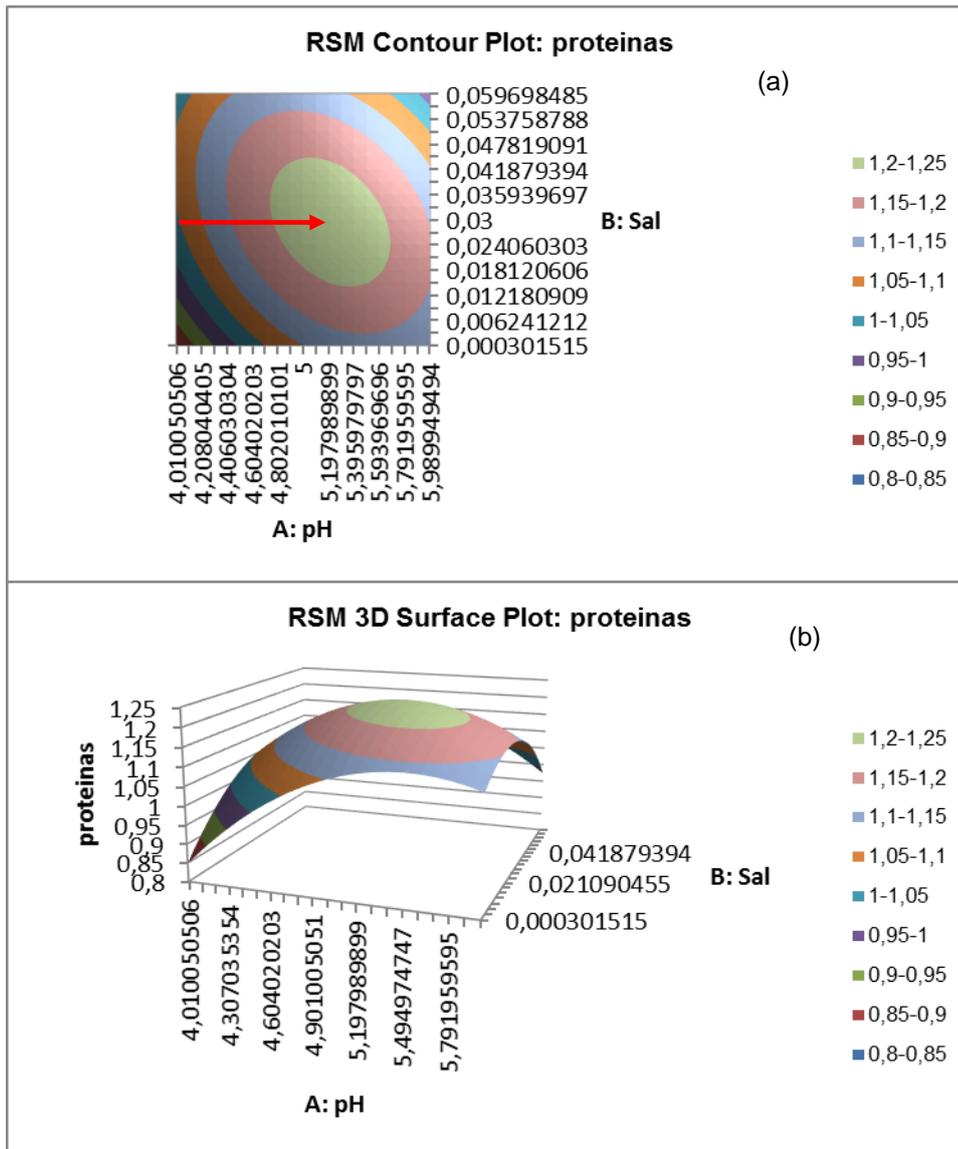
Fonte	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	5	0,116511	0,02330228	2,809	<b>0,0391</b>
Erro	24	0,199119	0,00829661		
Falta de ajuste	3	0,165185	0,05506175	34,076	<b>0,0000</b>
Erro puro	21	0,033933333	0,00161587		
Total (Modelo + Erro)	29	0,315630	0,01088379		

Valores em negrito são significativos ( $p < 0,05$ )

De acordo com Waszczyzny, Nelsen (1996), quando o quadrado médio para o erro experimental (erro) tomar valor extremamente baixo, os testes de significância para a falta de ajuste devem ser considerados irrelevantes, o que corrobora os achados neste trabalho (QME=0,00829661).

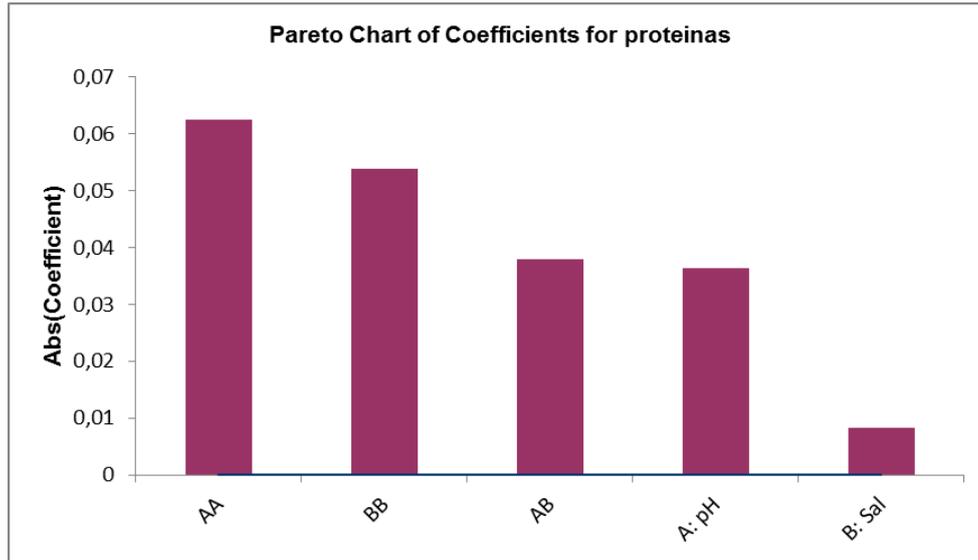
O modelo de regressão da metodologia de superfície de resposta foi:

$$\text{Teor de proteínas} = 1,22 + 0,036433802 * \text{pH} + 0,008203057 * \text{Sal} - 0,037916667 * \text{Sal} * \text{pH} - 0,0625 * \text{pH}^2 - 0,05375 * \text{sal}^2$$



**Figura 10.** Gráfico de contorno (a) e superfície de resposta (b) dos teores de proteína das bebidas de quinoa em função do pH e da concentração salina

Conforme se observa na Figura 10, a região central indicada com seta vermelha é a de teor máximo de proteína (1,22 g/100g MF); é predita por concentração salina de 0,03 mol/L e pH de 5,3. O efeito do pH sobre o teor proteico é maior do que o da concentração salina, conforme pode ser observado pelo diagrama de Pareto (Figura 11).



**Figura 11.** Diagrama de Pareto para variável resposta teor de proteína de bebida de quinoa

Na Tabela 21 é apresentada a Análise de Variância para a variável resposta aceitação.

**Tabela 21.** Análise de Variância do modelo para aceitação

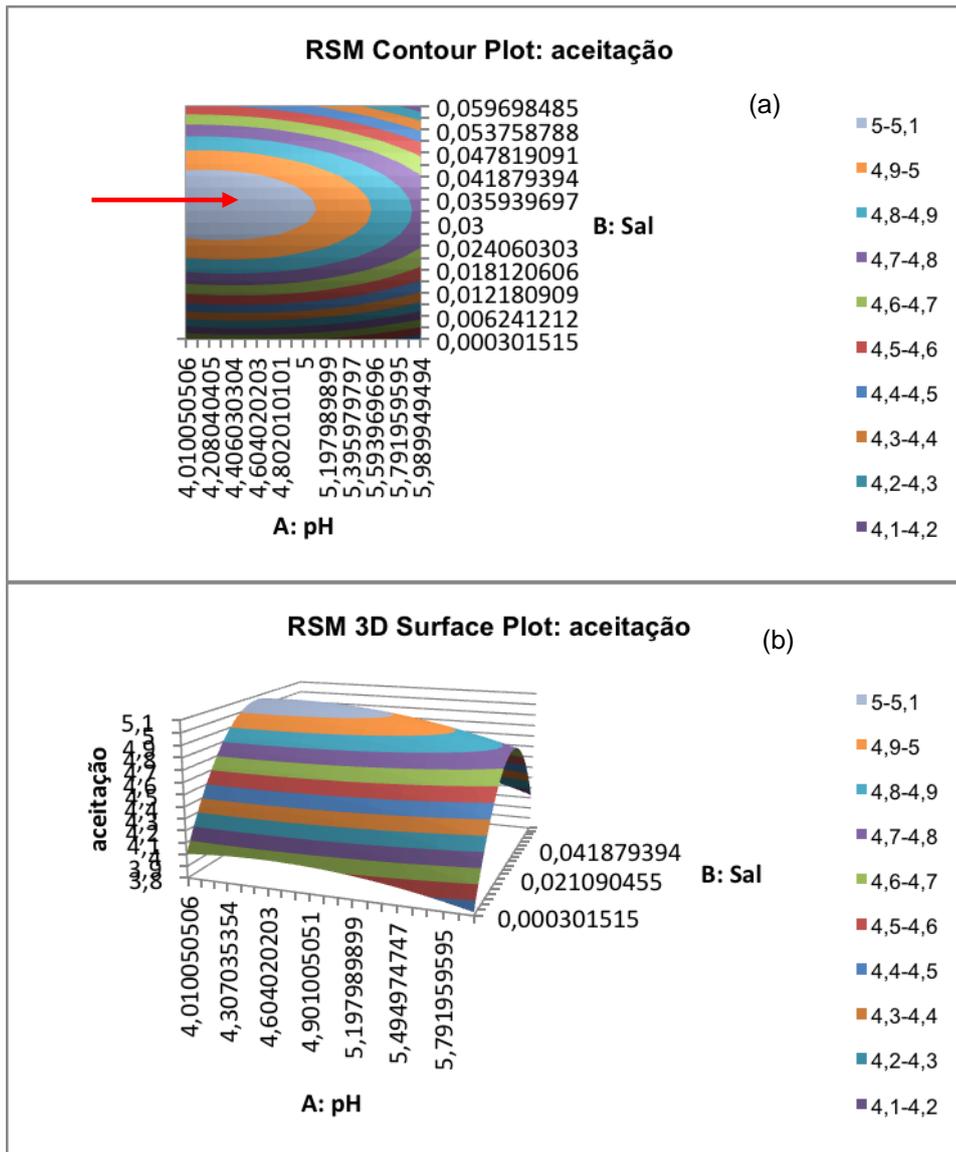
Fonte	DF	SS	MS	F	P
Modelo	5	1,040053748	0,208011	97,358	<b>0,0003</b>
Erro	4	0,008546252	0,00213656		
Falta de ajuste	3	0,008496252	0,00283208	56,642	0,0973
Erro puro	1	5E-05	5E-05		
Total (Modelo + Erro)	9	1,0486	0,116511		

Valores em negrito são significativos ( $p < 0,05$ )

A análise de variância do modelo (Tabela 21) indica que o ajuste do modelo foi significativo e a falta de ajuste não foi significativa, conferindo ao modelo poder preditivo.

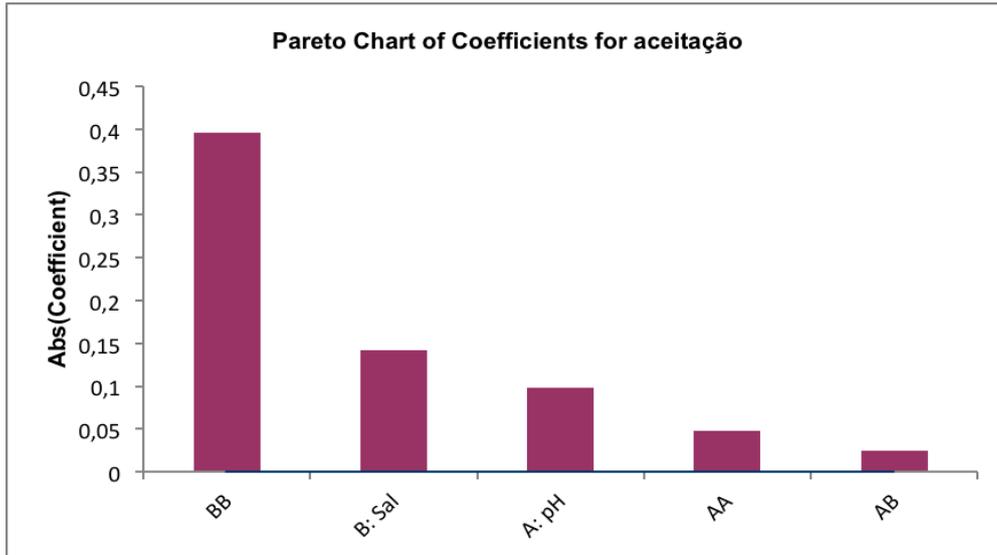
O modelo de regressão da metodologia de superfície de resposta foi:

$$\text{Aceitação} = 5,005 - 0,098587572 * \text{pH} + 0,142175144 * \text{Sal} - 0,025 * \text{pH} * \text{sal} - 0,048125 * \text{pH}^2 - 0,395625 * \text{sal}^2$$



**Figura 12.** Gráfico de contorno (a) e superfície de resposta (b) da aceitação de bebida de quinoa em função do pH e da concentração salina

Conforme se observa na Figura 12, a região central indicada com seta vermelha é a de aceitação máxima (5,07); é predita por concentração salina de 0,035 mol/L e pH de 4,3. O efeito do sal sobre a aceitação é maior do que do pH sobre a aceitação, conforme pode ser observado pelo diagrama de Pareto (Figura 13).



**Figura 13.** Diagrama de Pareto para aceitação de bebida de quinoa

O modelo foi gerado novamente, considerando-se apenas os coeficientes significativos para obtenção da superfície de resposta (Tabelas 22, 23 e 24).

**Tabela 22.** Resumo do modelo excluindo-se parâmetros não significativos

<b>R<sup>2</sup></b>	97,94%
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	96,91%
<b>Desvio-padrão</b>	0,060046859

O ajuste do segundo modelo gerado também pode ser considerado satisfatório, uma vez que o  $R^2$  foi de 0,9794 (Tabela 22) e o desvio padrão foi de apenas 0,060 para uma escala de notas de 9 pontos. Segundo Barros Neto, Scarminio, Bruns (2007), o coeficiente de determinação do modelo maior do que 0,95 é um dos requisitos para que o modelo seja considerado bom.

Na tabela 23 é possível visualizar os coeficientes significativos para modelo linear para pH e linear e quadrático para sal.

**Tabela 23.** Parâmetros estimados do modelo de regressão, excluindo-se parâmetros não significativos

Termo do modelo	Coeficiente	Erro padrão (SE) do Coeficiente	T	P	VIF	Tolerância
Constante	4,95	0,027796295	178,08	<b>0,0000</b>		
A: pH	-0,098587572	0,021229771	-4,644	<b>0,0035</b>	1	1
B: Sal	0,142175144	0,021229771	6,697	<b>0,0005</b>	1	1
BB	-0,375	0,025374429	-14,779	<b>0,0000</b>	1	1

Valores em vermelho são significativos ( $p < 0,05$ )

A análise de variância do modelo (Tabela 24). excluindo-se os parâmetros não significativos, também indica que o modelo é significativo. Observou-se também que a falta de ajuste para a resposta não foi significativa ( $p > 0,05$ ). indicando que se ajustou bem aos dados experimentais, podendo ser utilizado para fins preditivos.

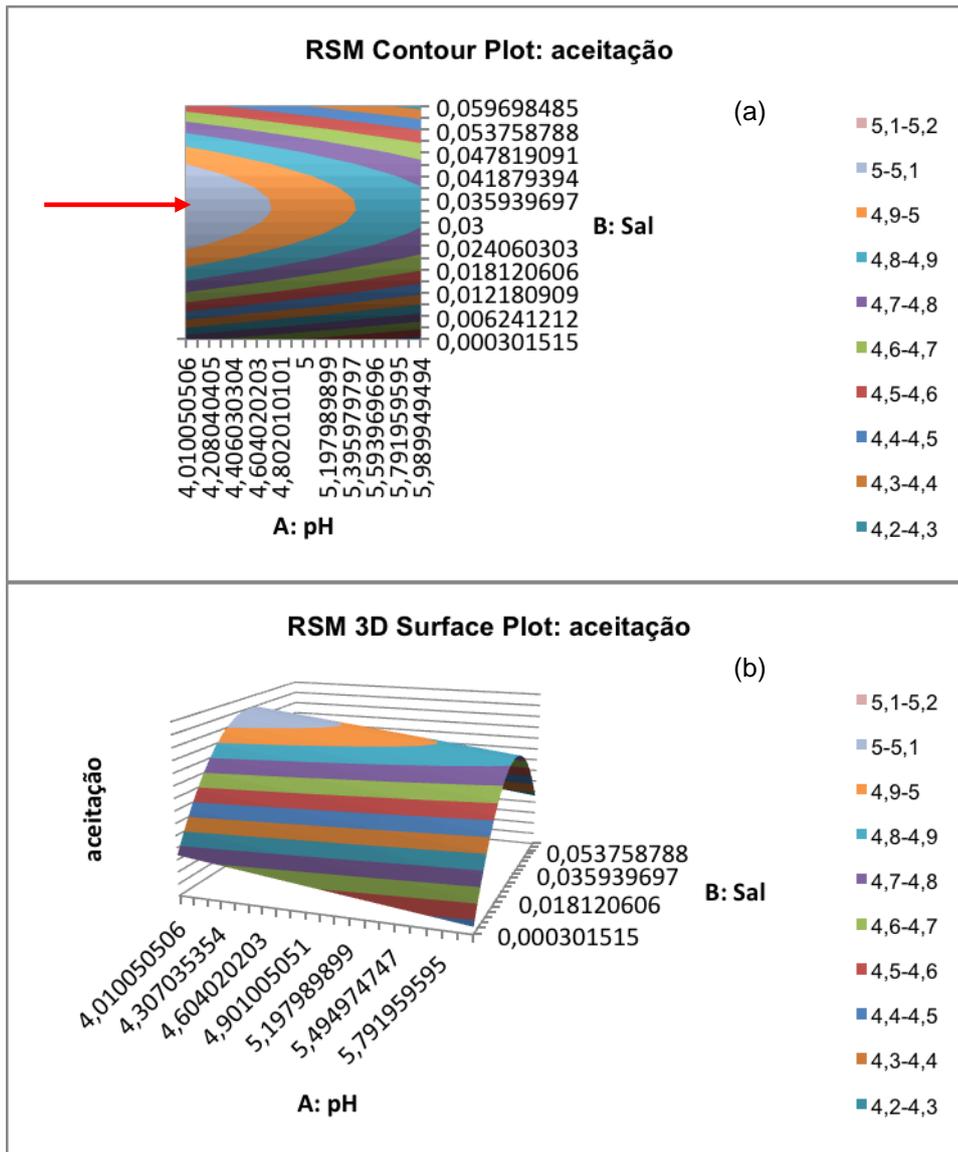
**Tabela 24.** Análise de Variância do modelo

Fonte	DF	SS	MS	F	P
<b>Modelo</b>	3	1,026966248	0,342322	94,941	<b>0,0000</b>
<b>Erro</b>	6	0,021633752	0,00360563		
<b>Falta de ajuste</b>	5	0,021583752	0,00431675	86,335	0,0815
<b>Erro puro</b>	1	5E-05	5E-05		
<b>Total (Modelo + Erro)</b>	9	1,0486	0,116511		

Valores em vermelho são significativos ( $p < 0,05$ )

O modelo de regressão da metodologia de superfície de resposta sem os parâmetros não significativos foi:

$$\text{Aceitação} = 4,95 - 0,098587572 * \text{pH} + 0,142175144 * \text{Sal} - 0,375 * \text{sal}^2$$



**Figura 14.** Gráfico de contorno (a) e superfície de resposta (b) da aceitação de bebida de quinoa em função do pH e da concentração salina

Conforme se observa pelo gráfico de contorno da superfície de resposta (Figura 14), o comportamento linear do pH revela que, quanto menor o pH, maior a aceitação da bebida, enquanto o modelo quadrático do fator sal indica que concentração salina em torno de 0,034 mol/L, com o menor valor de pH testado, resulta na maior aceitação predita (5,10). Os dois modelos geraram valores ótimos muito parecidos. Eles ainda indicam que a acidez necessária para a extração das proteínas impacta positivamente a aceitação e que a presença de sal em concentrações molares baixas, em torno de 0,03 mol/L, otimiza essa variável. Assim sendo, a adição de sódio em quantidades baixas melhora o teor de

proteínas da bebida e a sua aceitação, sendo melhor do que a ausência de adição de sódio, mesmo que as diferenças sejam pequenas para ambas as variáveis.

Os resultados encontrados para as duas variáveis resposta resultam em efeitos de concentrações muito próximas de sal (0,03 mol/L), na otimização do teor proteico e da aceitação. Todavia, os pH que otimizam as variáveis resposta foram diferentes, sendo em torno de 4 para a aceitação e em torno de 5 para o teor proteico. Entretanto, observa-se que, tanto a média do teor de proteínas, quanto a média de aceitação da bebida com pH 5 e concentração de 0,03 mol/L são as mais elevadas. Como a melhora da aceitação é ponto crítico no desenvolvimento desse produto, as bebidas com pH 4 e 5, na concentração salina de 0,03 mol/L, foram avaliadas sensorialmente, em comparação com outras bebidas vegetais.

#### **5.4 Aceitabilidade da bebida de quinoa, em comparação com outras bebidas vegetais**

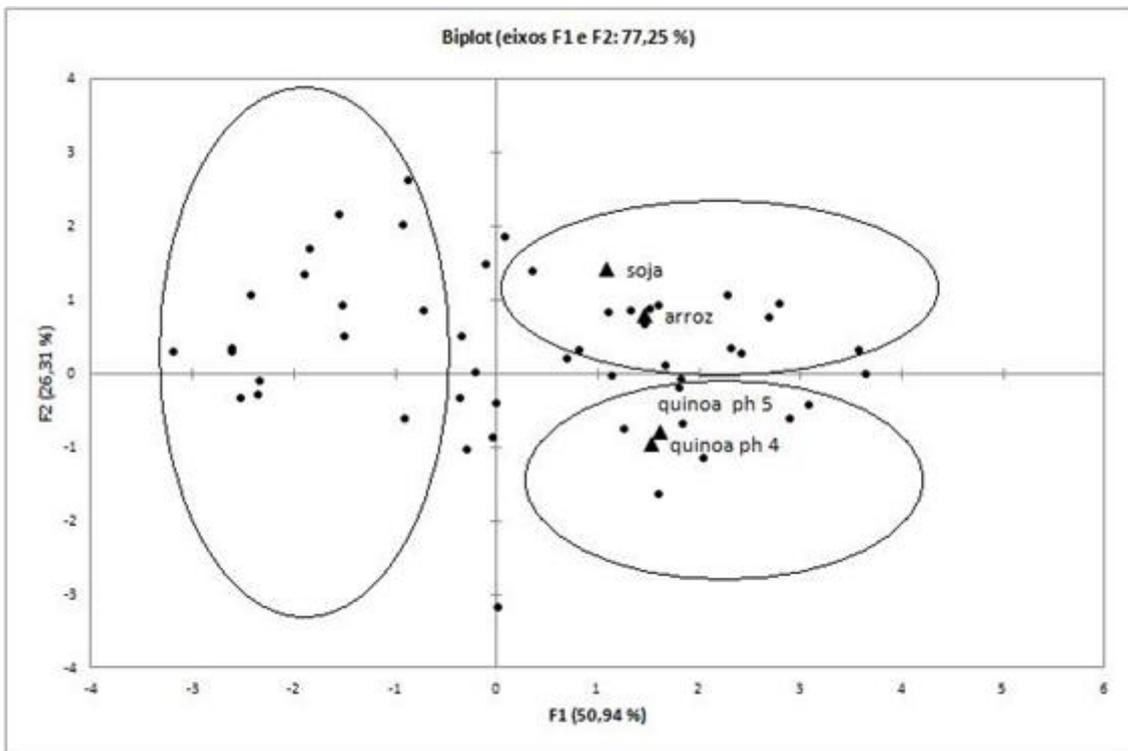
De um modo geral, observou-se que a aceitação da bebida de soja foi maior do que a das outras bebidas vegetais, seguida das bebidas de arroz e de quinoa no pH 5 (Tabela 25). Apenas a média da bebida de soja situou-se na região de aceitação da escala hedônica, entre os termos *gostei ligeiramente* e *gostei moderadamente*, enquanto as médias de aceitação das demais bebidas ficaram entre *indiferente* e *desgostei ligeiramente*. Isso, provavelmente, se deve ao fato de que a bebida de soja é a mais conhecida de todas avaliadas; logo, o consumidor está mais habituado a suas características sensoriais. Adicionalmente, entre as amostras é a única bebida com adição de aroma de baunilha, o que pode contribuir para aumento da aceitação do produto.

**Tabela 25.** Aceitação global das bebidas de soja, arroz, quinoa com extração salina de proteínas na concentração de 0,03 mol/ L no pH 4 ou 5 (n=160)

Categoria	Média estimada
SOJA	6,6 <sup>A</sup> ± 1,8
ARROZ	4,6 <sup>B</sup> ± 2,3
QUINOA pH5	4,3 <sup>BC</sup> ± 2,2
QUINOA pH4	4,1 <sup>C</sup> ± 2,2

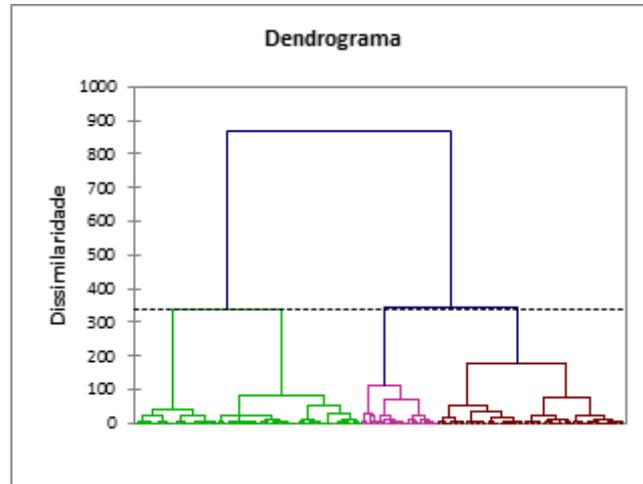
Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Fisher ( $p > 0,05$ )

A análise de componentes principais foi aplicada sobre os dados, gerando o mapa de preferência interno, apresentado na Figura 15, revelando um comportamento heterogêneo dos consumidores. A distribuição deles no mapa revela um grupo de provadores, à esquerda, na primeira componente principal, que rejeitou todas as amostras. Já a segunda componente principal separou outros dois grupos de provadores, sendo um, na parte positiva da dimensão, que preferiu as bebidas vegetais comerciais e na parte negativa deste, o grupo que preferiu as bebidas de quinoa.



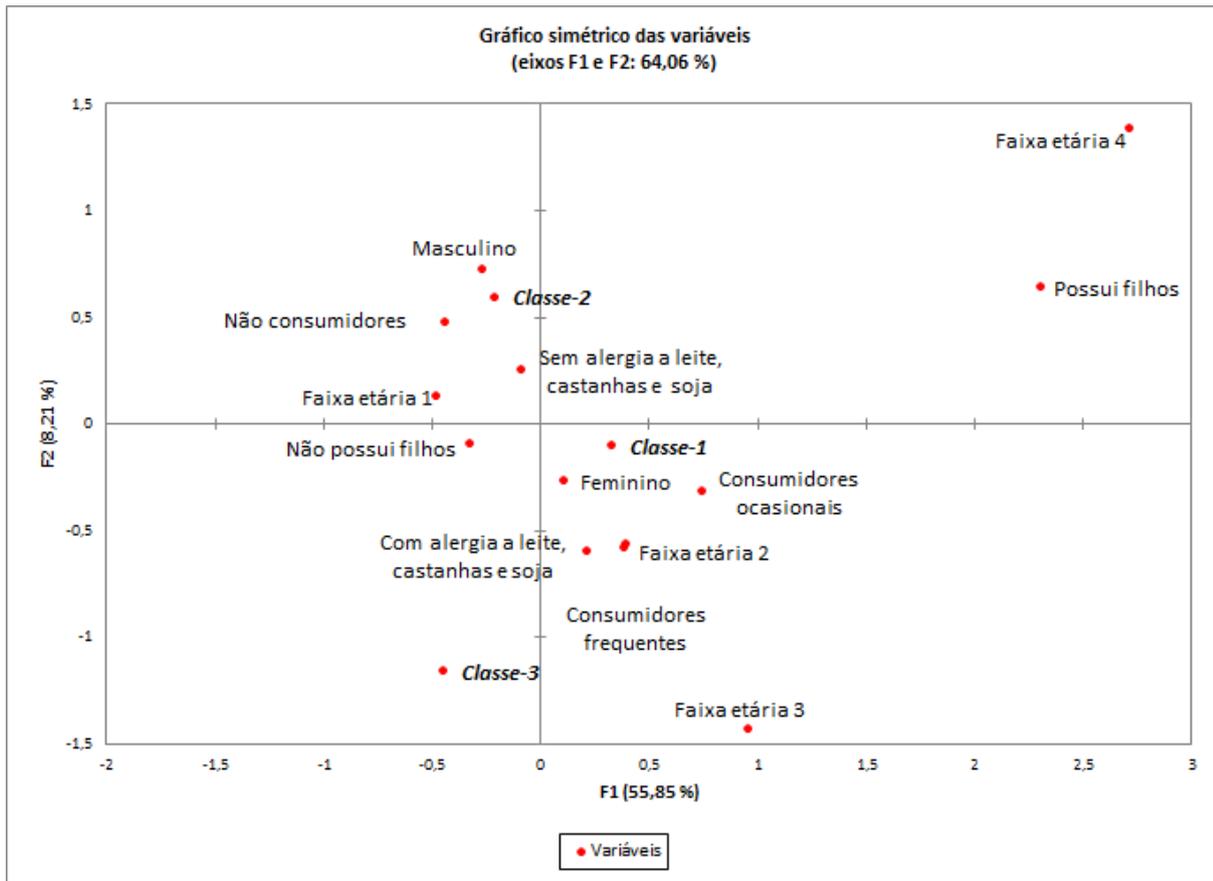
**Figura 15.** Mapa interno de consumidores para aceitação global das bebidas de soja, arroz, quinoa pH 4 e 5

Para avaliação segmentada dos provadores, foi aplicada a análise aglomerativa hierárquica dos dados, resultando na formação de 3 segmentos de consumidores (Figura 16).



**Figura 16.** Dendrograma da análise aglomerativa hierárquica segmentos de consumidores

Aos dados sócio-demográficos, de relato de alergias e de comportamento de consumo de bebidas vegetais dos provadores, foi aplicada a Análise de Correspondência Múltipla (ACM), a fim de se caracterizar os segmentos formados (Figura 17).



**Figura 17.** Análise de correspondência múltipla

No gráfico gerado pela ACM é possível observar uma separação das características dos segmentos, na dimensão 2 (F2). A classe ou segmento 1 (n=74) está associada ao seguinte perfil de provadores: pessoas do sexo feminino, sem filhos, com baixa frequência de consumo de bebidas vegetais, da faixa etária 2 (26 a 35 anos). A classe 2 (n=61) caracteriza-se por pessoas do sexo masculino, não consumidores de bebidas vegetais, sem alergias ou intolerâncias relatadas para leite, castanhas ou soja, faixa etária 1 (17 a 25 anos). O segmento 3 (n=25) é composto por pessoas mais associadas às características de alto consumo de bebidas vegetais, com relatos de alergias ou intolerâncias relatadas para leite, castanhas ou soja, da faixa etária 3 (36 a 45 anos). Ter crianças ou pertencer à faixa etária 4 (46 a 60 anos) não se associou a nenhum dos segmentos. Dentre as três classes é possível observar que aquela que mais representa o nicho de mercado das bebidas vegetais alternativas aos leites de vaca e de soja é a classe 3. Seu número de provadores menor é um reflexo do comportamento real do mercado, visto que pessoas com esse perfil (consumidoras frequentes de bebidas

vegetais, com alergias às bebidas derivadas de leite, soja e castanha) são minoria entre o total de pessoas.

Na Tabela 26 são apresentadas as médias de aceitação das bebidas vegetais para cada segmento de consumidores. Observou-se que, diferentemente do resultado geral, o segmento 3 aceitou de forma semelhante as bebidas de soja e de quinoa nos pH 4 e 5, com relação aos atributos impressão geral e aparência. Com relação ao aroma, preferiu a bebida de soja, seguida das bebidas de quinoa que, por sua vez, foram mais aceitas do que a bebida de arroz. A adição de aroma de baunilha pode ser a principal causa da preferência pela bebida de soja. Conforme visto anteriormente (Tabela 13), a essência de baunilha adicionada à bebida de quinoa também contribuiu significativamente para sua aceitação. Novos testes com a formulação final da bebida de quinoa podem ser realizados, com a adição de aroma, para aumento da aceitação pelos diversos consumidores.

Com relação ao sabor, esse segmento apreciou mais as bebidas de quinoa pH 4 e 5 e de soja, seguidas da bebida de arroz. Com relação ao segmento 1, para todos os atributos, foi observada maior aceitação para bebida de soja, seguida de bebida de arroz, com médias nas regiões de aceitação, e as bebidas de quinoa com médias significativamente menores e na região de indiferença para rejeição da escala hedônica. Para o segmento 2 a bebida de soja foi a preferida, em relação a todos os atributos, seguidas das demais bebidas, igualmente rejeitadas, com exceção do atributo aroma, em que a bebida de arroz foi mais aceita do que as de quinoa. Embora com comportamento comparativo similar, observa-se que o segmento 2 atribui notas menores para todas as bebidas e todos os atributos, em comparação como segmento 1, ou seja, trata-se de um grupo que rejeita mais esse tipo de produto, o que vai de acordo com o seu perfil.

Comparando-se as classes de provadores em relação às bebidas de quinoa, observou-se, para aceitação geral, que os segmentos 1 e 3 apresentaram médias iguais para bebida com pH4, ao passo que, para a bebida com pH 5, a aceitação foi significativamente maior para o segmento 3. Para a aparência, não houve diferença entre as médias das classes 1 e 3 para essas bebidas. Já para o aroma, a bebida com o pH 4 foi mais aceita pela classe3, enquanto, para o sabor, a bebida com pH 5 foi mais aceita por esse mesmo segmento.

**Tabela 26.** Médias, gerais e por segmentos de consumidores de aceitação de bebidas vegetais

<b>Aceitação geral</b>				
Classe	Quinoa pH4	Soja	Quinoa pH5	Arroz
1 (n=74)	4,8 <sup>Ac</sup> ± 2,1	7,8 <sup>Aa</sup> ± 1,0	5,2 <sup>Bc</sup> ± 1,9	6,5 <sup>Ab</sup> ± 1,2
2(n=61)	2,7 <sup>Bb</sup> ± 1,3	5,5 <sup>Ba</sup> ± 1,7	2,6 <sup>Cb</sup> ± 1,5	3,0 <sup>Bb</sup> ± 1,6
3(n=25)	5,3 <sup>Aa</sup> ± 2,3	6,0 <sup>Ba</sup> ± 2,2	6,0 <sup>Aa</sup> ± 1,4	2,7 <sup>Bb</sup> ± 1,5
GERAL	4,1 <sup>c</sup> ± 2,2	6,6 <sup>a</sup> ± 1,8	4,3 <sup>bc</sup> ± 2,2	4,6 <sup>b</sup> ± 2,3
<b>Aparência</b>				
Classe	Quinoa pH4	Soja	Quinoa pH5	Arroz
1 (n=74)	5,5 <sup>Ac</sup> ± 1,8	7,3 <sup>Aa</sup> ± 1,3	5,7 <sup>Abc</sup> ± 1,7	6,1 <sup>Ab</sup> ± 1,7
2(n=61)	3,7 <sup>Bb</sup> ± 1,8	5,6 <sup>Ba</sup> ± 1,8	3,2 <sup>Bb</sup> ± 2,0	3,4 <sup>Bb</sup> ± 2,0
3(n=25)	6,2 <sup>Aa</sup> ± 1,9	6,9 <sup>Aa</sup> ± 1,7	5,8 <sup>Aa</sup> ± 2,0	3,9 <sup>Bb</sup> ± 2,2
GERAL	4,9 <sup>b</sup> ± 2,1	6,5 <sup>a</sup> ± 1,8	4,7 <sup>b</sup> ± 2,3	4,7 <sup>b</sup> ± 2,3
<b>Aroma</b>				
Classe	Quinoa pH4	Soja	Quinoa pH5	Arroz
1 (n=74)	4,1 <sup>Bc</sup> ± 2,1	7,8 <sup>Aa</sup> ± 1,2	4,5 <sup>Ac</sup> ± 2,1	5,7 <sup>Ab</sup> ± 1,7
2(n=61)	2,9 <sup>Cc</sup> ± 1,6	6,0 <sup>Ca</sup> ± 2,1	2,8 <sup>Bc</sup> ± 1,7	3,9 <sup>Bb</sup> ± 1,9
3(n=25)	5,3 <sup>Ab</sup> ± 2,4	6,9 <sup>Ba</sup> ± 2,1	5,2 <sup>Ab</sup> ± 2,1	3,5 <sup>Bc</sup> ± 1,8
GERAL	3,8 <sup>c</sup> ± 2,2	7,0 <sup>a</sup> ± 1,9	4,7 <sup>b</sup> ± 2,1	4,0 <sup>c</sup> ± 2,0
<b>Sabor</b>				
Classe	Quinoa pH4	Soja	Quinoa pH5	Arroz
1 (n=74)	4,3 <sup>Ac</sup> ± 2,2	7,6 <sup>Aa</sup> ± 1,5	4,5 <sup>Bc</sup> ± 2,1	6,1 <sup>Ab</sup> ± 1,6
2(n=61)	2,3 <sup>Bb</sup> ± 1,5	5,3 <sup>Ba</sup> ± 2,1	2,3 <sup>Cb</sup> ± 1,6	2,8 <sup>Bb</sup> ± 2,0
3(n=25)	5,1 <sup>Aa</sup> ± 2,5	5,8 <sup>Ba</sup> ± 2,4	6,0 <sup>Aa</sup> ± 1,7	2,1 <sup>Bb</sup> ± 1,6
GERAL	3,7 <sup>c</sup> ± 2,3	6,5 <sup>a</sup> ± 2,2	3,9 <sup>bc</sup> ± 2,3	4,2 <sup>b</sup> ± 2,5

Nas colunas, médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ ). Nas linhas, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ ).

A tabela 27 traz o teor de proteínas e sódio das bebidas de quinoa, produzidas com extração de saponinas e concentração salina de 0,03 mol/ L, em pH 4 e 5, além das informações nutricionais fornecidas pelos rótulos das bebidas industrializadas de arroz, aveia e soja. Observa-se que o maior teor de proteína está na bebida de soja, seguida

das bebidas de quinoa. Apesar dos tratamentos de variação do pH das bebidas já terem sido realizados anteriormente, nota-se uma variação entre os valores, o que demonstra que este fato está relacionado à variação de nutrientes na matéria prima. Quanto ao teor de sódio, nota-se que as bebidas de quinoa apresentaram a menor quantidade quando comparada as demais bebidas.

**Tabela 27.** Teores de proteínas e de sódio das bebidas industrializada de arroz, aveia, soja e das bebidas de quinoa produzidas com proporção de grão e solução salina de 1:7, extração de saponinas e concentração salina de 0,03 mol/ L em diferentes pH

	<b>Arroz*</b>	<b>Aveia*</b>	<b>Soja*</b>	<b>Quinoa pH 4</b>	<b>Quinoa pH 5</b>
<b>Proteínas</b>	0,03 <sup>D</sup> ± 0,06	0,67 <sup>C</sup> ± 0,34	2,57 <sup>A</sup> ± 0,06	1,21 <sup>B</sup> ± 0,12	1,39 <sup>B</sup> ± 0,28
<b>Sódio</b>	30,00 <sup>AB</sup> ± 20	33,33 <sup>AB</sup> ± 11,55	52,17 <sup>A</sup> ± 28,29	20,28 <sup>B</sup> ± 0,0	20,28 <sup>B</sup> ± 0,0

\* Informações coletadas nos rótulos dos produtos a partir da média de três marcas

Nas linhas, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ ).

## CONCLUSÃO

A bebida à base de quinoa consiste em uma alternativa viável para as pessoas que apresentam reações adversas a alimentos como leite de vaca, soja e castanhas. A partir dos estudos da solubilização das proteínas, notou-se que as variáveis concentração salina e pH interferem positivamente na otimização do teor proteico. A concentração salina de 0,03 mol/L tanto melhora o valor nutricional, quanto a aceitação. Já o pH apresentou variação quanto a melhora da solubilidade das proteínas e a aceitação, sendo pH 4 para o primeiro e pH 5 para o segundo, respectivamente.

Quanto aos aspectos sensoriais, observou-se por meio dos estudos de aceitabilidade que a formulação final (pH 5 e 4, com 0,03 mol/L e proporção de grão e solução salina de 1:7) obteve boa aceitação, quando comparada a das bebidas comerciais de soja e de arroz. Essas características se aplicam quando se observa o comportamento de um grupo de pessoas mais associadas às características de alto consumo de bebidas vegetais, com relatos alergias ou intolerâncias para leite, castanhas ou soja, e faixa etária de 36 a 45 anos.

Frente aos resultados observados, nota-se a importância de ser dada continuidade aos estudos da solubilização das proteínas da quinoa, para um aperfeiçoamento da formulação. O emprego de aroma de baunilha e as possibilidades de saborização da bebida também seriam de grande relevância para estudos futuros, tendo em vista o potencial de mercado da bebida de quinoa. Até o presente momento não é possível utilizar a bebida de quinoa como substituta do leite de vaca, tendo em vista os aspectos nutricionais, porém sua utilização como alternativa às bebidas vegetais de aveia, arroz e soja é relevante, haja vista a baixa alergenicidade, quando comparada à das demais bebidas vegetais, e o valor nutricional.

## ANEXOS

### ANEXO I – Protocolo de análise de umidade.

A determinação do teor de umidade consistiu em dois estágios, primeiro as amostras foram colocadas em cadinhos e secos em estufa (Marconi®, modelo Ma037) a 50 °C, até peso constante – cerca de 72 horas. Em seguida, foram colocadas para resfriar em dessecador de vidro (Pyrex®, USA), por 45 minutos. Essas foram pesadas em balança analítica (BOSCH® – SAE 200) e devidamente registradas. Posteriormente, foram pesados 2g de cada amostra e os cadinhos foram colocados na estufa à 105 °C até o peso constante (BRASIL, 2005). Os cadinhos com o material foram resfriados em dessecador de vidro por 45 minutos, e pesados novamente. A umidade foi obtida pela fórmula:

$$\% \text{ Umidade} = \frac{100 - \{[(\text{Peso cadinho} + \text{amostra seca } 105 \text{ } ^\circ\text{C}) - \text{Peso cadinho}] \times 100\}}{\text{Peso da amostra}}$$

## **ANEXO II – Protocolo de análise de sólidos solúveis totais**

Sua quantificação se deu por refratometria, no qual uma gota da amostra foi coletada e posicionada sobre a lente do refratômetro, essa deveria estar na temperatura indicada no visor do aparelho. Em seguida foi feita a leitura.

### **ANEXO III – Protocolo de análise de pH.**

O pH foi determinado por meio de leitura direta em pHmetro digital (DIGIMED®, modelo DM21). No procedimento, foi transferido com o auxílio de proveta cerca de 20 mL da amostra para um béquer de 100 mL, no qual foi realizada determinação direta do pH na amostra através do pHmetro.

#### ANEXO IV – Protocolo de análise de resíduo mineral fixo.

Quanto à quantificação de resíduo mineral fixo foi utilizado o Método por Incineração. Este compreendeu em colocar as amostras em cadinho de porcelana e levar para mufla (ELEKTROTHERM®, modelo LINN) à 600 °C, por 6 horas, seguido de resfriamento em dessecador de vidro. Posteriormente, as amostras foram pesadas. A determinação de cinzas totais foi realizada por método gravimétrico, baseado na perda de massa da amostra quando submetida ao aquecimento a 600 °C – que representa o teor de matéria orgânica do produto. A diferença entre a massa padrão da amostra e essa perda fornece a quantidade da fração de cinzas presente no produto. As cinzas correspondem ao resíduo mineral que a amostra contém.

O cálculo da quantidade de cinzas dá-se pela diferença da massa do cadinho com as cinzas pelo peso do cadinho. Para obtenção do resultado centesimal, foi convertido o resultado para 100 g do produto (BRASIL, 2005).

$$\text{Resíduo Mineral Fixo \%} = \frac{[(\text{Peso cadinho + amostra à } 550 \text{ }^{\circ}\text{C}) - \text{Peso cadinho}] \times 100}{\text{Peso da amostra}}$$

## ANEXO V – Protocolo de análise de teor de lipídeos.

Para a determinação do teor de lipídeos foi empregado o Método de Soxhlet que compreende: pesar a amostra, colocar dentro de cartuchos apropriados e adicionar solvente hexano P.A. (Para Análise). Posteriormente, foi colocado em dessecador de vidro e pesado. Assim, os tubos foram posicionados no equipamento previamente aquecido. Os cartuchos que contém as amostras foram mergulhados no solvente, já em ebulição. Após a extração, os cartuchos foram discretamente levantados para receberem o gotejamento do condensado. A gordura extraída, depositada no tubo de ebulição, sofreu novo aquecimento para promover a evaporação do solvente. Os tubos de ebulição com gordura extraída foram colocados na estufa a 105 °C, para finalizar a evaporação do hexano. Após esse tempo, foram colocados em dessecador de vidro. Os tubos foram pesados em balança analítica e foi tirada a diferença de peso final – tubo com a gordura – e inicial – tubo – fornecendo a quantidade de gordura presente nas amostras, em gramas. O resultado foi calculado pela fórmula (AOAC, 1998):

$$\%Gordura = (100 \times N)/P$$

Para:

N = gramas de lipídios (diferença de peso)

P = gramas de amostra

## ANEXO VI – Protocolo de análise de teor de proteínas.

A análise do teor de proteínas foi realizada por meio do método Kjeldahl (AOAC, 1983). Neste, a amostra foi depositada em tubo digestor e adicionada 1 g de mistura digestora e 3,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Em seguida, esta foi aquecida até que sua coloração ficasse transparente. Neste momento, por meio de uma digestão ácida, o nitrogênio da amostra é transformado em sulfato de amônio (NH<sub>3</sub>). Em seguida, a mistura foi resfriada e levada para o aparelho de destilação no qual foi diluída em água destilada e adicionada NaOH 40%. Posteriormente, o NH<sub>3</sub> recolhido foi quantificado por titulação com HCL 0,1N, em bureta usando o indicador vermelho de metila e azul de metileno, até o ponto de viragem. Assim, a amônia é separada por destilação e quantificada por titulação. O cálculo do teor de nitrogênio será feito pela fórmula:

$$\% \text{ Nitrogênio} = \frac{V \times N \times f \times 14 \times 100}{P \text{ (mg)}}$$

No qual:

V = volume de HCl gasto na titulação,

N = 0,1 (normalidade do HCl),

f = fator de correção do ácido clorídrico (1,0366)

P = peso da amostra.

O cálculo para a obtenção da proteína bruta foi obtido com a multiplicação do valor de nitrogênio (%N) pelo fator de conversão 6,25. Baseando-se no fato de que cada proteína possui aproximadamente 16% de nitrogênio; o que se faz é determinar-se experimentalmente o conteúdo de nitrogênio e, por meio de um fator de conversão (fator geral = 100/16 = 6,25), transformar o resultado em proteínas totais.

$$\% \text{ Proteína} = \%N \times 6,25$$

**ANEXO VII – Termo de consentimento livre e esclarecido – Experimentos 10 e 15*****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE  
Análise de aceitabilidade de bebidas.***

O(a) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto: “Desenvolvimento de bebida a base de quinoa: uma alternativa ao leite de vaca”.

O objetivo dessa pesquisa é: desenvolver bebidas com a quinoa em grãos e analisar a aceitabilidade desses produtos por análise sensorial, (degustação), utilizando uma escala de avaliação que vai de “desgostei extremamente” até “gostei extremamente”. Você deverá provar as bebidas e assinalar na escala com um X a resposta que melhor reflita seu julgamento.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome será mantido em sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará por meio de 1 encontro no Laboratório de Análise Sensorial. A estimativa de realização do teste é de aproximadamente 15 minutos.

Informamos que o(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, e não há pagamento por sua colaboração.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para Juliana Lins Solorzano, na instituição: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília telefone: (61) 9265-1319, no horário: 08 às 12h e 14 às 18h.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1947.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

---

Nome / assinatura

---

Pesquisador Responsável  
Juliana Lins Solorzano  
9265-1319

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013

## ANEXO VIII – Questionário de recrutamento.

**IMPORTANTE:** AS INFORMAÇÕES CONTIDAS NESTE QUESTIONÁRIO SÃO CONFIDENCIAIS.

Ser um provador não exigirá de você nenhuma habilidade excepcional, não tomará muito do seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. Este questionário consiste em uma avaliação básica de suas aptidões sensoriais e de suas condições médicas/de saúde, para a realização do teste sensorial. Se você deseja participar, por favor, preencha este formulário assinando-o no final. Caso você atenda aos requisitos mínimos necessários, você será convidado a participar do teste sensorial.

### Dados pessoais:

Nome: \_\_\_\_\_  
 E-mail: \_\_\_\_\_  
 Telefone: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_ Trabalho: \_\_\_\_\_  
 Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Estado civil: \_\_\_\_\_ Filhos: \_\_\_\_\_

### Condições médicas:

#### Você apresenta:

Doença Celíaca  Diabetes  Colesterol alto  Rinite crônica  
 Desordens do sistema nervoso central  Deficiências visuais severas  
 Outros/comentários: \_\_\_\_\_

#### Você fuma

Sim. Quantos cigarros você fuma por dia? \_\_\_\_\_  Não

#### Você toma medicamento(s) que afeta(m) algum(ns) de seus sentidos?

Sim. Qual: \_\_\_\_\_  Não

#### Por favor, indique se algum dos alimentos abaixo te causa desconforto ou alergia:

Chocolate  Farinha de trigo  Ovos  Nozes/Castanhas  Leite  
 Soja  Frutas (qual): \_\_\_\_\_  Outros: \_\_\_\_\_

#### Você está fazendo alguma dieta especial?

Diabética  Baixo teor de sódio/sal  Vegetariana  Baixo teor de calorias  
 Outra: \_\_\_\_\_  Nenhuma

#### Com que frequência você consome bebida vegetal?

1 ou mais vezes por semana  
 1 ou mais vezes por mês  
 1 ou mais vezes a cada 3 meses  
 1 ou mais vezes a cada 6 meses  
 Raramente

#### Nos últimos 3 meses, quantas vezes você consumiu bebida vegetal?

Nenhuma vez  2 vezes  1 vez  3 ou mais vezes

Assinatura: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**ANEXO IX – Ficha sensorial**

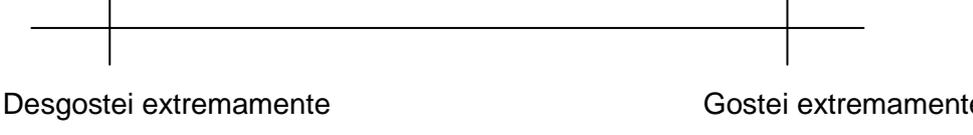
Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_

Caso você concorde em participar deste teste com **Bebida de Quinoa** e não tenha alergia e/ou problemas de saúde relacionados à ingestão de ingredientes deste produto (quinoa), por favor, assine esta ficha:

ASSINATURA: \_\_\_\_\_

Por favor, prove a amostra à sua frente e a avalie utilizando as escalas abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou da bebida. Marque com um traço **vertical** a posição da escala que melhor reflita seu julgamento quanto aos atributos da amostra avaliada. Beba água após a degustação e coma um pedaço de cream cracker, após chame o pesquisador.

**Código da amostra:**

Aceitação Global	
Aparência	
Aroma	
Sabor	

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ANEXO X – Termo de consentimento livre e esclarecido – Experimento 14*****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE  
Análise de aceitabilidade de bebidas.***

O(a) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto: “Desenvolvimento de bebida a base de quinoa: uma alternativa ao leite de vaca”.

O objetivo dessa pesquisa é: desenvolver bebidas com a quinoa em grãos e analisar a aceitabilidade desses produtos por análise sensorial, (degustação), utilizando uma escala de avaliação que vai de “desgostei extremamente” até “gostei extremamente”. Você deverá provar as bebidas e assinalar na escala um traço vertical a posição da escala que melhor reflita seu julgamento

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome será mantido em sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará por meio de 2 encontros no Laboratório de Análise Sensorial. A estimativa de realização do teste é de aproximadamente 15 minutos.

Informamos que o(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, e não há pagamento por sua colaboração.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para Dr(a). Lívia de Lacerda de Oliveira Pineli, na instituição: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília telefone: (61) 92651319, no horário: 08 às 12h e 14 às 18h.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1947.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

---

Nome / assinatura

---

Pesquisador Responsável  
Juliana Lins Solorzano  
9265-1319

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013

## REFERENCIAS

ABUGOCH, L.E.; ROMERO, L.; TAPIA, C. A.; SILVA, J.; RIVERA, M. (2008). Study of Some Physicochemical and Functional Properties of Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*) Protein Isolates *J. Agric. Food Chem*, 56, p. 4745–4750.

ADHIKARI, K.; DOOLEY, L. M.; CHAMBERS IV, E.; BHUMIRATANA, N. (2010) Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in United States. *Food Science and Technology*. USA, p. 113-118, v. 43.

AFONSO, G. **Utilização da metodologia de superfície de resposta no desenvolvimento de um molho tipo Pesto visando a atividade antioxidante.** 2006. 113f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) - Faculdade de Nutrição Humana, Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2006.

AIDOO, H.; SAKYI-DAWSON, E.; TANO-DEBORAH, K.; SAALIA, F. K. (2010) Development and characterization of dehydrated peanut–cowpea milk powder for use as a dairy milk substitute in chocolate manufacture. *Food Research International*, Ghana, n° 43, p. 79-85.

AJALA, A. R.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; WALTER, E., H, M; GRANATO, D; SANT'ANA, A. (2010) Food allergy: knowledge and practices of food handlers in restaurants. *Food Control*, v. 21, p. 1318-1321.

ALUKO R.E.; MONU E. (2003) Functional and Bioactive Properties of Quinoa Seed Protein Hydrolysates *Journal of Food Science*, Vol. 68, n. 4, p.1254-1258.

ALVAREZ-JUBETE, L.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER (2010) Nutritive value of pseudocereals and the increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science Technology*, Irlanda, v. 21, p. 106-113.

BARBOSA, E. G. **Prevalência de bactéria probiótica *L. acidophilus* – NCFM em extrato de soja fermentado e saborizado com sacarose e polpa de pêssego.** 2007. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas - UFPEL, Pelotas, 2007.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 3 ed., Campinas: Unicamp, 2007

BELTON, P.; TAYLOR, J. Pseudocereals and Less Common cereals: Grain properties and utilization potential. Springer: New York, 2002

BHARGAVA, A.; SHUKLA, S.; OHRI, D. (2006) *Chenopodium quinoa* – An Indian Perspective. *Industrial Crops and Products*, p. 73-87.

BOTELHO, R. A.; CAMARGO, E. B. Técnica Dietética: seleção e preparo de alimentos – Manual de Laboratório. Atheneu: 2008

BOYCE, J. A.; ASSA'AD, A.; BURKS, A. W.; JONES, S. M.; SAMPSON, H. A.; WOOD, R. A.; PLAUT, M.; COOPER, S. F.; FENTON, M. J.; ARSHAD, V.; BAHNA, S. L.; BECK, L. A.; BYRD-BREDBENNER, C.; CAMARGO JR, C. A.; EICHENFIELD, L.; FURUTA, G. T.; HANIFIN, J. M.; JONES, C.; KRAFT, M.; LEVY, B. D.; LIEBERMAN, P.; LUCCIOLI, S.; MCCALL, K. M.; SCHNEIDER, L. C.; SIMON, R. A.; SIMONS, F. E. R.; TEACH, S. J.; YAWN, B. P. (2010) Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-sponsored Expert Panel. *J Allergy Clin Immunol. USA*, v. 126, n.6, p. s1-s58.

BRASIL. Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/5-Releases-Tipos-de-Leite-Longa-Vida.aspx>>. Acesso em: 10 de mar. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. 4 ed. São Paulo: ILAL. 2005.

BRINEGAR, C; GOUNDAN, S. (1983) Isolation and characterization of Chenopodin, the 11S seed storage protein of quinoa (*Chenopodium quinoa*) *J. Agric. Food Chem.* 47, 182-185.

BROWN-ESTERS, O; SAVAIANO, N. D. (2012) Dietary and biological factors influencing lactose intolerance. *Internactional Dairy Journal.* USA, v. 22, p. 98-103.

CALDERELLI, V. A. S.; BENASSI, M. T.; VISENTAINER, J. V.; MATIOLI, G. (2010) Quinoa and Flaxseed: potential ingredients in the production of bread with functional quality. *Brazilian archives of biology and technology* Vol.53, n. 4, p. 981-986.

CHAUHAN G. S.; CUI W.; ESKIN N. A. M. (1999) Effect of saponin on the surface properties of quinoa proteins. *Int J Food Prop*, n. 2, p.13-22.

CHAUHAN G. S.; ESKIN N. A. M.; MILLS P. A. (1999) Effect of saponin extraction on the nutritional quality of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) proteins. *J Food Sci Technol*, 2, 123-126.

CHAUHAN G. S.; ESKIN N. A. M.; TKACHUK, R. (1992) Nutrients and antinutrients in quinoa seed. *Cereal Chem.* 69 (1), 85-88.

CHILLO, S.; CIVICA, V.; IANNETTI, M.; MASTROMATTEO, M.; SURIANO, N.; DEL NOBILE, M. A. (2010) Influence of repeated extrusions on some properties of non-conventional spaghetti, *Journal of Food Engineering*, 100, 329–335.

COMAI, S.; BERTAZZO, A.; BAILONI, L.; ZANCATO, M.; COSTA, C. V. L.; ALLEGRI, G. (2007) The content of proteic and nonproteic (free and protein-bound) tryptophan in quinoa and cereal flours. *Food Chemistry*, p. 1350-1355.

CORDEIRO, L. M. C.; REINHARDT, V. F.; BAGGIO, C. H.; WERNER, M. F. P.; BURCI, L. M.; SASSAKI, G. L.; LACOMINI, M. (2012) Arabinan and arabinan-rich pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: Structure and gastroprotective activity. *Food Chemistry. Brasil*, v. 130, p. 937-944.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Química de alimentos de Fennema*. 4 ed, porto Alegre: Artmed, 2010

DINI, I.; TENORE, G. C.; DINI, A. (2010) Antioxidant compound contents and antioxidant activity before and after cooking in sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *Food Science and Technology*. Itália, v. 43, p. 447-451.

EDWARDS, M. (2007) Quinoa: Containing beverages and methods of manufacture. *United States Patent Application Publication*, Ohio, p. 1-4.

ENATTAH NS, SAHI T, SAVILAHTI E, TERWILLIGER JD, PELTONEN L, JÄRVELÄI. (2002) Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet.*; 30:233-7.

FACCIN, G. L.; VIEIRA, L. N.; MIOTTO, L. A.; BARRETO, P. L. M.; AMANTE, E. R. (2009) Chemical, Sensorial and Rheological Properties of a New Organic Rice Bran Beverage. *Rice Science*, v.16, n.3, p.226–234.

FAO/WHO/ONU 2011 Quinoa: An ancient crop to contribute to world food security. Regional Office for Latin America and the Caribbean

FASOLI, E.; D'AMATO, A.; KRAVCHUK, A. V.; CITTERIO, A.; RIGHETTI, P. G. (2011) In-depth proteomic analysis of non-alcoholic beverages with peptide ligand libraries. I: Almond milk and orgeat syrup. *Journal of Proteomics*, Itália, n.74, p.1080–1090.

FIOOCHI, A.; SCHÜNEMANN, H. J.; BROZEK, J.; RESTANI, P.; BEYER, K.; TRONCONE, R.; MARTELLI, A.; TERRACCIANO, L.; BAHNA, S. L.; RANCÉ, F.; EBISAWA, M.; HEINE, R. G.; ASSA'AD, J. A.; SAMPSON, H.; VERDUCI, E.; BOUYGUE, G. R.; BAENA-CAGNANI, C.; CANONICA, W.; LOCKEY, R. F. (2010) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA): A summary report. *J Allergy Clin Immunol*. Milan, v. 126, n. 6, p. 1119-1128.

FOSTER-POWELL, K.; HOLT, S.H.A.; BRAND-MILLER, J.C. (2002) International table of glycemic index and glycemic load values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 76, p. 5-56.

GHARIBZAHEDI, S. M. T.; MOUSAVI, S. M.; HAMED, M.; KHODAIYAN, F.; RAZAVI, S. H. (2012) Development of an optimal formulation for oxidative stability of walnut-beverage emulsions based on gum arabic and xanthan gum using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, Irã, n. 87, p. 1611-1619.

GROETCH, M. E.; CHRISTIE, L.; VARGAS, P. A.; JONES, S. M.; SICHERER, S. H. (2010) Food Allergy Educational Needs of Pediatric Dietitians: A Survey by the Consortium of Food Allergy Research. *Journal of Nutrition Education and Behavior*. New York, v. 42, n.4, p. 259-264.

HAARD, N.F.; CHISM, G. W. Characteristics of edible Plants Tissues. In: Food Chemistry third edition, FENNEMA, O. R., Dekker, NY, 1996.

JACOBSEN, S. E., (2011) The Situation for quinoa and its production in Southern Bolivia: from Economic Success to environmental Disaster. *Journal of Agronomy and Crop Science*. doi:10.1111/j.1439e037X.2011.00475.x.

JAEKEL, R.; RODRIGUES; SILVA ,A. P. (2010) Physicochemical and sensorial evaluation of beverages with different proportions of soy and rice extracts. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 30 (2): 342-348.

JOHANSSON, S.G.; HOURIHANE, J.O.; BOUSQUET, J. *et al.* (2001) A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. v. 56, p.813–824.

JUNIOR, M. S. S. BASSINELLO, P. Z.; CALIARI, M.; VELASCO, P.; REIS, R. C.; CARVALHO, W. T. (2010) Bebidas saborizadas obtidas de extrato de quirera de arroz, de arroz integral e de soja. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 34, n. 2, p. 407-413.

KATTAN, J. D; COCCO, R. R.; JÄRVINEN, K. M. (2011) Milk and soy allergy. *Pediatr Clin N Am*. São Paulo, v. 58, p. 407-426.

KATZ, Y RAJUAN, N.; GOLDBERG, M. R.; EISENBERG, E.; HEYMAN, E.; COHEN, A.; LESHNO, M. (2010) Early exposure to cow's milk protein is protective against IgE-mediated cow's milk protein allergy. *J Allergy immunol*. Israel, vol. 126, n. 1.

KOZIOL, M. (1992) Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). *J. Food composition and analysis*, v. 5, n. 1, p. 35-68.

KOZIOL, M. J. (1990) Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*). *J. Sci. Food Agric*. 54, 211-219.

KWAK, H.; LEE, W.; LEE, M. (2012) Revisiting lactose as an enhancer of calcium absorption. *International Daily Journal*. Korea do Sul, v. 22, p. 147-151.

LYLY, M.; OHLS, N.; LAHTEENMAKI, L. L.; SALMENKALLIO-MARTTILA, M.; LIUKKONEN, K.; KARHUNEN, L.; POUTANEN, K. (2010) The effect of fibre amount, energy level and viscosity of beverages containing oat fibre supplement on perceived satiety. *Food & Nutrition Research*, Finlândia, v. 54, n. 2149, p. 1-8.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. *Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia*. 11.ed. São Paulo: Roca, 2005.

MAHONEY, J. M.; VELING, M.C.; MIMS, J. W. (2011) Food allergy in adults and children. *Otolaryngol Clin N Am*. Winston-Salen, v. 44, p. 815–833.

MANSOOR, D. K.; SHARMA, H. P. (2011) Clinical presentation of food allergy. *Pediatr Clin N Am*. Washington, v. 58, p. 315-326.

MEDINA, W. T; LLERA, A. A.; CONDORI, J. L.; AGUILERA, J. M. (2011) Physical Properties and Microstructural Changes during Soaking of Individual Corn and Quinoa Breakfast Flakes. *Journal of Food Science*. Chile, v. 76, n. 3, p. E254-E265.

MEDINA, W.; SKURTYS, O.; AGUILERA, J. M. (2010) Study on image analysis application for identification Quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd) geographical provenance. *LWT – Food, science and Technology*. Chile, n. 43, p. 238-246.

MESSIA, M. C.; CANDIGLIOTA, T.; MARCONI, E. (2007). Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolyzed milk. *Food Chemistry*, 104, 910–917.

MEZQUITA, P. C.; GATICA, V. U.; QUINTANILLA, V. R.; PALACIOS, N. R.; ZAVALA, R. A. (2011) Desarrollo de producto sobre la base de harinas de cereales y leguminosa para niños celíacos entre 6 y 24 meses; I: Formulación y aceptabilidad. *Nutrición hospitalaria*, Chile, v. 26, n. 1, p. 152-160.

MIRANDA, M. VEGA-GALVEZA, A.; LOPEZ, J.; PARADAC, G.; SANDERS, M.; ARANDA, M.; URIBEA, E.; DI SCALA, K. (2010) Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seed (*Chenopodium quinoa* Willd.) *Industrial Crops and Products*. Chile, v. 32, p. 258-263.

MIRANDA, M.; VEGA-GÁLVEZ, A.; QUISPE-FUENTES, I.; RODRÍGUEZ, M. J.; MAUREIRA, H.; MARTÍNEZ, E. A. (2012) Nutritional aspects of six quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.) ecotypes from three geographical areas of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72 (2), p. 175-181.

MITCHELL, C. R.; MITCHELL, P. R. Nutritional rice milk production Patent Number: 4,744,992, Date of Patent: May 17, 1988.

MORETTO, E. FETT, R.; GONZAGA, L. V.; KUSKISKI, E. M. *Introdução à Ciência de Alimentos*. 2. ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2008, 255p.

MURILLO, A. Z. (2009) Intolerancia alimentaria. *Endocrinol Nutr*. Espanha, v. 56, n. 5, p. 241-250.

NICHELE, V.; SIGNORETTO, M.; GHEDINI, E. (2011) Galactosidase entrapment in silica gel matrices for a more effective treatment of lactose intolerance. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 71, 10–15.

PÁSKO, P.; ZAGRODZKI, P.; BARTON, H; CHLOPICKA, J.; GORINSTEIN, S. (2010) Effect of Quinoa Seeds (*Chenopodium quinoa*) in Diet on some Biochemical Parameters and Essential Elements in Blood of High Fructose-Fed Rats. *Plant Foods Hum Nutr*. Polônia, v. 65, p. 333-338.

PEÑA, M. M.; SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; MARTÍN-BELLOSO, O. (2010) Isoflavone profile of a high intensity pulsed electric field or thermally treated fruit juice-soymilk beverage stored under refrigeration. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Espanha, n. 11, p. 604-610.

RECHE, M.; PASCUAL, C.; FIANDOR, A.; POLANCO, I.; RIVERO-URGELL, M.; CHIFRE, R.; JOHNSTON, S.; MARTÍN-ESTEBAN, M. (2010) The effect of a partially hydrolysed formula based on rice protein in the treatment of infants with cow's milk protein allergy. *Pediatric Allergy and Immunology*, Espanha, v. 21, p. 577-585.

RÖDER, M.; VIETHS, S.; HOLZHAUSER, T. (2011) Sensitive and specific detection of potentially allergenic almond (*Prunus dulcis*) in complex food matrices by Taqman® real-time polymerase chain reaction in comparison to commercially available protein-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Analytica Chimica Acta*, Alemanha, n. 685, p.74–83.

ROSTANGO, M. A., PALMA, M., & BARROSO, C. G. (2007). Microwave assisted extraction of soy isoflavones. *Analytica Chimica Acta*, n. 588(2), p. 274–282.

RUALES, J.; NAIR, B. M. (1993) Content of fat vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Food Chem*, 48, 131-136.

SAN AMRTIN, R.; NDJOKO, K.; HOSTETTMANN, K. (2008) Novel molluscicide against *Pomacea canaliculata* based on quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins. *Crop Protection*, 27, 310–319.

SCALIN, L. A.; BURNETT, C. Quinoa grain processing products. *United States Patent Application Publication*, Florida, p. 1-8, ago. 2010.

SCALIN, L. A.; STONE, M. B.; BURNETT, C. Quinoa concentrate production and functionality. *United States Patent Application Publication*, Florida, p. 1-19, jul. 2010.

SGARBIERI, V. C. Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradação, modificação. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

SICHERER, S. H.; SAMPSON, H. A. (2010) Food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 v. 125p. 116-25.

SIMOPOULOS, A. P. (2001). Evolutionary aspects of diet, the omega-6/ omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 60, 502e507.

SMEDMAN, A.; LINDMARK-MANSSON, H.; DREWNOWSKI, A.; EDMAN, A. M. (2010) Nutrient density of beverages in relation to climate impact. *Food & Nutrition Research*, n.54, v.5170, p. 1-8.

SPEHAR, C. R. *Quinoa: alternativa para a diversificação agrícola e alimentar*. Planaltina - DF: Embrapa Cerrados, 2007.

STIKIC, R.; GLAMOCLIJ, D.; DEMIN, M.; VUCELIC-RADOVIC, B.; JOVANOVIC, Z.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D.; JACOBSEN, S.; MILOVANOVIC, M. (2012) Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of Cereal science*, Serbia, n. 55, p. 132-138.

TIWARI, R. S.; VENKATACHALAM, M.; SHARMA, G. M.; SU, M.; ROUX, K. H.; SATHE, S. K. (2010) Effect of food matrix on amandin, almond (*Prunus dulcis* L.) major protein, immunorecognition and recovery. *LWT - Food Science and Technology*, Florida, n. 43, p. 675–683.

TPDI - Tetra Pak Dairy Index. (2011) Classe média emergente impulsionará crescimento global de laticínios até 2020. *Fonte anual de notícias e de informações sobre a indústria de laticínios*. v. 4, p. 3-5.

VALENCIA-CHAMORRO, S. A. (2004) Quinoa. In: Caballero B.: *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*. Vol. 8. Academic Press, Amsterdam: p. 4895–4902.

VEGA-GÁLVEZ, A.; DAGNINO-SUBIABRE, A.; TERREROS, G.; LÓPEZ, J.; MIRANDA, M.; DI SCALA, K. (2011) Mathematical Modeling of Convective Air Drying of Quinoa-Supplemented Feed for Laboratory Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Brasil, v. 54, n. 1, p. 161-171.

VILCHE, C.; GELY, M.; SANTALLA, E. (2003) Physical Properties of Quinoa Seeds, *Biosystems Engineering*, 86 (1), 59–65

WAAT, B.; MERRIL, A.L. (1963) *Composition of foods: raw, processed, prepared*. Washington, DC: consumer and food Economics Research Division/ Agricultural Research Service. 198p. (Agriculture Handbook, 8).

WASZCZYNSKYJ, K.; NELSEN, T. (1996) Collaborative study on sensory and volatile compound analysis of oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 73, n. 2, p. 157-166.

XIAO, C. W.; WOOD, C. M.; ROBERTSON, P.; GILANI, G. S. (2012) Protease inhibitor activities and isoflavone content in commercial soymilks and soy-based infant formulas sold in Ottawa, Canada. *Journal of Food Composition and Analysis*, Ontario, n. 25, p. 130-136.

ZEIGER, R. S.; SAMPSON, H. A.; BOCK, S. A.; BURKS, J. R. A. W.; HARDEN, K.; NOONE, S.; MARTIN, D.; LEUNG, S.; WILSON, G. (1999) Soy allergy in infants and children with IgE associated cow's milk allergy. *The Journal of Pediatrics*. v.134, n. 5, p. 614-622.

