



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

ANA PAULA ROCHA CAMPOS

ESTUDO DO PROCESSO DE CONSERVAÇÃO DO TUCUPI

BELÉM – PA, 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

ANA PAULA ROCHA CAMPOS

ESTUDO DO PROCESSO DE CONSERVAÇÃO DO TUCUPI

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Alimentos da Universidade Federal do
Pará para obtenção do Título de Mestre
em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr^a Ana Vânia Carvalho

Co-Orientadora: Dr^a Rafaella Mattietto

BELÉM – PA, 2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação
(CIP) Sistema de Bibliotecas da UFPA

Campos, Ana Paula Rocha, 1990-
Estudo do processo de conservação do tucupi /
Ana Paula Rocha Campos. - 2016.

Orientadora: Ana Vânia Carvalho;
Coorientadora: Rafaella de Andrade
Mattietto.

Dissertação (Mestrado) - Universidade
Federal do Pará, Instituto de Tecnologia,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Belém, 2016.

1. Mandioca-Processamento. 2. Fermentação.
3. Ácido cianídrico. I. Título.

CDD 22. ed. 664.23

ANA PAULA ROCHA CAMPOS

ESTUDO DO PROCESSO DE CONSERVAÇÃO DO TUCUPI

Banca examinadora:

Profª Drª Ana Vânia Carvalho
(EMBRAPA/PPGCTA/UFPA - Orientadora)

Drª Rafaella de Andrade Mattietto
(EMBRAPA - Co-Orientadora)

Profº Dr. Rosinelson da Silva Pena
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Membro Interno)

Drª Laura Figueiredo Abreu
(EMBRAPA - Membro Externo)

Profª Drª Consuelo Lucia de Sousa Lima
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Membro Suplente)

Dedico aos meus amados pais, Paulo e Elisabeth, por serem os meus maiores exemplos; À minha querida irmã Mara, pelo incentivo e amizade.

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre guiar os meus passos e abençoar as minhas escolhas.

Aos meus amados pais, Paulo e Elisabeth, por todo amor, carinho e apoio incondicional ao longo da minha vida.

À minha querida irmã Mara, por sempre estar ao lado, me aconselhando, ajudando e me dando força nos momentos difíceis.

À Dr^a Ana Vânia, pela confiança, dedicação, apoio e valiosa orientação que proporcionou ao longo deste trabalho. Vou levar para minha vida todos os ensinamentos que tive nesse tempo de convivência. Muito obrigada por tudo.

À Dr^a Rafaella Mattietto, pela oportunidade de poder trabalhar juntas novamente, por toda dedicação, atenção e carinho na co-orientação desse trabalho. Muito obrigada!

Ao prof^o Dr. Rosinelson Pena e Dr^a Laura Abreu por aceitaram participar da banca examinadora e por todas as contribuições para a realização deste trabalho.

Aos meus queridos avós que fazem das minhas conquistas as suas: Manoel (*in memoriam*) e Genilda.

Em especial à Trícia, Juliana e Breno, por terem ajudado desde o início do desenvolvimento deste trabalho, compartilhando amizade, risadas e momentos inesquecíveis.

Aos meus amigos de laboratório, Roseane, Fernanda, Laiane, Tamirys, Vitória e Raiza. Por tornarem meus dias mais divertidos, foram momentos inesquecíveis que compartilhamos ao longo desse trabalho.

Aos provadores da análise sensorial, pela paciência e enorme colaboração.

Aos amigos de todas as horas, das alegrias, das tristezas, das brincadeiras e, acima de tudo, do grande companheirismo e sinceridade: Alessandra, Stefanie, Tito e Samira.

À minha prima Adriana que sempre esteve presente em todos os momentos e disposta a ajudar.

Aos meus amigos do mestrado, pela amizade que vou levar pra vida inteira e por serem pessoas importantes nesses dois anos de convivência: Blenda, Patrícia, Pino, Frank e Gilson. Jamais esquecerei vocês!

À CAPES pela provisão da bolsa de mestrado

À EMBRAPA Amazônia Oriental, pois através dela foi possível a realização desse trabalho.

A todos, mesmo sem serem mencionados, que de certa forma ajudaram e estiveram presentes ao longo dessa jornada, o meu Muito Obrigada!

RESUMO

Na fabricação da farinha de mandioca tem-se um líquido residual denominado manipueira, o qual, por meio do processo de fermentação e cocção, obtém-se o tucupi. Na fabricação do tucupi são utilizadas raízes de mandioca com elevado teor de cianeto que, quando ingerido, pode causar intoxicação caso o processo de destoxificação não seja efetivo. O objetivo deste trabalho foi estudar o processo tecnológico adequado para a obtenção do tucupi, testando-se a influência de diferentes tempos de fermentação e cocção na redução de micro-organismos e nos teores de cianeto total e livre no produto final. As amostras comerciais de tucupi apresentaram diferenças estatísticas nos teores de pH, acidez titulável, sólidos solúveis, cianeto total e cianeto livre. Quanto à qualidade microbiológica, 80% das amostras apresentaram ausência de coliformes termotolerantes, porém altos níveis populacionais de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras. Durante as etapas de processamento de tucupi em dois estabelecimentos processadores, observou-se que, ao longo do processamento, ocorreu um aumento significativo nos teores de acidez titulável e de sólidos solúveis, além, de uma diminuição significativa nos teores de pH e cianeto total e livre. Embora o planejamento experimental não tenha gerado modelo preditivo, selecionaram-se os tempos de 24 horas de fermentação e 40 minutos de cocção como parâmetros para o processamento do tucupi. O tucupi elaborado conforme os parâmetros ótimos de processamento apresentou-se de acordo com o padrão de identidade e qualidade do tucupi estipulado pela Agência de Defesa Agropecuária do Pará. Ao longo do estudo da vida de prateleira o tucupi permaneceu estável quanto às características físico-químicas, químicas e microbiológicas, durante o período de armazenamento. A análise sensorial indicou depreciação da qualidade sensorial do produto com 56 dias de armazenamento para os atributos avaliados. Ao longo do estudo, pôde-se observar que as características do produto dependem diretamente da variedade da mandioca, do tempo de fermentação e do tempo de cocção. Portanto, a padronização do processamento adequado faz-se necessária para garantir níveis seguros de cianeto e qualidade microbiológica para o tucupi.

Palavras-chave: mandioca, manipueira, tucupi, processamento, ácido cianídrico.

ABSTRACT

In the manufacture of cassava flour has a residual liquid, which, through fermentation and cooking process obtained tucupi. In the manufacture of tucupi are used cassava roots with high cyanide content, when ingested, can cause poisoning if the processing is not effective detoxification. The objective of this work was to study the technological process suitable for obtaining tucupi, testing the influence of different times of fermentation and cooking in reducing microorganisms and cyanide content in the final product. Commercial samples tucupi showed statistical differences in contents in pH, titratable acidity, soluble solids, total cyanide and free cyanide. Regarding microbiological quality, 80% of the samples showed no coliformes, however high levels in the counts of mesophilic aerobic bacteria and molds and yeasts. During the processing steps of tucupi in two establishments processors, it was observed, that throughout the process there was a significant increase in contents of titratable acidity and soluble solids, in addition, a significant decrease in contents of pH, the total cyanide and free. Although the experimental design has not generated predictive model, we selected time of 24 hours fermentation and 40 minutes of cooking as parameters for processing the tucupi. The tucupi elaborate according with the optimal parameters of processing showed in accordance with the standard of identity and quality of tucupi stipulated by the Agency Defense Agricultural of Para. Throughout the shelf life study, the tucupi remained stable regarding the characteristics physico-chemical, chemical and microbiological, during the storage period. The sensory analysis showed depreciation of the sensory quality of the product with 56 days of storage for the evaluated attributes. Throughout the study, it was observed that the product characteristics depend directly on the variety of cassava, fermentation time and cooking time. Therefore, the standardization of appropriate processing is necessary to ensure safe levels of cyanide and microbiological quality for tucupi.

Keywords: Cassava, manipueira, tucupi, processing, cyanide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Formação do íon cianeto e do ácido cianídrico a partir da degradação do glicosídeo cianogênico linamarina por ação enzimática	19
Figura 2 Fluxograma do processamento do tucupi	23
Figura 3 Descascador mecânico	24
Figura 4 Prensa artesanal (tipiti) e prensa mecânica	26
Figura 5 Fermentação da manipueira em tanques de polietileno	27
Figura 6 Armazenamento do tucupi em câmara tipo B.O.D, a 10 °C	33
Figura 7 Gráfico de contorno para a resposta do teor de cianeto total	62
Figura 8 Gráfico de contorno para a resposta do teor de cianeto livre	63
Figura 9 Índice de aceitação dos atributos sensoriais durante o período de armazenamento do tucupi.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição físico-química da manipueira segundo diversos autores	21
Tabela 2 Metodologia de análise de cianeto total e livre, com leitura em espectrofotômetro a 605 nm	36
Tabela 3 Níveis codificados e reais das variáveis independentes	38
Tabela 4 Quadro de ensaios do planejamento composto central rotacional	39
Tabela 5 pH, acidez titulável e sólidos solúveis em 10 amostras de tucupi comerciais da cidade de Belém-PA	43
Tabela 6 Dosagem de cianeto total e livre nas amostras de tucupi da cidade de Belém-PA	45
Tabela 7 Determinação de coliformes termotolerantes em amostras* comerciais de tucupi da cidade de Belém-PA	46
Tabela 8 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas em amostras* comerciais de tucupi da cidade de Belém-PA	47
Tabela 9 Contagem de bolores e leveduras em amostras* comerciais de tucupi da cidade de Belém-PA	49
Tabela 10 Variação do tempo de fermentação da manipueira e do tempo de cocção do tucupi em 10 estabelecimentos processadores, na cidade de Belém-PA	51
Tabela 11 Resultados de pH das amostras coletadas durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos comerciais, na cidade de Belém-PA	52
Tabela 12 Resultados de acidez total titulável durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos comerciais, na cidade de Belém-PA	53
Tabela 13 Resultados de sólidos solúveis totais durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos comerciais, na cidade de Belém-PA	54
Tabela 14 Dosagem de cianeto total e livre durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos comerciais, na cidade de Belém-PA	55
Tabela 15 Teor de cianeto total e livre dos ensaios realizados	59
Tabela 16 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística, para cada fator no modelo codificado para o teor de cianeto total	59

Tabela 17 Análise de variância para a resposta do teor de cianeto total	60
Tabela 18 Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística, para cada fator no modelo codificado para o teor de cianeto livre	61
Tabela 19 Análise de variância para a resposta do teor de cianeto livre	61
Tabela 20 Características físico-químicas e sensoriais dos experimentos de processamento do tucupi com 12 e 24 horas de fermentação e 40 minutos de cocção.....	64
Tabela 21 Caracterização físico-química e microbiológica do tucupi processado nas condições otimizadas.....	65
Tabela 22 Características sensoriais do tucupi otimizado	67
Tabela 23 Caracterização físico-química do tucupi durante 50 dias de armazenamento sob refrigeração.....	68
Tabela 24 Teores de cianeto total e livre durante 50 dias de armazenamento sob refrigeração.....	69
Tabela 25 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras e coliformes totais e termotolerantes durante o período de armazenamento do tucupi.....	70
Tabela 26 Média dos resultados dos parâmetros sensoriais atribuídos ao tucupi, ao longo do período de armazenamento sob refrigeração.....	72

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
3. REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1. MANDIOCA	16
3.2. GLICOSÍDIO CIANOGENICO	17
3.3. MANIPUEIRA	20
3.4. TUCUPI	22
3.5. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	28
3.6. ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1. MATÉRIA-PRIMA	32
4.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	33
4.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	37
4.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	38
4.5. CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO FINAL	39
4.6. ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1. ANÁLISE DO TUCUPI COMERCIAL	43
5.2. ANÁLISE DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO DO TUCUPI COMERCIAL	50
5.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	58
5.4. CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO FINAL	65
5.5. ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA	68
6. CONCLUSÃO	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXO	84

1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) destaca-se como importante produto da agricultura familiar no Norte e Nordeste do Brasil, onde números expressivos de indivíduos do meio rural vivem da produção e processamento da farinha e outros produtos, constituindo atividades de baixo investimento e fácil comercialização.

Pertence ao grupo das plantas cianogênicas, ou seja, que acumula glicosídeos cianogênicos, dos quais o principal e em maior concentração na mandioca é a linamarina. Os principais problemas de saúde associados à dieta altamente rica em compostos cianogênicos incluem: o hipertiroidismo, resultante do metabolismo do tiocianato no metabolismo do iodo; a neuropatia atáxica tropical, uma desordem neurológica; e o konzo, uma paralisia rápida e permanente (OSUNTOKUM, 1981; TYLLESTAR, 1992; ROSLING, 1994). As técnicas de processamento industrial para diminuição do princípio tóxico baseiam-se em processos de maceração, embebição em água, fervura, torrefação ou fermentação das raízes de mandioca, ou ainda, a combinação destes processos (CAGNON et al., 2002).

No processo de produção da farinha tem-se um líquido residual, obtido na prensagem da massa ralada da mandioca, denominado manipueira, que é descartado ou transformado em tucupi (CEREDA, 2002). Segundo Cagnon et al. (2002), o tucupi é o molho parcialmente fermentado da manipueira, que fica em repouso por 1 ou 2 dias, para a decantação do amido, o qual é posteriormente removido, ocorrendo naturalmente a sua fermentação. Após essa etapa, é realizada uma fervura, adicionando-se condimentos, e obtendo assim o tucupi. Este, geralmente, é embalado em garrafas de polietileno ou similar para ser comercializado.

Durante as etapas de beneficiamento da mandioca e consequentemente da obtenção do tucupi, observa-se a ocorrência de alguns fatores críticos que podem prejudicar a sua qualidade e a segurança alimentar dos seus consumidores. Entre esses, pode-se destacar: as precárias condições higiênico-sanitárias das unidades processadoras, a presença residual de ácido cianídrico acima dos níveis seguros

para o consumo humano e o uso indiscriminado de corantes artificiais na obtenção da farinha e do tucupi. Devido à predominância de produção do tucupi em nível artesanal, há a ausência de processos com parâmetros estabelecidos que garantam o padrão de identidade e qualidade recentemente estabelecido por órgãos reguladores locais e nacionais (ABREU; MATTIETTO, 2014).

Segundo a Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001, que dispõe sobre os padrões microbiológicos para alimentos, as contaminações microbiológicas podem ocorrer em todas as etapas pelas quais passam os produtos agrícolas, desde a colheita até o processamento, embalagem, transporte, estocagem e por diversos meios, como o solo, a água e o ar, incluindo as diversas formas de contato físico, mecânico ou manual.

Para o tucupi, informações na literatura técnico-científica ainda são escassas, tornando-se necessários estudos para a otimização de um processo tecnológico adequado para a conservação do mesmo, bem como conhecer a influência do tratamento fermentativo e térmico sobre a flora microbiana e os teores de cianeto total e cianeto livre, uma vez que esse produto é obtido do processamento da mandioca brava, que possui altas concentrações de compostos cianogênicos.

2. OBJETIVOS

GERAL:

Estudar o processo tecnológico adequado para a obtenção do tucupi, com base no levantamento do processamento realizado em estabelecimentos processadores e em ensaios laboratoriais.

ESPECIFICOS:

- Determinar as diferenças nas características físico-químicas, microbiológicas e no teor de ácido cianídrico em amostras comerciais de tucupi, adquiridas no comércio da cidade de Belém – PA;
- Determinar as diferenças nas características físico-químicas e no teor de cianeto total e livre nas diferentes etapas do processamento de tucupi, em amostras adquiridas de dois estabelecimentos comerciais da cidade de Belém – PA;
- Estabelecer os melhores parâmetros para o processo de produção do tucupi (tempos de fermentação e cocção) em função do teor de cianeto total e livre;
- Realizar o estudo de vida de prateleira do tucupi obtido por processo tecnológico otimizado.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. MANDIOCA

A mandioca é uma planta dicotiledônea da família Euphorbiaceae e gênero *Manihot*. Este gênero apresenta pelo menos 5000 variedades de mandioca principalmente na América do Sul, África, Ásia e México, sendo que a única cultivada para fins alimentícios é a *Manihot esculenta* Crantz, a qual pode ser de variedade (cultivar) amarga (também chamada de brava) ou doce (também chamada de mansa), o que depende da quantidade do componente tóxico presente na planta. Sua toxicidade é classificada em função do teor de cianeto, como: mansas é denominação da mandioca que contém menos de 50 mg HCN/kg de raiz fresca sem casca, moderadamente venenosa apresenta de 50 a 100 mg de HCN/kg de raiz fresca sem casca, e venenosa ou brava, a qual apresenta um teor de HCN acima de 100 mg de HCN/kg de raiz fresca sem casca (CAGNON et al., 2002; BAYOUMI et al., 2010; NASSAR; ORTIZ, 2010; SORNYOTHA et al., 2010).

Como alimento, a mandioca é considerada a terceira fonte mais eficiente de calorias na dieta humana em regiões tropicais, depois do arroz e do milho, a qual apresenta uma alta digestibilidade, elevada quantidade de amido e pequenas quantidades de aminoácidos essenciais, vitaminas e ferro, e é comumente usada no combate à fome em muitos países e consumida em uma grande variedade de formas (IDIBIE et al., 2007; WOBETO et al., 2007; NASSAR; ORTIZ, 2010; SORNYOTHA et al., 2010).

A mandioca é um dos principais ícones da agricultura brasileira. O seu plantio apresenta vantagens que podem justificar a alta produtividade com baixo custo, crescimento em solos pobres, resistência ao clima seco, além da resistência contra pragas (CARDOSO et al., 2005). O Brasil participa com mais de 15% da produção mundial e atualmente é o segundo maior produtor. A produção brasileira, segundo dados do IBGE, foi de 23,7 milhões de toneladas de raízes, em janeiro de 2016, com um aumento de 4,2% em relação a 2015. Dentre os estados brasileiros, o Pará é o principal produtor, o qual contribuiu com 5 milhões de toneladas (IBGE, 2016).

A mandioca, devido ao seu valor nutricional, desempenha papel importante na alimentação do brasileiro. A influência indígena é marcante, tanto nas maneiras de cultivá-la, como no modo de manipular suas raízes e folhas para o preparo de comidas. Na culinária brasileira, as receitas à base de mandioca se ajustam segundo os hábitos alimentares de diferentes influências, próprios das diversas regiões culturais do país, visto que grande variedade de pratos são elaborados a partir de receitas de cunho bastante regionais (CAMARGO, 2005).

3.2. GLICOSÍDIO CIANOGENICO

São consideradas plantas cianogênicas aquelas que contêm como princípio ativo o ácido cianídrico (HCN). Este é um líquido incolor, muito volátil, considerado como uma das substâncias mais tóxicas que se conhece. Nas plantas, o cianeto encontra-se ligado a carboidratos denominados glicosídeos cianogênicos, sendo liberado após hidrólise (TOKARNIA et al., 2000).

Os glicosídeos cianogênicos podem ter funções diferentes em plantas, incluindo a defesa química, interações planta-inseto, armazenamento de nitrogênio, fagoestimulantes, além de serem compostos intermediários na síntese ou catálise de outros metabólitos de plantas sem um papel eco-fisiológico específico. Ganjewala et al. (2010) citam a toxicidade dos glicosídeos cianogênicos como uma preocupação de segurança alimentar, e ainda que são produzidos em mais de 2600 espécies de plantas, entre elas a cevada, o sorgo e a mandioca (JANSEN VAN RIJSSEN et al., 2013).

A concentração dos glicosídeos cianogênicos é variável nas diversas espécies de plantas e em uma mesma espécie pode variar dependendo do clima e outras condições que influenciam no crescimento da planta, como adubação nitrogenada, deficiência de água e idade (LIMA JÚNIOR et al., 2010).

O conteúdo cianogênico relacionado à idade do vegetal mostra que folhas jovens contêm altos níveis de glicosídeos cianogênicos; já folhas maduras e velhas apresentam 50% e 70% menos, respectivamente; enquanto que folhas senescentes contêm quantidades quase que negligenciáveis desses cianocompostos. Por outro lado, partes do vegetal como folhas, caule e córtex (casca) das raízes contêm maior

concentração do glicosídeo cianogênico (>400 mg/kg HCN eq.), em relação ao parênquima das raízes (<100 mg/kg HCN) (NAMBISAM, 2011).

Os glicosídeos cianogênicos são derivados a partir de dois precursores de aminoácidos, a L-valina e a L-isoleucina. Os principais glicosídeos cianogênicos encontrados na mandioca são a linamarina e a lotaustralina, sendo a linamarina o marjoritário (aproximadamente 90%). A linamarina (2-hidroxi isobutironitrila- β -D-glicopiranosil) está presente em vacúolos por toda a planta, principalmente na casca da raiz e nas folhas (IDIEBIE et. al., 2007; GANJEWALA et al., 2010; NAMBISAM, 2011).

Os compostos cianogênicos presentes em alguns tipos de vegetais utilizados na alimentação humana, especialmente na mandioca, por si só não são tóxicos mas liberam o ácido cianídrico (HCN), responsável pela toxidez, após a ação de certas enzimas. Essas enzimas do tecido vegetal entram em contato com os compostos cianogênicos quando o tecido vegetal é triturado, ou seja, durante o processamento ou durante a ingestão do alimento (ARAÚJO, 2008).

A biossíntese da linamarina é composta por três fases. Na primeira, o aminoácido precursor é convertido em aldoxima por N-hidroxilação do grupo amino-mãe. Na segunda, a aldoxima é convertida em cianidrinas. Na terceira fase ocorre a glicosilação, através de uma enzima solúvel, a uridina difosfato (UDP) glicoseltransferase (GANJEWALA et al., 2010).

Glicosídeos cianogênicos são catabolizados a acetonacianidrina e açúcares, por ação da enzima linamarase (β -glicosidase) em pH baixo. A degradação da acetonacianidrina é catalisada por ação da enzima hidroxinitriloliase, resultando na liberação de uma acetona e de um íon cianeto, o qual é convertido em ácido cianídrico (Figura 1) (OLIVEIRA, 2012).

O HCN é desintoxicado por duas vias distintas. A primeira via leva à formação de asparagina. A segunda via leva à formação de um tiocianato catalisado por rodanase. Os glicosídeos cianogênicos e seus produtos de degradação, cianidrinas e HCN, são conhecidos em conjunto como cianogênicos (IDIEBIE et. al., 2007; GANJEWALA et al., 2010; KOLIND-HANSEN; BRIMER, 2010).

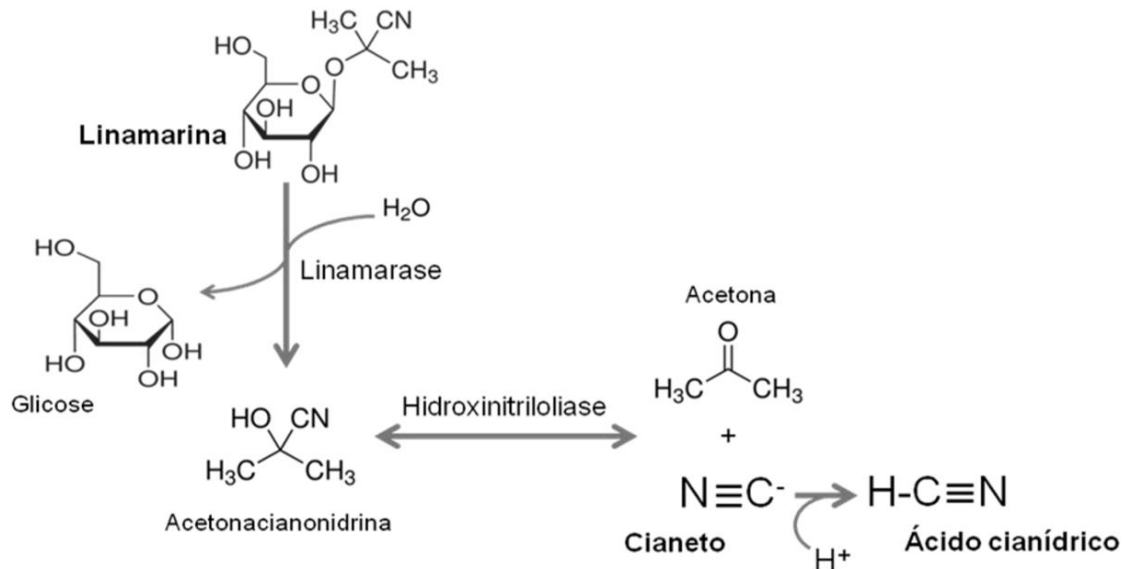


Figura 1: Formação do íon cianeto e do ácido cianídrico, a partir da degradação do glicosídeo cianogênico linamarina, por ação enzimática (Oliveira, 2012).

A intoxicação por glicosídeos cianogênicos ocorre por ingestão de mandioca crua ou alimentos parcialmente transformados, os quais apresentam ácido cianídrico (WHO, 2012).

O limite para que haja intoxicação por uma substância tóxica é denominado de Dose Letal (DL), estabelecida em ensaios experimentais em animais. A DL_{50} representa a quantidade de substância tóxica que, em uma dose única, causa a morte de 50% dos indivíduos que a ingeriram (CEREDA; LOPES, 2003). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu para o cianeto a dose de 10 mg HCN/kg de peso vivo, entretanto, esse limite foi estabelecido para HCN inalado. Sabe-se que, abaixo da dose letal, existe um mecanismo de destoxificação que transforma o cianeto em tiocianato, na presença da enzima rodanase e da cisteína (aminoácido doador de enxofre). O tiocianato formado não é mais tóxico e é eliminado pela urina (CEREDA, 2002).

O ácido cianídrico tem uma influência sobre a cadeia de transporte de elétrons na respiração, levando a uma diminuição da utilização de oxigênio e produção de adenosina trifosfato (ATP). Manifesta-se clinicamente no sistema nervoso central e em distúrbios cardiovasculares que podem resultar em coma e morte. O consumo da mandioca e seus produtos pode ainda resultar na doença do kongo, uma paralisia irreversível das pernas, e na neuropatia atáxica tropical, uma

desordem neurológica observada em pessoas idosas. Além disso, o bócio e o cretinismo podem ser agravados pelo cianeto, devido à inibição competitiva de absorção de iodo causada pelo tiocianato, um metabólito do cianeto ingerido, que é semelhante em tamanho à molécula de iodo (WHO, 2012).

3.3. MANIPUEIRA

O efluente da produção da farinha de mandioca tem como principal componente a manipueira. É o resíduo líquido resultante da prensagem deste tubérculo, que contém elevada concentração de matéria orgânica, notadamente carboidratos, além de cianeto. A linamarina e seus metabólitos, por serem solúveis em água são arrastados com a manipueira (CASSONI, 2008). Segundo Fioretto (2001), a manipueira é caracterizada como um extrato líquido, com aspecto leitoso, contendo fécula (5 a 7%), glicose, ácido cianídrico, bem como outras substâncias orgânicas (carboidratos, proteínas e lipídeos) e nutrientes minerais, e considera sua composição química variável, pois depende de fatores como variedade de mandioca processada e das condições edafoclimática do local onde foi cultivada. A Tabela 1 apresenta a composição físico-química da manipueira, segundo diversos autores.

A manipueira causa impacto negativo no meio ambiente quando dispensado em mananciais e no solo, devido à carga orgânica poluente. A preocupação com a manipueira é de importância relevante, já que a produção da farinha de mandioca gera entre 267 a 419 litros desse resíduo para cada tonelada de raiz processada (CEREDA, 2002).

Tabela 1: Composição físico-química da manipueira segundo diversos autores.

Componentes	Damasceno, 1998	Cereda, 2002	Nitschke, 2003	Maróstica, 2006
Umidade (%)	-	93,75	-	-
Acidez titulável	-	3, 27	-	-
pH	5,50	6,27	5,8	5,3
Fósforo (mg/L)	83,30	160,84	244,5	368,8
Potássio (mg/L)	895	1863,5	3472,6	3641
Magnésio (mg/L)	173	405	519	438,1
Ferro (mg/L)	8	15,35	7,8	2,72
Cobre (mg/L)	0,75	1,15	1	1,11
Zinco (mg/L)	4,5	4,2	2,8	3,01
Manganês (mg/L)	1,5	3,7	1,7	3,46
Enxofre (mg/L)	38	19,5	154	61,35
Cálcio (mg/L)	184	227,5	292,53	2336
Nitrogênio Total (mg/L)	1,6	0,49	2,08	1,72

Em algumas indústrias, a manipueira gerada tem como destino as lagoas de estabilização, aonde sofre ação de agentes naturais, como: fotodecomposição, precipitação e atividade microbiana local. Não ocorre qualquer tratamento adicional no sentido da otimização do processo, para o aproveitamento deste efluente como um subproduto. Esse resíduo tende a penetrar no solo, alcançando lençóis freáticos e contaminando aquíferos, além de produzir odor desagradável, atrair insetos e degradar a vegetação adjacente (CAMILI, 2007).

Atualmente, as alternativas para a valorização da manipueira, por meio do seu aproveitamento, tem sido muito incentivadas, uma vez que podem contribuir para a redução da poluição ambiental, bem como permitir a valorização econômica desse resíduo, tornando-o um subproduto e, deste modo, agregando valor ao processo de agroindustrialização (CAMILI, 2007).

3.4. TUCUPI

Cagnon et al. (2002) define o tucupi como sendo um molho parcialmente fermentado da manipueira, que fica em repouso por 1 ou 2 dias para a decantação do amido, o qual é posteriormente removido, ocorrendo naturalmente a fermentação. Após essa etapa, é realizada uma cocção com adição de condimentos, obtendo assim o tucupi, o qual é geralmente embalado em garrafas de polietileno ou similar para ser comercializado (COHEN et al., 2007).

A Agência de Defesa Agropecuária do Pará, através da Comissão Estadual de Padronização de Produtos de Origem Vegetal, estabeleceu um regulamento criando o Padrão de Identidade e Qualidade do Tucupi para comercialização, a Instrução Normativa nº 001/2008. O objetivo principal desse regulamento técnico é estabelecer os padrões de identidade e as características mínimas de qualidade gerais que deverá apresentar o tucupi, para ser destinado à comercialização (ADEPARÁ, 2008).

Segundo a ADEPARÁ (2008), os micro-organismos estipulados para verificação da qualidade do tucupi são: *Salmonella* spp., coliformes fecais, *Staphylococcus* Coag. positivo e *Bacillus cereus*. Quanto às características físico-químicas do tucupi, essas devem variar de 2,5 a 6,5 g/100g de sólidos totais, 3,5 a 4,3 para o pH e 0,1 a 0,8 g de ácido láctico/ 100mL de acidez titulável total (ADEPARÁ, 2008).

O tucupi produzido, além de se apresentar dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº001/2008, deve obedecer as seguintes características: apresentar duas fases distintas, uma sólida e a outra líquida, cujas características são perceptíveis quando o produto está em repouso; coloração variando de amarelo claro ao amarelo intenso, quando homogeneizado; sabor levemente ácido e aroma próprio. Além de considerar ingredientes opcionais o sal, açúcar, alho e vegetais usados na culinária tradicional. Entretanto, proíbe a adição de corantes e realçadores de sabor no tucupi; o uso de emulsificantes, espessantes e outras substâncias que diminuam a tensão interfacial entre as duas fases do produto, o que altera a sua composição original (ADEPARÁ, 2008).

3.4.1. Processo de obtenção do tucupi

A produção de tucupi nas casas de farinha do interior do Pará inicia-se com a recepção das raízes de mandioca, as quais são lavadas, descascadas, trituradas e prensadas para a remoção de seu líquido (denominado de manipueira). A massa prensada segue para a torração, dando origem à farinha, e o líquido obtido é deixado em repouso por 1 ou 2 dias à temperatura ambiente, para que ocorra a fermentação. Durante o repouso, há a decantação do amido, que posteriormente é removido. Após a etapa de fermentação é realizada a cocção do líquido com condimentos para obtenção do tucupi, o qual pode ser considerado um molho parcialmente fermentado (CEREDA; VILPOUX, 2003; CHISTÉ, COHEN, 2011).

O fluxograma do processamento do tucupi é apresentado na Figura 2 com a subsequente descrição das etapas.

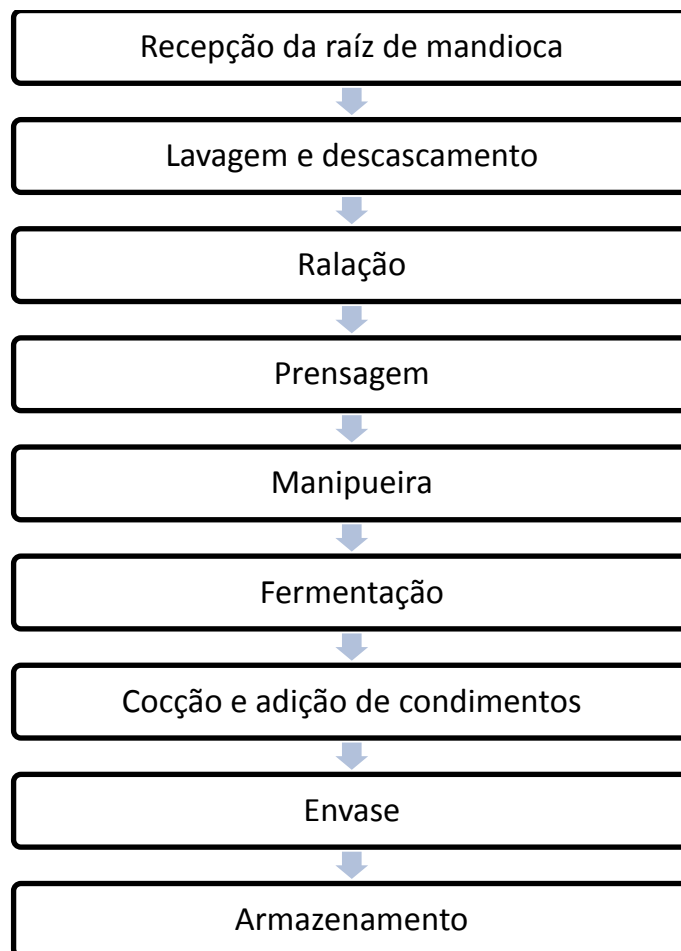


Figura 2: Fluxograma do processamento do tucupi.

▪ **Recepção da mandioca**

Nesta etapa é realizada a seleção das raízes de mandioca para o processamento. O recebimento deve ser feito em uma área externa da produção. Segundo Folegatti et al. (2005), o descarregamento comumente provoca danos físicos nas raízes, o que acelera sua deterioração. Portanto, o planejamento do fluxo de chegada e processamento das raízes é fundamental para prevenir a ação do meio ambiente e incorporação de contaminantes, evitando o uso de raízes já deterioradas.

▪ **Lavagem e descascamento**

A raiz deve ser lavada para eliminar a terra aderida à sua casca e evitar a presença de sujidades que prejudiquem a qualidade do produto final. A eliminação dessas sujidades por meio do processo de lavagem evita a contaminação do produto e o desgaste dos equipamentos (FOLEGATTI et al., 2005).

O descascamento pode ser manual, feito com facas afiadas ou raspador, ou mecânico, utilizando descascador cilíndrico ou em forma de parafuso. Após o descascamento, as raízes devem ser novamente lavadas para retirar as impurezas a elas agregadas durante o processo. No descascador mecânico, a lavagem e o descascamento são feitos ao mesmo tempo, através do atrito das raízes entre si e delas com as paredes do equipamento, com fluxo contínuo de água, como mostrado na Figura 3. Matsuura et al. (2003) mencionam que no descascamento manual devem ser utilizadas facas de aço inoxidável, pois o ferro, em contato com o tecido vegetal, acelera a reação de escurecimento enzimático.



Figura 3: Descascador mecânico.

Fonte: Campos, 2015.

▪ **Ralação das raízes**

As raízes limpas e descascadas são levadas a raladores, para obtenção de uma massa. A massa ralada deve ser recebida em um tanque de alvenaria, ou ainda em carros de armazenagem.

A ralação é feita para que as células das raízes sejam rompidas, liberando os grânulos de amido e permitindo a homogeneização da farinha. A ralação normalmente é feita em cilindro provido de eixo central com serras. As serras do cilindro não devem ter dentes tortos, faltantes, gastos ou enferrujados, pois isto interfere no rendimento do produto final. Os dentes das serras se desgastam com o uso, por isso, periodicamente deve-se regular o espaço entre o cilindro e o chassi do ralador. O ajuste do eixo e das polias e a manutenção das serras são indispensáveis para homogeneização da massa, definição da granulometria e aumento do rendimento do produto (SEBRAE, 2009).

▪ **Prensagem**

Nesta etapa ocorre uma compressão da massa e o líquido resultante é chamado de manipueira. É realizada em prensas manuais ou em prensas hidráulicas e tem como objetivo reduzir, ao mínimo possível, a umidade presente na massa ralada para impedir o surgimento de fermentações indesejáveis. Quando realizada manualmente, a massa ralada é colocada em cestos de vime, conhecidos tradicionalmente como tipiti, ou em sacas de ráfia, que geralmente são reutilizadas inadequadamente (ABREU; MATTIETTO, 2014). A Figura 4 apresenta a prensa manual e a mecânica.



Figura 4: Prensa manual (tipiti) e prensa mecânica.
Fonte: Campos, 2015.

▪ Manipueira

A manipueira que sai das prensas é recolhida, em sua grande maioria, de forma inadequada, devido à falta de condições higiênicas adequadas dos recipientes e dos locais de processamento. Normalmente são utilizados tanques de alvenaria ou baldes plásticos improvisados, posicionados abaixo das prensas. Alguns estabelecimentos utilizam tanques de aço inoxidável. A obtenção da manipueira pode ser considerada como uma das etapas mais críticas da produção do tucupi, pois o desenvolvimento microbiano depende do substrato que constitui o alimento diretamente relacionado à disponibilidade de água, tornando-se necessário o controle das condições higiênico-sanitárias nas unidades de processamento (OLIVEIRA, 2008).

▪ Fermentação

A fermentação ocorre em tanques ou baldes de polietileno, entre 1 ou 2 dias (Figura 5). Nesta etapa ocorre a decantação do amido presente na manipueira, obtendo-se a goma de mandioca, e o líquido sobrenadante é utilizado para a produção do tucupi.

Durante a fermentação da manipueira ocorre o processo natural da hidrólise da linamarina pela ação da enzima linamarase, catabolizando a linamarina em

glicose e acetona, sendo convertida em acetona e íon cianeto. Ressalta-se que durante a fermentação ocorre a perda da atividade da linamarase pela acidificação do meio e a queda do pH, visto que a enzima tem sua atividade máxima em pH 5,5 – 6,0, sendo reduzida em pH abaixo de 4,0 (NAMBISAN, 1994; COHEN et al, 2007). Esta etapa também é responsável pelo sabor característico do tucupi, devido ao processo de acidificação que ocorre.



Figura 5: Fermentação da manipueira em tanques de polietileno.
Fonte: Campos, 2015.

▪ **Cozimento**

Nesta etapa ocorre a cocção da manipueira para a obtenção do tucupi, juntamente com a adição de condimentos que, além de dar sabor ao produto, auxilia na conservação, pelas propriedades antibacterianas de alguns deles. Durante o cozimento do tucupi ocorre à eliminação do ácido cianídrico presente na manipueira, devido ser altamente volátil, e a inativação da enzima linamarase a altas temperaturas, o que afeta o processo de hidrólise da linamarina, responsável pela liberação do princípio tóxico da mandioca (COHEN et al., 2007).

▪ **Envase**

Para o envase do tucupi são utilizadas garrafas de plástico como embalagem, as quais devem ser novas; porém, muitos produtores artesanais reutilizam as garrafas de refrigerantes e outros produtos (SEBRAE, 2009).

3.5. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Para Montgomery (1991), as técnicas de planejamento e análise de experimentos (Design of Experiment – DOE) são utilizadas para melhorar as características de qualidade dos produtos e processos de fabricação, reduzir o número de testes e otimizar o uso de recursos da empresa (material, tempo dos funcionários, disponibilidade de equipamentos, etc.), através da realização de vários experimentos para encontrar os níveis ótimos dos parâmetros que regulam seus processos de fabricação.

O planejamento experimental fatorial é empregado para obter as melhores condições operacionais de um sistema em estudo, realizando um número menor de experimentos, quando comparado com o processo univariado de otimização do processo. O planejamento fatorial determina as interações entre os fatores, fazendo uma triagem e descarte das variáveis não significativas, visando à racionalização do experimento. Os experimentos fatoriais são realizados para determinar a influência de uma ou mais variáveis independentes (fatores) sobre uma ou mais variáveis dependentes (respostas) de interesse (BARROS-NETO et al., 2007).

Se n variáveis controladas estão envolvidas, o planejamento necessita de 2^n ensaios diferentes. Calculam-se os efeitos principais e de interação das variáveis independentes sobre as respostas, determinando aqueles mais significativos (valores de p) e comparando-os com o valor do efeito e erro experimental estimado. Quando o modelo de primeira ordem não for eficiente, realiza-se ensaios nos pontos axiais para um modelo de segunda ordem (planejamento experimental do tipo central composto). A obtenção dos modelos empíricos por regressões lineares e não-lineares segue uma análise de variância utilizando, como parâmetros, o coeficiente de determinação (R^2) e o valor estimado do teste F (BOX et al., 1978). A análise dos resíduos também é importante para avaliar a qualidade do ajuste, valores residuais altos indicam má qualidade no ajuste do modelo (BARROS NETO et al., 2003).

Através do planejamento experimental é possível determinar os parâmetros do processo que apresentam influência sobre o mesmo, definindo os mais significativos ($p < 0,05$) e permitindo dispensar outros menos influentes. Por meio das respostas fornecidas por um planejamento experimental pode-se obter um modelo

empírico para a região experimental investigada, bem como definir os valores ótimos para os parâmetros considerados como os de maior importância (MONTGOMERY, 1997).

3.6. ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA

Os alimentos são naturalmente perecíveis, pois numerosas mudanças ocorrem durante o processamento e a estocagem. Sabe-se que as condições usadas para o processo e estocagem podem influenciar adversamente nos atributos de qualidade dos alimentos. Durante a estocagem, um ou mais atributos de qualidade podem alcançar um estado indesejável. Neste instante, o alimento é considerado impróprio para o consumo e diz-se ter alcançado o fim de sua vida de prateleira (MAN; ADRIAN, 2000).

O termo vida de prateleira diz respeito ao tempo em que o alimento pode ser conservado em determinadas condições ambientais, como temperatura, umidade relativa, oxigênio e luz. Essas condições podem acarretar pequenas, mas bem estabelecidas alterações que são, até certo ponto, consideradas aceitáveis pelo fabricante, pelo consumidor e pela legislação alimentar vigente. A boa compreensão das diferentes reações que causam a deterioração do alimento é prioridade antes de desenvolver procedimentos específicos para a evolução da vida de prateleira do alimento (VITALI; QUAST, 1996; MAN; ADRIAN, 2000; FREITAS et al., 2001; COSTA, 2005).

O estudo da vida de prateleira de determinado produto consiste em submeter várias amostras deste produto, em períodos pré-definidos, a testes físico-químicos, sensoriais ou microbiológicos, capazes de identificar a perda de qualidade do alimento (NETTO, 2010).

Para que o alimento mantenha sua qualidade, algumas características devem ser preservadas (FREITAS et al., 2001), tais como:

- Permanecer com as características químicas, físicas e microbiológicas aceitáveis para o consumo regular do produto;
- Manter sua aparência, odor, textura e paladar;

- Suas reivindicações nutricionais contidas no rótulo devem ser mantidas.

Geralmente, a estabilidade de um alimento é discutida com base em dois tipos principais de fatores: os intrínsecos (ligados diretamente às características do alimento) e os extrínsecos (ligados ao ambiente que o envolve). Entre os fatores intrínsecos, podem ser citados: atividade de água, pH, composição química e carga microbiológica inicial. Já entre os fatores extrínsecos, destacam-se: temperatura, umidade relativa do ar, exposição a radiações luminosas e disponibilidade de oxigênio, entre outros (AZEREDO, 2012).

Durante a estocagem de alimentos, as alterações indesejáveis em alguns produtos englobam (AZEREDO, 2012):

- Degradação de sabor, cor e textura;
- Deterioração de propriedades funcionais de compostos, como perda da capacidade de retenção de água por aquecimento de proteínas;
- Perda de valor nutricional;
- Desenvolvimento de compostos tóxicos;
- Crescimento microbiológico;
- Danos físicos, como embalagens injuriadas.

Aliada à contaminação microbiana está a alteração sensorial. Ambas formam um fator chave para determinação da vida de prateleira dos produtos alimentícios. Alimentos microbiologicamente estáveis terão sua vida de prateleira definida pelas propriedades sensoriais. Muitos alimentos frescos, depois de um tempo de estocagem ainda podem estar microbiologicamente seguros, por não apresentarem contaminação patogênica, mas podem ser rejeitados devido a mudanças em suas propriedades sensoriais, que algumas vezes são causadas por micro-organismos não patogênicos, ou seja, micro-organismos deterioradores (HOUGH et al., 2003).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram adquiridas amostras de tucupi comercial em 10 estabelecimentos, em triplicata, que foram analisadas com relação às características físico-químicas, teor de cianeto total, cianeto livre e avaliação microbiológica, de acordo com as metodologias citadas no item 4.2.

Foi realizado um levantamento, nesses 10 estabelecimentos processadores de tucupi, no período de dezembro de 2014 a abril de 2015 na cidade de Belém – PA, dos quais cinco estabelecimentos apresentavam características de agroindústrias e cinco foram consideradas como estabelecimentos artesanais. Nestes estabelecimentos processadores de tucupi foram verificadas algumas variáveis no fluxograma de processamento, tais como: a variedade das raízes, o tempo de fermentação da manipueira, o tempo de cocção do tucupi, a temperatura de cocção e seu sistema de trabalho. Os estabelecimentos processadores foram codificados com as letras: A, B, C, D, E, F, G, H, I e J.

Dentre estes estabelecimentos de processamento foram selecionados dois estabelecimentos nos quais foram coletadas amostras nas diferentes etapas do processamento: recepção da matéria prima (raiz), ralação (massa ralada), prensagem (manipueira), fermentação (líquido fermentado) e cozimento (produto final), nas quais foram determinados o teor de cianeto total, cianeto livre, pH, sólidos solúveis e acidez total titulável, conforme descrito no item 4.2. Os dois estabelecimentos foram selecionados em função da diferença de infra-estrutura, além da obtenção de autorização de acesso para a realização do trabalho, sendo selecionados os estabelecimentos D e E, ambos sendo agroindústrias.

A manipueira utilizada nos ensaios do planejamento experimental foi coletada diretamente em um dos dois estabelecimentos selecionados, proveniente da primeira prensagem.

Para o tucupi elaborado de acordo com os parâmetros otimizados, obtido a partir da análise dos resultados do planejamento experimental, a manipueira foi coletada diretamente em um dos dois estabelecimentos selecionados, proveniente da primeira prensagem. O produto foi analisado com relação às características

físico-químicas e microbiológicas, conforme as metodologias descritas nos itens 4.2 e 4.3, respectivamente, além da composição centesimal, cor instrumental e análise sensorial, conforme as metodologias descritas no item 4.5.

4.1. MATÉRIA-PRIMA

Dos 10 estabelecimentos comerciais, foram adquiridos 3 litros de tucupi de cada estabelecimento, os quais foram acondicionados em garrafas de polietileno de 1 litro. As amostras foram transportadas, em temperatura ambiente, para o laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental, dando-se início às análises.

As amostras coletadas ao longo do processamento do tucupi, nos dois estabelecimentos processadores acompanhados, foram adquiridas em temperatura ambiente, sendo as amostras de raiz e massa ralada acondicionadas em embalagens estéreis de 2 kg, e as amostras de manipueira, líquido fermentado e tucupi acondicionadas em garrafas de polietileno de 1 litro. O transporte foi realizado em temperatura ambiente para o laboratório, dando-se início às análises.

No planejamento experimental foram utilizados 30 litros de manipueira para todos os ensaios, os quais foram coletados utilizando-se dois galões PEAD de 25 litros, sendo em seguida transportados, em temperatura ambiente, para o laboratório de Agroindústria da Embrapa. Chegando ao laboratório a manipueira foi homogeneizada em recipientes PEAD com capacidade de 50 L e em seguida acondicionada em recipiente de aço inoxidável com capacidade de 50 L, ficando em repouso durante o processo fermentativo. Após cada tempo de fermentação (de acordo com a matriz do planejamento experimental, item 4.4) retirou-se uma amostra de cerca de 2,5 L, a qual foi submetida à cocção (de acordo com o planejamento experimental, item 4.4) em recipiente de aço inoxidável e em fogão industrial.

Para a produção do tucupi, de acordo com os parâmetros otimizados, foram utilizados 40 litros de manipueira, a qual foi coletada em galões PEAD de 25 litros, transportada em temperatura ambiente para o laboratório de análises, homogeneizada em recipientes PEAD com capacidade de 50 L e acondicionada em recipiente de aço inoxidável com capacidade de 50 L, permanecendo em repouso

durante o processo fermentativo, por um período de tempo de acordo com os parâmetros otimizados. Após a fermentação adicionou-se os condimentos (0,5% de alho, 0,5% de sal, 0,8% de chicória e 0,8% de alfavaca), sendo o produto submetido à cocção para a obtenção do tucupi. O tucupi obtido foi envasado em garrafas de polietileno com capacidade de 1 litro e armazenado em câmara do tipo B.O.D., em temperatura de 10 °C, conforme apresentado na Figura 6.



Figura 6: Armazenamento do tucupi em câmara tipo B.O.D, a 10°C.
Fonte: Campos, 2016.

4.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.2.1 Determinação do teor de cianeto total e cianeto livre

- Extração da linamarase

Para a extração da enzima linamarase foi utilizada a metodologia descrita por Oliveira (2010). A enzima linamarase foi extraída a partir da entrecasca da mandioca. Foram pesados 200g de entrecasca e cortados em pedaços, em seguida foi feito a homogeneização em liquidificador com 250 mL de solução tampão acetato 0,1M pH 5,5.

Após a homogeneização foi realizada uma filtração a vácuo e o líquido obtido foi centrifugado a 8500 rpm por 30 minutos a 4°C. O sobrenadante foi saturado com 60% de sulfato de amônio e mantido sob agitação lenta a 4°C durante 16h.

Passado esse tempo, a solução foi centrifugada a 8500 rpm por 1h a 4°C e o precipitado foi diluído em 150 mL de solução tampão fosfato 0,1M pH 6,0. Em seguida realizou-se a diálise em solução tampão fosfato 0,1M pH 6,0 durante 2 dias a 4°C, sendo a solução tampão trocada periodicamente durante o período da diálise. A enzima obtida foi armazenada em tubos a -18°C até o momento da análise.

- Extração dos compostos cianogênicos

A extração dos compostos cianogênicos das amostras de tucupi comercial foi realizada segundo descrito por Chisté e Cohen (2011). Foram pipetados 10 mL da amostra, adicionados 60 mL de solução alcoólica de ácido fosfórico 0,1M (solução extratora) e centrifugados a 3000 rpm por 10 min. Após a centrifugação, o volume do extrato sobrenadante, contendo os glicosídeos cianogênicos, foi medido em proveta de 100 mL para utilização nos cálculos da concentração de ácido cianídrico, e armazenado congelado.

Para o preparo do extrato das raízes e da massa ralada, utilizou-se a metodologia descrita por Oliveira (2010). Foram pesados 60g de raízes cortadas em cubos e homogeneizadas no processador com 200 mL de solução alcoólica de ácido fosfórico 0,1M durante um minuto em alta velocidade. Após a homogeneização, deixou-se o conteúdo em repouso por um minuto, sob refrigeração, homogeneizando-se por mais um minuto em alta velocidade. Em seguida, realizou-se a filtração à vácuo e o volume do extrato foi medido em proveta de 250 mL para utilização nos cálculos da concentração de ácido cianídrico, e armazenado até o momento da análise.

- Dosagem de cianeto total e livre

Foi utilizada a metodologia enzimática descrita e adaptada por Essers et al. (1993). Através do método colorimético/enzimático foram determinados os teores de

cianeto total (linamarina + acetona-cianidrina + HCN) e cianeto livre (HCN). As reações envolvidas formam um complexo colorido para posterior leitura em espectrofotômetro, a 605 nm de comprimento de onda. A metodologia adotada é resumida na Tabela 2.

Para determinação de cianeto total, 0,1 mL do extrato ácido obtido foi adicionado em tubo de ensaio contendo 0,4 mL de tampão pH 7,0, sendo adicionada, então a enzima linamarase e o tubo submetido a banho-maria por 15 minutos a 30°C, promovendo a lise dos glicosídeos cianogênicos. Após esta etapa, foi adicionado 0,6 mL de solução NaOH 0,2 M e deixado por 5 minutos em repouso à temperatura ambiente (25°C), decompondo a cianoidrina rapidamente para cianeto em solução alcalina. Em seguida, foram adicionados 2,8 mL de tampão pH 6,0 e 0,1 mL de cloramina T, agitando-se o tubo para homogeneizar o conteúdo e sendo, depois, submetido a banho de gelo por 5 minutos. Finalmente, foi adicionado 0,6 mL do reagente de cor no tubo de ensaio, sendo agitado posteriormente e deixado em repouso por 10 minutos à temperatura ambiente. Depois de passado o tempo da reação, o complexo colorido contido no tubo de ensaio, de cor azul, foi lido em espectrofotômetro a 605 nm.

Para determinação de cianeto livre, 0,6 mL do extrato ácido obtido foi adicionado em tubo de ensaio contendo 3,4 mL de tampão pH 6,0. Foi adicionado 0,1 mL de cloramina T, e os tubos foram agitados para homogeneizar o conteúdo e, em seguida, foram submetidos a banho de gelo por 5 minutos. Após transcorrido o tempo, 0,6 mL de reagente de cor foi adicionado ao tubo de ensaio, agitado e deixado em repouso por 10 minutos à temperatura ambiente para posterior leitura a 605 nm.

Tabela 2: Metodologia de análise de cianeto total e livre, com leitura em espectrofotômetro a 605 nm.

Detecção	TUBOS DE ENSAIO (duplicatas)						
	Tampão fosfato pH 7,0	Amostra	Enzima linamarase	NaOH 0,2M	Tampão fosfato pH 6,0	Cloramina T	Reagente de cor
			15 min em repouso a 30°C	5 min em repouso a temperatura ambiente			
Cianeto total	0,4 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,6 mL	2,8 mL	0,1 mL	0,6 mL
Cianeto livre	-	0,6 mL	-	-	3,4 mL	0,1 mL	0,6 mL

Fonte: Oliveira et al., 2003.

Para a construção da curva de calibração foram utilizados 7 pontos, nas concentrações de 0,1, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 mL de cianeto de potássio (KCN), sendo em seguida realizada leitura em espectrofotômetro UV-visível (Thermo Scientific, Evolution 300, Inglaterra) a 605 nm, obtendo-se concentrações variando de 0,046 a 1,183 $\mu\text{g HCN.0,1mL}^{-1}$.

4.2.2. Determinação do pH

Foi determinado por leitura direta em potenciômetro (Tecnal, TEC-51, Brasil), devidamente calibrado com as soluções tampão pH 7,0 e 4,0 a 20°C, segundo método nº 981.12 da AOAC (1997).

4.2.3. Determinação de sólidos solúveis

Foi determinado pelo método refratométrico, com leitura direta da amostra a 20°C em refratômetro digital de bancada (Instrutherm, RTD-45, Brasil), de acordo com o método nº 932.12 da AOAC (1997). Os resultados foram expressos em ° Brix.

4.2.4. Determinação da acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada através de titulação da amostra com NaOH 0,1 N, sendo o pH da solução monitorado por potenciômetro, segundo método nº 942.15B da AOAC (1997). Os resultados foram expressos em meq NaOH/100mL.

4.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas segundo métodos oficiais da APHA (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992). Realizaram-se as seguintes determinações:

4.3.1. Coliformes totais e termotolerantes

Para a análise de coliformes foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP), com teste presuntivo em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e teste confirmativo em Caldo Verde Brilhante (VB), ambos com incubação a 35°C por 48 horas. Os coliformes termotolerantes foram confirmados em caldo *Escherichia coli* (EC) a 45 °C por 24 h. Os resultados foram expressos em NMP/mL.

4.3.2. Contagem de aeróbios mesófilos

Foi realizada através da técnica de plaqueamento em profundidade em meio Plate Count Agar (PCA). As amostras foram diluídas em seis séries (10^{-1} a 10^{-6}), em água peptonada estéril 0,1% e para cada diluição foi feito plaqueamento em duplicata. As placas foram incubadas à temperatura de 36°C por 48 horas, até a contagem. Para tal foram selecionadas as placas com número de colônias entre 25 e 250 UFC/mL. Os resultados foram expressos em UFC/mL.

4.3.3. Contagem de bolores e leveduras

Foi realizada através da técnica de plaqueamento em superfície em meio Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base (DRBC). As amostras foram diluídas em seis séries (10^{-1} a 10^{-6}), em água peptonada estéril 0,1% e para cada diluição foi feito o plaqueamento em duplicada. As placas foram incubadas à temperatura de 25°C por 3 a 5 dias, até a contagem. Para tal foram selecionadas as placas com número de colônias entre 10 e 150 UFC/mL. Os resultados foram expressos em UFC/mL.

4.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Para o estudo do planejamento experimental realizou-se um delineamento do tipo composto central rotacional (DCCR) 2^2 , contendo 3 pontos centrais e 4 axiais, totalizando 11 ensaios, com as variáveis independentes X_1 = tempo de fermentação (horas) e X_2 = tempo de cocção (minutos), e como resposta a variável dependente estipulada foi Y = teor de cianeto total e livre, cuja metodologia já foi descrita no item 4.2.1.

As Tabelas 3 e 4 mostram o planejamento experimental adotado, onde os valores das variáveis foram determinados em função de testes preliminares e de valores utilizados pelos estabelecimentos processadores. O valor de α foi calculado em função do número de variáveis independentes ($n=2$) através da equação: $\alpha = (2^n)^{1/4} = 1,41$.

Tabela 3: Níveis codificados e reais das variáveis independentes.

Variáveis Independentes	Níveis codificados e reais das variáveis independentes				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
X_1 (Tempo de fermentação em horas)	5	12	30	48	55
X_2 (Tempo de cocção em minutos)	2	10	30	50	58

Tabela 4: Quadro de ensaios do planejamento composto central rotacional.

Ensaio	X ₁ (Tempo de fermentação em horas)	X ₂ (Tempo de cocção em minutos)
1	12 (-1)	10 (-1)
2	12 (-1)	50 (+1)
3	48 (+1)	10 (-1)
4	48 (+1)	50 (+1)
5	30 (0)	30 (0)
6	30 (0)	30 (0)
7	30 (0)	30 (0)
8	30 (0)	2 (-1,41)
9	30 (0)	58 (+1,41)
10	5 (-1,41)	30 (0)
11	55 (+1,41)	30 (0)

Os resultados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA), para estimar os parâmetros estatísticos e avaliar a predição ou não do modelo matemático, com o auxílio do programa *Statistica* versão 7.0 (STATSOFT INC., 2004).

4.5. CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO FINAL

Além das características físico-químicas, teor de cianeto e análises microbiológicas, conforme as metodologias descritas nos itens 4.2 e 4.3, foram, ainda, realizadas as análises descritas a seguir:

4.5.1. Teor de umidade

Foi determinado através de secagem em estufa a 105°C por 3 horas, onde as amostras foram pesadas e aquecidas novamente até peso constante, segundo método nº 925.10 da AOAC (1997).

4.5.2. Teor de cinzas

Foi determinado através de carbonização prévia à temperatura baixa na chama do bico de Bunsen e posteriormente incinerada no forno mufla a 550°C por 5 horas, segundo método nº 940.26 da AOAC (1997).

4.5.3. Teor de lipídeos

Foi determinado pelo método Bligh-Dyer, baseado na extração bifásica com uso de clorofórmio, metanol e água na proporção de 1:2:0,8 (v/v), segundo metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959).

4.5.4. Teor de proteínas

Foi determinado pela técnica micro Kjeldahl, baseada em hidrólise e posterior destilação da amostra, segundo método nº 920,87 da AOAC (1997).

4.5.5. Teor de carboidratos

Foi determinado por diferença (100 g – gramas totais de umidade, proteínas, lipídios e cinzas), segundo o método oficial da AOAC (1997).

4.5.6. Cor instrumental

A cor foi avaliada através de um colorímetro (HunterLab, ColorQuest XE, USA) , usando um sistema de leitura CIELAB para reflectância especular incluída.

O parâmetro L* está associado à luminosidade das amostras e pode variar de 0 a 100, sendo que valores mais altos de L* caracterizam amostras mais claras e valores menores de L* (menores que 50) caracterizam amostras mais escuras. A coordenada cromática a* está associada à dimensão verde-vermelho; valores positivos de a* indicam amostras mais avermelhadas e valores negativos indicam amostras mais esverdeadas. A coordenada cromática b* está associada à dimensão

azul-amarelo; valores positivos de b^* indicam amostras mais amareladas e valores negativos indicam amostras mais azuladas.

4.5.7. Análise sensorial

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Pará, responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, e aprovado conforme mostrado no Anexo 1.

A análise sensorial foi realizada por 100 provadores não treinados, de ambos os sexos, entre funcionários e estagiários da EMBRAPA Amazônia Oriental e da Universidade Federal do Pará, com idades de 18 a 64 anos, que declararam gostar do tucupí.

Os provadores receberam a amostra em copo plástico codificado com três dígitos aleatórios, à temperatura de $\pm 70^\circ\text{C}$. No teste de aceitação os julgadores assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2) e receberam a ficha de avaliação (Anexo 3) com a escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde indicaram o quanto gostaram ou desgostaram da amostra em relação aos atributos cor, aroma, sabor e impressão global (STONE e SIDEL, 2004).

Para o cálculo de Índice de Aceitação (IA) do produto foi adotada a seguinte expressão:

$$IA(\%) = \frac{U \times 100}{9}$$

Onde U é a média das notas obtida para o produto e 9 é nota máxima da escala hedônica. O índice de aceitação com boa repercussão tem sido considerado $\geq 70\%$ (DUTCOSKY, 1996).

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$), com auxílio do programa *Statistica* versão 7.0 (STATSOFT INC., 2004).

4.6. ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA

Para o produto, obtido pelos melhores parâmetros de processamento do tucupi, foi realizado o estudo de vida de prateleira, avaliando-se os aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais, durante o período de 56 dias de armazenamento.

O produto foi analisado em intervalos de cinco dias, quanto aos aspectos físico-químicos e microbiológicos, conforme as metodologias descritas nos item 4.2 e 4.3, respectivamente, sendo selecionadas duas garrafas aleatoriamente, tendo-se a duplicata do lote em cada tempo estudado.

A análise sensorial foi realizada conforme a metodologia descrita no item 4.5.7, porém, os testes foram realizados em período de, aproximadamente, 5 dias, dependendo da disponibilidade dos provadores, sendo o mesmo aplicado somente após a realização das análises microbiológicas, a fim de garantir a segurança microbiológica para os provadores. As sessões foram realizadas com 30 provadores fixos, os quais criaram uma memória sensorial do produto, avaliando, assim, a qualidade do mesmo ao longo de seu armazenamento. A vida de prateleira do tucupi foi determinada adotando-se o valor 5 (nem gostei/nem desgostei) na escala hedônica de 9 pontos como nota de corte (STONE e SIDEL, 2004).

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$), com auxílio do programa *Statistica* versão 7.0 (STATSOFT INC., 2004).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ANÁLISE DO TUCUPI COMERCIAL

Os resultados da caracterização físico-química das amostras de tucupi comercializadas na cidade de Belém, PA, estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5: Resultados de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis em amostras comerciais de tucupi da cidade de Belém-PA.

Estabelecimentos	pH	Acidez total titulável (meq NaOH/100mL)	Sólidos solúveis (°Brix)
A	4,26 ±0,01 ^a	4,14 ±0,03 ^e	4,08 ±0,15 ^c
B	3,48 ±0,00 ^{cd}	18,37 ±0,02 ^a	4,53 ±0,09 ^b
C	3,53 ±0,55 ^{cd}	6,04 ±0,06 ^{cd}	2,72 ±0,10 ^f
D	4,17 ±0,01 ^{ab}	7,78 ±0,06 ^b	6,77 ±0,10 ^a
E	3,83 ±0,04 ^{abc}	3,48 ±0,26 ^e	3,19 ±0,05 ^e
F	4,11 ±0,01 ^{ab}	3,44 ±0,05 ^e	3,62 ±0,08 ^d
G	3,09 ±0,07 ^{de}	4,72 ±1,14 ^{de}	2,53 ±0,19 ^f
H	2,80 ±0,07 ^e	6,68 ±1,31 ^{bc}	2,78 ±0,02 ^f
I	3,69 ±0,01 ^{bc}	5,97 ±0,33 ^{cd}	3,23 ±0,10 ^e
J	3,88 ±0,01 ^{abc}	4,47 ±0,04 ^{de}	1,79 ±0,07 ^g

* Valores médios de três repetições, em três amostras coletadas aleatoriamente.

** Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si (p>0,05).

Os valores de pH das amostras comerciais de tucupi analisadas variaram entre 2,80 e 4,26, classificando o tucupi como um alimento de pH baixo e portanto de alta acidez. Para a acidez total titulável observou-se variação entre 3,44 e 18,37 meq NaOH/100mL (igual a 0,3 e 1,6 g de ácido láctico/100mL), em decorrência da produção de ácidos orgânicos provenientes do processo fermentativo do tucupi. Quanto ao teor de sólidos solúveis, as amostras analisadas variaram entre 1,79 e 6,77 °Brix. Os resultados encontrados para as características físico-químicas, no presente trabalho, estão de acordo com a legislação da ADEPARÁ (2008), a qual estipula a faixa de pH de 3,5 a 4,3 e acidez titulável total variando de 0,1 a 0,8 g de ácido láctico/100mL, à exceção das amostras G e H que apresentaram pH de 3,09 e

2,80, respectivamente, ficando abaixo da faixa estipulada, e da amostra B que apresentou acidez de 1,6 g de ácido láctico/100mL, estando acima da faixa estabelecida pela legislação vigente.

Valores aproximados de pH e acidez titulável foram encontrados por Chisté et al. (2007), ao estudar as propriedades físico-químicas de 10 amostras de tucupi comercializadas em Belém, em que os autores encontraram valores de pH variando entre 3,00 e 4,35 e acidez titulável de 3,92 a 10,66 meq NaOH/100mL.

O pH é um fator importante que influencia na atividade das enzimas. Segundo Cereda (2002), quando ocorre dilaceração dos tecidos vegetais das raízes de mandioca, o glicosídeo cianogênico presente é clivado em glicose e acetonacianoidrina, devido à ação catalisadora da enzima β -glicosidase (linamarase). Em uma segunda e última etapa da hidrólise, a acetonacianoidrina é convertida em ácido cianídrico e acetona, e esta etapa pode ser catalisada pela enzima hidroxinitrilolase, numa faixa de pH de 3,5 a 6,0.

Observou-se que os valores de pH de todas as amostras comerciais analisadas ficaram dentro da faixa de pH da ação da enzima e, portanto, podem contribuir para a hidrólise da linamarina. A partir dos dados obtidos pode-se observar variações entre as características físico-químicas dos tucupis comerciais analisados, comprovando a falta de padronização durante o processamento do tucupi. De fato, o que se verifica é que o processamento do tucupi varia muito entre os fabricantes, sendo observada grande diversidade entre as etapas de fermentação e cocção, bem como a variedade de mandioca utilizada para a extração da manipueira, principal matéria-prima na fabricação do tucupi.

A Tabela 6 apresenta os resultados das concentrações de cianeto total e livre, encontrados nas amostras comerciais de tucupi analisadas.

Tabela 6: Dosagem de cianeto total e livre em amostras comerciais de tucupi na cidade de Belém-PA.

Estabelecimentos	Cianeto total (mg HCN/L)	Cianeto livre (mg HCN/L)
A	100,40 ±1,56 ^{bc}	18,94 ±3,75 ^a
B	106,01 ±9,47 ^{bc}	7,78 ±0,09 ^{cde}
C	64,02 ± 1,28 ^d	6,17 ±0,29 ^{de}
D	126,21 ±9,68 ^a	11,02 ±0,82 ^{bc}
E	110,03 ±4,71 ^{abc}	12,99 ±0,90 ^b
F	118,71 ± 12,99 ^{ab}	13,29 ±1,65 ^b
G	37,67 ±5,36 ^d	4,18 ±0,36 ^e
H	66,99 ±3,4 ^d	6,19 ±0,68 ^{de}
I	98,67 ±6,21 ^c	9,60 ±0,66 ^{bcd}
J	68,43 ±3,84 ^d	10,09 ±0,91 ^{bcd}

* Valores médios de três repetições, em três amostras coletadas aleatoriamente.

** Média seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si estatisticamente (p>0,05).

Com relação à presença de cianeto nas amostras, verificou-se que o teor de cianeto total variou de 37,5 a 126,21 mg HCN/L, enquanto que o de cianeto livre variou de 4,18 a 18,94 mg HCN/L. Chisté et al. (2007), ao estudarem o teor de cianeto em 10 amostras de tucupi comerciais, encontraram valores de cianeto total variando de 55,58 a 157,17 mg HCN/L e para cianeto livre de 9,47 a 46,86 mg HCN/L. Observou-se que os teores de cianeto, tanto total quanto livre, dependem de alguns fatores do processo de produção do tucupi, principalmente com relação às etapas de fermentação e cocção. A falta de padronização durante o processamento do tucupi dá origem a produtos finais com teores de cianeto bastante variáveis, tanto entre os diferentes estabelecimentos processadores quanto entre diferentes bateladas de processo. Além disso, a variedade de mandioca utilizada para a obtenção da manipueira também influencia no teor de cianeto do produto final, pois para a fabricação do tucupi utiliza-se a mandioca brava, ou seja, aquela que apresenta teor de HCN acima de 100 mg de HCN/kg de raiz fresca sem casca.

Portanto, se as etapas de processamento do tucupi não forem bem conduzidas, o produto final poderá apresentar teores elevados de cianeto, podendo representar um risco para o consumidor. No processamento do tucupi, as etapas de fermentação e cocção são importantes na redução dos teores de cianeto. Durante a fermentação da manipueira ocorre o processo natural de hidrólise realizado pela

enzima linamarase, em contato com o substrato (linamarina), que é clivado em glicose e acetona, sendo convertida em acetona e íon cianeto. Como a enzima tem sua atividade máxima em pH 5,5 – 6,0, o tempo de fermentação influencia a liberação de cianeto, até a sua acidificação atingir um pH abaixo de 4,0, onde a atividade reduz drasticamente (NAMBISAN, 1994). Durante a cocção do tucupi ocorre a redução dos níveis de cianeto devido à sua alta volatilização e à inativação da enzima linamarase, a qual ocorre em temperaturas acima de 70°C. Assim, a cocção do tucupi deve ser realizada durante um tempo suficiente para que ocorra a volatilização do cianeto e a inativação da enzima linamarase (COHEN et al., 2007; NAMBISAN, 1994).

Tendo em vista que a variação nas concentrações de cianeto entre os estabelecimentos devem-se, possivelmente, à variedade de mandioca e ao processo de obtenção do tucupi, faz-se necessário a padronização das variáveis de processamento a fim de garantir níveis seguros nos teores de cianeto, entre os estabelecimentos.

Os resultados da contagem de coliformes termotolerantes obtidos para as amostras comerciais de tucupi adquiridas em 10 unidades processadoras de tucupi, na cidade de Belém-PA, estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Determinação de coliformes termotolerantes em amostras* comerciais de tucupi da cidade de Belém-PA.

Estabelecimentos	Coliformes termotolerantes (NMP/mL)		
	Amostra 1	Amostra2	Amostra3
A	<3	<3	<3
B	<3	<3	<3
C	<3	<3	<3
D	<3	<3	<3
E	<3	<3	<3
F	<3	<3	3
G	<3	<3	<3
H	<3	<3	<3
I	<3	<3	<3
J	24	43	43

* Amostras coletadas em um único lote, totalizando a triplicata estudada.

A Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARÁ) estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade do Tucupi, determinando os limites máximos microbiológicos para coliformes termotolerantes número mais provável (NMP) $<3/\text{mL}$. Os índices de coliformes totais e termotolerantes são utilizados como indicadores das condições higiênico-sanitárias do processamento.

Para 80% das amostras analisadas os resultados mostraram ausência de coliformes termotolerantes, estando essas de acordo com o padrão estabelecido pela legislação estadual. O estabelecimento J, correspondente a uma unidade de fabricação artesanal, foi a única que apresentou contaminação nas três amostras coletadas, comprovando a falta de condições higiênicas durante o processamento do tucupi, por este fabricante.

Mesmo a legislação não estabelecendo um padrão para bactérias mesófilas e para bolores e leveduras, este parâmetro pode ser usado como indicador da qualidade higiênica do produto, bem como é um indicativo sobre o tempo útil de conservação, partindo daí a importância de realizar tais análises.

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos para contagem de bactérias aeróbias mesófilas em 10 amostras de tucupi comercializadas na cidade de Belém-PA.

Tabela 8: Contagem de bactérias aeróbias mesófilas em amostras* comerciais de tucupi da cidade de Belém-PA.

Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/mL)			
Estabelecimentos	Amostra1	Amostra 2	Amostra 3
A	$7,8 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	$7,4 \times 10^3$
B	$1,4 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	$9,1 \times 10^3$
C	$4,2 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$
D	$7,5 \times 10^4$	$2,8 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$
E	$5,8 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$
F	$6,4 \times 10^3$	$2,2 \times 10^8$	$7,3 \times 10^4$
G	$1,4 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$
H	$1,0 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$	$9,0 \times 10^5$
I	$7,3 \times 10^3$	$6,5 \times 10^3$	$6,6 \times 10^3$
J	$2,3 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$

* Amostras coletadas em um único lote, totalizando a triplicata estudada.

Pode-se observar que as amostras que apresentaram menor contagem para bactérias aeróbias mesófilas foram as dos estabelecimentos A, B, D e I, sendo as três primeiras adquiridas em unidades agroindustriais e a última em unidade artesanal. O estabelecimento F apresentou diferença na contagem entre as amostras de um mesmo lote, ressaltando a falta de padronização e controle da qualidade higiênica no processamento do tucupi, principalmente durante o envase do produto, onde rotineiramente observa-se a reutilização inadequada de garrafas do tipo PET. Já os valores para contagem de bactérias mesófilas apresentaram-se elevados nas amostras obtidas dos estabelecimentos C, E, G, H e J, indicando que estas amostras devem ter sido produzidas sem a implementação das boas práticas de fabricação, além de serem um indicativo de indícios de deterioração do produto final, em decorrência dos altos níveis populacionais bacterianos.

Ao comparar os resultados dos estabelecimentos D e E, ambos sendo agroindústrias, pode-se observar uma diferença dos níveis populacionais de aproximadamente 3 a 5 ciclos logarítmicos, entre os dois estabelecimentos. Essa variação pode estar relacionada com a etapa de prensagem, pois o estabelecimento D, o qual apresentou menor contagem, utiliza prensa hidráulica de aço inoxidável, enquanto que o estabelecimento E faz uso de tipiti, utensílio artesanal que muitas vezes são reutilizados sem a correta higienização e de forma inadequada, resultando em valores elevados na contagem microbiana do produto final.

A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos para contagem de bolores e leveduras em 10 amostras de tucupi comercializadas na cidade de Belém-PA. Devido o tucupi ser um produto de alta acidez, este aspecto também foi considerado por algumas características que compõem o perfil de bolores e leveduras, sendo frequentemente associados à deterioração de produtos de elevada acidez, suportando variações de pH entre 2 e 9 (LACAZ-RUIZ, 2000).

Tabela 9: Contagem de bolores e leveduras em amostras* comerciais de tucupi da cidade de Belém-PA.

Estabelecimentos	Bolores e Leveduras (UFC/mL)		
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
A	$4,0 \times 10^1$ (est.)	$1,1 \times 10^1$ (est.)	$7,5 \times 10^1$ (est.)
B	$1,0 \times 10^1$ (est.)	$2,0 \times 10^1$ (est.)	$1,0 \times 10^2$ (est.)
C	$9,4 \times 10^3$	$8,4 \times 10^3$	$7,3 \times 10^2$
D	$3,0 \times 10^1$ (est.)	$2,5 \times 10^1$ (est.)	$2,3 \times 10^2$
E	$2,2 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$	$9,0 \times 10^1$ (est.)
F	$2,9 \times 10^5$	$1,4 \times 10^6$	$6,6 \times 10^3$
G	$1,5 \times 10^7$	$1,4 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$
H	$4,2 \times 10^7$	$2,0 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$
I	$1,4 \times 10^3$	$3,2 \times 10^2$	$1,0 \times 10^1$ (est.)
J	$1,1 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$3,0 \times 10^3$

* Amostras coletadas em um único lote, totalizando a triplicata estudada.

Nota-se que as amostras dos estabelecimentos A e B apresentaram valores estimados, o que acontece quando o crescimento de colônias fica abaixo de 25 unidades, mostrando uma baixa contaminação e indicando assim um alimento seguro quanto à contaminação por bolores e leveduras. As amostras dos estabelecimentos D, E e I apresentaram valores estimados em uma ou duas amostras. Esses resultados eram esperados para as amostras A e D devido ao pH apresentado pelas mesmas, de 4,26 e 4,17, respectivamente, tendo em vista que o crescimento ótimo para bolores e leveduras é em alimentos de alta acidez ($\text{pH} < 4,0$); além disso, tais amostras apresentaram uma população de bactérias na ordem de 10^4 UFC/mL, caracterizando a predominância deste tipo de micro-organismo. A variação nos níveis populacionais encontradas entre as amostras analisadas, principalmente nas amostras F, G e H, deve-se à falta de padronização e controle da qualidade higiênica no processamento.

A partir dos dados obtidos, pode-se inferir que todas as amostras comerciais analisadas estão aptas para o consumo, exceto as amostras F e J que apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes acima da permitida pela legislação.

5.2. ETAPAS DO PROCESSAMENTO DO TUCUPI

A partir das visitas realizadas nos 10 estabelecimentos processadores de tucupi, pôde-se verificar que o fluxograma de processo de tucupi é semelhante em todos os estabelecimentos.

Primeiramente é realizada a recepção das raízes de mandioca e em seguida as mesmas são lavadas e descascadas. Nos estabelecimentos de agroindústrias essa etapa é realizada em lavadores/descascadores, enquanto que nas unidades artesanais essa etapa é realizada manualmente.

Após as etapas de lavagem e descascamento, a raiz é ralada em raladores e em seguida prensada com auxílio de cestos de vime conhecidos tradicionalmente como “tipiti”. Observou-se que o estabelecimento D é o único que faz uso de prensa de aço inoxidável. A manipueira obtida na prensagem é armazenada em tanque de polietileno para que ocorra a fermentação, com decantação do amido.

Após a etapa de fermentação é realizada a cocção (em temperatura de ebulição), com a adição dos condimentos, sendo eles geralmente: chicória, alfavaca, alho e sal. Por fim é realizado o envase do tucupi em garrafas do tipo PET, à temperatura de aproximadamente 30°C.

O fluxograma geral de processamento do tucupi, entre os 10 estabelecimentos processadores acompanhados, difere principalmente nos tempos de fermentação da manipueira e nos tempos de cocção do tucupi, como mostrado na Tabela 10, o que comprova a falta de padronização no processamento do tucupi, entre os diferentes estabelecimentos processadores. O tempo de fermentação da manipueira e o tempo de cocção do tucupi são importantes, pois influenciam na redução dos compostos cianogênicos, devido à ação da enzima linamarase sobre o substrato (linamarina) e a volatilidade do cianeto.

Tabela 10: Variação do tempo de fermentação da manipueira e do tempo de cocção do tucupi, em 10 estabelecimentos processadores, na cidade de Belém-PA.

Estabelecimentos	Tempo de fermentação (horas)	Tempo de cocção - após atingir a temperatura de ebulição (minutos)
A	12	30
B	24	30
C	16	30
D	8 – 12	40
E	6 – 8	0
F	16	40
G	12	0
H	12	30
I	16	60
J	24	60

Foram coletadas amostras, durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos processadores (D e E), as quais foram analisadas quanto às características físico-químicas e teor de cianeto total e livre.

Vale ressaltar que o processo de fabricação do tucupi nos dois estabelecimentos acompanhados (D e E) se diferem em alguns aspectos, entre os quais: o material de fabricação dos equipamentos, em que o estabelecimento D utiliza ralador mecânico, prensa hidráulica e painéis de aço inoxidável, enquanto que o estabelecimento E, utiliza ralador mecânico, tipiti na prensagem e painéis de alumínio; a variedade da matéria-prima empregada, em que estabelecimento D utiliza mandioca de coloração amarela e o estabelecimento E utiliza mandioca de coloração creme; e os tempos de fermentação e cocção adotados, em que no estabelecimento D a fermentação ocorre entre 8 e 12 horas com cocção de 40 minutos após atingir a temperatura de ebulição ($\approx 100^{\circ}\text{C}$) e no estabelecimento E a fermentação ocorre entre 6 e 8 horas e cocção somente até atingir a temperatura de ebulição.

Os resultados obtidos para os valores de pH, nas amostras das diferentes etapas do processamento, estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados de pH das amostras coletadas durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos comerciais, na cidade de Belém-PA.

Amostra	pH	
	Estabelecimento D	Estabelecimento E
Raiz	6,50 $\pm$ 0,17 ^{Aa}	6,50 $\pm$ 0,01 ^{Aa}
Massa Ralada	5,95 $\pm$ 0,01 ^{Ba}	5,14 $\pm$ 0,00 ^{Bb}
Manipueira	5,91 $\pm$ 0,01 ^{Ba}	3,32 $\pm$ 0,00 ^{Cb}
Líquido fermentado	4,27 $\pm$ 0,00 ^{Ca}	3,05 $\pm$ 0,01 ^{Db}
Tucupi	3,98 $\pm$ 0,01 ^{Da}	3,28 $\pm$ 0,00 ^{Cb}

* Resultados são média $\pm$ desvio-padrão.

** Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$).

De acordo com os valores obtidos para o pH, pode-se observar que houve uma redução significativa ($p < 0,05$) nesses valores durante o processo de fabricação do tucupi, nos dois estabelecimentos processadores (D e E), ou seja, observou-se uma acidificação da matéria-prima ao longo das etapas de processamento (Tabela 11). Comparando-se cada etapa, nos dois estabelecimentos processadores, observou-se que o estabelecimento E apresentou amostras mais ácidas em todas as etapas do processamento do tucupi, à exceção da raiz *in natura*, em que as amostras dos dois estabelecimentos agroindustriais apresentaram os mesmos valores.

Chisté e Cohen (2011), ao estudarem as etapas de processamento do tucupi, obtiveram valor de pH de 6,3 para a manipueira, de 6,2 para o produto após 24 horas de fermentação e de 3,6 para o tucupi. Os valores encontrados pelos autores estão próximos aos observados no presente estudo, à exceção da manipueira fermentada que apresentou valor superior para pH, durante as etapas de processamento do tucupi, nos dois estabelecimentos processadores.

Os resultados de acidez titulável total obtidos nas amostras coletadas durante as etapas de processamentos, em dois estabelecimentos processadores, são apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12: Resultados de acidez total titulável durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos processadores, na cidade de Belém-PA.

Amostra	Acidez total titulável (meq NaOH/100mL)	
	Estabelecimento D	Estabelecimento E
Raiz	0,93 ±0,06 ^{CDa}	0,66 ±0,06 ^{Da}
Massa ralada	1,45 ±0,12 ^{Bb}	3,07 ±0,18 ^{Ca}
Manipueira	1,12 ±0,05 ^{Cb}	7,19 ±0,06 ^{Aba}
Líquido fermentado	8,48 ±0,07 ^{Aa}	7,44 ±0,21 ^{Ab}
Tucupi	8,57 ±0,06 ^{Aa}	7,02 ±0,06 ^{Bb}

* Resultados são média ± desvio-padrão.

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$).

Quanto à acidez total titulável, os valores apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) durante as etapas de processamento. O aumento da acidez titulável e, conseqüentemente, a redução nos valores de pH, são decorrentes da liberação de ácidos orgânicos provenientes da fermentação. Verificando que os valores de pH 3,98 e 3,28, para os estabelecimentos D e E, respectivamente, foi suficiente para permitir uma rápida acidificação do produto final.

Ao estudarem as etapas de processamento do tucupi, Chisté e Cohen (2011) obtiveram valores de 1,9, 2,2 e 12,3 meq NaOH/100mL para a manipueira recém-extraída, manipueira com 24 horas de fermentação e tucupi, respectivamente. As diferenças observadas entre os dois estudos devem-se, provavelmente, a diferenças no processamento, particularmente com relação ao tempo de fermentação da manipueira, em que no estabelecimento D a fermentação ocorre durante 8 a 12 horas, e no estabelecimento E ocorre entre 6 a 8 horas; já no estudo de Chisté e Cohen (2011) o valor obtido para a acidez titulável foi para um tempo de fermentação de 24 horas. Pode-se observar que a acidez, ao longo do processamento, nos dois estabelecimentos acompanhados, diferem significativamente; no estabelecimento D a acidez varia de 0,93 a 8,57 meq NaOH/100 mL, enquanto que no estabelecimento E a variação é de 0,66 a 7,02 meq NaOH/100 mL. O estabelecimento D, que apresentou uma maior acidez no produto final, possui também um maior tempo de fermentação; já no estabelecimento E o tempo de fermentação é menor.

A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos de sólidos solúveis totais durante as etapas de processamento do tucupi, nos dois estabelecimentos processadores.

Tabela 13: Resultados de sólidos solúveis totais durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos processadores, na cidade de Belém-PA.

Amostra	Sólidos solúveis totais (°Brix)	
	Estabelecimento D	Estabelecimento E
Raiz	1,1 ±0,06 ^{Ea}	1,1 ±0,06 ^{Da}
Massa ralada	1,4 ±0,10 ^{Db}	2,2 ±0,10 ^{Ba}
Manipueira	6,6 ±0,06 ^{Ba}	1,5 ±0,00 ^{Cb}
Líquido fermentado	5,5 ±0,06 ^{Ca}	1,1 ±0,00 ^{Db}
Tucupi	8,0 ±0,06 ^{Aa}	3,5 ±0,00 ^{Ab}

* Resultados são média ± desvio-padrão.

* Média seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si estatisticamente ($p>0,05$).

Com relação ao teor de sólidos solúveis, pode-se observar que houve uma oscilação nos valores durante as etapas, porém com tendência a aumento nos valores ao longo do processamento. As diferenças no teor de sólidos solúveis podem estar relacionadas à atividade da enzima linamarase, visto que no processo de hidrólise da linamarina há a liberação de moléculas de glicose, o que acarreta no aumento da concentração de sólidos solúveis. Observou-se que a manipueira utilizada no estabelecimento D apresentou maior teor de sólidos solúveis durante as etapas de processamento, indicando uma possível maior atividade enzimática, verificando-se maior teor de sólidos solúveis no tucupi do estabelecimento D (8,0 °Brix), quando comparado ao tucupi obtido no estabelecimento E (3,5 °Brix). Além da provável maior atividade enzimática, outro fator que colabora para o aumento no teor de sólidos solúveis, ao longo do processamento, é evaporação de parte do líquido durante o processo de cocção do produto fermentado.

Chisté e Cohen (2011), ao estudarem as etapas de processamento do tucupi, obtiveram teor de sólidos solúveis de 7,2 °Brix para a manipueira, 6,5 °Brix para a manipueira com 24 horas de fermentação e 8,1 °Brix para o tucupi. As diferenças observadas para os sólidos solúveis totais no presente estudo e a literatura

consultada devem-se as diferenças entre o tempo de cocção da manipueira fermentada e da variedade da mandioca usada, resultando na diferença da atividade enzimática da matéria-prima. No trabalho realizado por Chisté e Cohen (2011) a cocção foi realizada durante 10 minutos, no estabelecimento D a cocção dura, aproximadamente, 40 minutos, após ser atingida a temperatura de ebulição, e no estabelecimento E a cocção é interrompida assim que o tucupi atinge a temperatura de ebulição. Portanto, novamente se observa que a variedade da mandioca utilizada e o tipo de processamento do tucupi adotado influenciam diretamente nas características físico-químicas do produto final, ressaltando-se a falta de padronização durante a fabricação do tucupi.

A Tabela 14 apresenta os resultados das concentrações de cianeto total e livre em amostras coletadas durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos processadores. Segundo Chisté e Cohen (2011), a variação dos teores de cianeto está relacionada com a matéria-prima e/ou com o processo de obtenção do tucupi, considerando que mandiocas com alto teor de ácido cianídrico na raiz poderão apresentar valores elevados desse composto químico no tucupi obtido, caso a destoxificação não seja realizada de maneira eficaz durante as etapas de processamento.

Tabela 14: Dosagem de cianeto total e livre durante as etapas de processamento do tucupi, em dois estabelecimentos processadores, na cidade de Belém-PA.

Amostra	Cianeto total (mg HCN/L ou Kg)		Cianeto livre (mg HCN/L ou Kg)	
	Unidade D	Unidade E	Unidade D	Unidade E
Raiz	143,80 $\pm$ 0,17 ^{Ba}	113,28 $\pm$ 0,05 ^{Cb}	4,88 $\pm$ 0,36 ^{Ba}	4,55 $\pm$ 0,57 ^{Ba}
Massa ralada	183,57 $\pm$ 0,04 ^{Aa}	191,88 $\pm$ 0,50 ^{Aa}	26,95 $\pm$ 0,58 ^{Ba}	23,58 $\pm$ 0,73 ^{Bb}
Manipueira	181,20 $\pm$ 0,47 ^{Aa}	143,13 $\pm$ 0,82 ^{Bb}	51,66 $\pm$ 0,21 ^{Aa}	27,79 $\pm$ 0,23 ^A
Líquido fermentado	179,96 $\pm$ 0,50 ^{Aa}	43,99 $\pm$ 0,17 ^{Db}	25,71 $\pm$ 0,39 ^{Ba}	10,74 $\pm$ 0,50 ^{Cb}
Tucupi	77,27 $\pm$ 0,46 ^{Ca}	38,90 $\pm$ 0,78 ^{Db}	14,61 $\pm$ 0,82 ^{Ca}	6,78 $\pm$ 0,14 ^{Db}

* Resultados são média $\pm$ desvio-padrão.

* Média seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$).

Quanto ao teor de cianeto total, a raiz de mandioca apresentou 143,80 e 113,28 mg HCN/kg nos estabelecimentos processadores D e E, respectivamente, o que caracteriza a mandioca como brava. Após a trituração houve um aumento significativo ($p < 0,05$) nos teores de cianeto total, nos dois estabelecimentos agroindustriais, em função do processo de hidrólise da linamarina. Chisté et al. (2005), ao estudarem a determinação de cianeto durante as etapas de processamento da farinha de mandioca, obtiveram uma dosagem de cianeto total de 154,40 mg HCN/kg em raízes descascadas e 167,68 mg HCN/kg na massa ralada. O comportamento obtido pelos autores é semelhante ao encontrado no presente trabalho e é justificado pelo início do processo de catálise da linamarina causado pela dilaceração do tecido vegetal, resultando no aumento da concentração dos compostos cianogênicos. A partir da obtenção da massa ralada, observa-se uma diminuição significativa do teor de cianeto total, em função do processo de hidrólise realizado pela enzima linamarase em contato com o substrato linamarina, em que a linamarina é clivada em glicose e acetonacianoidrina, sendo convertida em HCN e acetona, mediante a enzima hidroxinitrilolase, diminuindo, assim, a concentração de cianeto total (linamarina + acetonacianoidrina + HCN). O comportamento decrescente da concentração de cianeto total é observado nos dois estabelecimentos processadores estudados, sendo mais evidente no estabelecimento E.

Ao estudarem as etapas de processamento do tucupi, Chisté e Cohen (2011) obtiveram uma concentração de cianeto total de 227,8 mg HCN/L na manipueira, 166,6 mg HCN/L na manipueira após 24 horas de fermentação e 37,1 mg HCN/L no tucupi.

Com relação ao teor de cianeto livre, a raiz apresentou teores baixos, conforme o esperado, devido a sua concentração predominante ser na forma de cianeto ligado. Após a trituração houve um aumento no teor de cianeto livre (HCN) devido à dilaceração do tecido vegetal, dando início ao processo de catálise da linamarina, e consequente liberação de HCN. Na manipueira recém extraída pode-se observar um aumento significativo nos teores de cianeto livre, devido, provavelmente, a linamarina ser solúvel em água e durante o processo de prensagem da massa ralada esses compostos são arrastados para a manipueira, aumentando, assim, seu conteúdo cianogênico. A partir da obtenção da manipueira

há uma redução significativa nos teores de cianeto livre em decorrência do processo fermentativo, ocorrendo a inibição da enzima linamarase em decorrência da acidificação e à queda do pH, reduzindo a liberação do íon cianeto. Já no processo de cocção, essa redução nos níveis de cianeto, tanto cianeto total quanto livre, ocorre devido à volatilização dos mesmos, causada pela exposição do produto à elevada temperatura.

Chisté e Cohen (2011), ao estudarem as etapas de processamento do tucupi, obtiveram um teor de cianeto livre de 46,6 mg HCN/L para a manipueira recém extraída, 67,1 mg HCN/L para a manipueira fermentada durante 24 horas e 8,9 mg HCN/L para o tucupi. O valor de cianeto livre para a manipueira recém extraída, no estabelecimento agroindustrial D, foi de 51,66 mg HCN/L, próximo ao relatado pelos autores. Já no estabelecimento E, o produto final apresentou teor de 6,78 mg HCN/L, valor semelhante ao observado pelos autores (8,9 mg HCN/L).

As diferenças entre os teores de cianeto livre nos dois estabelecimentos processadores, durante as etapas de processamento do tucupi, deve-se, possivelmente, a faixa de pH ótima para a atividade da enzima linamarase, influenciando a liberação de íon cianeto. Outro fator que interfere na ação da enzima para catálise da linamarina a íon cianeto é o tempo de fermentação da manipueira. O estabelecimento E, onde se observou a menor concentração de cianeto livre, apresentava um menor tempo de fermentação (6 a 8 horas), enquanto que no estabelecimento D, onde a fermentação ocorre entre 8 a 12 horas, há maior tempo disponível para a ação da linamarase e conseqüentemente ocorre maior liberação de cianeto, resultando em maiores teores de cianeto livre nessas amostras.

De maneira geral, as diferenças observadas para os teores de cianeto total e livre entre os estabelecimentos agroindustriais, a partir da manipueira, deve-se, provavelmente, à atividade da enzima linamarase, a qual é determinada pelo pH, sendo a faixa de pH ótima de 3,5 a 6,0. Com base nos dados de pH obtidos anteriormente, observa-se que as amostras do estabelecimento D apresentam pH de 5,9 para a manipueira, 4,27 para a manipueira fermentada e 3,98 para o tucupi, enquanto que as amostras do estabelecimento E apresentam uma variação de pH de 3,32, 3,05 e 3,28 para manipueira, manipueira fermentada e tucupi, respectivamente. Nota-se que os valores obtidos no estabelecimento D encontram-

se na faixa de pH ótimo para a atividade da linamarase, resultando em uma maior atividade da enzima e consequentemente uma maior liberação de cianeto.

Com relação ao processamento do tucupi, observou-se que as principais diferenças no processo de extração da manipueira, entre os dois estabelecimentos acompanhados são: a variedade da matéria-prima, o material de fabricação dos equipamentos e os tempos de fermentação e cocção. Apesar do estabelecimento D apresentar melhores condições de infraestrutura, principalmente quanto aos equipamentos, às amostras apresentaram elevados teores de cianeto. Portanto, conclui-se que as características físico-químicas do tucupi dependem diretamente da variedade da mandioca utilizada como matéria-prima e dos tempos de fermentação e cocção empregados no processamento.

5.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Na Tabela 15 são apresentados os resultados obtidos dos ensaios realizados para avaliar a influência dos tempos de fermentação e cocção, durante o processamento do tucupi, sobre o teor de cianeto total e livre no produto final, de acordo com a matriz do planejamento experimental.

Tabela 15: Teor de cianeto total e livre dos ensaios realizados.

Ensaio	X ₁ (Tempo de fermentação em horas)	X ₂ (Tempo de cocção em minutos)	Cianeto total (mg HCN / L)	Cianeto livre (mg HCN / L)
1	12	10	8,68 ± 0,31	4,76 ± 0,68
2	12	50	5,37 ± 0,03	4,00 ± 0,35
3	48	10	7,49 ± 0,66	4,64 ± 0,60
4	48	50	4,59 ± 0,06	2,41 ± 0,10
5	30	30	9,83 ± 0,19	5,36 ± 0,52
6	30	30	10,02 ± 0,04	5,38 ± 0,15
7	30	30	10,05 ± 0,14	5,24 ± 0,22
8	30	2	43,08 ± 0,48	10,03 ± 0,29
9	30	58	5,12 ± 0,15	3,04 ± 0,15
10	5	30	7,92 ± 0,15	4,67 ± 0,69
11	55	30	6,07 ± 0,24	4,15 ± 0,28

* Resultados são média ± desvio-padrão.

A partir dos resultados obtidos foram realizados os tratamentos estatísticos para a avaliação dos efeitos principais e de interações, para a determinação dos coeficientes de regressão do modelo e a análise de variância para as respostas do teor de cianeto total e livre (Tabela 16).

Tabela 16: Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística, para cada fator no modelo codificado para o teor de cianeto total ($p < 0,05$).

Fatores	Efeito estimado	Erro puro	t(2)	Significância estatística (p)
Tempo de Cocção (L)	-7,48891	0,041966	-178,452	0,000031
Tempo de Cocção (Q)	4,81618	0,050076	96,177	0,000108
Tempo de Fermentação (L)	-0,57161	0,041966	-13,621	0,005347
Tempo de Fermentação (Q)	-3,78951	0,050076	-75,675	0,000175
Tempo de Cocção x Tempo de Fermentação	0,10229	0,059260	1,726	0,226479

Os valores destacados são significativos a um intervalo de confiança de 95%. A partir das variáveis significativas da resposta do teor de cianeto total, efetuou-se uma análise de variância (ANOVA) que é apresentada na Tabela 17.

Tabela 17: Análise de variância para a resposta teor de cianeto total.

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F _{CAL}	F _{TAB}	R ²
Regressão	744,94	4	186,236	2,51	4,53	0,6256
Resíduo	445,70	6	74,2835			
Falta de ajuste	445,673	4	111,4182	7931,72	19,25	
Erro puro	0,028	2	0,0140			
Total	1190,645	10				

SQ = soma quadrática; GL = grau de liberdade; MQ = média quadrática; F_{CAL} = valor de F calculado = MQ_{regressão}/MQ_{resíduo}; F_{TAB} = valor de F tabelado, F_{regressão} (4;6;95), F_{falta de ajuste} (4,2,95) (Barros Neto et al., 2003).

Considerando a análise de variância (Tabela 17) observou-se que o valor do coeficiente de correlação do modelo (R²) foi igual a 0,6256, sendo este valor insatisfatório para a geração de um modelo matemático preditivo, pois somente 62% das variações poderiam ser explicadas pelo modelo.

Além da avaliação do R², na análise de um modelo avalia-se também a relação F_{calculado}/F_{tabelado}, a qual deve ser superior a três, para que uma regressão seja não apenas significativa, mas também útil para fins preditivos (BOX et al., 1978). No caso deste estudo, a relação para a regressão apresentou um valor de 0,5541, ficando bem abaixo da relação esperada.

Ratificando a falta de ajuste do modelo, o valor de F_{calculado} para a falta de ajuste foi bem superior (7931,72) que o F_{tabelado} (19,25) para o mesmo, fornecendo uma relação de 412, o que igualmente não é ideal para a validação do modelo, pois para que um modelo seja considerado bem ajustado o mesmo deve apresentar uma relação menor que 0,10 (BOX et al., 1978).

Os efeitos principais e de interações para a resposta do teor de cianeto livre a 95% de confiança (p<0,05), podem ser observados na Tabela 18.

Tabela 18: Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e grau de significância estatística para cada fator no modelo codificado para o teor de cianeto livre.

Fatores	Efeito estimado	Erro puro	t(2)	Significância estatística (p)
Tempo de Cocção (L)	-0,958309	0,026845	-35,6985	0,000784
Tempo de Cocção (Q)	0,430120	0,032033	13,4276	0,005501
Tempo de Fermentação (L)	-0,541472	0,026845	-20,1707	0,002449
Tempo de Fermentação (Q)	-0,798345	0,032033	-24,9230	0,001606
Tempo de Cocção x Tempo de Fermentação	-0,689837	0,037907	-18,1980	0,003006

A partir das variáveis significativas da resposta do teor de cianeto livre, efetuou-se uma análise de variância (ANOVA) que é apresentada na Tabela 19.

Tabela 19: Análise de variância para a resposta teor de cianeto livre.

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F _{CAL}	F _{5,5}	R ²
Regressão	17,83	5	3,565203	0,927294	5,05	0,4811
Resíduo	19,22	5	3,844737			
Falta de ajuste	19,21219	3	6,404063	1114,16	19,16	
Erro puro	0,01150	2	0,005748			
Total	37,04970	10				

SQ = soma quadrática; GL = grau de liberdade; MQ = média quadrática; F_{CAL} = valor de F calculado = MQ_{regressão}/MQ_{resíduo}; F_{TAB} = valor de F tabelado, F_{regressão} (5;5;95), F_{falta de ajuste} (3,2;95) (Barros Neto et al., 2003).

Considerando-se a análise de variância (Tabela 19), observou-se que o valor do coeficiente de correlação do modelo (R²) foi igual a 0,4811, indicando que apenas 48% da variabilidade na resposta pode ser explicada pelo modelo. Novamente, o valor é considerado insatisfatório para obtenção de um modelo válido e útil para fins preditivos.

Ao avaliar a relação de $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$, para o teor de cianeto livre, obteve-se uma relação igual a 0,1836, ficando bem abaixo da relação esperada (superior a três).

A falta de ajuste do modelo pode ser ratificada pelo valor da falta de ajuste para $F_{\text{calculado}}$ de 1114,16, sendo superior ao valor do F_{tabelado} de 19,16 para o mesmo, fornecendo uma relação de 58,15, ficando acima da relação esperada, a qual é menor que 0,10, o que igualmente não é ideal para a validação do modelo.

Nas faixas estudadas de tempo de cocção e fermentação, não foi possível gerar um modelo preditivo para os dois parâmetros estudados (redução do teor de cianeto total e cianeto livre). Entretanto, através dos resultados obtidos nos ensaios experimentais, plotou-se os gráficos de contorno (Figura 7 e 8), sendo possível observar a tendência do processo.

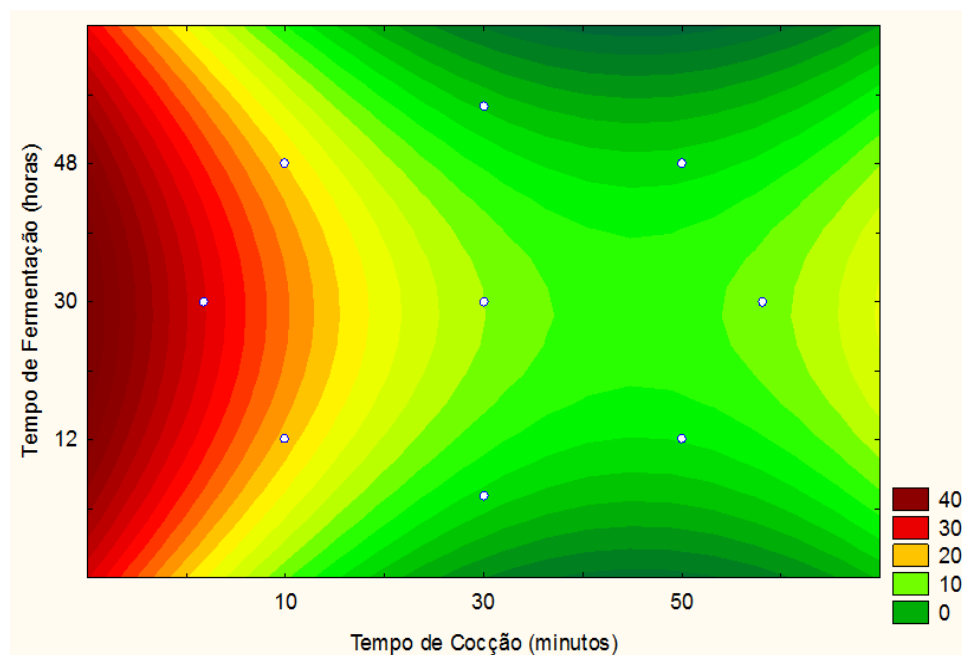


Figura 7: Gráfico de contorno para a resposta teor de cianeto total.

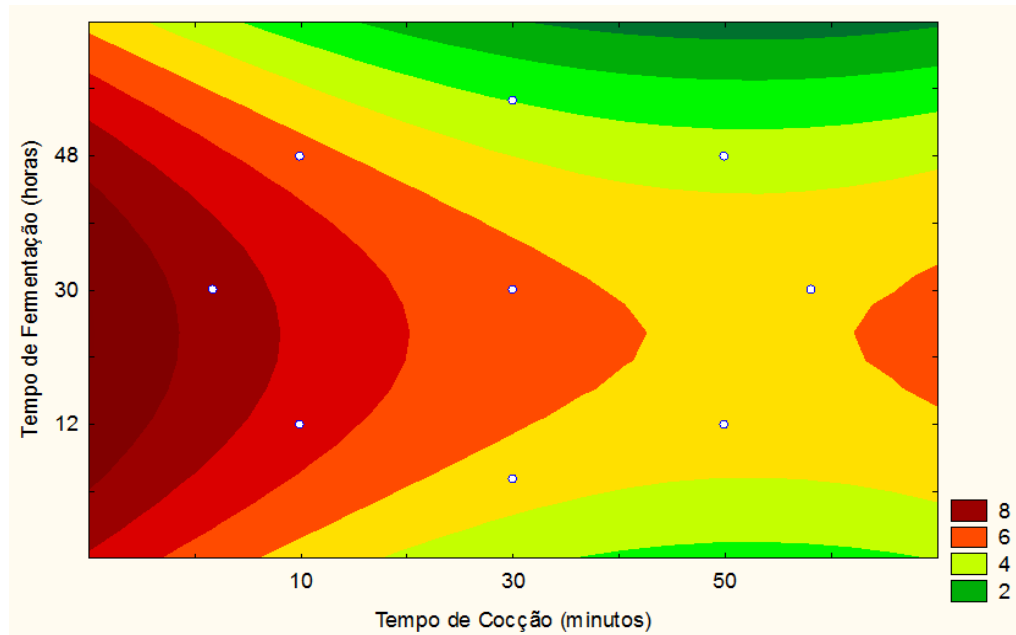


Figura 8: Gráfico de contorno para a resposta teor de cianeto livre.

Observa-se que, quando são aplicados os tempos de fermentação em curtos tempos de cocção (menor que 10 minutos), não há redução dos teores de cianeto. Porém, quando há o aumento do tempo de cocção nota-se uma redução significativa nos teores de cianeto total e livre a níveis seguros, principalmente na faixa entre 30 e 60 minutos, independente do tempo de fermentação.

Portanto, as Figuras 7 e 8 indicam que a variável tempo de cocção exerceu maior influência no processo, uma vez que, com o aumento do tempo de cocção há maior redução de cianeto, independente do tempo de fermentação.

Desta forma, com base no gráfico de contorno obtido pela análise de variância (Figura 7 e 8) e no levantamento do processo realizado nos estabelecimentos processadores, conforme mencionado no item 5.2 (Tabela 10), foram selecionadas duas condições de processamento para serem testadas, visando observar a influência das variáveis estudadas (tempo de fermentação e cocção) nas características físico-químicas e sensoriais, a fim de escolher os parâmetros do processo que garantam a qualidade do produto e níveis seguros de cianeto. Portanto, como o tempo de fermentação exerceu menor influência na redução do teor de cianeto, escolheu-se os tempos de 12 e 24 horas, os quais são comumente usados nos estabelecimentos. O tempo de cocção selecionado foi de 40

minutos, o qual se encontra na faixa ótima de redução do teor de cianeto a níveis seguros, (Figura 7 e 8), além de ser utilizado em dois estabelecimentos processadores avaliados.

Assim, foram realizados mais dois experimentos de processamento do tucupi, testando-se os tempos de fermentação de 12 e 24 horas e tempo de cocção de 40 minutos, para ambos.

Os resultados obtidos para as características físico-químicas e sensoriais, para os dois tucupis obtidos, encontram-se na Tabela 20.

Tabela 20: Características físico-químicas e sensoriais dos experimentos de processamento do tucupi com 12 e 24 horas de fermentação e 40 minutos de cocção.

Características		Tempo de fermentação (horas)	
		12	24
Físico-química	pH	4,34 ± 0,01 ^a	3,97 ± 0,01 ^b
	Acidez titulável total (meq NaOH/100mL)	3,82 ± 0,06 ^b	7,8 ± 0,06 ^a
	Cor	7,88 ^a	8,06 ^a
Sensorial	Sabor	6,48 ^b	7,38 ^a
	Aroma	7,37 ^a	7,56 ^a
	Impressão Global	6,90 ^b	7,49 ^a

* Resultados são média ± desvio-padrão.

* Média seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$).

Observou-se que o tucupi fermentado durante 24 horas apresentou valores de pH e acidez titulável mais característicos do produto final, ou seja, apresentando pH 3,97 e acidez de 7,8 meq NaOH/100 mL (0,7 g ác. láctico/100mL), estando na faixa de pH de 3,5-4,3 e acidez titulável total entre 0,1-0,8 g ác láctico/100mL, de acordo com a legislação pertinente (ADEPARÁ, 2008).

Para a análise sensorial, observou-se que o tucupi fermentado por 24 horas apresentou as maiores médias para todos os atributos avaliados, apresentando diferença significativa quando comparado ao tucupi fermentado por 12 horas, para

dos atributos sabor e impressão global. Portanto, baseando-se no gráfico de contorno e nas características físico-químicas e sensoriais dos tucupis elaborados de acordo com os dois experimentos complementares realizados, foram selecionados os tempos de 24 horas de fermentação e 40 minutos de cocção, para a produção do tucupi.

5.4. CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO FINAL

Os resultados da caracterização físico-química do tucupi processado nas condições otimizadas são apresentados na Tabela 21.

Tabela 21: Caracterização físico-química e microbiológica do tucupi processado nas condições otimizadas.

Análises		Resultados
Umidade (%)		93,91 ± 0,09
Sólidos Totais (%)		6,09 ± 0,09
Cinzas (%)		0,50 ± 0,01
Proteínas (%)		0,52 ± 0,01
Lipídios (%)		0,24 ± 0,01
Carboidratos (%)		4,83 ± 0,11
pH		3,71 ± 0,00
Acidez Titulável Total (meq NaOH/100mL)		7,20 ± 0,00
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)		6,50 ± 0,06
Cor	L*	52,02 ± 0,09
	a*	-1,85 ± 0,04
	b*	37,35 ± 0,27
Coliformes Totais e Termotolerantes		<3
<i>Salmonella</i> spp.		Ausência em 25 g
<i>Staphylococcus</i> Coag. Positivo		Ausente
<i>Bacillus cereus</i>		Ausente
Bactérias aeróbias mesófilas		1,3x10 ² (est.)
Bolores e leveduras		1,3x10 ² (est.)

* Resultados físico-químicos são média ± desvio-padrão.

Os resultados encontrados para as características físico-química, no presente trabalho, estão de acordo com a legislação da ADEPARÁ (2008), a qual estipula a faixa de pH de 3,5 a 4,3 e acidez titulável total variando de 0,1 a 0,8 g de ácido láctico/100mL.

O tucupi é um produto regional ainda pouco estudado, portanto, referências na literatura sobre a caracterização físico-química do mesmo ainda são escassas.

Os valores observados para cinzas (0,50%) e proteínas (0,52%) estão na faixa encontrada por Chisté et al. (2007), ao estudarem 10 amostras de tucupi comercializadas na cidade de Belém – PA, com valores de cinzas variando de 0,18 a 1,08% e proteínas variando de 0,33 a 0,66%. Quanto ao teor de umidade, os autores encontraram valores ligeiramente superiores (94,64 a 97,46%) ao determinado no presente estudo.

Para a acidez titulável total observou-se valor de 7,20 meq NaOH/100 mL, valor na faixa encontrada por Chisté et al. (2007) para 10 amostras de tucupi comercializadas na cidade de Belém, de 3,9 a 10, 6 meq NaOH/100 mL. Para pH o valor observado foi de 3,71, sendo que a literatura relata valores variando de 3,00 a 4,35 (Chisté et al., 2007).

Costa (2015), ao caracterizar o tucupi para obtenção de um produto alimentício à base de pupunha e tucupi, obteve teores de 93,48% de umidade, 0,05% de cinzas, 3,62 meq NaOH/100 mL de acidez, 5,72 °Brix e pH 3,86. Já Leão (2013) encontrou valores de umidade na faixa de 91,95 a 94,09%, acidez variando de 7,00 a 8,12 meq NaOH/100mL e pH entre 3,90 e 4,79, ao estudar a degradação térmica dos glicosídeos cianogênicos e carotenoides totais do tucupi.

O tucupi apresentou valores das coordenadas cromáticas a^* e b^* de -1,85 e 37,35, respectivamente, indicando coloração amarelada, e valor de 52,02 para o parâmetro L^* , referente à luminosidade, definindo uma coloração amarelo intensa característica do produto, estando em conformidade com a legislação (ADEPARÁ, 2008).

A variação observada entre os resultados da caracterização físico-química do tucupi e a literatura relacionada pode ser explicada devido às propriedades do tucupi dependerem diretamente do processo de fabricação, assim como da variedade de

mandioca utilizada no processo de extração da manipueira, os quais afetarão diretamente as características do produto final (CHISTÉ; COHEN, 2011).

De maneira geral e de acordo com os resultados apresentados, o tucupi se apresentou como um alimento de coloração amarela e sabor ácido (pH 3,71), atributos característicos do produto.

Quanto às características microbiológicas, o tucupi atende às exigências da Instrução Normativa nº 001/2008 (ADEPARÁ, 2008), a qual estipula ausência de *Salmonella* spp., *Staphylococcus* Coag. positivo e *Bacillus cereus* e NMP <3 para coliformes totais e termotolerantes. Além disso, apresentou baixos valores na contagem de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras, os quais servem como indicativo da qualidade higiênica do produto. Portanto, o tucupi elaborado encontra-se apto para ser consumido, indicando que foi processado sob condições higiênico-sanitárias satisfatórias.

Com relação às características sensoriais, os resultados obtidos para o tucupi processado sob condições otimizadas são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22: Características sensoriais do tucupi final.

Atributos	Notas médias	IA (%)
Cor	7,96 ± 0,99	88,44
Sabor	7,55 ± 1,31	83,89
Aroma	8,07 ± 1,11	89,67
Impressão Global	7,77 ± 1,04	86,33

* Resultados são média ± desvio-padrão.

Observou-se que a avaliação sensorial realizada demonstrou que o tucupi obtido sob condições otimizadas foi bem aceito pelos potenciais consumidores, uma vez que apresentou notas entre 7,55 e 8,07 para os atributos avaliados e índices de aceitação superiores a 70%, considerados satisfatórios (DUTCOSKY, 1996).

5.5. ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA

Na Tabela 23 são apresentados os resultados das análises físico-químicas realizadas durante o armazenamento refrigerado do tucupi a 10 °C.

Tabela 23: Caracterização físico-química do tucupi durante 50 dias de armazenamento sob refrigeração.

Tempo (dias)	pH	Acidez total titulável (meq NaOH/100mL)	Sólidos solúveis (°Brix)
0	3,71 ± 0,00 ^{cd}	7,20 ± 0,00 ^{abcd}	6,5 ± 0,06 ^c
5	3,51 ± 0,01 ^g	7,10 ± 0,10 ^{bcd}	6,6 ± 0,06 ^c
10	3,73 ± 0,01 ^{bc}	7,24 ± 0,05 ^{abc}	6,3 ± 0,04 ^{ef}
15	3,79 ± 0,01 ^a	7,28 ± 0,04 ^{ab}	6,3 ± 0,05 ^f
20	3,58 ± 0,01 ^f	7,01 ± 0,07 ^d	6,9 ± 0,05 ^a
25	3,75 ± 0,01 ^b	7,11 ± 0,08 ^{cd}	6,5 ± 0,05 ^{cd}
30	3,68 ± 0,00 ^d	7,29 ± 0,06 ^a	6,9 ± 0,05 ^a
35	3,62 ± 0,01 ^e	7,13 ± 0,10 ^{bcd}	6,7 ± 0,06 ^b
40	3,58 ± 0,01 ^f	7,13 ± 0,10 ^{bcd}	6,5 ± 0,06 ^c
45	3,57 ± 0,01 ^f	7,13 ± 0,05 ^{bcd}	6,5 ± 0,04 ^c
50	3,74 ± 0,00 ^{bc}	7,01 ± 0,05 ^d	6,4 ± 0,05 ^{de}

* Resultados são média ± desvio-padrão.

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si estatisticamente (p>0,05).

Para as variáveis pH, sólidos solúveis e acidez titulável observou-se diferença estatística no decorrer do tempo de estocagem estudado, ocorrendo oscilação entre os tempos. Entretanto, ao se comparar os tempos 0 e 50 dias, não houve mudanças significativas para pH e acidez titulável; já para sólidos solúveis houve uma redução significativa nos valores. Segundo Lopes (2005), estas diferenças não podem ser consideradas importantes, pois para análises como pH, acidez titulável e sólidos solúveis, onde a variação entre as replicatas é muito pequena, ao aplicar o teste de Tukey, pequenas diferenças entre duas amostras geram diferenças estatísticas significativas (p<0,05).

Os valores de pH e acidez titulável total observados durante o período de armazenamento estão de acordo com Chisté et al. (2007), que obtiveram teores

variando de 3,00 a 4,35 para o pH e de 3,92 a 10,66 meq NaOH/100 mL para acidez titulável total, ao estudarem 10 amostras de tucupi comercializadas em Belém. Já Chisté e Cohen (2011), ao estudarem as etapas de processamento do tucupi, obtiveram valores de pH de 3,6, acidez titulável de 12,3 meq NaOH/100 mL e sólidos solúveis de 8,1 °Brix para o tucupi obtido.

Costa (2015) ao caracterizar o tucupi para obtenção de um produto alimentício à base de pupunha e tucupi, obteve um valor de pH de 3,86, acidez titulável de 3,62 meq NaOH/100 mL e sólidos solúveis de 5,73 °Brix. O valor de pH determinado no presente estudo é semelhante ao encontrado por Costa (2015), enquanto que os teores de acidez titulável e sólidos solúveis são superiores aos relatados pelo autor.

A Tabela 23 apresenta os teores de cianeto total e cianeto livre, ao longo do período de armazenamento sob refrigeração.

Tabela 24: Teores de cianeto total e livre durante 50 dias de armazenamento sob refrigeração.

Tempo (dias)	Cianeto total (mg HCN/100mL)	Cianeto livre (mg HCN/100mL)
0	6,97 ± 0,10 ^a	1,26 ± 0,05 ^a
5	6,99 ± 0,39 ^a	1,21 ± 0,01 ^a
10	6,44 ± 0,40 ^a	1,18 ± 0,02 ^a
15	6,58 ± 0,27 ^a	1,24 ± 0,03 ^a
20	6,65 ± 0,72 ^a	1,19 ± 0,01 ^a
25	6,43 ± 0,64 ^a	1,23 ± 0,06 ^a
30	6,48 ± 0,11 ^a	1,20 ± 0,01 ^a
35	6,57 ± 0,27 ^a	1,16 ± 0,02 ^a
40	6,35 ± 0,28 ^a	1,25 ± 0,06 ^a
45	6,69 ± 0,81 ^a	1,17 ± 0,06 ^a
50	6,59 ± 0,80 ^a	1,19 ± 0,01 ^a

* Resultados são média ± desvio-padrão.

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si estatisticamente (p>0,05).

Para as variáveis de cianeto total e cianeto livre não houve diferenças significativas ($p>0,05$) nos teores, ao longo do período de armazenamento, sendo observados valores médios de cianeto total de 6,61 mg HCN/L e cianeto livre de 1,21 mg HCN/L. Valores superiores foram encontrados por Chisté e Cohen (2011), ao estudarem o teor de cianeto total e livre nas etapas de processamento do tucupi, obtendo-se, para o produto final, com fermentação de 72 horas e cocção de 10 minutos, um teor de 37,1 mg HCN/L para cianeto total e 8,9 mg HCN/L para cianeto livre.

Os resultados da contagem de coliformes termotolerantes, bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras obtidos para o tucupi durante os 50 dias de armazenamento estão apresentados na Tabela 25.

Tabela 25: Contagem de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras e coliformes totais e termotolerantes durante o período de armazenamento do tucupi.

Tempo (dias)	Coliformes totais e termotolerantes	Bactérias aeróbias mesófilas	Bolores e leveduras
0	<3	$1,3 \times 10^2$ (est.)	$1,3 \times 10^2$ (est.)
5	<3	$6,7 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$
10	<3	4×10^2	$7,1 \times 10^2$
15	<3	$1,8 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$
20	<3	$4,3 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$
25	<3	$3,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
30	<3	$2,3 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$
35	<3	$1,4 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$
40	<3	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$
45	<3	$1,6 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
50	<3	$1,1 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$

* Valores médios de duas repetições, em duas amostras selecionadas aleatoriamente.

A Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARÁ) estabelece o limite máximo para coliformes termotolerantes de NMP <3/mL. Portanto, os índices de coliformes totais e termotolerantes encontrados no presente trabalho atendem a legislação pertinente.

Mesmo a legislação não estabelecendo um padrão para bactérias mesófilas e para bolores e leveduras, realizou-se a contagem dos mesmos, uma vez que, sendo o tucupi um alimento de alta acidez, pode apresentar crescimento de tais micro-organismos. Além disso, esses micro-organismos são usados como indicadores do tempo útil de conservação dos alimentos, sendo importante a realização de sua análise.

Nota-se que no início do estudo os níveis populacionais apresentaram valores estimados, abaixo da faixa de contagem, para bactérias mesófilas e bolores e leveduras. Após o armazenamento, do quinto até o décimo dia, os valores na contagem microbiana elevaram-se para 10^2 UFC/g. A partir do tempo de 15 dias de armazenamento pode-se observar o aumento de 1 ciclo logarítmico na contagem microbiana, tanto para bactérias quanto para bolores e leveduras, permanecendo constantes em 10^3 UFC/g ao longo do tempo de armazenamento.

Segundo Rosa (2004), a deterioração de alimentos pode ser causada pelo crescimento microbiano que resultaria em alterações sensoriais. Neste caso, números elevados de micro-organismos são esperados e variam com o tipo de alimento e micro-organismos presentes. A maioria dos alimentos apresenta populações de bactérias aeróbias mesófilas superiores a 10^6 UFC/g do alimento, quando essas alterações são detectáveis. Entretanto, há aqueles em que são necessários 10^7 UFC/g ou até mesmo 10^8 UFC/g para que o consumidor possa perceber alterações. Os alimentos fermentados apresentam população microbiana de aproximadamente 10^8 UFC/g, sem, no entanto, serem considerados deteriorados (CARVALHO, 1999).

Ressalta-se que, embora o produto tenha se mantido microbiologicamente estável ao longo dos 50 dias de armazenamento sob refrigeração, o estudo da vida de prateleira do produto foi interrompido devido à depreciação da qualidade sensorial do tucupi, evidenciada pelos testes de aceitação, conforme demonstrado na Tabela 26.

Segundo Mattietto (2005), os estudos de vida de prateleira envolvem a análise sensorial, sendo possível verificar as alterações na qualidade do produto e o tempo que o alimento leva até atingir os limites inaceitáveis quanto aos atributos sensoriais e microbiológicos, que indicam a deterioração do produto.

Tabela 26: Média dos resultados dos parâmetros sensoriais atribuídos ao tucupi, ao longo do período de armazenamento sob refrigeração.

Tempo (dias)	Cor	Sabor	Aroma	Impressão global
0	7,96 ^a	7,55 ^{ab}	8,07 ^a	7,77 ^a
3	8,00 ^a	7,63 ^{ab}	7,90 ^{ab}	7,70 ^{ab}
10	8,03 ^a	8,13 ^a	7,83 ^{ab}	8,07 ^a
15	8,13 ^a	7,63 ^{ab}	7,83 ^{ab}	7,57 ^{ab}
20	8,17 ^a	7,23 ^{abc}	7,47 ^{ab}	7,37 ^{abcd}
24	8,13 ^a	7,50 ^{abc}	7,70 ^{ab}	7,50 ^{abc}
30	7,83 ^a	7,20 ^{abc}	7,63 ^{ab}	7,03 ^{abcd}
35	7,73 ^a	6,63 ^{bcd}	7,37 ^{ab}	6,53 ^{bcd}
44	8,10 ^a	6,30 ^{cde}	7,33 ^{ab}	6,37 ^{cde}
49	7,57 ^a	5,90 ^{de}	7,00 ^b	6,27 ^{de}
56	6,60 ^b	5,27 ^e	5,84 ^c	5,30 ^e

* Médias seguidas pela mesma letra não se diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Estabeleceu-se que os testes sensoriais encerrariam-se quando a nota média dos provadores atingisse valores próximos de cinco.

Para o atributo cor, observou-se que os provadores não perceberam diferença ($p>0,05$) entre as amostras, até o tempo de 49 dias de armazenamento. Porém, no tempo de 56 dias, a nota média atribuída pelos provadores reduziu significativamente.

Quanto ao atributo sabor, pode-se observar que, ao longo do período de armazenamento, houve variações significativas, verificando-se nota média de 5,27 aos 56 dias de armazenamento.

Já para o atributo aroma não houve diferença significativa até os 49 dias de estocagem; porém, com 56 dias de armazenamento os provadores perceberam uma perda significativa no aroma do tucupi armazenado.

Com relação à impressão global, pode-se observar variações significativas ao longo do período de armazenamento. Aos 56 dias, os provadores perceberam uma

diminuição significativa quanto à impressão global do produto, resultando em uma nota média de 5,30.

Os testes sensoriais revelaram-se como um fator decisivo na determinação da vida útil do tucupi. Conforme mencionado anteriormente, a estabilidade sensorial do produto foi determinada adotando-se o valor cinco (nem gostei/nem desgostei) na escala hedônica de nove pontos, como nota de corte.

A Figura 9 permite uma melhor visualização dos resultados sensoriais obtidos, onde os percentuais de aceitação dos atributos sensoriais avaliados ao longo do tempo de armazenamento são apresentados.

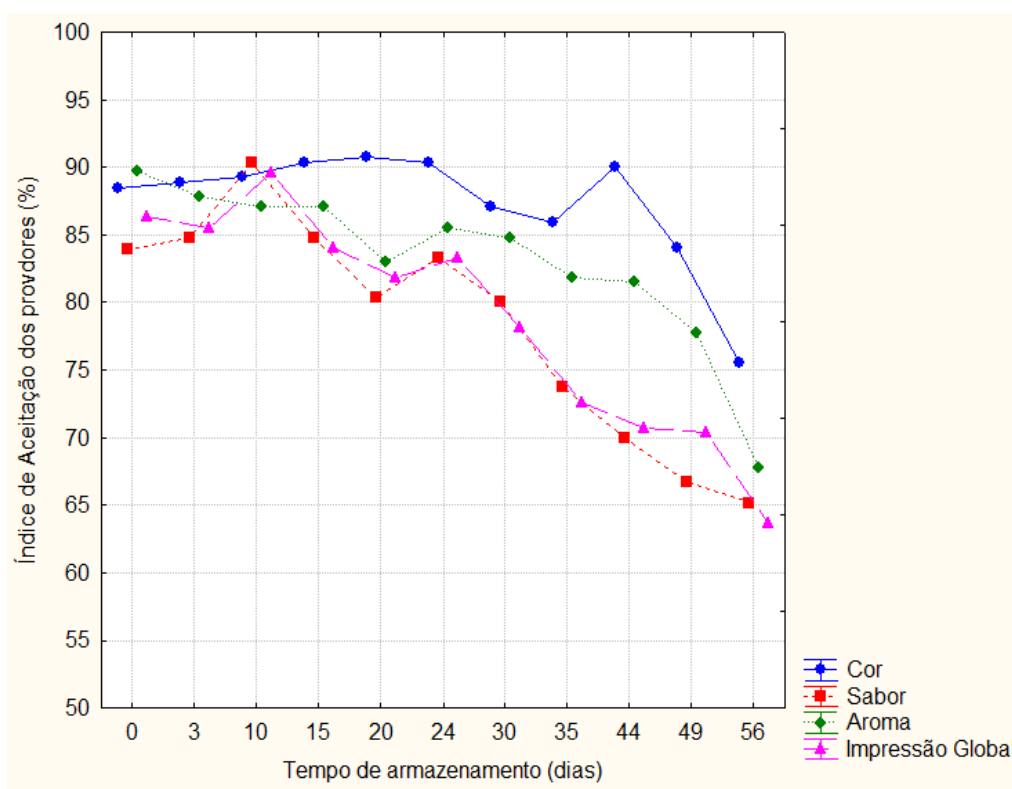


Figura 9: Índice de aceitação dos atributos sensoriais durante o período de armazenamento do tucupi.

Nota-se comportamento similar para os quatro atributos avaliados, ou seja, um decréscimo no índice de aceitação do tucupi pelos provadores, ao longo do período de armazenamento. Observou-se redução, entre os tempos inicial e final da

vida de prateleira, de 14,57%, 22,30%, 24,41% e 26,21% para os atributos cor, sabor, aroma e impressão global, respectivamente.

Com base nos dados das análises realizadas ao longo do estudo de vida de prateleira, pode-se concluir que o tucupi elaborado apresentou uma boa vida de prateleira, tendo em vista que o tempo de armazenamento comercial do produto é de 30 dias sob refrigeração.

6. CONCLUSÃO

O tucupi comercializado na cidade de Belém apresentou variações em suas características físico-químicas e nos teores de cianeto total e livre. Cerca de 50% das amostras analisadas apresentaram teores de cianeto total superior a 100 mg HCN/L, além de altos níveis nas contagens de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras.

Durante o estudo das etapas de processamento do tucupi, verificou-se grande variação nas características físico-químicas e teores de cianeto total e livre, entre os dois estabelecimentos processadores acompanhados.

De acordo com o planejamento experimental, para determinação dos parâmetros de processamento do tucupi, estabeleceu-se o tempo de fermentação de 24 horas e o tempo de cocção de 40 minutos. Nessas condições, o tucupi apresentou propriedades físico-químicas e sensoriais características do produto e em conformidade com a legislação, além de apresentar níveis de cianeto total e livre seguros para o consumo humano. A análise microbiológica indicou um produto final em condições higiênico-sanitárias satisfatórias.

De acordo com o estudo de vida de prateleira realizado para o tucupi, a avaliação sensorial foi o fator decisivo para o término do estudo, observando-se depreciação da qualidade sensorial do produto com 56 dias de armazenamento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. F.; MATTIETTO, R. A. Procedimentos de fabricação dos derivados de mandioca: recomendações para obtenção de produtos seguros e de qualidade. IN: MODESTO JÚNIOR, M. S.; ALVES, R. N. B. **Cultura da mandioca: apostila**. Belém – PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014, p. 165 – 182.

ADEPARÁ – Agencia de Defesa Agropecuária do Estado do Pará. **Tucupi: Padrão de identidade e qualidade do tucupi**. (GIPOV). Belém-PA, 2008.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16^a ed., 3^a rev. Gaithersburg: Published by AOAC International. v.2, cap. 32, 1997.

ARAÚJO, J. M. A. Química de alimentos: teoria e prática. In:_____. **Toxicantes naturais**. 4. ed. Viçosa: Viçosa: UFV, cap. 06, p. 286-301, 2008.

AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Ed. Técnica, 2 ed, Brasília-DF, Embrapa, 2012, 328 p.

BARROS NETO, B. DE; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: UNICAMP, 2003, 299 p.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E., **Como Fazer Experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Ed. Unicamp. Campinas-SP, 2007, 480 p.

BAYOUMI, S. A. L.; ROWAN, M. G.; BEECHING, J. R.; BLAGBROUGH, I. S. Constituents and secondary metabolite natural products in fresh and deteriorated cassava roots. **Phytochemistry**, New York, v. 71, n. 5-6, p. 598-604, 2010.

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

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters. An introduction designs, data analysis and model building**. New York: John Wiley & Sons Inc., 1978, 672 p.

BRASIL. Resolução. RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2001.

CAGNON, J. R.; CEREDA, M. P.; PANTAROTTO, S. **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v. 2, p. 13-37, 2002.

CAMARGO, M.T.L.A. **Estudo etnobotânico da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz – Euphorbiaceae) na diáspora africana**. In: Anais do Seminário Gastronomia em Gilberto Freyre, Recife, p.22-30, 2005.

CAMILI, E.A. **Tratamento da manipueira por processo de flotação sem o uso de agentes químicos**. 2007, 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, 2007.

CARDOSO, J. R.; CEREDA, M. P.; PANTAROTTO, S. In Cd-rom. **Série: Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. Vol. 2 – Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas. Fundação Cargill. Ago/2005.

CARVALHO, E. P. **Microbiologia de alimentos**. Lavras: UFLA/FAEP, 1999, 76 p.

CASSONI, V. **Valorização de resíduo de processamento de farinha de mandioca (manipueira) por acetificação**. 2008, 90 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu – SP, 2008.

CEREDA, M.P. Caracterização dos subprodutos da Industrialização da Mandioca. In: CEREDA, M.P. (coord) **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da Industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, v.4, cap.1, p.13-37, 2002.

CEREDA, M. P.; LOPES, A. M. In: **Determinação do potencial de intoxicação em ratos, de linamarina extraída de mandioca**. v. 1. 2003, Anais do V SLACA, Campinas, São Paulo, 2003.

CEREDA, M.P.; VILPOUX, O. Produtos regionais a base de mandioca ou derivados. In: CEREDA, M.P. **Tecnologia, uso e potencialidade de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, p. 683-693, 2003.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O. Teor de cianeto total e livre nas etapas de processamento do tucupi. **Revista Instituto Adolf Lutz**, São Paulo – SP, 70(1), p. 41-46, 2011.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; OLIVEIRA, S. S. **Determinação de cianeto durante as etapas de processamento da farinha de mandioca do grupo seca**. III Seminário de Iniciação Científica da UFRA e IX da Embrapa Amazônia Oriental, 2005.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; OLIVEIRA, S. S. Estudo das propriedades físico-químicas do tucupi. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 437-440, 2007.

COHEN, K. O.; OLIVEIRA, S. S.; CHISTÉ, R. C. **Quantificação de teores de compostos cianogênicos totais em produtos elaborados com raízes de mandioca**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2007, 23 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 290).

COSTA, J. C. **Modelo Weibull com parâmetros dependentes de covariáveis: aplicação na determinação de vida de prateleira**. 2005, 160 p. Dissertação (UFMG – Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Estatística). Belo Horizonte – MG, 2005.

COSTA, R. D. S. **Obtenção de um produto alimentício à base de pupunha e tucupi por Refractance Window**, 2015, 80f, Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: DA Champagnat, 1996, 123 p.

ESSERS, A. J. A.; BOSVELD, M.; VAN DER GRIFT. R. M.; VORAGEN, A. G. J. Studies on the quantification of specific cyanogenes in cassava products and

introduction of a new chromogen. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 63, p. 287-296, 1993.

FIORETTO, R. A. Uso direto da manipueira em fertirrigação. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, v. 4, p. 67-79, 2001.

FOLEGATTI, M. I. da S.; MATSUURA, F. C. A. U.; FILHO, J. R. F. A indústria da farinha de mandioca. In: SOUZA, L. S. FARIAS, A. R.N., MATTOS, P. L. P.; FUKUDA, W. M. G. (Ed.). **Processamento e utilização da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2005, 547 p.

FREITAS, M. A.; BORGES, W.; HO, L. L. **A statistical model for shelf life estimation using sensory evaluation scores**. Relatório Técnico RTP-10/2001 (UFMG – Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Estatística). Minas Gerais, 2001.

GANJEWALA, D.; KUMAR, S.; ASHA, D. S.; AMBIKA, K. Advances incyanogenic glycosides biosynthesis and analysis of plants: a review. **Acta Biol. Szeged**. 54, p. 1–14, 2010.

HOUGH, G.; GÓMEZ, G.; CURIA, A. Survival Analysis Applied to Sensory Shelf Life of Foods. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 1, p. 359-362, 2003.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola – janeiro 2016**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>> Acesso em 20 de fevereiro de 2016.

IDIEBIE, C. A.; DAVIDS, H.; IYUKE, S. E. Cytotoxicity of purified cassava linamarin to a selected câncer cell lines. **Bioprocess Biosystem Engeneer**, Berlin, v. 30, n. 4, p. 261 – 269, 2007.

JANSEN VAN RIJSSEN, F. W.; MORRIS, E. J.; ELOFF, J. N. Food Safety: Importance of composition for assessing genetically modified cassava (*Maninhot esculenta* Crantz) . **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 8333 – 8339, 2013.

KOLIND-HANSEN, L.; BRIMER, L. The retail market for fresh cassava root tubers in the European Union (EU): the case of Copenhagen, Demark—a chemical food safety issue. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 90, n. 2, p. 252 – 256, 2010.

LACAZ-RUIZ, R. **Manual prático de microbiologia básica**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2000.

LIMA JÚNIOR, D. M.; MONTEIRO, P. B. S.; RANGEL, A. H. N.; MACIEL, M. V.; OLIVEIRA, S. E. O.; FREIRE, D. A. Fatores anti-nutricionais para ruminantes. **Acta Veterinaria**, Brasília, v. 3, n.4, p. 132-143, 2010.

LEÃO, V. E. R. **Degradação térmica dos glicosídeos cianogênicos e carotenoides totais do tucupi**. 2013, 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia e Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

LOPES, A. S. **Pitanga e acerola: estudo de processamento, estabilidade e formulação de néctar misto**. 2005. 175p. Tese de Doutorado (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MAN, D.; ADRIAN, J. **Shelf life evolution of foods**. Gaithersburg: Aspen, 2000.

MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S.; SARMENTO, S. B. S. Processo de produção. In: MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S. (Org). **Iniciando um pequeno e grande negócio agroindustrial: processamento da mandioca**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003, p. 11 – 49. (Embrapa Informação Tecnológica. Série Agronegócios).

MATTIETTO, R. de A. **Estudo tecnológico de um néctar misto de cajá (*Spondias Lutea* L.) e umbu (*Spondias Tuberosa*, Arruda Câmara)**. 2005, 299 p. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas - SP, 2005.

MATSUURA, F. C. A.U.; FOLEGATTI, M. I. S.; SARMENTO, S. B. S. Processo de produção. In: MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S. (Org.). **Iniciando um**

pequeno grande negócio agroindustrial: processamento da mandioca. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 11 - 49, 2003.

MONTGOMERY, D. C. **Diseño y análisis de experimentos.** Trad. Jaime Delgado Saldivar. México: Iberoamérica, 1991.

MONTGOMERY, D.C. **Design and analysis of experiments.** 4.ed. New York: John Wiley, 1997, 704 p.

NAMBISAN, B. Evaluation of effect of various processing technique on cyanogens content reduction in cassava. **Acta Horticulturae** – International Workshop on Cassava Safety. Tbadan: WOCAS, v. 375, p. 141 – 173, 1994.

NAMBISAN, B. Strategies for elimination of cyanogens from cassava for reducing toxicity and improving food safety. **Food and Chemical Toxicology**, Exeter, v. 49, n. 3, p. 690 – 693, 2011.

NASSAR, N.; ORTIZ, R. Breeding cassava to feed the poor. **Scientific American Magazine**, New York, v. 302, n. 5, p. 78 – 82, 2010.

NETTO, F. M. **Determinação da vida-de-prateleira – Erros e limitações.** In: MOURA, S. C. S. R.; GERMER, S. P. M. Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. 4. ed. Campinas: ITAL, p. 88-96, 2010.

OLIVEIRA, L. L. **Perfil higiênico-sanitário das unidades de processamento da farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na região Sudoeste da Bahia.** 2008, 85 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2008.

OLIVEIRA, L. A. **Manual de laboratório: Análises físico-químicas de frutas e mandioca.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010, p. 175 – 218.

OLIVEIRA, R. C. S. **Avaliação da citotoxicidade, genetoxidade e mutagenicidade da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em célula tumoral HepG2.** 2012, 49 p. Tese (Doutorado em Toxicologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

OSUNTOKUM, B. O. Cassava diet, chronic cyanide intoxication and neuropathy in Nigerian Africans. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 36, n. 1, p. 141-173, 1981.

ROSA, V. P. **Efeito da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo minas frescal**. 2004, 155 p. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, 2004.

ROSLING, H. Measuring effects in humans of dietary cyanide exposure from cassava. **Acta Horticulturae: International Workshop on Cassava Safety**, v. 376, p. 271-83, 1994.

SEBRAE - Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Mandiocultura: Derivados da mandioca**. Salvador - BA, 2009.

SORNTOTHA, S.; KYU, K. L.; RATANAKHANOKCHAI, K. Na eficiente treatment for detoxification processo of cassava starch by plant cell wall-degrading enzymes. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 109, n. 1, p. 1 – 9, 2010.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3. ed. New York: Academic Press, 2004, 408 p.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Helianthus, 2000, 310 p.

TYLLESTAR, T. Cassava cyanogens and Konzo, an upper motoneuron disease found in Africa. **Lancet**. n. 339, p. 208-211, 1992.

VANDERZANT, T.; SPLITTSTOESSER, E. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington: American Public Health Association - APHA, 1992, 1919 p.

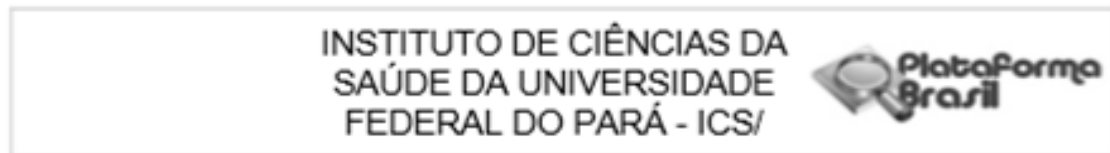
VITALI, A. A.; QUAST, D. G. Reações de Transformação e Vida de Prateleira de Alimentos Processados. **Manual Técnico Nº 06**, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, 2ª Edição, Campinas-SP, 1996.

WHO - World Health Organization. Cyanogenic glycosides (addendum). In **Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants**; JECFA/WHO Additives Series 65; WHO: Geneva, Switzerland, p. 171–322, 2012.

WOBETO, C.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D.; PEREIRA, H.V. Antinutrients in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf poder at three ages of the plant. **Ciência Tecnologia e Alimento**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 108 – 112, 2007.

ANEXO

Anexo 1- Parecer de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Otimização do Processo de Conservação do Tucupi

Pesquisador: Ana Paula Rocha Campos

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50781615.7.0000.0018

Instituição Proponente: Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará - ICS/ UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.414.965

Apresentação do Projeto:

O estudo visa avaliar a qualidade do tucupi, produto extraído da mandioca e muito comercializado no norte do país, e promover a otimização de um processo tecnológico adequado para a conservação do tucupi, garantindo níveis seguros de ácido cianídrico e microbiológicos do mesmo. da estabilidade do produto final.

Objetivo da Pesquisa:

Estudar o processo tecnológico adequado para a conservação do tucupi determinando o teor de ácido cianídrico em amostras comerciais de tucupi, adquiridas em feiras livres na cidade de Belém – PA. Otimizando o processo de produção artesanal do tucupi, em função do teor de ácido cianídrico e flora microbiana residuais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Embora possam haver riscos, estes serão minimizados pela busca da qualidade do produto beneficiando toda a sociedade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo tem grande pertinência comercial e biológica, trazendo a possibilidade de distribuição de um produto com qualidade e com grande potencial econômico.

Endereço: Rua Augusto Correa nº 01-81 do ICS 13 - 2º and.
Bairro: Campus Universitário do Guamá **CEP:** 66.075-110
UF: PA **Município:** BELEM
Telefone: (91)3201-7735 **Fax:** (91)3201-8028 **E-mail:** cepocs@ufpa.br

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARÁ - ICS/**



Continuação do Parecer: 1.414.955

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios estão presentes.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto somos pela aprovação do protocolo. Este é nosso parecer, SMJ.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_P ROJETO_583526.pdf	08/10/2015 11:25:01		Aceito
Outros	TermoDeConsentimentoDaInstituicao.pdf	08/10/2015 11:24:24	Ana Paula Rocha Campos	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	08/10/2015 11:20:07	Ana Paula Rocha Campos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	11/09/2015 09:27:08	Ana Paula Rocha Campos	Aceito
Outros	CartaDeEncaminhamento.pdf	03/09/2015 09:25:55	Ana Paula Rocha Campos	Aceito
Orçamento	IsenscaoDeOnus.pdf	03/09/2015 09:19:27	Ana Paula Rocha Campos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoDeOrientacao.pdf	03/09/2015 09:19:03	Ana Paula Rocha Campos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoDeCompromisso.pdf	03/09/2015 09:16:30	Ana Paula Rocha Campos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	02/09/2015 10:43:57	Ana Paula Rocha Campos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Augusto Corrêa nº 01-BI do ICB 13 - 2º and.
 Bairro: Campus Universitário do Guamá CEP: 66.075-110
 UF: PA Município: BELEM
 Telefone: (91)3201-7735 Fax: (91)3201-8028 E-mail: cepccs@ufpa.br

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARÁ - ICS/



Continuação do Parecer: 1.414.983

BELEM, 18 de Fevereiro de 2016

Assinado por:
Wallace Raimundo Araujo dos Santos
(Coordenador)

Endereço: Rua Augusto Correa nº 01-BI do ICS 13 - 2º and.
Bairro: Campus Universitário do Guamá CEP: 66.075-110
UF: PA Município: BELEM
Telefone: (91)3201-7735 Fax: (91)3201-8028 E-mail: cepccs@ufpa.br

Anexo 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido para aplicação da análise sensorial

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

*Você está sendo convidado a participar da pesquisa “**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE CONSERVAÇÃO DO TUCUPI**”. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que iremos realizar. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós! Você poderá desistir a qualquer momento e em qualquer etapa da pesquisa sem nenhum prejuízo ou dano para você.*

Este estudo tem como objetivo determinar um processo de conservação do tucupi adequado. Você deverá provar a amostra e dar sua opinião com relação à cor, sabor, aroma e impressão global. Os métodos utilizados nesta pesquisa não são invasivos.

Você não é obrigado(a) a participar desta pesquisa, tendo a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração no momento em que desejar, sem necessidade de explicação, não lhe causando nenhum prejuízo ou dano.

A sua contribuição neste projeto auxiliará para a verificação da viabilidade da padronização no processo de produção de tucupi.

Você não receberá nenhuma remuneração nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. As informações provenientes deste trabalho serão utilizadas para fins de publicação e produção científica. Em nenhum momento da pesquisa suas informações pessoais serão divulgadas, e os possíveis riscos de contaminação microbiológica do produto são descartados uma vez que foram adotados todos os procedimentos de boas práticas de fabricação e a qualidade sanitária do produto a ser avaliado foi assegurada pela realização das análises microbiológicas descartando risco de contaminação.

Você poderá a qualquer momento solicitar informação sobre o andamento do estudo aos pesquisadores responsáveis.

Eu _____, abaixo assinado, concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário deste estudo.

Assinatura do voluntário

Pesquisador Responsável (Discente): Ana Paula Rocha Campos (99944-6669)

Pesquisador Orientador (Docente): Profª Drª Ana Vânia Carvalho

Anexo 3 – Ficha sensorial aplicada para realização do teste de aceitação

Nome: _____ Idade: _____

Contato: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra de tucupi. Por favor, prove a amostra e na escala abaixo indique o quando você gostou ou desgostou da mesma, quanto aos atributos de cor, sabor, aroma e impressão global.

AMOSTRA: _____

Quanto a **COR**:

- ☐ Gostei muitíssimo
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei moderadamente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Nem gostei/nem desgostei
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Desgostei moderadamente
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei muitíssimo

Quanto a **SABOR**:

- ☐ Gostei muitíssimo
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei moderadamente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Nem gostei/nem desgostei
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Desgostei moderadamente
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei muitíssimo

Quanto a **AROMA**:

- ☐ Gostei muitíssimo
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei moderadamente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Nem gostei/nem desgostei
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Desgostei moderadamente
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei muitíssimo

Quanto a **IMPRESSÃO GLOBAL**:

- ☐ Gostei muitíssimo
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei moderadamente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Nem gostei/nem desgostei
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Desgostei moderadamente
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei muitíssimo

Comentário:
