

MARIA IVANEIDE COUTINHO CORRÊA

**AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS DO ÁCIDO LÁTICO,  
ENDÓGENAS DA MANDIOCA, NAS CARACTERÍSTICAS DO  
POLVILHO AZEDO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C824a  
2010

Corrêa, Maria Ivaneide Coutinho, 1969-  
Avaliação de bactérias do ácido láctico, endógenas da  
mandioca, nas características do polvilho azedo / Maria  
Ivaneide Coutinho Corrêa. – Viçosa, MG, 2010.  
ix, 83 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Ismael Maciel de Mancilha.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 68-77

1. Tecnologia de alimentos. 2. Mandioca - Microbiologia.  
3. Ácido láctico. 4. Bactérias. I. Universidade Federal de  
Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 664.23

MARIA IVANEIDE COUTINHO CORRÊA

**AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS DO ÁCIDO LÁTICO,  
ENDÓGENAS DA MANDIOCA, NAS CARACTERÍSTICAS DO  
POLVILHO AZEDO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

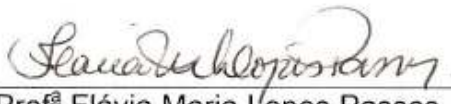
APROVADA: 18 de novembro de 2010.



Profª Célia Lúcia de Lucas F. Ferreira  
(Coorientadora)



Profª Mônica Ribeiro Pirozi  
(Coorientadora)



Profª Flávia Maria Lopes Passos



Prof. Renato Souza Cruz



Prof. Ismael Máciel de Mancilha  
(Orientador)

*Aos meus pais, Durval e Ivanilde, fontes da minha existência.*

*Ao meu filho, Pedro, mais uma razão da minha vida.*

*À minha amada avó, Ábida, saudades.*

Dedico

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela referência de Pai: que ama, que cuida, que acolhe, que compreende, que adverte, que é justo, que vive para sempre. Agradeço por tudo e por ter me amparado nos momentos mais difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), pela oportunidade do aprimoramento acadêmico, e à FAPEMIG, pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

Ao Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), na pessoa do então diretor geral Jair José Pela, pelo afastamento concedido para o doutorado.

À CAPES, pelo auxílio financeiro através de bolsa de doutorado pelo programa PIQDTEC.

À Tup Guar Indústria e Comércio Ltda., em Conceição dos Ouros, MG; ao diretor Benedito D. de Carvalho Pascualino, pela oportunidade de realização de parte deste trabalho nas instalações da indústria, e à Lara, pelo igual apoio e pela sua amizade. Aos funcionários, em especial ao Rocha, pelo apoio e pela amizade; aos funcionários Márcio Viana, pelo apoio técnico, João Marcos, Tião e Inês, e a todos que me proporcionaram um ambiente agradável de trabalho.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CTAA/EMBRAPA), na pessoa do Ph.D. Carlos W. Piler Carvalho, pelas análises em RVA.

À professora Cristina Vanetti, pela atenção; e ao professor Luís A. Nero, por permitir a utilização do *apiweb*<sup>TM</sup> para identificação do resultado fenotípico do teste API.

Ao professor Ismael Maciel de Mancilha, por me acolher como orientada, pelo apoio, pelos ensinamentos, pela amizade e confiança e, principalmente, compreensão.

À professora Mônica Ribeiro Pirozi, pela grande amizade, pelas sugestões, pelos ensinamentos e pela permissão no uso dos Laboratórios de Amido e Farinha, e Panificação. Ao funcionário dos laboratórios, Divino, pela valiosa contribuição.

À professora Célia Lúcia de L. F. Ferreira, pelo apoio, pelas sugestões e pela permissão no uso do Laboratório de Culturas Láticas; e ao funcionário, Célio.

À professora Flavia M. L. Passos, da Microbiologia Agrícola/UFV, e ao professor Renato S. Cruz, da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), pelas sugestões e correções na redação final da tese, aprimorando este trabalho.

À professora Valeria P. R. Minim, pelo apoio, pelos conselhos e pela permissão no uso do Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas.

A todos os professores do DTA, pelos conhecimentos transmitidos durante minha graduação e pós-graduação. E aos funcionários, em especial à Geralda, Vânia, Zé Raimundo, Zé Geraldo, Juarez, Sr. Luiz e Sr. Manuel.

A todos das coordenadorias de química CLQ e CTQ do IFES. Ao meu amigo, Mauro, que tanto de me ajudou de coração. Aos amigos, Ana Brígida, Paola, Denise, Beth e Roberto. À amiga, Desirée, pelo carinho e pela ajuda em momentos de grande tormenta. À Lurdinha e ao Thalmó, pelos conselhos. À Dr<sup>a</sup> Eloa e Terezinha. Sem o apoio e a ajuda de todos vocês, amigos e colegas, este trabalho não teria fim.

Aos estagiários, Guilherme, Hortência, Ana Paula e Arthur, pela presteza durante os diversos momentos deste trabalho.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Culturas Láticas. À Luciana, sempre pronta a ajudar, e à Tatiane, por ter estado presente, tão eficaz em momentos que tanto precisei e nunca me negou ajuda, vocês duas, em especial, contribuíram muito para a realização deste trabalho e me fazem acreditar em pessoas que ajudam realmente de coração.

Aos provadores que participaram dos testes de aceitação sensorial, pela paciência e boa vontade e, em especial, à Brenda, pela amizade e ajuda extra na confecção dos biscoitos e nos testes de aceitação.

À querida Claudia Vieira, pela amizade, presença em momentos de diversões e de apreensões, no qual contei com ajuda em momentos cruciais nesta caminhada.

À Aparecida Nascimento, amiga tão especial, pelo carinho e pela atenção sempre.

À Ritinha, pela amizade, pelo apoio, pela paciência e agradável companhia, com palavras de conforto e atenção nas horas difíceis. À Júlia e ao Sr. Zé, pelos deliciosos almoços e pela amizade. À Wânia e ao Fábio.

À Simone, amiga, companheira de moradia, exemplo de competência e virtude em ajudar os amigos, com os quais dividi tantas alegrias e incertezas, tão sabiamente indicada por outra querida amiga e ex-companheira de moradia, Ângela. À Sabrina, à Silvia, ao Wagner e à Luiza, por momentos agradáveis.

Aos amigos que já eram e aos que fiz ao longo do curso: Amadhi, Xandão, quanto forrozinho pé-de-serra; Rejane e Juninho, Amália Michelle, Maike e Fabi. À querida Aline Leal; ao Leo e à Silvânia, à Mauren e ao Adriano, à Cris e ao Itamar. À Taty, ao Harvey e à Renata. Ao Humberto e, principalmente, ao Leandro Soares, pelo apoio na estatística. A todos pela convivência e agradáveis reuniões. À Eugenia e Amanda, por cuidarem e pelo carinho com o meu filho Pedro. À ex-vizinha Inês.

Ao querido amigo Ralph e à sua família, pelo carinho e pela atenção.

Ao Gabriel, pai de Pedro, e toda sua família, que com surpresa e alegria estiveram e estarão em nossas vidas, em especial ao apoio e carinho da Poty.

Aos padrinhos de meu filho, Rivana e Adriane, às filhas, Letícia e Alice, pela amizade, em especial à Rivana, pelos valiosos e iluminados conselhos.

Ao meu eterno amado filho, Pedro, por sua vinda em minha vida, sem ele meu mundo teria menos flores. O que falar da minha amada mãe, Ivanilde, em toda minha vida e ainda o que há por vir não haverá palavras para agradecer, além do AMOR. À toda a minha família, minhas cunhadas e meus sobrinhos. Aos meus irmãos e, principalmente, ao Paulo, sempre tão prestativo e disposto a ajudar com carinho e dedicação. À prima amiga, Ana, quanta

dedicação comigo e com o meu filho, e à toda sua família, pelo carinho. À prima, Danielly, pela amizade e ajuda.

Deus coloca verdadeiros anjos para nos amparar neste mundo. São tantos queridos que permeiam minha vida nas dificuldades, alegrias e vitórias, que seria difícil citá-los todos aqui, **mas, meus sinceros agradecimentos.**



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Considerações gerais sobre o cultivo e o processamento da mandioca.....	3
2.2 Características dos grânulos de amido de mandioca.....	5
2.3 Tecnologia da produção de fécula de mandioca.....	7
2.4 O processo de fermentação.....	11
2.4.1 Transformações na estrutura do grânulo da fécula de mandioca	14
2.5. Características tecnológicas da fécula de mandioca .....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Isolamento de bactérias do ácido láctico .....	24
3.2 Desempenho fermentativo dos isolados (ISO).....	26
3.2.1 Ativação e manutenção dos isolados.....	26
3.2.2 Desempenho fermentativo de 14 isolados (ISO) .....	26
3.2.3 Desempenho fermentativo de cinco isolados (ISO) .....	27

	<b>Página</b>
3.2.3.1 Caracterização fenotípica .....	28
3.3 Obtenção de inóculo em escala de bancada (laboratório) pelo sistema <i>Back Slooping</i> – BS) .....	29
3.4 Desempenho fermentativo na forma de <i>pool</i> .....	29
3.5 Desempenho fermentativo dos isolados na forma de <i>pool</i> na indústria.....	30
3.6 Métodos analíticos .....	32
3.6.1 Determinação de pH .....	32
3.6.2 Determinação da acidez titulável .....	32
3.6.3 Avaliação da propriedade de expansão do polvilho azedo .....	32
3.6.4 Análise de propriedades de pasta do polvilho em <i>Rapid Visco Analyser</i> (RVA) .....	33
3.7 Análise sensorial – Teste de aceitação.....	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4.1 Isolamento de bactérias do ácido láctico .....	35
4.2 Desempenho fermentativo dos isolados .....	38
4.2.1 Desempenho fermentativo dos isolados selecionados .....	41
4.2.1.1 Caracterização fenotípica dos cinco isolados selecionados .....	43
4.3 Obtenção e caracterização de Isolados pelo sistema <i>Back Slooping</i> – BS.....	45
4.4 Desempenho fermentativo dos isolados na forma de <i>pool</i> (ISO e BS) em escala de bancada (laboratório) .....	46
4.5 Desempenho fermentativo na indústria.....	49
4.5.1 Desempenho fermentativo dos controles CR e ICR.....	49
4.5.2 Desempenho fermentativo dos isolados na forma de <i>pool</i> (ISO e BS) na indústria .....	53
4.5.2.1 Propriedades de pasta do polvilho caracterizado em RVA ..	56
4.5.3 Avaliação sensorial de biscoitos confeccionados a partir do polvilho azedo.....	62
5 CONCLUSÕES.....	66
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ANEXO .....	78

## RESUMO

CORRÊA, Maria Ivaneide Coutinho, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2010. **Avaliação de bactérias do ácido láctico, endógenas da mandioca, nas características do polvilho azedo.** Orientador: Ismael Maciel de Mancilha. Coorientadoras: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira e Mônica Ribeiro Pirozi.

A fermentação da fécula de mandioca para se obter polvilho azedo ocorre por meio de um processo natural e espontâneo, onde se observa um elevado número de fatores que interferem nas características do produto. O objetivo do presente trabalho foi contribuir para padronização das condições de fermentação por meio da avaliação do processo fermentativo desenvolvido por 24 dias, empregando-se inóculos constituídos de cepas de bactérias do ácido láctico isoladas do processo natural em tanques de fermentação na indústria (14 isolados) e no laboratório (cinco isolados denominados de *back slooping*). Para tanto, avaliou-se as propriedades físicas, químicas e reológicas do polvilho azedo e o índice de expansão e a aceitação sensorial de biscoitos confeccionados a partir dos respectivos polvilhos. Determinou-se o desempenho fermentativo de 14 isolados avaliados individualmente e na forma de *pool* (ISO) constituído por cinco destes, bem como o *pool* BS formado pelo *back slooping* em reatores de bancada e em nível industrial, tendo como controle (CR) o processo desenvolvido de forma natural sem a adição de inóculos. Os resultados mostraram que os 14 isolados foram identificados como bactérias do

ácido láctico. Destes, (os) cinco obtidos em diferentes etapas do processo fermentativo (que promoveram os maiores índices de expansão em biscoitos de polvilho), foram selecionados e identificados como pertencentes ao gênero *Lactobacillus*. O desempenho fermentativo dos inóculos na forma *pool* (ISO e BS) e do CR, em escala de laboratório, seguidos de secagem artificial, revelou que não houve diferença entre os três tratamentos quanto ao pH, à acidez titulável e ao índice de expansão. Ao se comparar o desempenho do controle (CR) em reatores de 150 L com o controle (ICR) em nível da indústria desenvolvido em reatores de 9.000 L, seguidos de secagem ao sol, não se observou diferença no índice de expansão e na aceitação sensorial de biscoitos, permitindo inferir que é possível obter polvilho azedo de qualidade tanto por grandes como por pequenos produtores. Verificou-se ainda que, em reatores de 150 L, os inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) e CR não apresentaram diferenças quanto ao pH, acidez titulável e ao índice de expansão. As propriedades de pasta obtidas em *Rapid Visco Analyser* (RVA) revelaram que o polvilho azedo obtido em escala industrial, tratamentos com inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) e CR, apresentaram menores viscosidade, estabilidade à agitação e tendência à retrogradação em relação ao polvilho doce. Entretanto, a aceitação sensorial de biscoitos produzidos com os polvilhos originados da fermentação com os inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) foram superiores em relação ao controle (CR). O polvilho azedo, obtido após 16 dias de fermentação, empregando-se inóculos na forma de *pool*, apresentou qualidade superior quanto à aceitação sensorial. Tais resultados permitiram concluir que se empregando o critério de aceitação sensorial é possível inferir que 16 dias de fermentação, utilizando inóculos na forma de *pool* (ISO ou BS), são suficientes para se obter um polvilho azedo de qualidade.

## ABSTRACT

CORRÊA, Maria Ivaneide Coutinho, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2010. **Evaluation of lactic acid bacteria, endogenous from cassava, in the characteristics of sour cassava starch.** Adviser: Ismael Maciel de Mancilha. Co-advisers: Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira and Mônica Ribeiro Pirozi.

The fermentation process order to obtain sour cassava starch occurs through a natural and spontaneous process, where a grate number of factors which interfere in the characteristics of this product are observed. Therefore, the purpose of the present work is to contribute for the standardization of the fermentation conditions through the evaluation of the fermentative process developed for 24 days. It was evaluated the performance of inoculums constituted of 14 lactic acid bacteria strains isolated from the natural process. These experiments were carried out in fermentation tanks at industrial scale and in the laboratory, employing five isolates called “back sloping”. For that, the physical, chemical and rheological properties from the sour cassava starch were evaluated as well as the expansion index and the sensorial acceptance of cookies made from the respective starches. The fermentative performance of fourteen isolates individually evaluated and in the format of pool (ISO) consisting of five of those isolates, as well as the BS pool formed by the “back sloping” in batch reactor and in industrial level, having as the control (CR) the

process developed in a natural way without the addition of inoculums was determined. The results showed that the fourteen isolates were identified as lactic acid bacteria. From those, the five isolates obtained in different stages of the fermentation process (which promoted the highest expansion indexes in starch cookies), were selected and identified as belonging to the genus *Lactobacillus*. The inoculums fermentative performance in the form of pool (ISO and BS) and the CR, in laboratory scale, followed by artificial drying, revealed that there was no difference among the three treatments regarding the pH, the titratable acidity and the expansion index. When that was compared to the control (CR) performance in 150 L reactors with the control (ICR) in the level of the developed industry in 9000 L reactors, followed by drying in the sun, no difference in the expansion index or the sensorial acceptance of cookies was observed, allowing to infer that it is possible to obtain quality sour starch by both large and small producers. Besides that, in 150 L reactors, it was observed the inoculums in the form of pool (ISO and BS) and the CR did not present differences regarding the pH, the titratable acidity or the expansion index. The paste properties obtained in rapid visco analyser (RVA) revealed that the sour cassava starch obtained in industrial scale, treatments with inoculums in the form of pool (ISO and BS) and the CR, presented less viscosity, stability to agitation and retrogradation tendency in relation to the cassava starch. However, the sensorial acceptance of cookies produced with the starches originated from the fermentation with the inoculums in the form of pool (ISO and BS) was superior in relation to the control (CR). The sour cassava starch, obtained after sixteen days of fermentation, using the inoculums in the form of pool, presented superior quality in relation to the sensorial acceptance. Such results allow to conclude that when the sensorial acceptance criterion is used it is possible to infer that sixteen days of fermentation, using inoculums in the form of pool (ISO or BS), is enough to obtain sour cassava starch of good quality.

## 1 INTRODUÇÃO

A mandioca é cultivada na maioria dos países tropicais situados na faixa equatorial. Isto se deve a sua capacidade de adaptação, pois apresenta tolerância à seca e a solos pobres em nutrientes, bem como a grande flexibilidade quanto ao calendário de plantio e colheita, por isso é utilizada como principal fonte de carboidrato na dieta de mais de um bilhão de pessoas.

De acordo com a FAO (2010), a mandioca é cultivada em mais de 100 países, com produção de 232,9 milhões de toneladas em 2008. O Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor mundial de mandioca, com produção de 25,8 milhões de toneladas em 2008, o que equivale a 11,1% da produção mundial, que é liderada pela Nigéria com 19,1% seguida pela Tailândia com 11,8% (FELIPE; RIZATO; WANDALSEN, 2009).

O amido, um dos principais produtos derivados da mandioca, tem grande número de usos correntes e potenciais, sendo utilizado nos mais diferentes setores da economia, como alimentos, siderurgia, adesivos, têxtil, papelero, farmacêutico, petrolífero, explosivos, calçados e tintas, entre outros. Na indústria alimentícia, é principalmente usado como aditivo na fabricação de diversos produtos como ingrediente principal nos setores de panificação, destacando-se nas confeitarias, na produção de biscoitos e pão de queijo.

Atualmente a demanda pelo amido de mandioca, na forma de fécula tem crescido de forma substancial, principalmente pelo setor alimentício onde sua

inclusão na preparação de mistura de farinha de trigo, objetiva reduzir as importações de trigo, gerando divisas para o país.

Segundo a tecnologia de processamento de mandioca, o amido pode ser obtido na forma de fécula, polvilho doce e polvilho azedo, cujas características distintas determinam sua utilização. Apesar da importância de suas inúmeras aplicações industrial, a fécula de mandioca o polvilho doce e o polvilho azedo produzidos no Brasil apresentam grande variação na qualidade, principalmente no que se refere ao polvilho azedo.

O processo de fermentação da fécula de mandioca para se obter o polvilho azedo consiste de um processo natural espontâneo, desenvolvido por diversas espécies de microrganismos naturalmente presentes na matéria-prima, na água e nos tanques de fermentação. Essa característica e a ausência de uniformidade na etapa de desenvolvimento do processo de fermentação, ou seja, não há um tempo determinado para finalizar a fermentação, explica a grande variação que se observa na qualidade do polvilho azedo proveniente de diversos produtores e, ainda, entre partidas de um mesmo produtor.

Alem da falta de uniformidade na qualidade do polvilho azedo existem dificuldades relacionadas com aspectos higiênicos e presença de sujidades. O fato de ser produzido por tecnologias artesanais e principalmente pela necessidade de secagem ao sol faz do polvilho azedo um produto extremamente vulnerável às sujidades. Para aumentar a confiança do produto no mercado, deve-se priorizar a uniformização da qualidade, com destaque para a propriedade de expansão e a melhoria das condições de higiene no processo de produção.

Considerando o elevado número de fatores que interferem no processamento e nas características do polvilho azedo, o presente trabalho teve por objetivo geral contribuir para padronizar as condições de fermentação do polvilho doce, visando à obtenção de um polvilho azedo com características desejáveis. Especificamente objetivou-se avaliar formulações de diferentes inóculos constituídos de cepas de bactérias do ácido láctico isoladas do processo de fermentação natural do polvilho doce. Esta avaliação consistiu na determinação das propriedades físico-químicas e reológicas do polvilho azedo, bem como na avaliação sensorial de biscoitos confeccionados a partir dos respectivos polvilhos.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Considerações gerais sobre o cultivo e o processamento da mandioca

Mandioca é o nome pelo qual é conhecida a espécie comestível e mais largamente difundida do gênero *Manihot*, composto por diversas variedades de raízes comestíveis. No Brasil, o termo mandioca é utilizado tanto para a *Manihot utilissima* (macaxeira ou aipim) quanto para a *Manihot esculenta* (mandioca-brava), sendo que a primeira contém menos cianeto que a segunda e, portanto, pode ser utilizada como alimento sem o necessário preparo de retirada do cianeto, como ocorre no preparo da segunda. É uma planta perene, arbustiva, pertencente à família das Euforbiáceas. Originária do continente americano, provavelmente do Brasil, a mandioca já era cultivada pelos índios, por ocasião da descoberta do país. É cultivada em regiões de clima tropical e subtropical, bem tolerante à seca e possui ampla adaptação às mais variadas condições de clima e solo (FILHO; BAHIA, 2010).

A parte mais importante da planta é a raiz que é rica em amido, utilizadas na alimentação humana e animal ou como matéria-prima para diversas indústrias, sendo na indústria de alimentos utilizada para obtenção de importantes produtos como a farinha de mandioca, a fécula, o polvilho doce e o polvilho azedo (AVANCINI *et al.*, 2007).

O cultivo da mandioca é de grande relevância econômica, pois é a principal fonte de carboidratos para milhões de pessoas, essencialmente nos

países em desenvolvimento. Também conhecida como tapioca, cassava ou yuca, é uma importante cultura alimentícia. As folhas são ricas em proteína, excelentes para uso em ração animal. As raízes contêm entre 30 e 35% de amido, com apreciável quantidade de cálcio e vitamina C (GOMATHINAYAGAM *et al.*, 2007).

O Brasil possui aproximadamente dois milhões de hectares deste cultivo e é um dos maiores produtores mundiais. No ano de 2008, foram produzidos 232,9 milhões de toneladas de mandioca no mundo. Nesse ano, o maior produtor mundial foi à Nigéria, seguido da Tailândia. O Brasil ficou em terceiro lugar entre os maiores produtores mundiais de mandioca, conforme apresentado na Figura 1, com produção anual de 25,8 milhões de toneladas, o que representou 11,1% da produção mundial (FAO, 2010).



**Figura 1** – Maiores produtores mundiais de mandioca em 2008 (Fonte: FAO, 2010).

Segundo o Instituto CEPA/SC (2003), apesar da grande diversidade, o sistema produtivo da cadeia da mandioca apresenta três tipologias básicas: a unidade doméstica, a unidade familiar e a unidade empresarial. Essa tipologia considera interconexões entre a origem da mão-de-obra, o nível tecnológico, a participação no mercado e o grau de intensidade do uso de capital na exploração.

A unidade doméstica é caracterizada por usar mão-de-obra familiar, não utilizar tecnologias modernas, pouco participar do mercado e dispor de capital

de exploração de baixa intensidade. A unidade familiar, ao contrário da doméstica, já adota algumas tecnologias modernas, tem uma participação significativa no mercado e dispõe de capital de exploração em nível mais elevado. A contratação de mão-de-obra de terceiros é a característica marcante da unidade empresarial. Essas unidades, juntamente com as unidades do tipo familiar, respondem pela maior parte do processamento de raízes no Brasil (MATTOS; CARDOSO, 2003).

O segmento de processamento da cadeia da mandioca está intimamente relacionado com o uso das raízes: alimentação humana ou industrial. A escala de operação das indústrias de processamento de farinha vai desde as pequenas unidades artesanais de processamento (comunitárias ou privadas) existentes no Brasil como um todo, até as unidades de grande porte que processam, em média, 300 sacas de farinha por dia, passando pelas unidades de médio porte (100 sacas por dia). Na cadeia da mandioca existem ainda outros produtos de importância econômica regional e que são comercializados de forma informal, como é o caso da raspa de mandioca e da parte aérea (MATTOS; CARDOSO, 2003).

## **2.2 Características dos grânulos de amido de mandioca**

A utilização do amido na indústria é determinada por suas propriedades funcionais. As propriedades funcionais estão relacionadas com características do grânulo de amido como tamanho, estrutura e proporção amilose/amilopectina (DAIUTO; CEREDA; CARVALHO, 2002).

O amido se encontra depositado na forma de grânulos mais ou menos brilhantes, apresentando formas e dimensões diversas, sendo que os grânulos de amido de mandioca apresentam formato truncado, oval e tamanho na faixa de 4,0 a 35,0  $\mu\text{m}$ . Estes grânulos são estruturas semicristalinas, compostos de macromoléculas lineares e ramificadas conhecidas como amilose e amilopectina (CEREDA *et al.*, 2001). A amilose é uma molécula essencialmente linear composta por unidades de D-glucose ligadas em alfa (1-4) com pequeno número de ramificações. Já a amilopectina é altamente ramificada e composta por unidades de D-glucose ligadas em alfa (1-4) e com 5 a 6% de

ligações alfa (1-6) nos pontos de ramificação (DEMIATE, 2009). Além da amilose e amilopectina, os grânulos de amido podem conter compostos nitrogenados, lipídeos e minerais, que apesar de estarem presentes em baixas concentrações, podem ter influências marcantes nas propriedades do amido. Os lipídios, por exemplo, complexam com amilose, alterando as propriedades reológicas do amido (ASCHERI, 1987).

À medida que a planta produz moléculas destes polímeros de glicose, estes se depositam em camadas sucessivas ao redor de um ponto central, o hilo, para formar um grânulo compacto. Moléculas vizinhas de amilose e ramificações exteriores da amilopectina podem associar-se por pontes de hidrogênio de modo paralelo e constituir áreas cristalinas, conhecidas com o nome de micelas. As micelas mantêm a estrutura do grânulo e permitem o inchamento em água quente sem uma ruptura completa do mesmo (LINDEN; LORIENT, 1997). Segundo os mesmos autores, a estrutura cristalina das micelas reflete a luz que incide sobre o grânulo de amido. Os grânulos de amido não hidratados (não gelatinizados) desviam o plano de luz. É o chamado fenômeno de birrefringência. Quando a orientação radial da micela é perturbada, a birrefringência desaparece.

O grânulo de amido na raiz de mandioca tem diferente velocidade de maturação. Durante o crescimento da raiz existe uma região central onde o tecido é mais maduro, uma região intermediária e outra mais externa e mais jovem. Existe, portanto, um gradiente de desenvolvimento na raiz de reserva e as características físico-químicas e funcionais dos grânulos de amido variam em função deste fato. Uma atividade diferenciada das enzimas foi detectada nas regiões mais jovens ou mais maduras do tecido da raiz, que foi também relacionada com a quantidade de substrato. A região mais jovem, da periferia da raiz, apresentou atividade superior de algumas enzimas, quando comparado às regiões mais maduras, possivelmente devido ao fato de ser mais próxima do floema secundário, vaso que transporta a sacarose para todas as partes da planta. Assim, o teor de sacarose na região mais periférica da raiz é maior com maior atividade enzimática, principalmente a adenosina difosfato glicose pirofosforilase (ADPGppase) que é a principal enzima reguladora da biossíntese do amido (DAIUTO; CEREDA; CARVALHO, 2002).

Segundo ainda estes autores quanto à estrutura química, os grânulos de amido de mandioca de regiões do tecido da raiz com diferentes idades diferem no teor de amilose, sendo maior na região central que é a mais madura onde há maior número de grânulos de amido maiores. É nos grânulos de amido maiores que a enzima responsável pela síntese de amilose (*GBSS-granule bound starch synthase*), também mostra atividade superior. Em consequência das diferentes características físico-químicas, estes grânulos de amido possuem propriedades de pasta diferenciadas, sendo que a região mais jovem, na periferia da raiz, mostrou pastas com menores picos de viscosidade, maior temperatura de empastamento e maiores tendências à retrogradação.

Os grânulos de amido são insolúveis em água fria, mas com aquecimento tornam-se solúveis e formam pastas com características de importância em aplicação tecnológica. As propriedades térmicas dos grânulos de amido são influenciadas pela cristalinidade, tamanho da partícula e estrutura fina da amilose e amilopectina (FUJITA *et al.*, 1998).

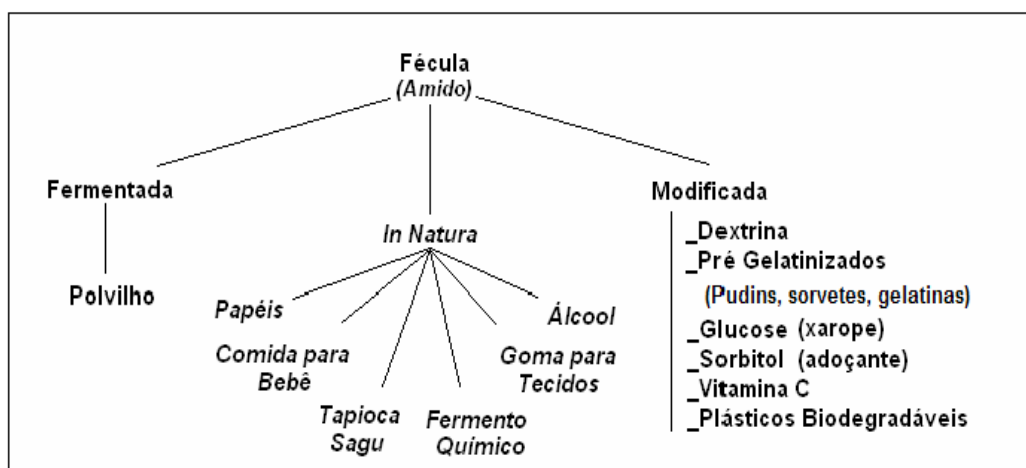
Os grânulos de amido, quando aquecidos em presença de água acima de uma determinada temperatura, formam uma suspensão viscosa. A temperatura na qual ocorre tal modificação é denominada de temperatura de gelatinização do amido. A gelatinização é definida como o colapso da ordenação granular, durante a qual ocorrem mudanças irreversíveis nas propriedades, como o inchamento dos grânulos, a fusão cristalina, a perda da birrefringência, o rompimento dos grânulos com a liberação da amilose e o aumento da viscosidade da suspensão (SILVA *et al.*, 2004).

### **2.3 Tecnologia da produção de fécula de mandioca**

Segundo a legislação nacional vigente, constante na Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (BRASIL, 1978), os amidos devem ser fabricados a partir de matérias-primas sãs e limpas, isentos de matérias terrosas e de parasitos. Não podem estar úmidos, fermentados indesejavelmente ou rançosos. Neste documento é destacado ainda que o amido é o produto amiláceo extraído das partes aéreas comestíveis dos vegetais e fécula é o produto amiláceo extraído das partes

subterrâneas comestíveis dos vegetais (tubérculos, raízes e rizomas), sendo que o produto deverá ser designado como amido ou fécula, seguido do nome do vegetal de origem.

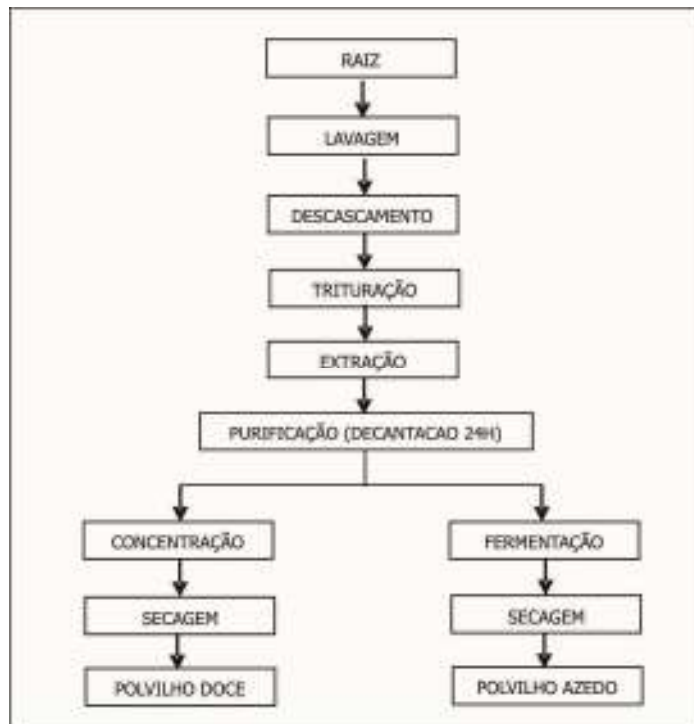
A fécula de mandioca e seus produtos derivados têm competitividade crescente no mercado de produtos amiláceos para a alimentação humana, ou como insumos em diversos ramos industriais tais como o de alimentos embutidos, embalagens, colas e farmacêutico (Figura 2).



**Figura 2** – Utilização de amido de mandioca no Brasil (Fonte: EMBRAPA, 2003).

Na fabricação de polvilho doce e azedo obtidos da fécula de mandioca, o importante é a separação dos grânulos de amido da raiz, na forma mais pura já que os mesmos se encontram encerrados nas células juntamente com outros componentes. O fluxo de fabricação obedece, em linhas gerais, ao esquema representado na Figura 3. Segundo Fernandes, Santos e Filho, (2002), a finalidade do processamento da fécula de mandioca nas indústrias alimentícias é a obtenção de polvilho. O polvilho azedo é fabricado por meio da fermentação natural do polvilho doce, podendo também ser produzido da fécula recuperada do líquido de prensagem da massa ralada como subproduto da fabricação de farinha de mandioca e de raspas, seguindo o mesmo fluxograma de fabricação.

“Polvilho” é o produto amiláceo extraído da mandioca e de acordo com o teor de acidez, será classificado em polvilho doce ou polvilho azedo sendo que esta classificação tem base apenas no teor de acidez. Para o produto fermentado, a acidez deve ser, no máximo, de 5,0 mL de NaOH 1N/100 g e



**Figura 3** – Fluxograma geral do processamento de polvilho doce e azedo (Fonte: adaptado de DINIZ, 2006).

para o não fermentado de 1,0 mL de NaOH 1N/100 g. Para as outras características, os valores são idênticos: umidade máxima de 14% p/p, teor mínimo de amido de 80% p/p e resíduo mineral fixo máximo de 0,5% p/p (BRASIL, 1978; ABIA, 2000, *apud* PEREIRA, 2004).

Devido à facilidade de extração da fécula de mandioca, desenvolveram-se indústrias dos mais variados níveis técnicos, desde estabelecimentos rurais, nos quais o processo é rústico e completamente manual, até os mais modernos e automatizados sistemas de centrífugas e hidrociclones. O produto varia, portanto, de qualidade, e para que a fécula possa ser mais pura e classificada como de alto padrão, o processo deve ser o mais rápido possível, evitando ações enzimáticas de deterioração que se iniciam nas raízes e se prolongam por todo o processo (VILELA, 1989).

Produtos amiláceos de raízes de mandioca são produtos de fonte vegetal ricos em carboidratos, após extração, lavagem, purificação e secagem. Quando este produto ou a fécula recuperada do líquido de prensagem da massa ralada como subproduto da fabricação de farinha de mandioca e de raspas, passa por um processo fermentativo, variável em condições como

tempo ou local, seja ainda pela ação de enzimas microbianas, ácidos orgânicos produzidos por microrganismos ou ação combinada de ambos, passa a ser chamado de fécula fermentada ou no caso da mandioca, de polvilho azedo. Este processo de fermentação é normalmente realizado em tanques de alvenaria, onde se coloca uma camada de fécula de mandioca submersa em água até completar a fermentação (CEREDA, 1983a).

O período de fermentação é variável, entre 20 e 60 dias, dependendo da região produtora, da temperatura ambiente ou das condições particulares da indústria e de outros critérios adotados pelo produtor (CEREDA; LIMA, 1981).

Rivera (1997) utilizando *Lactobacillus* sp., *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp. e leveduras não identificadas, isolados de polvilho azedo industrial e isolados de fermentação natural de mandioca realizado em laboratório em diferentes fases de fermentação, inoculou estes isolados separadamente em polvilho doce extraído da raiz de mandioca e acompanhou o efeito da inoculação destes microrganismos durante fermentação por 30 dias, em escala de bancada, avaliando o polvilho azedo quanto as propriedades físicas químicas e tecnológica (pH, acidez, teor de amilose; densidade absoluta; viscosidade intrínseca; poder de inchamento; índice de solubilização; propriedades viscoamilográficas; e propriedade de expansão). Com os resultados obtidos concluiu que é possível reduzir para quatro a seis dias o tempo de fermentação utilizando misturas de microrganismos selecionados.

A utilização de inóculos não é uma prática comum entre os produtores, mas há uma freqüente utilização dos tanques sem que antes haja a limpeza destes entre uma fermentação e outra. Este material que fica entranhado nas paredes dos tanques serve com inóculo, dando início ao processo fermentativo. Alguns produtores utilizam intencionalmente como inóculo polvilho já pronto, ou ainda preparados de grãos de milho ou fubá adicionado de limão em saches espalhados pelo tanque. Os resultados destas práticas não se mostram satisfatórias quanto à qualidade do produto (LACERDA, 2002).

A natureza do processo fermentativo utilizado comercialmente é ainda pouco conhecida e se caracteriza por ser um processo rudimentar e empírico, em que a maioria dos produtores não utiliza inóculo para garantir ou apressar a fermentação. É desconhecido também o efeito do processo fermentativo sobre



as propriedades tecnológicas do polvilho, particularmente as de expansão da massa para fabricar biscoito (RIVERA, 1997).

Segundo Cereda (2002b), na fermentação natural da fécula de mandioca predominam as bactérias formadoras do ácido láctico. Após fermentação, o polvilho é retirado dos tanques por meio de pás, podendo passar por esfarelador mecânico e espalhado para secar e exposto ao sol em processo de secagem natural até a umidade aproximada de 14% e acondicionado em embalagens.

A secagem ao sol é normalmente feita sobre jiraus de bambu traçado ou arames, sobre os quais se estendem panos, plásticos ou lona. Embora pouco empregado, o pano preto deve resultar em secagem mais rápida, pois, além de absorver o calor, permite a passagem do vento através do produto (DINIZ, 2006).

## **2.4 O processo de fermentação**

O polvilho azedo é um amido modificado que se obtém da fermentação natural da fécula de mandioca após um período de 20 a 40 dias seguido da secagem ao sol (WESTBY; CEREDA, 1994) chegando até mesmo ao período de 70 dias (LACERDA *et al.*, 2005). O polvilho azedo apresenta propriedades físicas, químicas e funcionais características e diferentes das do polvilho doce do qual se originou. Uma dessas características é a sua capacidade de expansão, isto é, quando misturado adequadamente com outros ingredientes e colocado a assar, produz o biscoito de polvilho, típico de alguns estados do Brasil, e que pode dar uma medida das variações das propriedades funcionais do polvilho durante a fermentação (PEREIRA *et al.*, 1999).

A fermentação natural da fécula extraída da raiz da mandioca é uma tecnologia tradicional largamente usada na América Latina, especialmente na Colômbia e no Brasil (MESTRES; ROUAU, 1997).

A produção de polvilho azedo é realizada principalmente por pequenas e médias empresas que usam um processo empírico de fermentação e secagem natural, sem controle e dependente substancialmente das condições climáticas, gerando um produto desuniforme, com problemas de contaminação e muitas vezes de péssimas características tecnológicas (CIACCO; CRUZ, 1982; WESTBY; CEREDA, 1994; CEREDA, 1995).

A fermentação espontânea leva um tempo relativamente longo, cujo processo pode resultar na deterioração do produto e ou sobrevivência de agentes patogênicos, criando riscos para a saúde dos consumidores. Assim, tanto pelo ponto de vista de higiene e de segurança, a utilização de inóculos para iniciar a fermentação é recomendada, pois isso levaria a uma acidificação rápida do produto e, assim, inibiria possíveis crescimento de bactérias patogênicas e da deterioração do produto, e obtendo-se um produto final com qualidade consistente (HOLZAPFEL, 2002; KOSTINEK *et al.*, 2008).

Após a etapa de purificação (Figura 3), o polvilho é transferido para “chicanas” onde ocorre a decantação, ou vai diretamente para os tanques de fermentação. Existem ainda algumas indústrias que decantam a fécula por 24 horas para então enviá-la para os tanques de fermentação. O polvilho azedo é então obtido por uma fermentação prolongada do tipo submersa, normalmente com uma lâmina de 20 cm de água na superfície.

Segundo Diniz (2006), esses tanques podem ser descobertos ou não, enterrados, semienterrados ou elevados, construídos em madeira ou alvenaria. Os tanques mais comuns são os de cerâmica, lajota, ladrilho ou azulejo. No caso de tanques de alvenaria, para evitar que ácidos produzidos durante a fermentação desprendam areia das paredes contaminando o produto fermentado, é pratica comum revesti-los com plástico.

As bactérias do ácido láctico (BAL) são as principais responsáveis pelo processo fermentativo da mandioca. A capacidade dessas bactérias em fermentar amido foi primeiramente descrita por Sherman (1937). Este autor encontrou algumas linhagens de *Streptococcus* que produziam ácidos a partir de amido. As espécies de *Lactobacillus* que hidrolisam amido foram observadas por Nakamura e Cromwel (1979) e Okafor; Ijioma; Oyolu (1984).

Cereda (1973) encontrou na fermentação do polvilho azedo diversas espécies bacterianas no estágio inicial do processo, tais como espécies de *Escherichia*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* sp. e *Bacillus subtilis*. É provável que o crescimento de micrococos nesta etapa da fermentação seja devido ao fato de existir ainda no meio uma quantidade suficiente de oxigênio para manter o crescimento desses microrganismos. As demais espécies podem se desenvolver anaerobicamente, pois apresentam um metabolismo facultativo. A presença de *Bacillus subtilis*, cuja produção de enzimas amilolíticas é

bastante conhecida, leva a crer que a ação destas enzimas é que propicia uma fonte de carbono para o metabolismo dos agentes de fermentação, além de alterar o aspecto da superfície dos grânulos da fécula de mandioca após a fermentação, provocando rugosidades e pontuações bem características.

Cereda e Brasil (1981) demonstraram que a fécula doce comercial apresentou cerca de  $2,3 \times 10^4$  microrganismos aeróbios,  $7,5 \times 10^3$  anaeróbios e  $4,1 \times 10^5$  esporos de microrganismos aeróbios mesófilos por 100 g de matéria seca. Posteriormente, Cereda e Lima (1985) verificaram que ocorre uma queda de pressão de  $O_2$  no líquido sobrenadante da fermentação, proporcionando condições para que, nos primeiros dias, o ambiente torne-se microaeróbio.

Zapata, Martines e Parada (1991) observaram no polvilho azedo uma microbiota constituída por bactérias aeróbias e microaerófilas, leveduras e alguns fungos filamentosos. Também foram isolados cocos e bacilos Gram-positivos esporulados e não esporulados. Não foi detectada a presença de bactérias coliformes. Nas primeiras etapas de fermentação observou-se um predomínio bacteriano, especialmente de cocos e bacilos Gram-positivos sobre as leveduras.

Nas regiões frias a fermentação é lenta e predomina a microbiota láctica, com uma maior freqüência do *Lactobacillus plantarum*. Nas regiões quentes a fermentação é mais rápida e predomina a microbiota butírica, sendo o *Clostridium butyricum*, o que predomina com maior freqüência (CARVALHO *et al.*, 1996).

Rivera (1997) por meio de teste de aceitação de biscoito de polvilho em que foi utilizado polvilho azedo produzido pela fermentação de polvilho doce com misturas de microrganismos (bactérias e leveduras), mostrou que os biscoitos feito com polvilho fermentado pelas misturas que estavam constituídas por *Lactobacillus* sp., *Bacillus* sp. e *Corynebacterium* sp. além de leveduras não identificadas foram os biscoitos mais bem aceitos.

Segundo Silveira (2001), durante o processo fermentativo do polvilho foram isolados 930 microrganismos, dos quais 383 se desenvolveram em meio PCA e 547 em meio MRS. Do total, aproximadamente 93,9% foram caracterizados como sendo bactérias e 6,1% como leveduras e fungos filamentosos. Dentre as bactérias isoladas, 52,5% foram caracterizadas como bacilos Gram-positivos, 2,9% como bacilos Gram-negativos e 44,6% como cocos Gram-positivos. Estes resultados confirmaram as observações de Brabet

*et al.* (1994), Lacerda (2002) e Kostinek *et al.* (2007) de que o predomínio de bactérias Gram-positivas é característico deste tipo de fermentação. Oyewole e Odunfa (1990) citam que a microbiota ácido-lática que é tipicamente Gram-positiva e tende a predominar durante todo o processo fermentativo em função de sua resistência a acidez no meio.

Na identificação de bactérias do ácido láctico podem ser utilizados métodos fenotípicos ou genotípicos. Em geral, os primeiros são mais baratos, o que estimula a utilização de sistemas de identificação miniaturizados como API (BioMérieux) ou BIOLOG (PRADO, 2007).

Kostinek *et al.* (2007) isolaram 375 bactérias do ácido láctico por meio da fermentação natural da mandioca e foram caracterizadas por testes fenotípicos utilizando o kit API 50 CH. A maioria das espécies encontradas foram bacilos Gram-positivos heterofermentativos facultativo (54,4%). Destas *Lactobacillus plantarum* foi a espécie mais predominante isolada no estudo, seguido de bactérias heterofermentativas obrigatórias (14,4% do total isolados) pertencentes ao gênero *Lactobacillus* ou *Weissella*.

#### **2.4.1 Transformações na estrutura do grânulo da fécula de mandioca**

Uma série de transformações que ocorrem na fécula de mandioca durante o processo fermentativo pode ser atribuída ao desenvolvimento de uma microflora bastante variada, proveniente da própria matéria-prima, da água ou do ambiente (CEREDA, 1973; BRASIL, 1981).

O início da fermentação é marcado pela rápida queda da concentração de oxigênio dissolvido, que é consumido por bactérias amilolíticas aeróbias, transformando-o em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>, além de ácidos orgânicos como o ácido láctico, butírico, acético, entre outros. Cereda (1973) comprovou que durante a fermentação, os grânulos da fécula são degradados por amilases oriundas de *Bacillus subtilis*, tendo também modificações quanto ao seu aspecto físico apresentando pontuações e rugosidades. Em geral, os grânulos fermentados apresentam, sob luz polarizada, perda parcial de birrefringência e tendência marcante em formarem agregados.

O processo fermentativo proporciona alterações enzimáticas de tal forma que o polvilho azedo apresenta características peculiares físicas e químicas bem diversas do substrato original, de modo que não é possível sua substituição pelo polvilho doce ou pela fécula não fermentada (CEREDA, 1983b; DEMIANTE, 2000). As modificações que ocorrem durante a fermentação alteram sua reologia e os amilogramas característicos apresentam viscosidade máxima menor do que a do polvilho doce; sendo que a gelatinização ocorre em temperaturas inferiores às do polvilho doce nas mesmas concentrações (ASCHERI; VILELA, 1992).

Além de alterações físicas e químicas, a fermentação promove uma mudança no sabor e aroma da fécula, sendo que o novo sabor e aroma desenvolvidos fazem parte da caracterização do produto.

## **2.5 Características tecnológicas da fécula de mandioca**

As propriedades da fécula de mandioca envolvem suas características físicas, químicas e funcionais. De acordo com Cereda *et al.* (2002b), mesmo a maior aplicação da fécula de mandioca sendo na indústria de alimentos, pouco destaque foi dado a suas exigências específicas. A aceitação da fécula de mandioca para determinada finalidade não depende somente do tamanho e da forma de seu grânulo, mas também de sua temperatura de gelatinização e características de inchamento, as quais constituem reflexo da composição e da conformação dos polímeros contidos. (AMANTE, 1986). Algumas características tecnológicas que determinam sua aplicação industrial são as físicas, químicas e as de pasta (inchamento, viscosidade, gelatinização, retrogradação, expansão, etc.).

O grânulo de amido natural da fécula de mandioca tem a capacidade limitada de absorção de água fria em até 30% de seu peso seco, sem aumentar de volume. Principais componentes do amido, a amilose e amilopectina estão associadas entre si por ligação de hidrogênio, formando áreas cristalinas, de difícil penetração de água, responsáveis pela redução da estrutura do grânulo, que controlam seu comportamento na água. Com o aquecimento do sistema, ocorre um aumento na capacidade de absorção de água, sendo esta uma característica muito importante, uma vez que a

qualidade de um alimento está, freqüentemente, associada à retenção de água pelos grânulos de amido expandido (ASQUIERI, 1990). O aquecimento de suspensões de amido em excesso de água causa uma transição irreversível, denominada gelatinização.

Cruz e Ciacco (1998) argumentam que o aquecimento de uma suspensão aquosa de amido provoca a quebra das pontes de hidrogênio, que mantém o arranjo molecular dentro do grânulo de amido. Os grupos hidroxilas das unidades de glicose que participavam das áreas cristalinas são hidratados e o grânulo de amido se incha. Como conseqüência direta do entumescimento ocorre um aumento na solubilidade do amido, claridade e viscosidade da pasta, resultando em uma formação de gel. O entumescimento do grânulo continua até seu rompimento onde a estrutura granular deixa de existir, fazendo com que a viscosidade decresça abruptamente. O amido apresenta um poder de inchamento do grânulo, que representa a sua capacidade de hidratação.

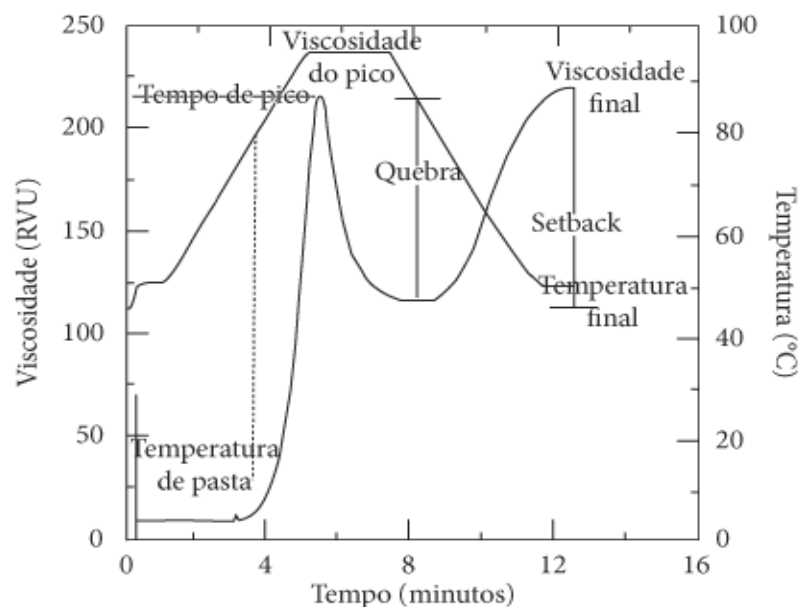
A principal conseqüência do tipo de tratamento calor/umidade para produtos amiláceos é a gelatinização dos grânulos de amido (KARAPANTSIOS; SAKONIDOU; RAPHAELIDES, 2002). Além da gelatinização, as macromoléculas do amido podem sofrer degradação, devido aos tratamentos térmico e mecânico empregados.

Amante (1986) afirma que parâmetros obtidos a partir da construção de curvas de viscosidade têm sido úteis na avaliação da alteração dos grânulos. A autora afirma ainda que métodos viscosimétricos têm sido muito úteis no estudo de amidos. A partir de curvas de viscosidade, é possível obter informações de temperatura de formação de pasta, resistência dos grânulos inchados à ação mecânica, viscosidade máxima e temperatura na qual ocorre, além de influência do resfriamento sobre a viscosidade.

As mudanças que ocorrem nos grânulos durante a gelatinização (intumescimento do grânulo de amido é acompanhado pelo aumento de viscosidade da solução) e retrogradação são os principais determinantes do comportamento de pasta desses amidos, as quais têm sido medidas principalmente pelas mudanças de viscosidade durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido usando equipamentos como viscoamilógrafo Brabender e mais recentemente com resultados mais precisos o viscoanalisador rápido, *Rapid Visco Analyser* (RVA) (CEREDA *et al.*, 2002b). O

RVA é um sistema utilizado em moinhos de farinhas, fábricas de massas, fábricas de biscoitos, fábricas de *snacks*, centros de pesquisas em amidos e féculas, maltearias, indústrias de papéis, etc. O equipamento é capaz de realizar teste de pastificação da fécula de mandioca, do amido de milho, de batata, modificado com ácido, de arroz, método para glúten, grau de cozimento de um produto, ponto de gelificação, etc. Os resultados do equipamento nos reportam à qualidade da matéria-prima ou do produto acabado pelo comportamento visco-elástico do amido e da atividade de alfa-amilase.

O perfil de empastamento de amidos e da fécula de mandioca obtidos pelo RVA inclui pico de viscosidade, tempo para atingir este pico, quebra, viscosidade final e temperatura de pasta, como mostrado na Figura 4.



**Figura 4** – Curva de viscosidade típica do RVA mostrando os parâmetros comumente avaliados (Fonte: Newport Scientific (1998), adaptado de SILVA *et al.*, 2008).

Durante a fase inicial de aquecimento, um aumento na viscosidade é registrado no RVA quando os grânulos começam a inchar até que mudanças irreversíveis aconteçam com o rompimento das ligações de hidrogênio entre as moléculas de amilose e amilopectina. Neste ponto, polímeros com menor peso molecular, particularmente moléculas de amilose, começam a ser lixiviadas dos grânulos para a solução. Um pico de viscosidade é obtido durante o empastamento, quando os grânulos, em sua maioria, estão totalmente inchados,

havendo também grânulos intactos e o alinhamento molecular dos polímeros solubilizados ainda não ocorreu dentro do campo de atrito do instrumento. Durante a fase de temperatura (95 °C) e agitação constantes os grânulos começam a quebrar, a solubilização dos polímeros continua e o alinhamento molecular ocorre dentro do campo de atrito do instrumento, causando uma diminuição da viscosidade (THOMAS; ATWELL, 1999, *apud* SILVA *et al.*, 2008).

Ao ocorrer resfriamento, alguns polímeros de amilose e amilopectina solubilizados começam a se reassociar, formando um precipitado ou gel ocorrendo um aumento na opacidade da pasta. Este processo é chamado retrogradação (WHISTLER; BEMILLER, PASCHALL 1997). A retrogradação é basicamente um processo de cristalização das moléculas de amido que ocorre pela forte tendência de formação de pontes de hidrogênio entre moléculas adjacentes. A associação das moléculas do amido propicia o desenvolvimento de uma rede tridimensional mantida coesa pelas áreas cristalinas. Esta rede é formada por grânulos de amido parcialmente inchados e componentes do amido em solução. A formação desta rede durante o resfriamento resulta no aparecimento do gel (HOOVER, 2001). Com o tempo, este gel formado tem a tendência de liberar água. Esta liberação de água é conhecida como sinérese e é comumente encontrada em alguns produtos como molhos em geral (CEREDA *et al.*, 2001).

No processo da retrogradação a amilose é considerada a responsável em curto prazo, pois segundo Peroni, Rocha e Franco (2006) moléculas muito grandes ou curvas têm dificuldade de se reassociar, diminuindo a velocidade de retrogradação, que acontece mais rapidamente com polímeros de cadeia linear. Assim, a reorganização das cadeias de amilopectina acontece de uma forma bem mais lenta que a associação da amilose (PEREIRA, 2004) e isso favorece o aumento da rigidez do gel quando estocado por longo tempo.

A capacidade de expansão do polvilho azedo é diferente daquela do polvilho doce. Alguns trabalhos mostram que, nas mesmas condições, as pastas de polvilho doce (não fermentadas) não se expandem no forno (CEREDA, 1983b).

Estudos mostram que as bactérias do ácido lático, produtoras de exopolissacarídeos (EPS), seriam responsáveis pela formação de uma estrutura viscoelástica, que permite a retenção de gás e expansão da massa



durante o aquecimento (CAMARGO *et al.*, 1988; MAEDA; CEREDA, 2001). O polvilho azedo é uma fécula de mandioca modificada, com temperatura de gelificação inferior ao polvilho doce, o que explica a possibilidade de gelificação processo de escaldamento. O polvilho azedo gelificado ajuda a reter o CO<sub>2</sub> e expande a massa (CEREDA *et al.*, 2002b).

Silva *et al.* (1998), investigando alguns fatores capazes de interferir na propriedade de expansão de biscoitos de polvilho azedo obtido por fermentação natural, observaram que os biscoitos formulados com amilose ou amilopectina em substituição ao polvilho azedo apresentaram baixo grau de expansão quando comparados ao padrão, e que em formulações contendo apenas polvilho doce totalmente gelatinizada não foi observada propriedade de expansão. Ainda que o poder de expansão da massa dos biscoitos parece ser altamente dependente da gelatinização do polvilho azedo, sendo favorecida pelo aumento do teor de água presente na formulação do biscoito, pois a velocidade de formação da estrutura do biscoito aumenta com o incremento do teor de água da formulação do mesmo, pelo fato da gelatinização durante o forneamento ocorrer em maior extensão e com mais facilidade, devido à maior disponibilidade de água.

Outra característica é a variação da expansão da massa. Esta variação que é a relação do volume da massa crua e da massa após o forneamento, mesmo não sendo um parâmetro da legislação, é a característica que diferencia o polvilho azedo para o polvilho doce (CEREDA *et al.*, 2002b).

O polvilho azedo possui a capacidade de formar uma massa que, após assamento, possui alta expansão. A expansão durante o forneamento é atribuída à vaporização da água e à fluidez da pasta. No assamento, ocorre a expansão da massa, envolvendo a transformação de uma massa predominantemente líquida em uma estrutura porosa, com redução da densidade, secagem e coloração da superfície, estabilizada pela gelatinização do polvilho e perda de água (BERTOLINI *et al.*, 2001).

Mudanças que aumentam a taxa de expansão da massa de biscoito de polvilho azedo não dependem do número e da variedade de microrganismos presentes no meio e, sim, do tipo de microrganismo que ao crescer de forma isolada, muda as propriedades funcionais do polvilho doce (RIVERA 1997).

Segundo a maioria dos autores, tanto a fermentação láctica como a secagem ao sol (particularmente em determinados comprimentos de ondas UV) são importantes para o desenvolvimento da capacidade de expansão do polvilho azedo no forno (DEMIATE *et al.*, 2000; BERTOLINI *et al.*, 2001; VATANASUCHART *et al.*, 2005).

A característica tecnológica de expansão é verificada em féculas fermentadas e secas ao sol ou previamente tratadas com ácido láctico, secas ao sol ou expostas à radiação UV (NUNES; CEREDA, 1994; VATANASUCHART *et al.*, 2005). O processo fermentativo apenas fragmenta as cadeias amiláceas produzindo ácidos orgânicos, sendo a exposição à luz ultravioleta do sol o tratamento responsável pela propriedade de expansão (CEREDA, 1973; BRASIL, 1981; CEREDA, 1983a; CEREDA; LIMA, 1985; CAMARGO, 1988; NUNES; CEREDA, 1994; MESTRES; ROUAU, 1997; DEMIATE *et al.*, 1999; DEMIATE; CEREDA, 2000). A degradação oxidativa do polvilho azedo tem sido associada à propriedade de expansão em diversas publicações (MESTRES; ROUAU, 1997; DEMIATE *et al.*, 1999; DEMIATE *et al.*, 2005).

Machado *et al.* (2007) relata que a radiação UV demonstrou ser um catalisador da etapa de secagem, além de demonstrar maior capacidade de absorção de água e maior resistência, apresentando maiores picos no perfil do poder de inchamento.

Plata-Oviedo (1998) sugeriu que a reação de oxidação promovida pela ação de luz ultravioleta do sol sobre a fécula de mandioca fermentada durante a secagem seria um dos fenômenos responsáveis pelo desenvolvimento da propriedade de expansão, e esta tinha seu valor máximo a partir de 4 horas de exposição solar.

A fécula de mandioca sem fermentação seca ao sol e a fécula de mandioca fermentada ou polvilho azedo, seca em estufa apresentam uma pobre propriedade de expansão. No entanto, a fécula de mandioca fermentada e a fécula de mandioca sem fermentar tratada com ácidos orgânicos apresentam propriedade de expansão quando secas ao sol ou com lâmpadas de luz ultravioleta, sugerindo que a propriedade de expansão resulta de alguma modificação da fécula causada pela luz ultravioleta (do sol ou das lâmpadas) na presença de ácidos orgânicos (DIAS, 2007).

Nunes e Cereda (1994), ao submeterem a fécula de mandioca a tratamento com ácido láctico e secagem em estufa e ao sol encontraram valores médios de duas a três vezes maiores para as amostras secas ao sol em relação às amostras secas em estufa.

Muitos estudos tentam entender o tipo de modificação, no nível molecular, responsável pelas propriedades de expansão do polvilho azedo, mas ainda não há uma resposta conclusiva. A hidrólise ácida e enzimática parcial do amido de mandioca, assim como a presença de exopolissacarídeos produzidos por bactérias durante a fermentação, tem sido considerada (DEMIATE *et al.*, 2000). Também pode ocorrer uma despolimerização parcial, mas não excessiva, das moléculas da fécula de mandioca (amilose e amilopectina) nas regiões amorfas, sendo estes pequenos fragmentos lineares responsáveis pela estrutura amorfa da massa de amido durante o forneamento (VATANASUCHART *et al.*, 2005).

Dias (2007) estudou a secagem artificial do polvilho azedo e verificou que os amidos de mandioca fermentados oxidados com hipoclorito de sódio e com peróxido de hidrogênio secos em estufa apresentavam propriedade de expansão semelhante ao amido fermentado seco ao sol. Os melhores resultados para volume, crosta e interior dos biscoitos, quando utilizado hipoclorito de sódio, foram obtidos com concentração de cloro ativo de 0,50%, pH de 3,60, temperatura de 40 °C e tempo de reação de 30 minutos; já quando utilizado peróxido de hidrogênio, os melhores resultados foram com concentração do oxidante de 1,50%, pH de 5,00, temperatura de 32,5 °C e tempo de reação de 50 minutos.

Para estabelecer um produto comercial que substitua o polvilho azedo tradicional, com vantagens de maior controle de qualidade e higiene, é necessário um melhor conhecimento das alterações pelas quais o produto passa durante seu processamento, com fermentação seguida de tratamento por UV (CEREDA *et al.*, 2002b).

Segundo Cereda *et al.* (2002b), a procura pelo polvilho azedo é grande pelo consumidor, principalmente para ser utilizado em produtos de confeitaria como biscoitos, sequilhos, pão de queijo, bolos, etc. É insubstituível no preparo de biscoito salgado que se caracteriza por ser um produto muito leve e volumoso, resultado da expansão do polvilho azedo no forno. Os autores ainda

ressaltam que a expansão dos produtos sem uso de agentes levedantes (fermento químico ou biológico) é a principal característica do polvilho azedo, característica que ainda não foi suficientemente valorizada no que diz respeito à redução de custos dos produtos de panificação (eliminação da fase de fermentação e do próprio fermento) ou da possibilidade de atingir o público dos celíacos, pessoas alérgicas ao glúten da farinha de trigo.

Existem várias formulações de biscoito de polvilho no mercado, algumas incluindo, além de polvilho azedo, polvilho doce, farinha de milho, água, leite, ovos e sal. Na fabricação de biscoitos de polvilho escaldados, o polvilho azedo proporciona ao produto sabor agradável, com crosta fina, crocante, maior volume, além de maior absorção em água, fazendo com que se obtenha maior rendimento em biscoitos. Durante o forneamento, os grânulos da superfície são desidratados e os do interior gelatinizados, provocando a expansão do biscoito (CAMARGO *et al.*, 1988). O biscoito de polvilho azedo pode ser enquadrado em uma categoria de produtos com baixo valor agregado, em função de suas características de qualidade. É um produto regional e sua tecnologia de fabricação não segue uma padronização, sendo necessário o estabelecimento de padrões de qualidade para que a cadeia de produção possa se desenvolver (APLEVICZ; DEMIATE, 2007).

Os biscoitos que fazem uso da fécula de mandioca em seu estado natural ou fermentado (polvilho azedo) são um típico produto brasileiro, comumente chamados de biscoitos de polvilho. Tradicionalmente, eram produzidos em padarias (CEREDA, 1983b), mas, atualmente, muitas empresas também os fabricam. Apesar de o nome remeter à forma fermentada da fécula de mandioca ou polvilho azedo, as formulações que encontramos disponíveis no mercado são as mais diversas, ora utilizando somente o polvilho azedo, ora utilizando uma mistura de polvilho azedo e doce (MONTENEGRO *et al.*, 2008).

A confecção do biscoito de polvilho é, até o momento, o único teste de qualidade do polvilho azedo existente e aceito por todos, usuários e produtores. Esse fato justifica a busca de um índice de qualidade para o polvilho azedo comercial (CEREDA *et al.*, 2002b). A qualidade de um produto deve ser definida, também, quanto às percepções do consumidor, pois de nada vale para o consumidor um produto que possua excelentes características químicas, físicas ou microbiológicas se a característica sensorial do produto não atender

as necessidades e anseios de quem o consumirá (CHAVES; SPROESSER, 2005).

A análise sensorial trabalha com testes entre os quais existem os chamados “afetivos” também conhecidos como teste de consumidor, que tem como objetivo medir atitudes subjetivas, como aceitação ou preferência de produtos, de forma individual ou em relação a outros em função de suas características sensoriais. Os testes de aceitação são usados quando se pretende avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto. Um dos métodos mais empregados para medida da aceitação é a escala hedônica que varia com base nos atributos “gosta” e “desgosta” (MINIM, 2006). Os testes de aceitação requerem equipes com grande número de participantes (acima de 40) que representem a população de consumidores atuais ou potenciais do produto. Este teste é recomendado quando se está avaliando um alimento novo ou modificação de formulação ou tratamentos (CHAVES; SPROESSER, 2005).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG e nas instalações da Tup Guar Indústria e Comércio Ltda., em Conceição dos Ouros-MG.

#### 3.1 Isolamento de bactérias do ácido láctico

A coleta das amostras para o isolamento de bactérias foi realizada nas instalações da Tup Guar Indústria e Comércio Ltda., em Conceição dos Ouros-MG, conforme apresentado na Tabela 1. Os tempos considerados para a coleta das amostras foram selecionados de acordo com a disponibilidade dos tanques em processo de fermentação da empresa e com o objetivo de isolar cepas de bactérias do ácido láctico em variados dias de fermentação. As amostras foram identificadas como A, B, C, D, E, F e G, correspondentes respectivamente aos tanques de fermentação 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 e coletadas assepticamente em frascos esterilizados acondicionados em caixas de material isotérmico contendo gelo e transportadas para o laboratório para análises subseqüentes.

Após aferir o pH das amostras, as mesmas foram adicionadas em tubos contendo caldo MRS (*Man, Rogosa & Sharpe* - Dflico) e incubadas a 37 °C por 48 horas. Em seguida foram realizadas diluições centesimais seriadas ( $10^1$  a

**Tabela 1** – Amostras do líquido nos tanques de fermentação de polvilho azedo em diferentes fases do processo de fermentação (Tup Guar Indústria e Comércio Ltda.)

Amostra	Especificação (dias de fermentação)
1 – (A)	Tanque com 0 dia. Água do tanque de decantação – após 12 horas de processo
2 – (B)	Tanque com 2 dias
3 – (C)	Tanque com 18 dias
4 – (D)	Tanque com 31 dias
5 – (E)	Tanque com 42 dias
6 – (F)	Tanque com 60 dias
7 – (G)	“Água final” – água de outros tanques após o final da fermentação recolhida em um tanque com pequena camada de polvilho no fundo.

$10^7$ ) em solução-tampão fosfato. De acordo com a diluição foram inoculadas 1 mL ou 0,1 mL das diluições  $10^4$  a  $10^7$  em ágar MRS, plaqueadas por *pour plate*, para obtenção da contagem total de bactérias. Posteriormente foram selecionadas algumas colônias que foram estriadas em ágar MRS nas mesmas condições para obtenção dos respectivos isolados. Foram obtidas 14 colônias identificadas como: A; B1; B2; B3; B4; C1; C2; D1; D2; D3; D4; E; F1; F2, de acordo com o tanque no qual foram isoladas. As colônias foram identificadas e caracterizadas quanto à morfologia, coloração de Gram e teste de catalase, para confirmação de Gram positivos e catalase negativo, característicos de bactérias do ácido láctico (SILVA; JUNQUEIRA, SILVEIRA. 2001). Foram selecionadas as colônias que apresentaram morfologia de bastonetes, sugestivo para *Lactobacillus spp.*

As colônias típicas foram então devidamente diluídas em tampão fosfato e plaqueadas por *pour plate* em sobre camada em ágar APT (*All Purpose Tween - Difco*) modificado por Mendonça (1992) pela adição de 0,004% de púrpura de bromocresol e 0,5% de carbonato de cálcio e incubadas a 37 °C por 48 horas. A formação de um halo amarelo ao redor das colônias indica a produção de ácido, o que confirma o fenótipo típico do grupo de bactérias do ácido láctico.

## **3.2 Desempenho fermentativo dos isolados (ISO)**

### **3.2.1 Ativação e manutenção dos isolados**

Previamente aos ensaios para avaliação do desempenho fermentativo, caracterização fenotípica e preparo de *pool* dos isolados, os mesmos, mantidos em caldo MRS sob refrigeração, foram reativados três vezes consecutivas em caldo MRS por meio da transferência de uma alíquota de 1 a 3% para tubos de ensaio contendo caldo MRS, incubados a 37 °C por 24 horas (SILVA; JUNQUEIRA, SILVEIRA. 2001). A contagem de células viáveis, após a terceira reativação, foi realizada por meio de plaqueamento em ágar MRS e incubados a 37 °C por 24 horas, sendo considerado  $10^8$  UFC/mL a população mínima para dar prosseguimento aos experimentos.

### **3.2.2 Desempenho fermentativo de 14 isolados (ISO)**

Inicialmente a avaliação da capacidade fermentativa de 14 isolados previamente selecionados foi realizada em recipientes plásticos de 2 L contendo 500 g de fécula de mandioca e 800 g de água, a temperatura ambiente. Cada isolado foi inoculado no recipiente na proporção entre 1 a 5% para obtenção de uma população inicial de células viáveis de no mínimo  $10^5$  UFC/mL. Este ensaio foi realizado em duas repetições sendo empregado como controle (CR) uma fermentação natural sem a adição do inóculo. O desempenho fermentativo dos isolados foi verificado por meio da determinação do pH e acidez titulável no meio fermentado, em triplicata, sendo as amostras coletadas em intervalos de 4 dias, durante 24 dias, tempo este considerado suficiente para avaliar as propriedades de qualidade. Após esse período, foi obtido o polvilho azedo, por meio da secagem das amostras em secador a gás, com circulação de ar a 50 °C, sendo caracterizado quanto à sua propriedade de expansão.

Este experimento foi conduzido em conformidade com o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com duas repetições, em esquema de parcelas subdivididas (15 x 7), em que as parcelas foram representadas por 15 tratamentos (14 isolados e um controle – CR) e as subparcelas por sete



tempos de fermentação (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 dias). Os resultados foram analisados estatisticamente empregando-se o programa SAS versão nove, por meio da análise de variância (ANOVA), teste de Tukey ao nível de significância de 5% e utilizada a análise de regressão, com ajuste de modelo de 1<sup>o</sup> grau.

### **3.2.3 Desempenho fermentativo de cinco isolados (ISO)**

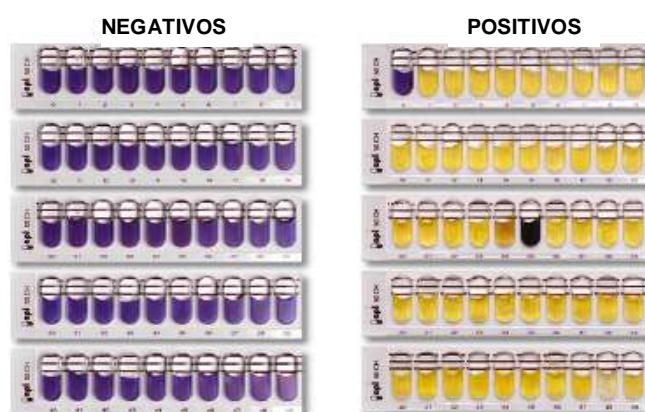
Após a etapa de avaliação do desempenho fermentativo dos 14 isolados, cinco foram então selecionados das amostras coletadas na indústria em diferentes etapas do processo fermentativo (Tabela 1), um da amostra B, dois da amostra C, um da amostra D e um da amostra E.

Estes tiveram o seu desempenho fermentativo reavaliados em maior escala, tendo sido utilizadas caixas plásticas com capacidade de 15 litros, contendo 4,5 kg de fécula de mandioca e 7,5 litros de água inoculadas com uma suspensão de células na proporção entre 1 e 5% para se obter uma população de células viáveis em torno de 10<sup>5</sup> UFC/mL. Este ensaio foi realizado em duas repetições sendo empregada como controle (CR) uma fermentação natural sem a adição do inóculo. O desempenho fermentativo foi avaliado nas amostras coletadas em intervalos de quatro dias durante 24 dias, por meio da determinação do pH (na fração líquida), acidez titulável e análise da propriedade de expansão do amido que foi realizada no polvilho após secagem das amostras em secador a gás, com circulação de ar a 50 °C.

Este experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado (DIC) com duas repetições, em esquema de parcelas subdivididas (6 x 7), em que as parcelas foram representadas por seis tratamentos (cinco isolados e um controle – CR) e as subparcelas por sete tempos de fermentação (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 dias). Os resultados foram analisados estatisticamente empregando-se o programa SAS versão nove, por meio da análise de variância (ANOVA), teste de Tukey, ao nível de significância de 5% e utilizada a análise de regressão, com ajuste de modelo de 1<sup>o</sup> grau.

### 3.2.3.1 Caracterização fenotípica

Para caracterizar fenotipicamente e identificar de forma presuntiva os cinco isolados selecionados, foi utilizado o kit API<sup>®</sup> 50 CH (BioMerieux<sup>®</sup> S.A, Marcy L Etoile, França). As bactérias foram ativadas em ágar MRS a 37 °C por 24 horas para obtenção de colônias isoladas. De acordo com o manual do fabricante, colônias foram transferidas para uma ampola do kit contendo 2 mL de meio API para obtenção de uma densidade celular igual a 2 na escala de McFarland. Após a densidade celular ter sido alcançada, o meio foi distribuído nas galerias com 50 cavidades, contendo diferentes carboidratos. Para estabelecer a condição de anaerobiose, foi adicionado óleo de parafina em cada cavidade. Em seguida, as galerias foram incubadas a 37 °C por 48 horas. As leituras foram realizadas nos tempos 24 e 48 horas, tendo como resultado positivo a mudança de coloração (roxo – amarelo) do meio devido a produção de ácidos orgânicos que altera o pH como resultado da capacidade do microrganismo de fermentar o carboidrato em teste, com exceção do controle que permanece azul e da esculina (cavidade número 25) cuja coloração muda para preto (Figura 5). O perfil de fermentação dos respectivos carboidratos para cada isolado foi descrito como positivo/negativo, cujo resultado foi lançado na base de dados (V5.1), do sistema de identificação *apiweb*<sup>™</sup>, obtendo dessa forma a identificação que permite determinar o gênero e a espécie do microrganismo analisado.



Fonte: BioMerieux<sup>®</sup> S.A. (2010).

**Figura 5** – Resultados dos testes para as galerias API 50 CH.

### **3.3 Obtenção de inóculo em escala de bancada (laboratório) pelo sistema *Back Slooping* – BS)**

Para efeito de comparação inóculos foram obtidos por meio do processamento (Figura 3) de 25 kg de mandioca da variedade “cacau”, que foram adquiridos na cidade de Porto Firme, MG. O processo fermentativo foi realizado em recipientes plásticos de 20 litros de capacidade, contendo 6,1 kg de amido e 7,35 litros de água, à temperatura ambiente por 42 dias. Esta fermentação foi desenvolvida de forma natural e amostras de 20 mL do meio fermentado coletadas nos intervalos de 0, 2, 18, 31 e 42 dias, à semelhança da coleta realizada nos tanques da indústria (Tabela 1) e avaliadas como inóculo denominado *back slooping* na forma de um *pool* BS conforme descrito em seguida no item 3.4. Este processo de fermentação foi avaliado por meio do acompanhamento da variação do pH, acidez titulável e contagem de células (ágar MRS) em placas no líquido fermentado, pelo método *pour plate* incubadas a 37 °C por 48 horas (SILVA; JUNQUEIRA, S ILVEIRA. 2001).

### **3.4 Desempenho fermentativo na forma de *pool***

As cepas previamente isoladas (ISO) e avaliadas conforme detalhado no item 3.2, bem como as amostras coletadas do líquido fermentado (BS), conforme descrito no item 3.3 foram devidamente agrupadas para a formação de um *pool* ISO e um *pool* BS, os quais foram submetidos ao processo de avaliação. Para tanto, 126 kg de mandioca da variedade “cacau” adquiridos na cidade de Porto Firme-MG foram processadas para obtenção do amido, em conformidade com o fluxograma demonstrado na Figura 3 e o processo de fermentação desenvolvido em recipientes plásticos de 20 litros de capacidade contendo 6,1 kg de amido e 7,35 litros de água, mantidos à temperatura ambiente. Como inóculo foram empregados os respectivos *pool* na proporção de 1 a 5% para se obter uma população de células viáveis de no mínimo  $10^5$  UFC/mL. Este ensaio foi realizado em duas repetições, e utilizado como controle (CR) a fermentação natural, sem a adição de inóculo.

A avaliação do desempenho fermentativo dos respectivos inóculos foi realizada por meio da determinação do pH (na fração líquida), acidez titulável e da propriedade de expansão após secagem do polvilho azedo em estufa a gás com circulação de ar a 50 °C. As amostras foram coletadas em intervalos de quatro dias durante 24 dias e a contagem de células viáveis presentes no líquido de fermentação realizada em placas de *Petri* contendo meio MRS para bactérias do ácido láctico, PCA (*Plate Count Agar* – Difco) para contagem total e PDA (*Potato Dextrose Agar* - Difco) para fungos e leveduras pelo método *pour plate* incubadas a 37 °C por 48 horas (SILVA; JUNQUEIRA, S ILVEIRA. 2001).

Este experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado (DIC) com duas repetições, em esquema de parcelas subdivididas (3 x 7), em que as parcelas foram representadas por três tratamentos (*pool* ISO, *pool* BS e CR) e as subparcelas por sete tempos de fermentação (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 dias). Os resultados foram analisados estatisticamente empregando-se o programa SAS versão 9, por meio da análise de variância (ANOVA), teste de Tukey, ao nível de significância de 5% e utilizada a análise de regressão, com ajuste de modelo de 1<sup>o</sup> grau.

### **3.5 Desempenho fermentativo dos isolados na forma de *pool* na indústria**

Os inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) foram avaliados junto ao galpão onde se encontram os tanques de fermentação de 9.000 litros de capacidade, construídos em alvenaria, da Tup Guar Indústria e Comércio Ltda., em Conceição dos Ouros-MG. Os experimentos foram conduzidos em caixas plásticas de 150 litros de capacidade contendo 59 kg de amido de mandioca e 71 litros de água, inoculados com os respectivos *pool* ( $10^5$  UFC/mL) e uma caixa plástica sem inóculo (fermentação natural) como controle (CR). Para efeito de comparação a indústria disponibilizou dois de seus tanques de fermentação submetidos ao processo de fermentação natural (ICR) conduzido em conformidade com os procedimentos de rotina estabelecidos pela empresa.

A avaliação do desempenho dos respectivos inóculos em escala industrial foi realizada nas amostras coletadas em intervalos de quatro dias durante 24 dias, por meio da determinação do pH (na fração líquida), acidez titulável, bem

como pela propriedade de expansão do polvilho que foi realizada após secagem natural (em jiraus), de acordo com os procedimentos adotados pela Tup Guar Indústria e Comércio Ltda.

Amostras do polvilho azedo seco foram refrigeradas e enviadas a laboratórios para posterior caracterização por meio de determinação da propriedade de pasta em Analisador Rápido de Viscosidade ou *Rapid Visco Analyser* (RVA) e análise sensorial de biscoitos confeccionados com as respectivas amostras de polvilho azedo. Estas análises foram realizadas nas amostras dos tempos 0, 8, 16 e 24 dias de fermentação.

Este experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado (DIC) com duas repetições, em esquema de parcelas subdivididas, em que as parcelas foram representadas pelos tratamentos e as subparcelas pelos tempos de fermentação.

Duas comparações diferentes foram realizadas nesta etapa:

1. Comparação entre os tratamentos CR e ICR: foi utilizado o esquema de parcela subdivididas (2 x 7) e (2 x 4), em que as parcelas foram representadas pelos dois tratamentos (CR e ICR) e as subparcelas por sete tempos de fermentação (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 dias), para analisar os resultados de pH, acidez titulável e propriedade de expansão do polvilho. Para analisar os resultados de propriedade de pasta e análise sensorial os 4 tempos de fermentação analisados foram os de 0, 8, 16, e 24 dias.

2. Comparação entre os tratamentos CR, ISO e BS: procedeu-se então as análises dos resultados do pH, acidez titulável e propriedade de expansão do polvilho no esquema de parcela subdividida (3 x 7), em que as parcelas foram representadas pelos tratamentos (*pool* ISO, *pool* BS e CR) e as subparcelas por sete tempos de fermentação (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 dias). Para propriedade de pasta e análise sensorial o esquema de parcela subdividida foi de 3 x 4, sendo as parcelas representadas pelos tratamentos (*pool* ISO, *pool* BS e CR) e as subparcelas por quatro tempos de fermentação (0, 8, 16, e 24 dias).

Os resultados foram analisados estatisticamente empregando-se o programa SAS versão 9, por meio da análise de variância (ANOVA), teste de Tukey, ao nível de significância de 5% e a análise de regressão, com ajuste de modelo de 1<sup>o</sup> grau.

### **3.6 Métodos analíticos**

#### **3.6.1 Determinação de pH**

Foi realizada determinação do pH por potenciometria diretamente nas amostras, utilizando-se um pHmetro da marca Hanna (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

#### **3.6.2 Determinação da acidez titulável**

A determinação da acidez titulável foi realizada pelo método acidimétrico utilizando-se NaOH 0,1 N e indicador fenolftaleína, resultados em mL de NaOH/100 g da amostra (AOAC, 1994), em conformidade com a legislação nacional vigente que se encontra na Resolução nº 12/1978, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, que estabelece acidez expressa em mL de NaOH/100 g da amostra (BRASIL, 1978).

#### **3.6.3 Avaliação da propriedade de expansão do polvilho azedo**

A propriedade de expansão do polvilho azedo foi determinada em conformidade com a metodologia descrita por Maeda e Cereda (2001). Para tanto, foram pesados 50 g do polvilho azedo e sobre a amostra colocados aproximadamente 40 mL de água fervente. A massa foi modelada até a consistência nas mãos tornar-se homogênea e macia para ser moldada, acrescentando mais água fervente, se necessário. Com a massa modelada foram confeccionados cinco biscoitos redondos de 10 g cada, distribuídos em assadeira e levados ao forno elétrico termostatizado à temperatura de 200 °C/30 minutos. Depois de frios foram pesados. Para determinação de volume, foi enchido um béquer de 1 L completamente com painço, retirado 2/3 deste, acrescentado o biscoito, retornado com o painço ao béquer, e o volume de painço transbordado foi então medido em proveta, obtendo-se o volume específico mL/g (expansão), calculado pela relação entre o volume (mL) e o peso (g) de cada biscoito. A expansão das amostras foi comparada aos índices de expansão estabelecidos por Nunes e Cereda, (1994) para classificar o

polvilho azedo quanto ao poder de expansão em pequeno ( $\leq 5,0$  mL/g), médio (de 5,0 a 10 mL/g) e grande ( $\geq 10,0$  mL/g). Comparados também com os valores de índice de expansão (IE) obtidos por Maeda e Cereda, (2001), que classifica o polvilho azedo em Tipo C  $\leq 12$  mL/g, Tipo B de 12 a 16 mL/g e como Tipo A  $\geq 16$  mL/g,

#### **3.6.4 Análise de propriedades de pasta do polvilho em *Rapid Visco Analyser* (RVA)**

O polvilho azedo obtido conforme descrito no item 3.5 foi analisado em equipamento *rapid visco analyser* (RVA, Newport Scientific), do CTAA/Embrapa, para caracterização das propriedades de pasta, segundo metodologia descrita por Diniz (2006), modificada como segue. Uma suspensão de 10% de amostra foi submetida a aquecimento, sob agitação contínua, a 50 °C por 1 minuto. Em seguida, a temperatura da suspensão foi elevada para 95 °C e mantida constante por 5 minutos. Após este período, a pasta foi resfriada até 50 °C, e a análise foi encerrada. A variação de temperatura obedeceu ao padrão de 6 °C/minutos, conforme a metodologia.

Nos viscogramas obtidos, foram avaliadas as características de temperatura inicial de pasta, viscosidade máxima da pasta (pico), temperatura de viscosidade máxima, quebra de viscosidade ou *breakdown* (diferença entre a viscosidade máxima e mínima da pasta mantida a 95 °C) e tendência à retrogradação (diferença entre as viscosidades final, a 50 °C, e mínima da pasta mantida a 95 °C), conforme método AACC 76-21 (AACC, 2000).

#### **3.7 Análise sensorial – Teste de aceitação**

As amostras de polvilho azedo obtidas na etapa de desenvolvimento do experimento em escala industrial (item 3.5) foram utilizadas para confecção de biscoitos e posteriormente submetidos à análise sensorial que foi realizada por meio do teste de aceitação. Para confeccionar os biscoitos foram pesados para cada 1 kg de polvilho, 250 mL de óleo de soja, 35 g de sal, 1 ovo (50 g) e água em quantidade suficiente para dar consistência adequada para modelagem da

massa. Após foram padronizados de acordo com Maeda e Cereda (2001) em aproximadamente 8,0 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro utilizando um confeitador com bico redondo, distribuídos em assadeira e levados ao forno elétrico à temperatura de 200 °C, por 20 a 25 min.

A análise sensorial foi realizada em quatro sessões para avaliação dos biscoitos confeccionados das amostras de polvilho dos tempos 0; 8; 16 e 24 dias de fermentação, tempos estes selecionados por sorteio. A avaliação, quanto à aceitação, foi realizada em cada sessão, por 100 provadores não treinados em relação ao atributo sabor. Os provadores receberam uma ficha de avaliação (Figura 6) para cada amostra, em que foi solicitado que indicasse na escala hedônica de 9 pontos o seu julgamento em relação à aceitação do produto, sendo atribuída nota 9 para gostei extremamente até 1 para desgostei extremamente (STONE; SIDEL, 1993).

As amostras foram apresentadas de forma aleatória e monádica. A análise sensorial foi conduzida em cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, e as amostras dos biscoitos foram servidas à temperatura ambiente, codificadas utilizando-se números casualizados de três dígitos.

Nome: _____	Data: _____	Sexo: F ( ) M ( )
Faixa etária (em anos): 15 - 20 ( ) 21 - 30 ( ) 31 - 40 ( ) 41 - 50 ( ) 51 - 60 ( ) acima de 60 ( )		
Por favor, avalie a amostra utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do SABOR do produto.		
9 - Gostei extremamente	Código da amostra: XXX	
8 - Gostei muito		
7 - Gostei moderadamente		
6 - Gostei ligeiramente	Sabor _____	
5 - Indiferente		
4 - Desgostei ligeiramente		
3 - Desgostei moderadamente		
2 - Desgostei muito		
1 - Desgostei extremamente		
Comentários: _____		

**Figura 6** – Ficha de resposta para o teste de aceitação.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Isolamento de bactérias do ácido lático

Visando constituir um inóculo adequado para fermentar o polvilho adotou-se como procedimento o isolamento de bactérias do ácido-lático a partir de amostras coletadas nos tanques de fermentação em diferentes fases do processo, realizada nas instalações da Tup Guar Indústria e Comércio Ltda., em Conceição dos Ouros, MG, as quais foram caracterizadas quanto ao pH (Tabela 2). Observa-se uma nítida variação do pH em função do tempo de fermentação, e exceto para o tanque 7 as demais apresentaram valores dentro da faixa característica de polvilho fermentado.

**Tabela 2** – Valores de pH das amostras do líquido de fermentação de polvilho azedo em diferentes fases do processo de fermentação (Tup Guar Indústria e Comércio Ltda.)

Amostra	Especificação (dias de fermentação)	pH
01 – (A)	Tanque com 0 dia	4,29
02 – (B)	Tanque com 2 dias	4,14
03 – (C)	Tanque com 18 dias	3,93
04 – (D)	Tanque com 31 dias	3,89
05 – (E)	Tanque com 42 dias	3,62
06 – (F)	Tanque com 60 dias	3,66
07 – (G)	“Água final”	6,91

A microbiota presente nas amostras foi devidamente ativada em caldo MRS e posteriormente isolada em ágar MRS por meio da técnica de estrias (Figura 7). A amostra do tanque 7 (G) não apresentou crescimento, e nos demais tanques, 14 colônias típicas foram isoladas e identificadas como: A; B1; B2; B3; B4; C1; C2; D1; D2; D3; D4; E; F1; F2.



**Figura 7** – Crescimento das colônias isoladas, da fermentação natural de polvilho, em ágar MRS.

As cepas isoladas apresentaram morfologia predominantemente em forma de bastonetes, Gram-positivos e teste de catalase negativo, o que são características de bactérias do ácido láctico. A atividade da catalase é uma característica importante em determinados grupos de bactérias. Este teste é utilizado para comprovar a presença ou não da referida enzima em culturas de microrganismos. Embora em raros casos possam apresentar “pseudocatalase”, normalmente as bactérias do ácido láctico são desprovidas da enzima, ou seja, são catalase-negativas (SCHLEIFER; LUDWIG, 1995).

Posteriormente as 14 cepas isoladas foram cultivadas em ágar APT modificado. Os resultados revelaram que os respectivos isolados cresceram de forma satisfatória em caldo MRS e quando plaqueadas em ágar APT os isolados apresentaram morfologia de bastonetes, Gram-positivos, catalase negativo e formação de um halo amarelo ao redor das colônias o que indica produção de ácido (Figura 8), que caracteriza espécies de bactérias do ácido láctico (BAL).

Segundo Cereda e Lima (1985) o efeito do processo fermentativo sobre as propriedades funcionais do polvilho, particularmente no que se refere à capacidade de expansão da massa para fabricar biscoito ainda é desconhecido.



**Figura 8** – Colônias de espécies de bactérias do ácido láctico, isoladas, da fermentação natural de polvilho, em ágar APT modificado (halo amarelo ao redor das colônias, típico de crescimento de BAL).

Desta forma, o critério utilizado em muitas indústrias baseia-se em características externas da massa em fermentação tais como, odor, presença de bolhas de gás e acidificação do material. A presença de bolhas e a emissão de odores constituem um aspecto subjetivo de avaliação. A determinação da acidez e pH é considerado um teste quantitativo que, não obstante, não tem revelado valor como único critério para determinar o momento apropriado para se interromper o processo de fermentação. Prova disso reside no fato que uma grande variação de valores de acidez e de pH ainda é observada em amostras de polvilho azedo comercial de diversas procedências. Conseqüentemente o tempo de fermentação é muito variável, entre 20 e 60 dias, dependendo da região produtora, da temperatura ambiente ou das condições particulares da indústria e de outros critérios adotados pelo produtor.

No processo de fermentação onde o polvilho doce é submerso em água, observa-se o crescimento de espécies de bactérias do ácido láctico que, juntamente com outros microrganismos, produz ácidos orgânicos e compostos aromáticos responsáveis pelas mudanças físico-químicas benéficas no produto, além de contribuir, de forma importante, para a estabilidade do produto até a etapa de secagem.

Carvalho *et al.* (1999) determinaram a composição da microbiota de polvilho azedo em processo fermentativo em nível industrial e reportou que 80,6% dos isolados correspondem a bactérias ácido-láticas, predominando espécies de *Lactobacillus* (21%), *Lactococcus* (12,8%) *Enterococcus* (8,3%), *Pediococcus* (5,9%) e *Streptococcus* (0,8%), 3,1% dos isolados correspondem a bactérias Gram-negativas, 2,2% leveduras, 7,8% bactérias dos gênero

*Bacillus* e *Corynebacterium*, 2,4% *Staphylococcus* e *Micrococcus* como contaminantes do processo.

Rivera (1997) afirmou que o desenvolvimento da indústria de polvilho azedo requer conhecimento do processo fermentativo, para se conhecer a microbiota responsável pelas mudanças desejáveis nas propriedades funcionais do polvilho e, conseqüentemente, obter um polvilho uniforme e de qualidade adequada, o que vem de encontro aos objetivos do presente projeto.

#### **4.2 Desempenho fermentativo dos isolados**

Os 14 isolados previamente selecionados tiveram seu desempenho avaliado no processo de fermentação de polvilho doce, quanto ao pH e acidez titulável, cujos resultados encontram-se apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. A análise estatística destes resultados encontra-se demonstrada na Tabela 5.

Observa-se que ao longo do tempo de fermentação houve um decréscimo nos valores de pH e acréscimo da acidez, resultados característicos de um processo de fermentação láctica de mandioca.

A análise estatística (Tabela 5) revelou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para a interação tratamento x tempo das variáveis pH e acidez, ou seja o efeito tratamento não é dependente do efeito tempo. Os 15 tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si e tanto o pH como a acidez apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para a variável tempo de fermentação. No que se refere à propriedade de expansão após 24 dias de fermentação a análise estatística também não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos.

Como os 14 isolados apresentaram desempenho similar nas variáveis analisadas, optou-se por selecionar os cinco isolados obtidos em diferentes etapas do processo fermentativo (Tabela 2), conforme evidenciados na Figura 9.

**Tabela 3** – Valores médios de pH dos 14 isolados de bactérias do ácido láctico, durante 24 dias de fermentação do polvilho

Amostra	Tempo de Fermentação (dias)						
	0	4	8	12	16	20	24
CR	6,77	5,77	4,53	4,32	4,28	4,19	4,18
A	6,58	6,12	4,66	4,34	4,53	4,21	4,17
B1	6,69	5,69	4,13	3,63	3,78	3,58	3,54
B2	6,73	5,67	4,41	4,15	4,19	4,04	4,08
B3	6,71	6,48	4,71	4,42	4,49	4,33	4,21
B4	6,71	6,36	4,71	4,68	4,56	4,19	4,15
C1	6,63	5,66	4,41	3,58	3,66	3,60	3,57
C2	6,63	5,45	4,43	3,77	3,80	3,67	3,61
D1	6,58	6,15	4,65	4,35	4,37	4,21	4,23
D2	6,59	5,93	4,71	4,38	4,40	4,24	4,22
D3	6,60	6,11	4,70	4,33	4,31	4,07	4,03
D4	6,60	6,00	4,61	4,31	4,33	4,18	4,17
E	6,67	6,23	4,46	3,62	3,60	3,41	3,31
F1	6,64	5,87	4,66	4,51	4,48	4,26	4,21
F2	6,65	5,96	4,64	4,62	4,51	4,18	4,13

Valores médios estimados de duas repetições.

**Tabela 4** – Valores médios de acidez titulável dos 14 isolados de bactérias do ácido láctico, expressos em mL de NaOH/100g, durante 24 dias de fermentação do polvilho

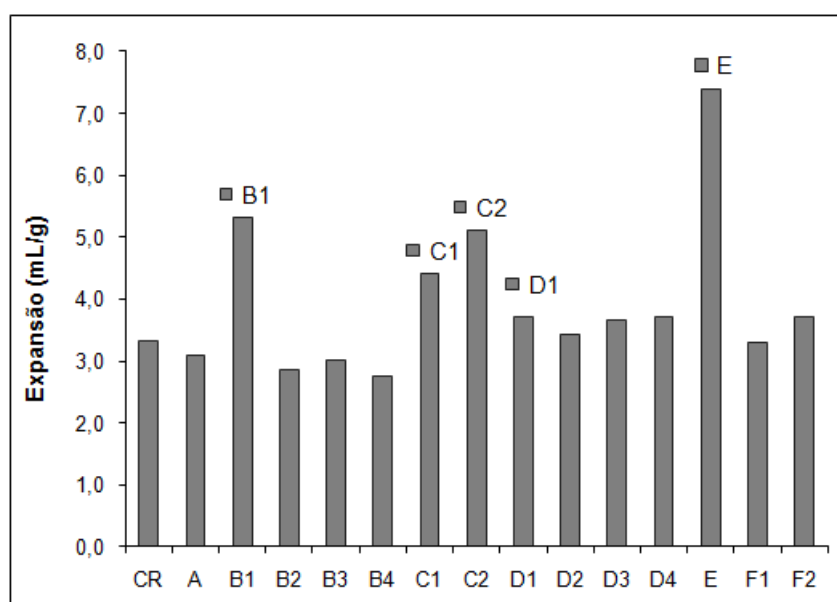
Amostra	Tempo de Fermentação (dias)						
	0	4	8	12	16	20	24
CR	0,73	0,28	1,96	3,69	3,30	2,42	2,96
A	0,72	0,31	1,07	2,37	2,33	3,22	4,13
B1	0,63	0,37	1,46	4,38	3,22	2,90	3,91
B2	0,66	0,38	2,06	3,30	3,79	2,86	3,53
B3	0,34	0,27	1,51	2,99	2,71	2,70	3,24
B4	0,63	0,29	1,46	2,37	1,81	2,62	4,02
C1	0,79	0,47	1,19	4,49	3,61	3,40	4,22
C2	0,82	0,44	1,63	5,36	4,74	4,26	4,52
D1	0,62	0,35	2,01	3,06	3,28	3,02	3,33
D2	0,59	0,34	1,21	2,98	3,01	3,06	3,60
D3	0,70	0,35	1,28	2,79	3,23	3,88	4,82
D4	0,78	0,33	1,26	3,23	3,37	3,34	4,27
E	0,74	0,28	1,31	3,71	4,31	3,18	3,96
F1	0,84	0,31	1,60	3,39	3,12	3,00	3,24
F2	0,58	0,33	1,96	2,81	2,77	2,82	4,52

Valores médios estimados de duas repetições.

**Tabela 5** – Valores de probabilidade (p) de F da análise de variância das características físico químicas pH e acidez dos 14 isolados mais controle durante 24 dias de fermentação do polvilho e índice de expansão após 24 dias

ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
GL	14	7	98
pH	0.4883	<.0001	0.1004
Acidez	0.1963	<.0001	0.9683
Expansão	0.1163		

Os resultados referentes ao índice de expansão de todos os tratamentos encontram-se demonstrados na Figura 9. Segundo Maeda e Cereda (2001), a expansão do polvilho azedo ao forno é a principal característica que revela a qualidade exigida por produtores e consumidores.



**Figura 9** – Valores médios estimados, de duas repetições, do índice de expansão da massa de polvilho após 24 dias de fermentação apresentado pelos 14 isolados mais controle CR. Em evidência os isolados selecionados (B1; C1; C2; D1 e E)

Considerando o Índice de Expansão (IE) proposto por Nunes e Cereda (1994), que estabelece como “pequeno” quando  $\leq 5$  mL/g, “médio” valores entre 5 a 10 mL/g e “grande” quando  $> 10$  mL/g, no presente trabalho verifica-se que os valores obtidos permitem caracterizar o polvilho como de pequena e média expansão, cujos valores encontram-se entre 3,1 a 7,4 mL/g.

Comparando-se com os valores de Índice de Expansão (IE) obtidos por Maeda e Cereda, (2001), que classifica o polvilho azedo em tipo C  $\leq 12$  mL/g, tipo B de 12 a 16 mL/g e como tipo A  $\geq 16$  mL/g, verifica-se que as amostras avaliadas no presente trabalho são classificadas como tipo C.

#### **4.2.1 Desempenho fermentativo dos isolados selecionados**

Os cinco isolados selecionados na etapa anterior foram novamente avaliados em reatores de 15 litros, cujos resultados referentes à evolução do pH, acidez titulável e índice de expansão ao longo do processo fermentativo encontram-se apresentados na Tabela 1A, do Anexo A.

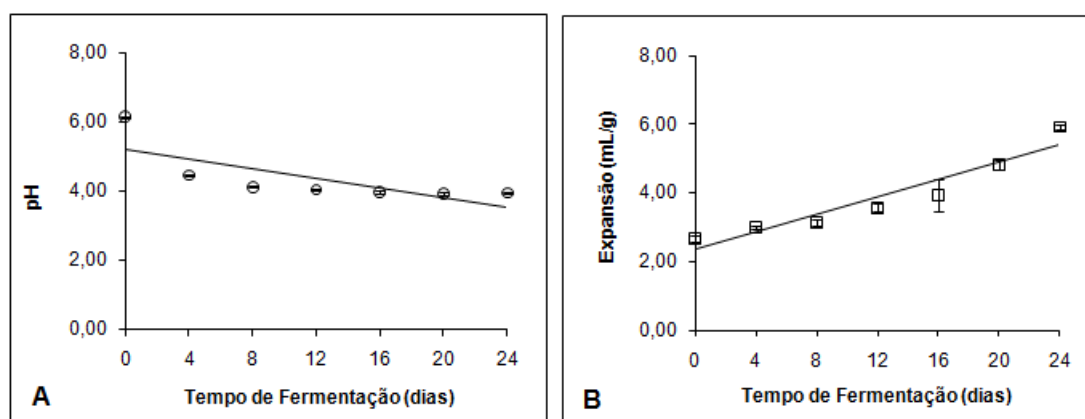
Nota-se que a fermentação provocou um abaixamento do pH e uma elevação da acidez titulável, sendo que os valores médios de acidez ficaram abaixo do valor máximo estabelecido pela legislação nacional vigente que se encontra na Resolução nº 12/1978, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (BRASIL, 1978) para polvilho azedo que é de 5,0 mL de NaOH N por 100 g.

No tocante ao índice de expansão do polvilho observam-se valores médios superiores aos encontrados no experimento anterior (item 4.2), com exceção da fermentação conduzida com o isolado “E” que apresentou valor acima de 7,00 mL/g (Figura 9). Ressalta-se ainda que estes valores permitem classificar as respectivas amostras, ao término da fermentação de 24 dias, como de Média Expansão, que compreende valores de 5 a 10 mL/g.

A análise estatística dos resultados (Tabela 6) demonstrou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na interação tratamento x tempo para o pH e índice de expansão. Para as variáveis pH e índice de expansão observou-se diferença significativa no fator tempo de fermentação. Pelo teste de Tukey (nível de significância de 5%), tanto para o pH como para o índice de expansão os tratamentos foram considerados iguais, ou seja pode-se representar a variação ao longo de tempo como uma única regressão para todos os seis tratamentos (Figura 10).

**Tabela 6** – Valores de probabilidade (p) de F da análise de variância das características físico químicas pH e acidez titulável, do índice de expansão dos cinco isolados mais o controle durante 24 dias de fermentação do polvilho

ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
GL	5	6	30
pH	0.0427	<.0001	0.0800
<b>Acidez</b>	<b>0.0028</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>
Expansão	0.1278	<.0001	0.0907



**Figura 10** – Variação do pH: **(A)** e do índice de expansão (mL/g): **(B)**, dos cinco isolados selecionados mais o controle CR durante 24 dias de fermentação do polvilho.

A interação tratamento x tempo para a acidez titulável, observada na Tabela 6, foi significativa ( $p < 0,05$ ). Isto leva à conclusão que o efeito do tratamento depende do efeito tempo de fermentação, não sendo possível avaliar separadamente os tratamentos e o tempo, sendo necessária a decomposição da interação. Decompondo a interação em relação à variável tempo observa-se diferença significativa entre os tratamentos nos tempos 4, 8, 12, 20 e 24 dias de fermentação, como demonstrado pelo teste de Tukey, para comparação de médias com nível de significância de 5%, apresentados na Tabela 2A, do Anexo A. Decompondo a interação para acidez em relação à variável tratamento conseguiu-se ajustar equações lineares por meio de regressão relacionando acidez com o tempo para todos os tratamentos, indicando que a acidez muda ao longo do tempo de forma significativa para todos os tratamentos (Tabela 3A, do Anexo A).



Estes resultados revelam que o aumento de escala não contribuiu para a melhoria do desempenho dos isolados previamente selecionados, e, por conseguinte não interferiu positivamente nas características do polvilho azedo obtido. Desta forma, optou-se por realizar novos experimentos empregando-se como inóculo um *pool* constituído dos cinco isolados (*pool* ISO) e outro *pool* BS, obtido conforme descrito no item 3.3.

#### 4.2.1.1 Caracterização fenotípica dos cinco isolados selecionados

Após a seleção, cinco isolados foram analisados quanto ao perfil fenotípico por meio do *kit* API<sup>®</sup> 50 CH, cujos resultados estão representados na Tabela 4A, do Anexo A.

A capacidade de fermentar carboidratos, visando à identificação de diferentes espécies associadas com as fermentações naturais de alimentos amiláceos, assim como em produtos de laticínios, desde muito tempo, tem sido utilizada por vários autores (JOHANSSON *et al.*, 1995; SILVEIRA, 2001; LACERDA, 2002; ARAÚJO, 2008).

O resultado obtido com a identificação dos respectivos isolados empregando-se o *kit* API<sup>®</sup> 50 CH encontra-se apresentado na Tabela 7. Observa-se que o referido procedimento de identificação foi devidamente classificado como “muito boa identificação” a “excelente identificação” com índice de identificação (ID) maior que 99%.

**Tabela 7** – Resultado do procedimento de identificação fenotípica de cinco isolados, obtidos da fermentação natural do polvilho, por meio do *kit* API<sup>®</sup> 50 CH

Isolado	Espécie	% de acerto (ID)	Classificação
B	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei 1</i>	99,50	Muito boa identificação
C1	<i>Lactobacillus plantarum 1</i>	99,90	Excelente identificação
C2	<i>Lactobacillus plantarum 1</i>	99,90	Excelente identificação
D	<i>Lactobacillus plantarum 1</i>	99,90	Excelente identificação
E	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei 1</i>	99,70	Muito boa identificação

Verifica-se que os cinco isolados, obtidos em diferentes etapas do processo de fermentação, foram classificados como pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, tendo como espécies predominantes *L. plantarum* e *L. paracasei* ssp *paracasei* 1, classificados como heterofermentativo facultativo, ou seja, hexoses são quase exclusivamente fermentadas a ácido láctico pela via glicolítica. Estes microrganismos sintetizam aldolase e fosfoacetolase e, portanto, não fermentam apenas hexose, mas também pentoses e gluconato. Na presença de glicose, as enzimas da rota do fosfogluconato são inibidas (HAMES; VOGEL, 1995).

Resultados semelhantes foram encontrados por Lacerda *et al.* (2005), em um estudo sobre bactérias do ácido láctico e leveduras associadas à fermentação espontânea por 45 dias, durante a produção de polvilho azedo. Os isolados representativos de cada grupo bacteriano foram identificados usando *kit* API® 50 CH para *Lactobacillus*. *L. plantarum* e *L. fermentum* estiveram presentes em todo o tempo do processo. Segundo Carvalho *et al.* (1996), em regiões frias a fermentação do polvilho doce é lenta e predomina a microbiota láctica, com maior frequência do *L. plantarum*.

O sistema API utilizado mostrou-se satisfatório na identificação dos isolados. Silveira (2001) e Lacerda (2002) também consideraram satisfatórios os resultados de caracterização fenotípica da microbiota associada ao processo fermentativo da mandioca para a produção de polvilho azedo, sendo o *L. plantarum* a espécie predominante.

Prado (2007) ao caracterizar dois isolados (AC-1 e B-7) utilizados como probióticos em uma bebida a base de água de coco utilizou o *kit* API® 50 CH para *Lactobacillus* e testes para identificação molecular (*Random Amplified Polymorphic DNA* – RAPD). O autor observou divergência em nível de espécie. Sendo que por meio do *kit* API 50 CH, AC-1 foi identificada como *L. plantarum* 1 e B-7 como *L. paracasei* subsp. *paracasei* 1. Por meio dos testes de identificação molecular, AC-1 apresentou 62,7% de similaridade com *L. sakei* e com *L. rhamnosus* enquanto B-7 foi apenas 35% similar ao *L. acidophilus*. Esse resultado corrobora os resultados obtidos por Wijtzes *et al.* (1997) e Corsetti *et al.* (2001), que também obtiveram baixas taxas de identificação em nível de espécie. Estes estudos demonstram que os métodos fenotípicos têm suas limitações devido a pouca reprodutibilidade e à resolução taxonômica

relativamente baixa, permitindo a diferenciação mais segura somente em nível de gênero.

#### 4.3 Obtenção e caracterização de Isolados pelo sistema *Back Slooping-BS*

Nesta etapa do trabalho fermentações foram desenvolvidas em nível de bancada visando à obtenção de cinco novos isolados, coletando-se amostra do meio fermentado, à semelhança do procedimento adotado em nível da indústria, conforme apresentado na Tabela 2. Estes isolados foram devidamente caracterizados quanto ao pH, acidez titulável e número de células viáveis, cujos resultados encontram-se apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8** – Valores médios de pH, acidez titulável (mL de NaOH N/100g) e contagem de células viáveis de bactérias do ácido láctico (UFC/mL), em cinco diferentes tempos de fermentação natural de polvilho, desenvolvida em escala de bancada

Amostra	Tempo de Fermentação (dias)				
	1	2	18	31	42
pH	5,09	5,61	3,99	4,25	4,27
Acidez	0,37	0,35	4,53	4,50	4,11
MRS	4,20E+07	1,00E+08	2,50E+08	8,20E+07	1,50E+08

Valores médios estimados de duas repetições.

Observa-se que após 18 dias de fermentação obteve-se os menores valores de pH, maior valor de acidez e maior número de células viáveis seguido de um ligeiro decréscimo após este período. Verifica-se ainda que o número de células tende a decrescer na etapa final do processo, devido a injúrias ou lesões letais causadas nos mesmos, pelo meio ácido (ZAPATA; MARTINES; PARADA, 1991).

Em seguida formulou-se o *pool back slooping* – BS, constituído dos cinco isolados desta etapa.

#### 4.4 Desempenho fermentativo dos isolados na forma de *pool* (ISO e BS) em escala de bancada (laboratório)

O desempenho dos cinco isolados de bactérias do ácido lático na forma de *pool* ISO, *pool* BS e controle CR, em relação à variação de pH, acidez titulável e índice de expansão do polvilho durante o processo de fermentação encontra-se demonstrado na Tabela 5A, do Anexo A.

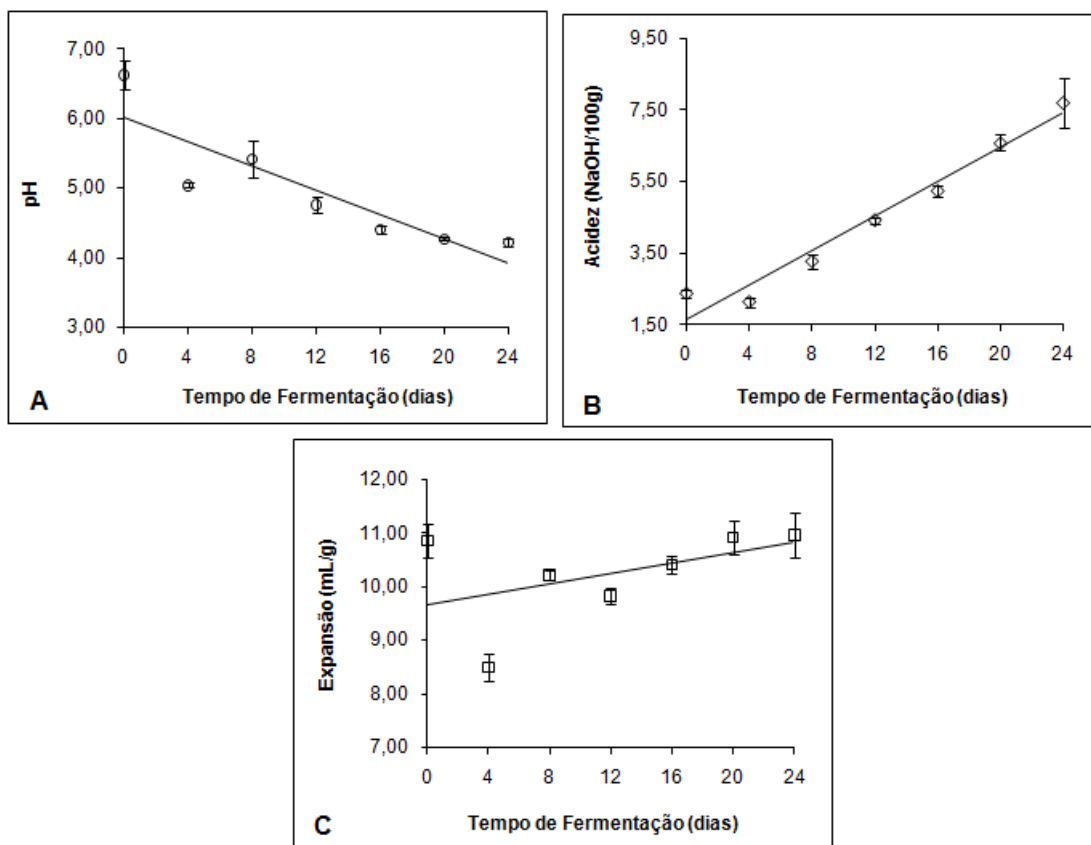
Os resultados relativos à caracterização microbiológica das amostras coletadas ao longo do período de fermentação encontram-se apresentados na Tabela 6A, do Anexo A.

A análise estatística dos resultados (Tabelas 5A e 6A, do Anexo A), para as variáveis pH, acidez titulável, índice de expansão e contagem de células viáveis em meio MRS para bactérias do ácido lático, PCA para contagem total de microrganismos e PDA acidificado para fungos e leveduras, revelou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para a interação tratamento x tempo e diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para o tempo de fermentação (Tabela 9).

**Tabela 9** – Valores de probabilidade (p) de F da análise de variância das características físico-químicas pH e acidez titulável, do índice de expansão e contagem de células em meio MRS, PCA e PDA, durante 24 dias de fermentação do polvilho utilizando *pool* (ISO e BS) mais controle (CR)

ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
GL	2	6	12
pH	0,0515	<0,0001	0,1790
Acidez	0,0805	<0,0001	0,3745
Expansão	0,1841	<0,0001	0,0654
MRS	0,2700	<0,0001	0,1863
PCA	0,0774	<0,0001	0,3454
PDA	0,3489	<0,0001	0,1660

As alterações apresentadas pelo pH, pela acidez titulável e pelo índice de expansão do polvilho durante o processo de fermentação ao longo do tempo estão apresentadas na Figura 11.



**Figura 11** – Variação do pH: **(A)**; acidez titulável (mL de NaOH N/100 g): **(B)** e índice de expansão (mL/g): **(C)**, durante 24 dias de fermentação do polvilho, em escala de bancada, pelo *pool* (ISO e BS) e controle (CR).

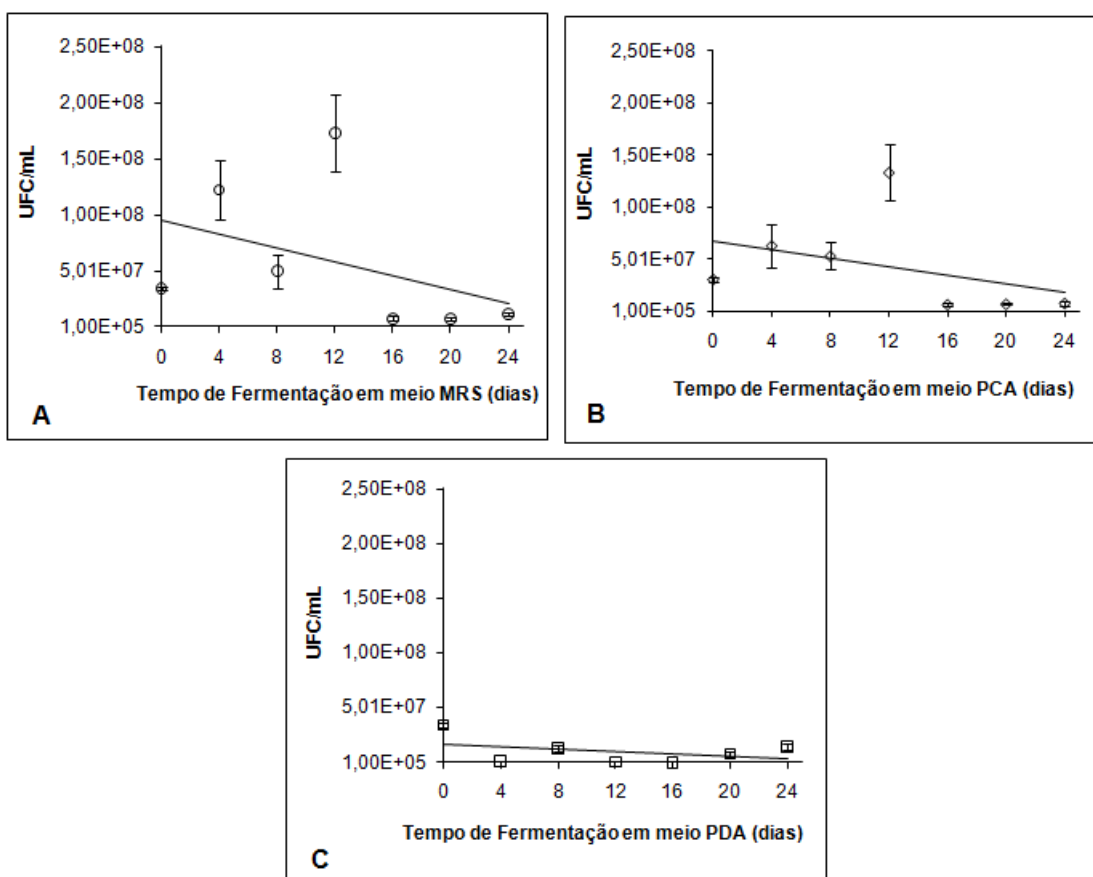
Observa-se pela Figura 11 (A e B) que os valores de pH apresentaram decréscimo ao longo do tempo de fermentação assim como o aumento dos valores de acidez.

O inóculo na forma de *pool* BS apresentou acidez titulável e índice de expansão do polvilho ligeiramente superiores aos demais tratamentos (Tabela 5A, do Anexo A). O emprego do inóculo na forma de *pool* permitiu um aumento acentuado nos valores de acidez titulável e principalmente no índice de expansão do polvilho, quando comparado com os respectivos isolados avaliados individualmente (Tabela 1A, do Anexo A). Estes resultados demonstram uma possível existência de um efeito de protocooperação entre as espécies que compõem o *pool*, contribuindo favoravelmente com a qualidade do produto final. Outro fator que pode ter contribuído para obtenção destes resultados reside no fato que neste experimento empregou-se o processo adequado de fermentação no decorrer do processo de extração do amido de mandioca

extraído diretamente da raiz, tendo sido mantido com todos os nutrientes próprios para a fermentação e não a fécula comercial, conforme utilizado em ensaios anteriores (item 3.2).

Rivera (1997), em um dos seus ensaios com inóculo constituído de uma combinação de microrganismo encontrou valores médios de índice de expansão no tempo 0 de 2,00 mL/g e ao final de 30 dias de fermentação estes valores médios foram de 5,50 mL/g, abaixo dos valores encontrados no presente trabalho que ficou em torno de 10 mL/g, sendo em ambos os casos o polvilho seco em estufa.

As alterações apresentadas pelos microrganismos através da contagem de células viáveis em meio MRS para bactérias do ácido láctico, PCA para contagem total de microrganismos e PDA acidificado para fungos e leveduras durante o processo de fermentação do polvilho ao longo do tempo estão apresentadas na Figura 12.



**Figura 12** – Média da contagem de células viáveis em meio MRS: **(A)**, PCA: **(B)** e PDA: **(C)** durante 24 dias de fermentação do polvilho, em escala de bancada, pelo *pool* (ISO e BS) e controle (CR).

Observa-se que a contagem de células viáveis no tempo 0 foi similar nos três meios utilizados com valores para as diferentes classes na ordem de  $10^7$  UFC/mL (Tabela 6A, do Anexo A e Figura 12). Verificou-se crescimento mais acentuado no meio PCA e principalmente no MRS na ordem de  $10^8$  UFC/mL. Observa-se também que ocorreu, principalmente do tempo 0 aos 16 dias de fermentação, um predomínio do crescimento de bactérias sobre o crescimento de fungos e leveduras. Resultados semelhantes foram obtidos por Silveira (2001) e Lacerda (2002).

Zapata, Martines e Parada (1991) observaram no polvilho azedo uma microbiota constituída por bactérias aeróbias e microaerófilas, leveduras e alguns fungos filamentosos. Não foi detectada a presença de bactérias coliformes e nas primeiras etapas de fermentação observou-se um predomínio bacteriano, especialmente de cocos e bacilos Gram-positivos sobre as leveduras.

Silveira (2001), ao isolar e caracterizar grupos microbianos envolvidos na fermentação natural de mandioca encontrou uma microflora mista de 93,9% de bactérias e 6,1% de leveduras e fungos filamentosos. Oyewole e Odunfa (1990) verificaram que a microbiota ácido-lática é tipicamente Gram-positiva e tende a predominar durante todo o processo fermentativo na produção do polvilho azedo em função de sua resistência a acidez do meio.

## **4.5 Desempenho fermentativo na indústria**

### **4.5.1 Desempenho fermentativo dos controles CR e ICR**

O desempenho dos isolados na forma de *pool* (ISO e BS) em ambiente industrial foi realizado junto às instalações da Tup Guar Indústria e Comércio Ltda., na cidade de Conceição dos Ouros – Sul de Minas. Para tanto, adotou-se como controles a fermentação natural (sem inóculo) desenvolvida em tanques de 150 (CR) e 9.000 litros (ICR) para verificar a influencia do aumento de escala no processo. Primeiramente, avaliou-se o desempenho fermentativo dos respectivos controles, cujos resultados médios relativos às variáveis pH, acidez titulável e índice de expansão estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10** – Valores médios de pH, acidez titulável (mL de NaOH N/100 g) e do índice de expansão (mL/g) durante o processo de fermentação natural do polvilho na indústria, correspondente aos controles CR e ICR

Parâmetro	Amostra	Tempo de Fermentação (dias)						
		0	4	8	12	16	20	24
pH	CR	6,63	5,78	5,24	4,86	4,66	4,36	4,29
	ICR	4,46	4,70	5,50	5,55	4,97	4,64	4,46
Acidez	CR	2,70	3,08	3,13	3,67	3,71	4,48	5,35
	ICR	2,60	4,32	5,29	5,25	5,18	5,33	6,67
Expansão	CR	7,0	6,1	10,3	13,0	16,5	16,0	16,3
	ICR	7,0	8,4	10,7	10,5	14,7	15,2	15,8

Valores médios estimados de duas repetições.

Os resultados da análise estatística para os tratamentos CR e ICR (Tabela 11), em função das variáveis estudadas, correspondendo aos tempos 0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 dias, revelou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na interação tratamento x tempo, e entre os tratamentos para variável índice de expansão. É possível assim estatisticamente afirmar que os dois tratamentos são iguais para este atributo.

**Tabela 11** – Valores probabilidade (p) de F da análise de variância das características físico-químicas pH e acidez titulável, do índice de expansão, durante 24 dias do processo de fermentação natural do polvilho na indústria correspondente aos controles CR e ICR

ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
GL	2	6	6
pH	0,5938	0,0005	0,0420
Acidez	0,0169	<.0001	<.0001
Expansão	0.4156	<.0001	0.2413

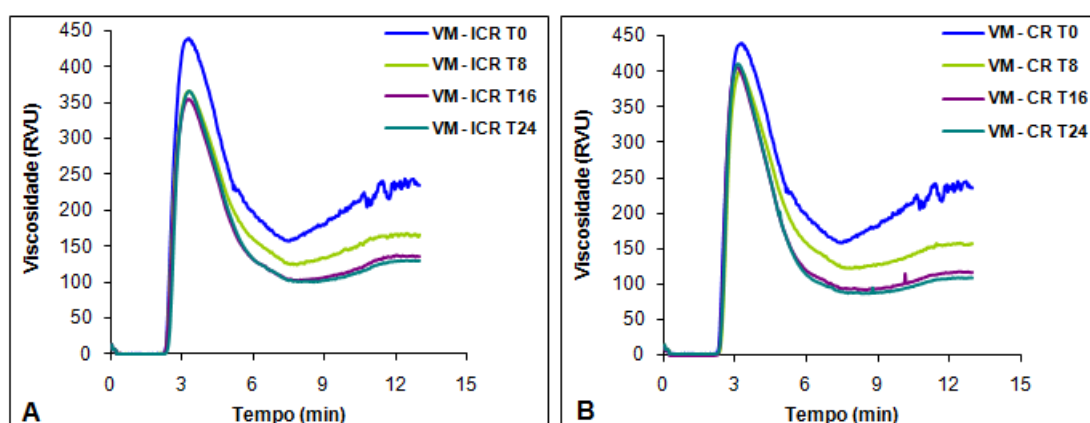
Para as variáveis acidez e pH observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na interação tratamento x tempo. Para a variável acidez observa-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) tanto para a interação como para o tempo de fermentação e entre os tratamentos.

Priorizando os resultados obtidos para o índice de expansão, variável mais importante em se tratando do polvilho azedo, pode-se considerar que o processo de fermentação natural nos reatores de 150 e 9.000 litros são



estatisticamente iguais, contribuindo para os estudos de ampliação de escala do referido processo. O aumento de escala não influenciou na qualidade do polvilho azedo para o índice de expansão, o que permite sugerir, que produtos de qualidade quanto ao referido índice, podem ser obtidos tanto por grandes como por pequenos produtores.

Os valores médios dos principais parâmetros dos viscogramas obtidos pelo *rapid visco analyser* (RVA) apresentados na Figura 13, foram utilizados para caracterização das propriedades de pasta do polvilho e os valores médios obtidos do teste de aceitação sensorial realizado com os biscoitos de polvilho azedo encontram-se na Tabela 12. Estes valores médios são referentes às amostras CR e ICR, em que foram utilizados quatro tempos de fermentação (0, 8, 16 e 24 dias) para as análises.



VM = Viscosidade Média

**Figura 13** – Perfil de RVA para controle CR: **(A)**; e controle ICR: **(B)** durante 24 dias de fermentação natural do polvilho na indústria.

A análise estatística dos resultados, apresentados na Tabela 12, se encontra na Tabela 13.

Observa-se que para a interação tratamento x tempo houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nas propriedades de pasta Viscosidade Máxima (VM<sub>máx</sub>) e Quebra e para os tratamentos nenhuma dessas propriedades apresentou diferença significativa.

**Tabela 12** – Valores médios das propriedades de pasta do polvilho azedo, obtidos da Figura 13 e da análise de aceitação sensorial do biscoito de polvilho, durante 24 dias, do processo de fermentação natural do polvilho na indústria correspondente a CR e ICR

Propriedades de Pasta	Amostra	Tempo de Fermentação (dias)			
		0	8	16	24
Temperatura Inicial de Pasta – TIPasta (°C)	CR	65,55	66,33	65,93	66,05
	ICR	65,55	66,10	65,93	66,53
Viscosidade Máxima - VMáx (RVU)	CR	439,50	402,65	406,10	412,11
	ICR	439,50	366,27	358,04	366,48
Temperatura de VMáx – TVMáx (°C)	CR	77,50	76,95	74,98	75,60
	ICR	77,50	77,30	77,33	77,95
Quebra (RVU)	CR	282,34	281,92	314,58	326,78
	ICR	282,34	242,61	256,71	266,84
Tendência à Retrogradação (RVU)	CR	75,83	36,17	25,38	22,80
	ICR	75,83	42,23	33,97	30,48
Análise Sensorial	Amostra	0	8	16	24
Aceitação*	CR	6,04	6,75	7,09	6,99
	ICR	6,1	7,06	7,21	7,05

Valores médios estimados de duas repetições.

\* Escala hedônica variando de 1 (Desgostei extremamente ) a 9 (Gostei extremamente).

**Tabela 13** – Valores de probabilidade (p) de F da análise de variância referentes às propriedades de pasta do polvilho e da análise de aceitação sensorial do biscoito de polvilho, durante 24 dias do processo de fermentação natural do polvilho, na indústria, correspondente a CR e ICR

	ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
	GL	1	3	3
Propriedades de Pasta	TIPasta	0,8168	0,0040	0,4466
	VMáx	0,0835	<0,0001	0,0121
	TVMáx	0,1573	0,2716	0,2124
	Quebra	0,1170	0,0178	0,0209
	Tendência à Retrogradação	0,1874	<0,0001	0,3140
Análise Sensorial	Aceitação	0,2057	<0,0001	0,8589

Para o teste de aceitação sensorial a análise estatística (Tabela 13) revelou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na interação tratamento x tempo e entre os tratamentos. Pode-se verificar que os biscoitos confeccionados com polvilho azedo obtido em processo de diferentes escalas (150 e 9000 litros) não interferiram na aceitação dos mesmos.

Exceto pelos parâmetros pH, acidez, propriedades de pasta VMáx e quebra, as características do polvilho obtido nos tratamentos CR e ICR foram equivalentes ao longo do tempo de avaliação, este fato permite inferir que a produção do polvilho em pequena escala produz um produto de qualidade semelhante aquele obtido em escala industrial.

#### 4.5.2 Desempenho fermentativo dos isolados na forma de *pool* (ISO e BS) na indústria

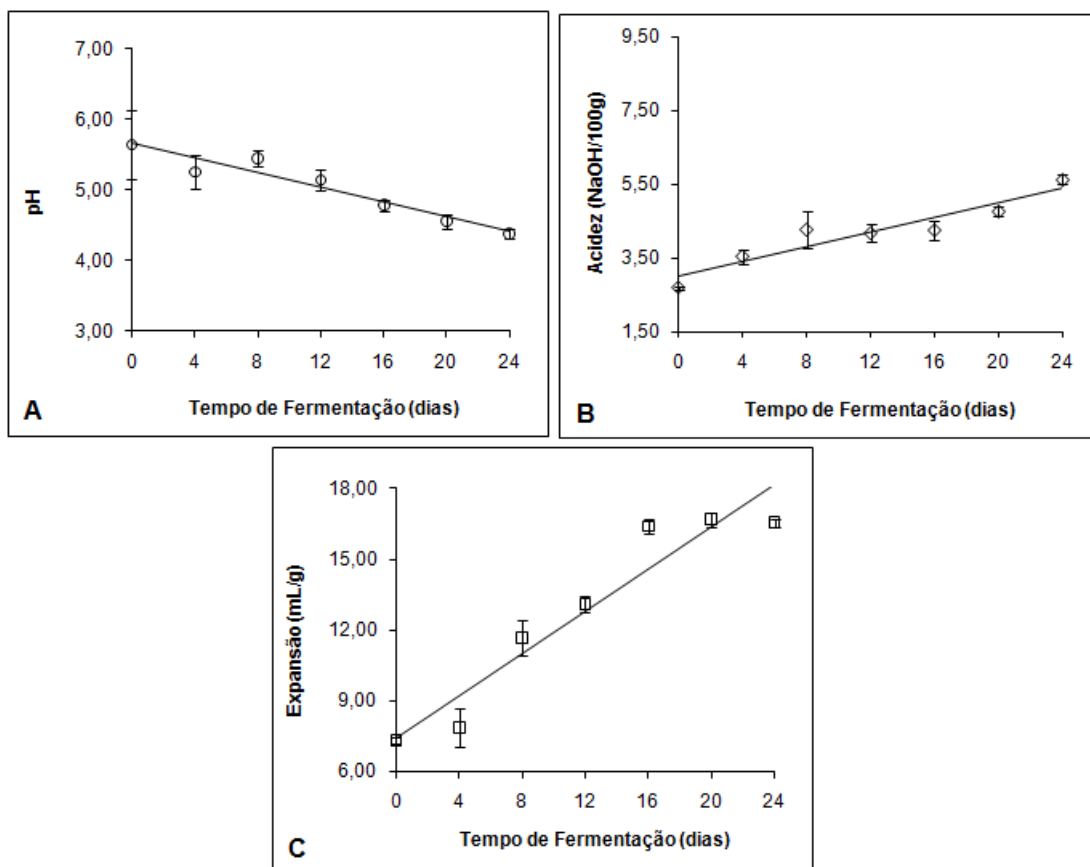
Diante dos resultados encontrados para os controles CR e ICR, avaliou-se o desempenho fermentativo dos *pool*/ISO e BS mais controle CR em reatores de 150 L, cujos resultados para a variação de pH, acidez titulável e índice de expansão do polvilho durante a fermentação encontram-se na Tabela 7A, do Anexo A.

Através dos resultados da Tabela 7A, do Anexo A realizou-se a análise estatística que revelou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para a interação tratamento x tempo e entre os tratamentos para as variáveis pH, acidez titulável e índice de expansão. Observa-se que ocorreu diferença significativa ( $p < 0,05$ ) somente para o tempo de fermentação (Tabela 14). A variação das respectivas variáveis com o tempo de fermentação está apresentada na Figura 13.

**Tabela 14** – Valores de probabilidade (p) de F da análise de variância das características físico-químicas pH e acidez titulável, do índice de expansão, durante 24 dias de fermentação do polvilho, em nível industrial utilizando inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
GL	2	6	12
pH	0,7882	<.0001	0,1607
Acidez	0,1847	<.0001	0,1417
Expansão	0.4615	<.0001	0.7836

Verifica-se pela Figura 13 (A) e (B) que ocorreu decréscimo nos valores do pH ao longo do tempo de fermentação assim como valores crescentes de acidez. Nota-se que o inóculo na forma de *pool*/BS apresentou acidez titulável e índice de expansão do polvilho ligeiramente superior aos demais tratamentos (Tabela 7A, do Anexo A).



**Figura 13** – Variação do pH: **(A)**; acidez titulável (mL de NaOH N/100g): **(B)** e índice de expansão (mL/g): **(C)**, durante 24 dias de fermentação do polvilho, em nível industrial utilizando inóculo na forma de *pool*/ ISO, BS e controle CR.

Observa-se que, à semelhança dos resultados obtidos em escala de bancada, o decréscimo apresentado pelo pH não ficou abaixo de 4,2 aos 24 dias de fermentação. Rivera (1997) e Pereira (2001) encontraram valores de pH que variaram de 4,00 a 4,69 estudando o processo de fermentação do polvilho com tempo aproximado de 30 dias. Já Plata-Oviedo (1998) e Silveira, (2001) encontraram valores de pH abaixo de 3,8 em seus trabalhos com fermentação do polvilho.

A acidez titulável, após 24 dias de fermentação e secagem ao sol, apresentou valores em torno de 5,5 mL de NaOH N/100 g, inferiores aos obtidos em escala de bancada que ficaram entre 6,0 a 8,5 mL de NaOH N/100 g, e também inferiores aos encontrados por Pereira (2001), que obteve valores médios de 7,71 mL de NaOH N/100 g. Entretanto Plata-Oviedo (1998), estudando o efeito da luz UV na propriedade de expansão do amido de mandioca fermentado, observou que é necessária a presença de ácidos

orgânicos durante a irradiação para promover o desenvolvimento dessa propriedade, sendo que, após o processo de secagem ao sol, a ausência desses ácidos não afetou a propriedade de expansão do amido.

Os resultados obtidos no presente trabalho, bem como aqueles reportados na literatura apresentaram valores de acidez titulável acima do valor máximo estabelecido pela legislação vigente. De acordo com Cereda *et al.* (2002b), o limite máximo de 5,0 mL NaOH N/100 g, estabelecido pela legislação (BRASIL, 1978), é considerado um valor baixo tendo em vista que se trata de uma fermentação natural onde predomina a produção de ácidos orgânicos tais como ácidos láctico, acético e butírico.

Vale destacar que esta etapa do trabalho foi desenvolvida no período do inverno, e verifica-se que após 24 dias (Tabela 7A, do Anexo A) os valores de acidez titulável foram inferiores aos obtidos em escala de bancada (Tabela 5A, do Anexo A). Por outro lado o índice de expansão apresentou valores superiores. Provavelmente, esta diferença se deve a temperatura ambiente de desenvolvimento desses respectivos processos, sendo que a escala de bancada foi realizada no período de verão. Para os produtores da região do Sul de Minas Gerais o inverno é o melhor período para produção de polvilho azedo, tanto em rendimento quanto em qualidade do produto, visto que as baixas temperaturas favorecem a fermentação, obtendo-se um produto de cor mais clara e com odor característico e desejável para os consumidores (SILVEIRA, 2001).

Nas regiões frias a fermentação é lenta e predomina a microbiota láctica resultando na obtenção de polvilho azedo com características desejáveis apresentando odor característico de fermentação láctica (CÁRDENAS; BUCKLER, 1980; CEREDA *et al.*, 1986).

No que se refere às características de expansão do polvilho (Tabela 7A, do Anexo A), observa-se valores de índices de expansão elevados, acima de 16,00 mL/g ao final de 24 dias de fermentação, sendo classificado, segundo os critérios adotados por Nunes e Cereda (1994), como de grande expansão (> 10 mL/g), e como tipo A (> 16 mL/g) de acordo com Maeda e Cereda (2001). Os valores superiores de Índice de Expansão obtidos nesta etapa do trabalho, quando comparados aos obtidos em escala de bancada (Tabela 5A, do Anexo A), se devem provavelmente ao processo de secagem ao sol do polvilho

azedo. Segundo Plata-Oviedo (1998) e Nunes (1999), a ação combinada entre ácido láctico e a secagem solar, são fatores descritos como essenciais para que o polvilho azedo apresente alta capacidade de expansão.

Demiate *et al.* (1997, 1998) avaliaram a propriedade de expansão em amostras de polvilho azedo comercializadas nos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Para as amostras do Rio Grande do Sul os valores médios foram de 6,62 mL/g, e as amostras do Paraná e de Santa Catarina, apresentaram valores máximos de 13 mL/g e de 16 mL/g, respectivamente.

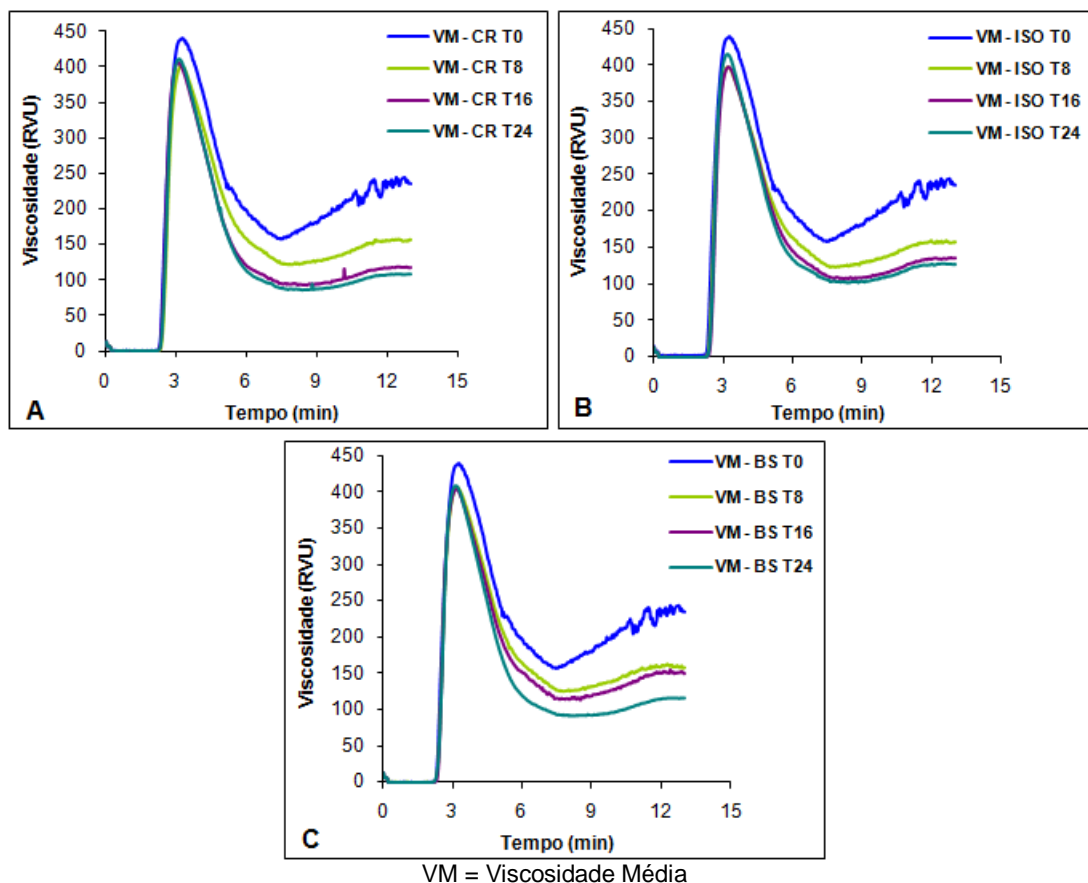
Nunes e Cereda (1994) e Plata-Oviedo e Camargo (1995), estudaram a secagem (natural x artificial) no desenvolvimento da capacidade de expansão. Observaram que amostras quando secas em estufa apresentaram baixo índice de expansão e elevado índice de expansão quando secas ao sol, demonstrando desta forma o efeito positivo da secagem natural sobre a propriedade de expansão do polvilho azedo.

#### **4.5.2.1 Propriedades de pasta do polvilho caracterizado em RVA**

Os valores médios dos principais parâmetros obtidos dos viscogramas (Figura 14) pelo *rapid visco analyser* (RVA) para caracterização das propriedades de pasta do polvilho azedo para os *pool* (ISO e BS) e controle (CR) se encontram na Tabela 8A, do Anexo A.

As pastas de polvilho azedo de todos os tratamentos (Tabela 8A, do Anexo A) se mostraram menos viscosas que as de polvilho doce, apresentando menor estabilidade à agitação e menor tendência à retrogradação. Na Figura 14, podem ser comparados os perfis dados pelas medidas no RVA para o polvilho produzido ao longo de 24 dias de fermentação.

Para as propriedades de pasta do polvilho azedo, a análise estatística dos resultados para os tratamentos ISO BS e CR (Tabela 15), em que foram utilizados quatro tempos de fermentação (0, 8, 16 e 24 dias) para as análises, revelou que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para a interação tratamento x tempo somente para a TVMáx. Para todos os atributos, houve diferença significativa no tempo de fermentação, e esta variação ao longo do tempo pode ser observada nas Figuras 15 e 16.

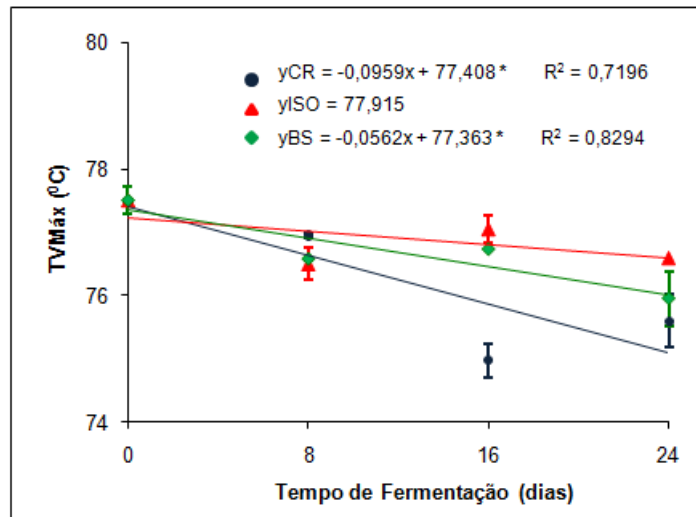


**Figura 14** – Perfil de RVA para controle CR: **(A)**, *pool* de cinco Isolados ISO: **(B)** e *pool* BS: **(C)** durante 24 dias de fermentação do polvilho, na indústria utilizando inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR).

**Tabela 15** – Valores probabilidade (p) de F da análise de variância das propriedades de pasta do polvilho azedo durante 24 dias de fermentação do polvilho, em nível industrial utilizando inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

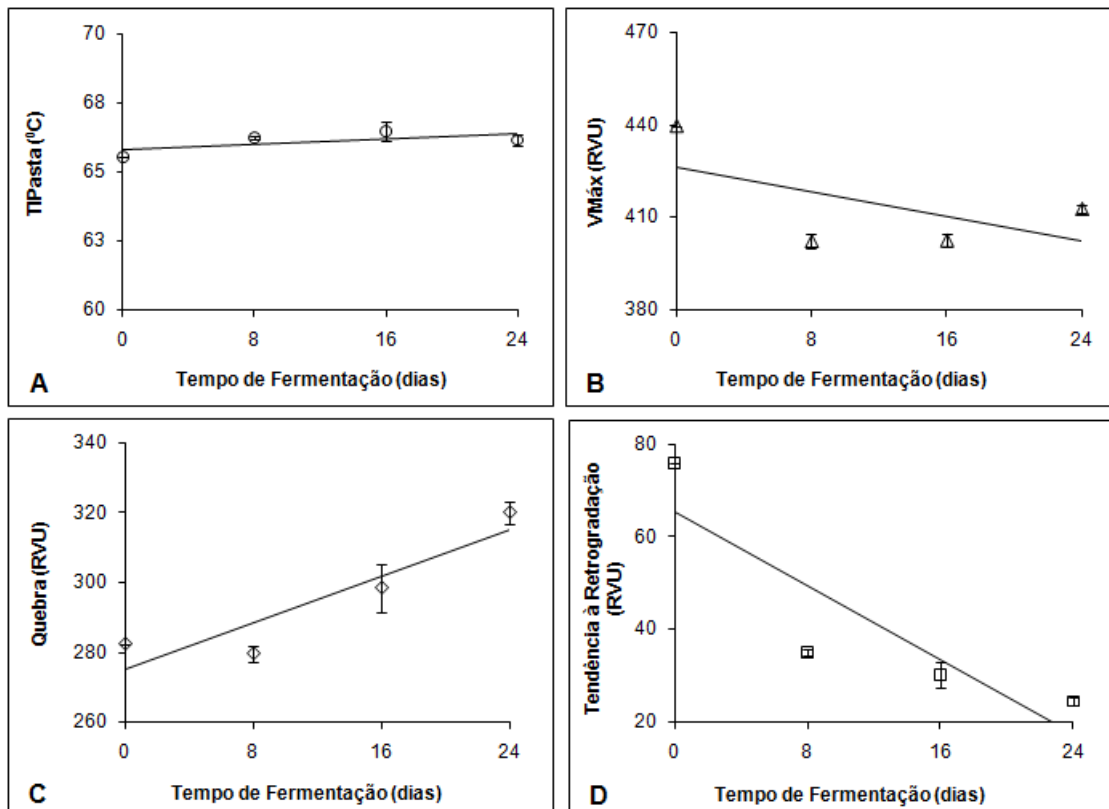
	ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
	GL	2	3	6
Propriedades de Pasta	TIPasta	0.2742	0.0017	0.0758
	VM <sub>máx</sub>	0.8913	0.0002	0.9183
	TVM <sub>máx</sub>	0.2550	0.0005	0.0364
	Quebra	0.6474	0.0010	0.7476
	Tendência à Retrogradação	0.6324	<.0001	0.2741

Como a análise estatística demonstrou que a interação tratamento x tempo para TVM<sub>máx</sub> foi significativa (Tabela 15), não é possível avaliar separadamente os tratamentos e o tempo para este atributo, sendo necessária a decomposição da interação. Decompondo a interação para TVM<sub>máx</sub> em



\* Significativo a 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ )

**Figura 15** – Variação do parâmetro TVMáx obtido das curvas do RVA, durante 24 dias de fermentação do polvilho, em nível industrial utilizando inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR).



**Figura 16** – Variação dos principais parâmetros obtidos das curvas do RVA para TInicial de pasta (A); VMáx (B), quebra (C) e tendência à retrogradação (D), durante 24 dias de fermentação do polvilho na indústria, utilizando inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR).



**Tabela 16** – Médias dos valores de TVMáx (°C) durante 24 dias de fermentação do polvilho na indústria, avaliando-se inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

Amostra	Tempo de Fermentação (dias)			
	0	8	16 *	24
CR	77,5 <sup>a</sup>	76,95 <sup>a</sup>	74,98 <sup>b</sup>	75,60 <sup>a</sup>
ISO	77,5 <sup>a</sup>	76,57 <sup>a</sup>	77,05 <sup>a</sup>	76,60 <sup>a</sup>
BS	77,5 <sup>a</sup>	76,50 <sup>a</sup>	76,15 <sup>a,b</sup>	75,95 <sup>a</sup>

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

relação à variável tratamento observou-se que os tratamentos CR e BS foram significativos, conforme equações lineares ajustadas, indicando que para essa variável esses tratamentos dependem do tempo de fermentação (Figura 15). Decompondo a interação em relação à variável tempo, observa-se que os tratamentos CR e BS foram significativos somente no tempo de 16 dias de fermentação, como indicado pelo teste de Tukey para comparação de médias com significância de 5%, apresentado na Tabela 16.

Observa-se na Figura 16 (B) e na Figura 16 (D) para a VMáx e tendência à retrogradação respectivamente, um comportamento bastante expressivo de diminuição nos valores destes dois parâmetros quando se compara o polvilho doce (tempo 0) com o polvilho azedo fermentado por oito dias, daí por diante não ocorre queda tão brusca. Para a quebra observa-se (Figura 16 C) que do tempo de zero para oito dias de fermentação quase não ocorre modificação, a partir daí o aumento da quebra se torna bastante acentuado.

A temperatura inicial de pasta é aquela em que se observa a primeira mudança na viscosidade, quando a linha do gráfico (Figura 14) deixa a linha de base. Os valores da Temperatura Inicial de Pasta (TIPasta) ficaram entre 65,55 a 67 °C, conforme observa-se na Tabela 8A, do Anexo A. Comparando polvilho doce e o azedo, Demiate *et al.* (2005) encontraram para TIPasta de 68 a 70 °C. Asquiere (1990) e Rivera (1997) avaliando amostras de polvilho doce e azedo encontraram para TIPasta, valores inferiores, entre 56,5 e 62 °C.

A viscosidade máxima de pasta (Vmáx) se refere ao pico de viscosidade após o início do aquecimento e antes do início do resfriamento da suspensão no viscoamilógrafo. Podemos observar pela Figura 14 que a VMáx para os três tratamentos (CR, ISO e BS) se encontraram em faixas de valores bem

próximos e que o polvilho no tempo 0 de fermentação (polvilho doce), apresentou VM<sub>áx</sub> de pasta superior comparado aos valores dos outros tempos de fermentação, principalmente entre o tempo 0 e tempo de oito dias onde se nota uma queda maior no valor deste parâmetro (Figura 16). Para o polvilho doce a média dos valores de VM<sub>áx</sub>. para os três tratamentos, no tempo 0, ficou entre 439 RVU e ocorreu diminuição ao longo do tempo de fermentação alcançando valores de 397 a 415 RVU (Tabela 8A, do Anexo A).

Pereira e Leonel (2009) avaliando propriedades de pasta de produtos derivados de mandioca encontraram valores médios de viscosidade máxima para polvilho doce e polvilho azedo comercial de 400,28 e 335,69 RVU respectivamente. De acordo com Franco e Tavares (1998) este fato ocorre devido às alterações causadas pela ação ácida e/ou enzimática nos grânulo de amido durante a fermentação.

Nakamura (1975) em um estudo sobre polvilho doce e polvilho fermentado de mandioca obtidos de varias procedências verificou que a viscosidade máxima do polvilho azedo é mais baixa que a do polvilho doce e que durante toda a análise no viscoamilógrafo de Brabender, a pasta de polvilho azedo manteve-se menos viscosa, apresentando menor estabilidade a agitação e menor capacidade de retrogradação ou geleificação. Uma possível explicação para este comportamento pode ser a ação dos ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação sobre as moléculas de amilose e amilopectina, reduzindo o tamanho médio das cadeias polissacarídicas, aumentando a fragilidade do granulo, refletindo na diminuição da VM<sub>áx</sub> e no aumento da quebra.

A viscosidade máxima é importante para a avaliação da qualidade do polvilho, pois a consistência de pasta pode interferir nos equipamentos a serem utilizados e dimensionados numa linha de produção, até na formulação do produto a ser fabricado (DINIZ, 2006).

TVM<sub>áx</sub> variou com decréscimo, nos tempos de fermentação de 77,5 a 75 °C (Figura 15). Demiate *et al.* (2005) encontraram para o polvilho doce e azedo 80 e 79 °C respectivamente, já Rivera (1997) encontrou valores de 70 °C para polvilho doce com acréscimo de temperatura para 74 a 82 °C no polvilho fermentado de 20 a 30 dias concluindo não ter sido possível estabelecer correlação com o tempo de fermentação. Supõe-se que dentre as alterações

por que passa o polvilho azedo durante a fermentação, ocorram modificações na estrutura cristalina do grânulo, causando as diferenças observadas na TVM <sub>MÁX</sub>. Valores de TVM <sub>MÁX</sub> inferiores indicam grânulos de amido com estrutura mais fraca, permitindo hidratação e ruptura em temperaturas menores.

O aumento da temperatura leva à gelatinização do amido, o que provoca o aumento abrupto da viscosidade em função do inchamento dos grânulos de amido, indisponibilizando a água do sistema. Com a continuidade do experimento a 95 °C, a queda da viscosidade pode ser atribuída às moléculas de amilose liberadas para a solução, e até mesmo à ruptura completa dos grânulos excessivamente inchados, sob cisalhamento devido à agitação mecânica. A quebra de viscosidade permite avaliar a estabilidade do produto em altas temperaturas, sob agitação mecânica e está diretamente relacionada com o pico de viscosidade (PEREIRA; LEONEL, 2009). A quebra (*shear thinning*) é a diferença entre a VM <sub>MÁX</sub> a quente e a viscosidade mínima da pasta. Os maiores valores de quebras foram observados no polvilho quanto maior o tempo de fermentação em todos os tratamentos comportamento observado nitidamente na Figura 16 (C), a partir de oito dias de fermentação. Nos tempos de 16 e 24 dias houve os maiores valores de quebra, ou seja, menor resistência à agitação mecânica a quente.

Com a diminuição da temperatura, observa-se um novo aumento na viscosidade devido à retrogradação das moléculas inicialmente de amilose e posteriormente também de amilopectina. Em outras palavras a tendência a retrogradação (*setback*) é a diferença entre a viscosidade final e o menor valor de viscosidade após o pico. Permite avaliar a diferença da viscosidade do gel durante a fase do resfriamento. A retrogradação do amido ocorre por efeito da recristalização das moléculas de amilose e amilopectina, através da formação de novas ligações de hidrogênio, resultando na formação de géis (DINIZ, 2006). Observa-se principalmente pela Tabela 8A, do Anexo A e Figura 16 (D) um decréscimo acentuado dos valores médios da retrogradação para todos os tratamentos, principalmente do tempo 0 ao tempo oito de fermentação com valores médios de 75 a 33 RVU. Rivera (1997) avaliando *pool* de microrganismo em variados tempos de fermentação de amido de mandioca também encontrou valores decrescentes ao longo do processo de fermentação

variando de 50 UB no tempo 0 a 20 -10 UB nos tempos de 20 a 30 dias de fermentação.

O processo fermentativo altera o amido de mandioca de forma que o polvilho azedo apresente amilogramas característicos normalmente com viscosidade máxima menor do que o do polvilho doce, sendo que a gelatinização ocorre em temperaturas inferiores à do polvilho doce nas mesmas concentrações (ASCHERI; VILELA, 1995). Dessa forma, pode resultar a formação mais rápida de uma massa homogênea, durante o processamento do biscoito, quando se procede ao escaldamento, promovendo um produto tecnologicamente superior quando comparado a utilização do polvilho doce.

#### 4.5.3 Avaliação sensorial de biscoitos confeccionados a partir do polvilho azedo

O polvilho azedo obtido por meio da avaliação dos *pool* ISO e BS e controle CR em reatores de 150 litros, na indústria, foram utilizados para confecção de biscoito, cujos os resultados das notas do teste de aceitação sensorial, avaliados por 100 provadores, encontram-se apresentados na Tabela 17.

**Tabela 17** – Valores médios, das notas de 100 provadores em cada tempo avaliado, do teste de aceitação de biscoitos confeccionados com o polvilho produzido em reatores de 150 L na indústria, utilizando inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

Parâmetro	Amostra	Tempo de Fermentação (dias)			
		0	8	16	24
Aceitação	CR	6,04	6,75	7,09	6,99
	ISO	6,14	7,20	7,41	7,37
	BS	6,13	7,49	7,72	7,51

Médias das notas de 100 provadores em cada tempo avaliado

A análise estatística destes resultados revelou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre a interação tratamento x tempo, conforme demonstrado na Tabela 18.

**Tabela 18** – Valores de probabilidade (p) de F da análise de variância da aceitação de biscoitos confeccionados com o polvilho produzido durante 24 dias de fermentação, em nível industrial utilizando inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

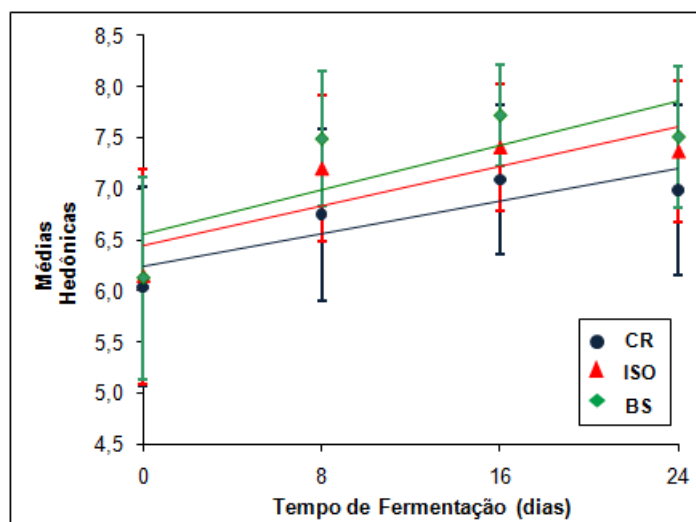
ATR/FV	TRAT	TEMPO	TRAT x TEMPO
GL	2	3	6
Aceitação	<0,0001	<0,0001	0,5556

Verifica-se ainda que tanto para a variável tratamento como para o tempo de fermentação houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ), desta forma realizou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade para os tratamentos (Tabela 19). O gráfico que representa o comportamento dos tratamentos ao longo do tempo encontra-se na Figura 17.

**Tabela 19** – Médias das notas do teste de aceitação de biscoitos confeccionados com o polvilho produzido em reatores de 150 L na indústria, durante 24 dias de fermentação, utilizando inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

Tratamento	Médias*
CR	6,72 <sup>b</sup>
ISO	7,03 <sup>a</sup>
BS	7,21 <sup>a</sup>

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).



**Figura 17** – Variação das notas de aceitação sensorial de biscoitos confeccionados com o polvilho produzido em reatores de 150 litros na indústria, durante 24 dias de fermentação, utilizando inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR).

Observa-se, através da Tabela 19, que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto à aceitação dos biscoitos de polvilho elaborados com as amostras referentes ao *pool* ISO e BS, sendo classificados na escala hedônica como “gostei moderadamente” a “gostei muito”. Observa-se ainda que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) das referidas amostras quando comparados aos biscoitos elaborados com a amostra controle (CR), que apresentaram menor aceitação, sendo classificados como “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente” na referida escala.

Aplevicz e Demiate (2007), caracterizando polvilho azedo utilizaram em um de seus ensaios teste de aceitação sensorial. Encontraram para biscoito de polvilho confeccionado com polvilho azedo comercial, média de aceitação de 6,77 classificando o produto como “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente”. Pereira *et al.* (1999) investigando outras fontes como araruta, batata inglesa e batata-baroa, além do polvilho azedo de mandioca para a confecção de biscoitos, compararam resultados após fermentação por 30 dias. No teste de aceitação sensorial todas as amostras apresentaram nível de aceitação como “gostei moderadamente”, sendo as maiores notas atribuídas ao biscoito de polvilho fermentado de araruta, seguido do biscoito de polvilho azedo de mandioca.

Através da Tabela 17 e pelo gráfico da Figura 17, é possível observar que ao longo do tempo de fermentação as notas de aceitação para CR sempre foram às menores quando comparadas com as notas atribuídas ao *pool* ISO e BS. Verifica-se também que a aceitação dos biscoitos confeccionados com polvilhos obtidos a partir de 16 dias de fermentação foi superior a aqueles obtidos no tempo sem fermentação (zero). Apesar deste fato em relação ao atributo sensorial estudado, sabor, as médias (gostei ligeiramente a moderadamente) do produto no tempo 0, apresentou considerável aceitação. Segundo Stone e Sidel (1993) um produto é considerado aceito quando a média hedônica corresponde a  $7 \pm 0,5$ .

Para a variável acidez titulável, verifica-se que os valores obtidos após 24 dias de fermentação (5,35 a 5,88 mL de NaOH N/100 g) foram superiores aos obtidos após 16 dias (3,71 a 4,75 mL de NaOH N/100 g). No entanto, para o índice de expansão ocorreram resultados semelhantes de 16 a 24 dias de

fermentação com os valores variando em média de 16,40 a 16,55 mL/g, respectivamente (Tabela 7A, do Anexo A).

Ao se avaliar os resultados referentes à acidez, índice de expansão e teste de aceitação sensorial (Figura 17 e Tabela 17), verifica-se que a maior aceitação ocorreu a partir de 16 dias de fermentação apresentando resultado semelhante aos 24 dias, o que permite inferir que a aceitação dos biscoitos de polvilho esta diretamente relacionada com o índice de expansão e não com o aumento de acidez. Pode-se inferir também que o período de 16 dias de fermentação é suficiente para obtenção de um produto de qualidade considerando o critério de aceitação sensorial de biscoitos de polvilho.

Por outro lado, Rivera (1997), que avaliou três inóculos (M-31; M-500 e M-516) constituídos cada um de diferentes combinações de microrganismos (bactérias e leveduras), encontrou maior aceitação (gostei muito) de biscoitos de polvilho após oito dias de fermentação com o inóculo M-500.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos presente trabalho permitem concluir que:

- Os cinco isolados selecionados, dentre os 14 originados do processo industrial, foram identificados como espécies de *Lactobacillus*.
- A qualidade do polvilho azedo, expressa em função do pH, acidez titulável (mL de NaOH N/100g) e índice de expansão (mL/g), foi similar para os cinco isolados selecionados e o controle CR.
- A avaliação do desempenho fermentativo de inóculos, na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR) em escala de bancada, seguido de secagem artificial, revelou que a qualidade do polvilho azedo, entre os três tratamentos, expressa em função do pH, acidez titulável e índice de expansão foi similar.
- A avaliação do desempenho fermentativo dos controles CR e ICR em escala industrial, em reatores de 150 e 9.000 litros, seguido de secagem ao sol, revelou que a qualidade do polvilho azedo, entre os dois tratamentos, para o índice de expansão e a aceitação sensorial foi similar. Estes resultados permitem inferir que é possível obter polvilho azedo de qualidade em diferentes escalas de produção.
- A avaliação do desempenho fermentativo de inóculos na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR) em escala industrial, em reatores de 150 litros,



seguido de secagem ao sol, revelou que a qualidade do polvilho azedo, entre os três tratamentos, expressa em função do pH, acidez titulável e índice de expansão foi similar.

- A avaliação do polvilho azedo obtido em escala industrial para análise das propriedades de pastas pelo RVA mostrou menores viscosidade, estabilidade à agitação e tendência à retrogradação quando comparado ao polvilho doce.

- Considerando o teste de aceitação sensorial de biscoito de polvilho, os tratamentos referentes ao *pool* ISO e BS apresentaram os melhores resultados, sendo superiores aos obtidos com o controle CR, após 16 dias de fermentação.

- É possível obter polvilho azedo de qualidade, após 16 dias de fermentação empregando-se inóculos na forma de *pool*, constituído por espécies isoladas do meio de fermentação natural, quanto ao critério de aceitação sensorial. Este procedimento permite um maior controle do processo abrindo perspectiva para novos trabalhos que visem à melhoria do produto em maior escala.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC – AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the AACC**. 10<sup>th</sup> Ed. St. Paul, MN: AACC International, 2000.

AMANTE, E. R. **Caracterização de amidos de variedades de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) e de batata-doce (*Ipomoema batatas*)** 1986. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1986.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY). **Official methods of analysis**. Washington, DC, 1994. 1904 p.

APLEVICZI, K. S.; DEMIATE, I. M. Caracterização de amidos de mandioca nativos e modificados e utilização em produtos panificados **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 3, p. 478-484, 2007.

ARAÚJO, Tatiane Ferreira, **Caracterização e identificação de *Enterococcus spp.* isolados do fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo Minas artesanal da região da Canastra, Minas Gerais**. 2008. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2008.

ASCHERI, J. L. R., **Extração e caracterização de amido de Adlay (*Coix lacryma jobi* L.)**. 1987. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas-SP, 1987.

ASCHERI, D. P. R.; VILELA, E. R. Alterações do polvilho de mandioca pela fermentação no fabrico de Biscoitos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 269-279, 1995.

ASQUIERI, E. R. **Efeito da fermentação nas características da fécula de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) de três cultivares colhidas em diferentes épocas**. 1990. 109 f. (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 1990.

AVANCINI, S. R. P. *et al.* Cassava starch fermentation wastewater: Characterization and preliminary toxicological studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 11, p. 2273-2278, 2007.

BERTOLINI, A. C. *et al.* Relationship between thermomechanical properties and baking expansion of sour cassava starch (polvilho azedo). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 4, p. 429-435, 2001.

BRABET C. *et al.* Study of natural fermentation of cassava starch in Colombia. 1: characterization of the microflora and the fermentation parameters. In: INTERNATIONAL MEETING ON CASSAVA FLOUR AND STARCH, 1994. Cali **Abstracts...** Cali: CIRAD, 1994. 120 p.

BRASIL. Resolução nº 12/1978, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Aprova as normas técnicas especiais do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 24 de julho de 1978. Seção 1, pt. I.

CAMARGO, C. *et al.* Functional properties of sour cassava (*Manihot utilissima*) starch: polvilho azedo. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 45, n. 3, p.273-289, 1988.

CÁRDENAS, O. S.; BUCKLE, T. S. de Sour cassava starch production: a preliminary study. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 1509-1512, 1980.

CARVALHO, E. P.; CANHOS, V. P.; RIBEIRO, V. E.; CARVALHO, H. P. Polvilho azedo: aspectos físicos, químicos e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, p. 129-137, 1996.

CARVALHO, E. P. *et al.* Determinacion de la flora microbiana de la fécula de yuca fermentada (polvilho azedo) durante las diferentes etapas de procesamiento. **Alimentaria**, v. 8, p. 97-103, 1999.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa-MG: Editora da UFV, 2005.

CEREDA, M. P. *et al.* **Série culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. Vol. 1 – Propriedades gerais do amido. Cap. 3 - Biossíntese de amido. São Paulo-SP: Fundação Cargill, 2002a.

CEREDA, M. P. *et al.* **Série culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. Vol. 3 – Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas. Cap. 13 – Polvilho azedo, critérios de qualidade para uso em produtos alimentares. São Paulo-SP: Fundação Cargill, 2002b.

CEREDA, M. P. *et al.* Modificação de fécula por fermentação. In: BORZANI, W. (Ed.). **Biotechnologia industrial**. Vol. 3, Cap. 20, São Paulo-SP: Edgard Blücher, 2001. p. 413-460.

CEREDA, M. P.; NUNES, O. L. G. da S.; VILPOUX, O. Tecnologia da produção de polvilho azedo. **Relatório técnico-científico**. Botucatu-SP: Centro de Raízes Tropicais, 1995.

CEREDA, M. P. *et al.* tratamento anaeróbico em dos fases de suspensiones amiláceas. I. Fase acidogénica. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 101-108, 1986.

CEREDA, M. P.; LIMA, V. A. Aspectos sobre a fermentação da fécula da mandioca – Determinação dos açúcares redutores. **Rev. Agric.**, v. 60, p. 23-34, 1985.

CEREDA, M. P. Avaliação da qualidade de duas amostras de fécula fermentada de mandioca (Polvilho azedo). **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p. 305-320, 1983a.

CEREDA, M. P. Padronização para ensaios de qualidade da fécula de mandioca fermentada (polvilho azedo). I. Formulação e preparo de biscoitos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p. 287-295, 1983b.

CEREDA, M. P.; BRASIL, M. A. M. Aspectos da fermentação da fécula da mandioca: 1 – Características do polvilho azedo comercial. **Rev. Agric.**, v. 56, p. 219-230, 1981.

CEREDA, M. P.; LIMA, U. A. Aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca. II- Controle das fermentações realizadas em laboratório. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, p. 107-122, 1981.

CEREDA, M. P. **Alguns aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz)**. 1973. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu-SP, 1973.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. **Fabricação do amido e sua utilização**. São Paulo-SP: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, 1982. 152 p.

CORSETTI, A. *et al.* Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, p. 95-104, 2001.

CRUZ, R.; CIACCO, C. F. Fabricação de amido e sua utilização. In: PROMOCET. **Tecnologia Agroindustrial**, São Paulo-SP: FTPT, 1998. p. 19-49.

CRUZ, R. *et al.* Fabricação de amido de mandioca. **Perfis Agroindustriais**, Brasília-DF, v. 8, p. 12-15, 1995.

DAIUTO, E. R.; CEREDA, M. P.; CARVALHO, L. J. C. B. Characteristics and properties of the starch extracted from the tissue layers of cassava root cv. mico (*Manihot esculenta* Crantz). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 5, p. 217-223, 2002.

DEMIATE, I. M. Aplicação do amido de mandioca nas indústrias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 13., 2009. Botucatu-SP. **Anais...** Campus Lageado-SP: CERAT/UNESP, 2009.

DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P.; MESTRES, C. Viscographic characteristics of chemically modified cassava starches assessed by RVA, **Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, Ponta Grossa-PR, v. 11, n. 1, p. 7-17, 2005.

DEMIATE, I. M.; CEREDA, M. P. Some physico-chemical characteristics of modified cassava starches presenting baking property. **Energia na Agricultura**, v. 15, n. 3, p. 36-46, 2000.

DEMIATE, I. M., BARANA, A. C., CEREDA, M. P. *et al.* Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 19, n. 1, p. 131-135, jan. 1999.

DEMIATE, I. M. *et al.* Características de qualidade de polvilho azedo. **Ciências Exatas e da Terra**, Ponta Grossa-PR, v. 4, n. 1, p. 97-112, 1998.

DEMIATE, I. M. *et al.* Characteristics of quality of sour starch samples produced or commercialized in Paraná State. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba-PR, v. 40, n. 2, p. 321-30, 1997.

DEPIERI, M. *et al.* Características reológicas e de textura do amido de banana e amidos comerciais de milho normal e ceroso, batata, mandioca e trigo. In: CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004. Recife-PE. **Anais...** Recife-PE, 2004.

DIAS, A. R. G. *et al.* Oxidação dos amidos de mandioca e de milho comum fermentados: desenvolvimento da propriedade de expansão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, 2007.

DINIZ, I. P. **Caracterização tecnológica do polvilho azedo produzido em diferentes regiões do Estado de Minas Gerais**. 2006. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.

EMBRAPA. **Cultura da mandioca**. Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura, 2003. Disponível em: <<http://www.cnpmf.embrapa.br/mandioca.htm#topo>>. Acesso em: 8 set. 2010.

FELIPE, F. I.; RIZATO, M.; WANDALSEN, J. V. Potencial econômico dos resíduos de mandioca provenientes de fecularias no Brasil. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 47., 2009. Porto Alegre-RS. **Anais...** Porto Alegre-RS, julho de 2009.

FERNANDES, F. G.; SANTOS, J. F.; FILHO, J. B. **Utilização da mandioca para a alimentação humana e animal**. 1. ed. Paraíba-PB: EMEPA, 2002. p. 11-15.

FILHO, G. de A. F.; BAHIA, J. J. S. **Mandioca**. Culturas atendidas. Ceplac-Cepec-BA. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/Mandioca.htm>>. Acesso em: 23 set. 2010.

FAO – FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The World Cassava Economy, Facts, Trends and Outlook**. Rome: FAO and IFAD, 2000.

FAO – FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Faostat**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 17 set. 2010.

FUJITA, S. *et al.* Thermal and crystalline properties of waxy wheat (*Triticum aestivum* L.). **Starch Journal of Cereal Science**, v. 27, p. 1-5, 1998.

GARCIA, A. C. D. B.; LEONEL, M. Effect of lactic acid concentration on expansion property of photochemically modified starches **Ciênc. Agrotec.**, v. 29, n. 3, p. 629-634, 2005.

GOMATHINAYAGAM, M.; JALEEL, C.; LAKSHMANAN, G.; PANNEERSELVAM, R. Changes in carbohydrate metabolism by triazole growth regulators in cassava (*Manihot esculenta* Crantz); effects on tuber production and quality. **Comptes Rendus Biologies**, v. 330, p. 644-655, 2007.

GOMES, A. M. M. *et al.* Effects of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (polvilho azedo). **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 1-6, 2005.

HAMES, W. P.; VOGEL, R. F. The genus *Lactobacillus*. In: WOOD, B. J. B.; HOLZAPFEL, W. H. (Ed.). **The genera of lactic acid bacteria**. Vol. 2, London: Chapman & Hall, 1995. p. 19-54.

HOLZAPFEL, W. H. Appropriate starter technologies for small-scale fermentation in developing countries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 75, p. 197-212, 2002.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo-SP: 1985. 533 p.

INSTITUTO CEPA/SC. **Fatores que afetam a competitividade das farinhas e polvilheiras na agricultura familiar Catarinense**. 1. ed. Santa Catarina: Projeto observatório do agronegócio, 2003. p. 16-70. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca\\_amapa/importancia.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_amapa/importancia.htm)>. Acesso em: 10 set. 2010.

JOHANSSON, M. L. *et al.* Phenotypically-based taxonomy using API 50 CH of lactobacilli from Nigerian Ogi, and the occurrence of starch fermenting strains. **International Journal of Food Microbiology**, v. 25, p. 159-68, 1995.

KARAPANTSIOS, T. D.; SAKONIDOU, E. P.; RAPHAELIDES, S. N. Water dispersion kinetics during starch gelatinisation. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 4, p. 479-490, 2002.

KOSTINEK, M. *et al.* Use of *Lactobacillus* strains to start cassava fermentations for gari production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, p. 258-267, 2008.

KOSTINEK, M. *et al.* Characterization and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 114, p. 342-351, 2007.

LACERDA, I. C. A. *et al.* Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 213-219, 2005.

LACERDA, I. C. A. **Caracterização da microbiota associada ao processo fermentativo da mandioca para a produção do polvilho azedo**. 2002. 66 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2002.

LINDEN, G.; LORIENT. D. **Bioquímica agroindustrial revelación alimentar de la producción agrícola**. Zaragoza: Acribia, Cap.11. 1997. p. 283-293.

MACHADO, A. C. S. D. V. *et al.* Estudo de métodos alternativos de secagem de polvilho azedo. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 3, 2007. Disponível em: <<http://www.cerat.unesp.br/revistarat/volume3.php>>. Acesso em: 10 set. 2010.

MAEDA, K. C.; CEREDA, M. P. Avaliação de duas metodologias de expansão ao forno do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 139-143, maio/ago. 2001.

MATTOS, P. L. P.; CARDOSO, E. M. R. Mercado e comercialização. **Cultivo da mandioca para o Estado do Pará**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. Disponível em: [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca\\_semiarido/importancia.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_semiarido/importancia.htm). Acesso em: 8 set. 2010.

MENDONÇA, R. C. dos S. ***Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus* na produção de salame tipo italiano**. 1992. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1992.

MESTRES, C.; ROUAU, X. Influence of natural fermentation and drying conditions on the physical characteristics of cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 74, n. 2, p. 147-155, 1997.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa-MG: Ed. UFV, 2006. p. 225.

MONTENEGRO, F. M. *et al.* Biscoitos de polvilho azedo enriquecidos com fibras solúveis e insolúveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 184-191, 2008 (Supl.).

NAKAMURA, L. K.; CROMWELL, C. D. *Lactobacillus amylophilus*, a new starch – hydrolyzing species from swine waste-corn fermentation. **Developments in Industrial Microbiology**, v. 20, p. 531-540, 1979.

NAKAMURA, I. M. **Contribuição ao estudo da fécula de mandioca fermentada**. 1975. 86 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas-SP, 1975.



NUNES, O. L. G. S. **Avaliação de parâmetros relacionados à expansão de fécula de mandioca ácido-modificada e irradiada com ultravioleta.** 1999. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu-SP, 1999.

NUNES, O. L. G. S.; CEREDA, M. P. Effect of drying processes on the development of expansion in cassava starch hydrolyzed by lactic acid. In: INTERNATIONAL MEETING ON CASSAVA AND STARCH, 1994, Cali. **Abstracts...** Cali: CIAT, 1994. p. 110.

OKAFOR, N.; IJIOMA, B.; OYOLU, C. Studies on the microbiology of cassava retting for foo-foo production. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 56, n. 1, p. 1-13, 1984.

OLIVEIRA, T. M. **Desenvolvimento e avaliação de filme biodegradável de polietileno incorporado de amido de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.).** 2007. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2007..

OYEWOLE, O. B.; ODUNFA, S. A. Characterization and distribution of lactic acid bacteria in cassava fermentation during 'fufu' production. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, p. 145-152, 1990.

PEREIRA, B. L. B.; LEONEL, M. Propriedades de pasta de produtos derivados de mandioca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 13., 2009. Botucatu-SP. **Anais...** Campus Lageado-SP: CERAT/UNESP, 2009. p.941-945.

PEREIRA, J. *et al.* Função dos ingredientes na consistência da massa e nas características do pão de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 494-500, 2004.

PEREIRA, J. **Caracterização química, física, estrutural e sensorial do pão de queijo.** 2001. 222 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2001.

PEREIRA, J. *et al.* Féculas fermentadas na fabricação de biscoitos: estudo de fontes alternativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 2, 1999.

PEREIRA, R. G. F. A. **Avaliação da qualidade do polvilho durante a fermentação em diferentes meios, com e sem adição de inóculos.** 1994. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 1994.

PERONI, F. H. G.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 6, p. 505-513, 2006.

PLATA-OVIEDO, M. S. V. **Secagem do amido fermentado de mandioca: modificação química relacionada com a propriedade de expansão e características físico-químicas**. 1998. 114 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas-SP, 1998.

PLATA-OVIEDO, M.; CAMARGO, C. R. O. Determinação de propriedades físico-químicas e funcionais de duas féculas fermentadas de mandioca (polvilho azedo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 59-65, 1995.

PRADO, F. C. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de bebida probiótica à base de água de coco**. 2007. 131 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PG, 2007.

REGINATTO, V.; KURTZ, D.; MARCON, M. J. A.; XAVIER, J. J. M.; SCUSSEL, V. M.; AMANTE, E. R. Modificação do processo de produção de polvilho azedo visando o aumento na concentração de ácidos orgânicos na água residuária. in: INTERNATIONAL WORKSHOP | ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION, 2., 2009. São Paulo-SP. **Anais...** São Paulo-SP, maio de 2009.

RIVERA, H. H. P. **Fermentação de amido de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz): Avaliação e caracterização do polvilho azedo**. 1997. 131 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1997.

SAS INSTITUTE INC. **SAS User's guide statistic: GLM VARCOMP**. 6.04. Cary, NC: Fourth ed., 2008. p. 891-996.

SCHLEIFER, K. H.; LUDWIG, W. Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria. In: WOOD, B. J. B.; HOLZAPFEL, W. H. (Ed.) **The Genera of Lactic Acid Bacteria**, v. 2, p. 7-18, 1995.

SHERMAN, J. M. The streptococci. **Bacteriology Reviews**, v. 1, n. 1, p. 3-97, 1937.

SILVA, C. E. M. da; FAÇANHA, S. H. F.; SILVA, M. das G. G. da. Efeito do teor de água, amilose, amilopectina e grau de gelatinização no crescimento do biscoito de amido de mandioca obtido por fermentação natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 60-62, 1998.

SILVA, M. C. *et al.* Processamento de amido de milho em câmara de mistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 303-310, 2004.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. Ed., São Paulo : Livraria Varela, 2001.

SILVA, R. M. *et al.* Características físico-químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ácido láctico e hipoclorito de sódio/ácido láctico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 66-77, 2008.

SILVEIRA, I. A. **Isolamento, caracterização e diversidade de bactérias envolvidas na fermentação natural do polvilho azedo**. 2001. 132 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2001.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. Florida: Academic Press, 1993. 338 p.

VATANASUCHART, N. *et al.* Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, n. 1, p. 80-87, 2005.

VILELA, E. R. **A cultura da mandioca no Brasil e no mundo**. 2. ed. Lavras-MG: DCA/ESAL, 1989. p. (anexo 1-16).

WESTBY, A.; CEREDA, M. P. Production of fermented cassava starch (polvilho azedo) in Brazil. **Tropical Science**, v. 34, n. 2, p. 203-210, 1994.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. Starch. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. Saint Paul: AACC, Eagan Press, 1997. p. 117-151.

WIJTZES, T. *et al.* computerized system for the identification of lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 38, p. 54-70, 1997.

ZAPATA; L. E.; MARTINES, A.; PARADA, J. L. Aspectos microbiológicos del proceso fermentativo del almidon de yuca. In: TALLER AVANCES SOBRE ALMIDON DE YUCA, 1991. Cali **Abstracts...** Cali: CIAT, 1991. p.17-20.

ZAVAREZE, E. da R.; STORCK, C. R.; PEREIRA, J. M. Elaboration of cheese bread with substitution of the cassava starch by sweet potato (*Ipomoea batatas*) starch and submitted to different drying processes **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 1, p. 68-76, 2009.

## **ANEXO**

## ANEXO A

**Tabela 1A** – Valores médios de pH, acidez titulável (mL de NaOH N/100 g) e índice de expansão (mL/g), desenvolvidos durante 24 dias de fermentação do polvilho, em escala de bancada, por cinco isolados de bactérias do ácido láctico

Parâmetro	Amostra	Tempo de Fermentação (dias)						
		0	4	8	12	16	20	24
pH	CR	6,16	4,51	4,06	4,03	3,93	3,90	3,95
	B	6,15	4,39	4,18	3,97	3,87	3,85	3,88
	C1	6,11	4,48	4,15	4,01	3,94	3,89	3,91
	C2	6,19	4,48	4,10	4,06	4,04	4,00	4,02
	D	6,14	4,44	4,10	3,97	4,00	3,93	3,98
	E	6,08	4,43	4,15	4,15	4,09	4,01	3,96
Acidez	CR	0,56	1,29	1,86	2,17	2,35	2,55	2,60
	B	0,57	1,46	1,82	2,16	2,45	3,23	3,50
	C1	0,61	1,64	1,62	2,08	2,45	3,41	3,62
	C2	0,60	1,36	2,23	2,48	2,64	3,51	3,75
	D	0,69	1,61	2,26	2,36	2,66	3,42	3,51
	E	0,69	1,39	1,93	2,27	2,60	3,00	3,35
Expansão	CR	2,7	3,1	3,2	3,6	2,6	5,0	5,8
	B	2,6	3,0	2,8	3,7	3,9	4,8	6,0
	C1	2,9	3,1	3,4	3,9	5,5	4,7	6,1
	C2	2,5	3,0	3,2	3,7	3,9	4,5	6,0
	D	2,5	2,8	3,2	3,3	4,2	5,3	5,7
	E	2,8	2,9	3,2	3,4	3,7	4,6	6,0

Valores médios estimados de duas repetições.

**Tabela 2A** – Médias dos valores de acidez (mL de NaOH N/100 g) dos cinco isolados, mais o controle CR durante 24 dias de fermentação do polvilho

Amostra	Tempo de Fermentação (dias)						
	0	4 *	8 *	12 *	16	20 *	24 *
CR	0,56 <sup>a</sup>	1,29 <sup>b</sup>	1,86 <sup>b</sup>	2,17 <sup>a,b</sup>	2,35 <sup>a</sup>	2,55 <sup>b</sup>	2,60 <sup>b</sup>
B	0,57 <sup>a</sup>	1,46 <sup>b</sup>	1,82 <sup>b</sup>	2,16 <sup>b</sup>	2,45 <sup>a</sup>	3,23 <sup>a,b</sup>	3,50 <sup>a</sup>
C1	0,61 <sup>a</sup>	1,64 <sup>a</sup>	1,62 <sup>b</sup>	2,08 <sup>b</sup>	2,45 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a,b</sup>	3,62 <sup>a</sup>
C2	0,60 <sup>a</sup>	1,36 <sup>a</sup>	2,23 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>	2,64 <sup>a</sup>	3,51 <sup>a</sup>	3,75 <sup>a</sup>
D	0,69 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>	2,26 <sup>a</sup>	2,36 <sup>a,b</sup>	2,66 <sup>a</sup>	3,42 <sup>a,b</sup>	3,51 <sup>a</sup>
E	0,69 <sup>a</sup>	1,39 <sup>b</sup>	1,93 <sup>b</sup>	2,27 <sup>a,b</sup>	2,60 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a,b</sup>	3,35 <sup>a,b</sup>

Valores médios estimados de duas repetições.

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 3A** – Equações lineares ajustadas para acidez dos cinco isolados, mais o controle CR durante 24 dias de fermentação do polvilho

Tratamento	Equações Lineares Ajustadas para Acidez	R <sup>2</sup>
CR	$y = 0,0817x + 0,9295$ *	0,8875
B	$y = 0,1159x + 0,7773$ *	0,9743
C1	$y = 0,1198x + 0,7670$ *	0,9525
C2	$y = 0,1265x + 0,8474$ *	0,9599
D	$y = 0,1116x + 1,0174$ *	0,9429
E	$y = 0,1059x + 0,9052$ *	0,9807

\* Significativo a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4A** – Perfil do metabolismo, apresentados pelos cinco isolados obtidos da fermentação natural do polvilho, de diferentes compostos por meio do *kit* API® 50 CH

**	Teste	Componente Ativo	Amostra				
			B	C1	C2	D	E
0	CTRL	Controle	-	-	-	-	-
1	GLY	Glicerol	-	-	-	-	-
2	ERY	Eritritol	-	-	-	-	-
3	DARA	D-arabinose	-	-	-	-	-
4	LARA	L-arabinose	-	+	+	+	-
5	RIB	Ribose	+	+	+	+	+
6	DXYL	D-xilose	-	-	-	-	-
7	LXYL	L-xilose	-	-	-	-	-
8	ADO	Adonitol	+	-	-	-	-
9	MDX	Metil-β-D-xilopiranosido	-	-	-	-	-
10	GAL	D-galactose	+	+	+	+	+
11	GLU	D-glucose	+	+	+	+	+
12	FRU	D-frutose	+	+	+	+	+
13	MNE	D-manose	+	+	+	+	+
14	SBE	L-sorbose	-	-	-	-	-
15	RHA	L-ramnose	-	-	-	-	-
16	DUL	Dulcitol	-	-	-	-	-
17	INO	Inositol	-	-	-	-	+
18	MAN	D-manitol	+	+	+	+	+
19	SOR	D-sorbitol	+	+	+	+	+
20	MDM	Metil-α -D-manopiranosido	-	+	+	+	-
21	MDG	Metil-α-D-glucopiranosido	+	-	-	-	-
22	NAG	N-acetilglucosamina	+	+	+	+	+
23	AMY	Amigdalina	+	+	+	+	+
24	ARB	Arbutina	+	+	+	+	+
25	ESC	Esculina citrato de ferro	+	+	+	+	+
26	SAL	Salicina	+	+	+	+	+
27	CEL	D-celobiose	+	+	+	+	+
28	MAL	D-maltose	+	+	+	+	+
29	LAC	D-lactose	+	+	+	+	+

Continua...

**Tabela 4A, Cont.**

**	Teste	Componente Ativo	Amostra				
			B	C1	C2	D	E
30	MEL	D-melibiose	-	+	+	+	-
31	SAC	D-sacarose	+	+	+	+	+
32	TRE	D-trealose	+	+	+	+	+
33	INU	Inulina	+	-	-	-	+
34	MLZ	D-melezitose	+	+	+	+	-
35	RAF	D-rafinose	-	+	+	+	-
36	AMD	Amido	-	-	-	-	-
37	GLYG	Glicogênio	-	-	-	-	-
38	XLT	Xilitol	-	-	-	-	-
39	GEN	Gentibiose	+	+	+	+	-
40	TUR	D-turanose	+	-	-	-	-
41	LYX	D-lixose	-	-	-	-	-
42	TAG	D-tagatose	+	-	-	-	+
43	DFUC	D-fucose	-	-	-	-	-
44	LFUC	L-fucose	-	-	-	-	-
45	DARL	D-arabitol	-	-	-	-	-
46	LARL	L-arabitol	-	-	-	-	-
47	GNT	Gluconato de potássio	+	-	-	-	+
48	2KG	2-Cetogluconato de potássio	-	-	-	-	-
49	5KG	5-Cetogluconato de potássio	-	-	-	-	-

\*\* Código do kit API® 50 CH referentes à identificação dos carboidratos.

**Tabela 5A** – Valores médios de pH, acidez titulável (mL de NaOH N/100 g) e índice de expansão do polvilho (mL/g) desenvolvidos durante 24 dias de fermentação, em escala de bancada, por cinco isolados de bactérias do ácido láctico na forma de *pool* ISO, *pool* BS e controle CR

Parâmetro	Amostra	Tempo de Fermentação (dias)						
		0	4	8	12	16	20	24
pH	CR	6,78	5,03	5,72	4,88	4,54	4,32	4,33
	ISO	6,93	4,98	5,73	4,92	4,37	4,22	4,20
	BS	6,16	5,12	4,82	4,49	4,30	4,27	4,13
Acidez	CR	2,58	1,90	3,25	4,22	5,15	6,10	6,12
	ISO	2,18	2,09	2,90	4,47	4,98	6,98	8,45
	BS	2,31	2,38	3,64	4,57	5,58	6,65	8,58
Expansão	CR	10,2	8,0	10,0	9,5	10,1	10,2	10,1
	ISO	11,5	8,4	10,3	10,0	10,4	11,0	11,1
	BS	10,9	9,1	10,3	10,0	10,7	11,5	11,7

Valores médios estimados de duas repetições.

**Tabela 6A** – Valores médios da contagem microbiana (UFC/mL) em meios MRS, PCA e PDA, desenvolvido durante 24 dias de fermentação do polvilho, em escala de bancada, por cinco isolados de bactérias do ácido láctico na forma de *pool* ISO, *pool* BS e controle CR

Meio	Amostra/(dias)	Tempo de Fermentação (dias)						
		0	4	8	12	16	20	24
MRS	CR	3,75E+07	1,60E+08	2,00E+07	2,35E+08	1,03E+07	5,00E+06	1,23E+07
	ISO	3,50E+07	1,45E+08	5,00E+07	1,85E+08	9,00E+06	8,55E+06	1,41E+07
	BS	3,00E+07	6,25E+07	8,00E+07	9,85E+07	3,05E+06	8,55E+06	7,75E+06
PCA	CR	3,50E+07	1,10E+08	6,00E+07	1,80E+08	6,40E+06	5,50E+06	7,75E+06
	ISO	3,00E+07	5,00E+07	7,50E+07	1,45E+08	1,01E+07	8,90E+06	1,24E+07
	BS	2,75E+07	3,00E+07	2,50E+07	7,65E+07	3,25E+06	6,70E+06	3,35E+06
PDA	CR	3,75E+07	1,10E+06	2,00E+07	1,38E+05	1,55E+05	7,75E+06	9,95E+06
	ISO	3,50E+07	2,05E+06	1,00E+07	3,65E+05	1,45E+05	1,24E+07	1,30E+07
	BS	3,00E+07	1,65E+06	1,00E+07	1,56E+05	1,90E+05	3,35E+06	2,05E+07

Valores médios estimados de duas repetições.

**Tabela 7A** – Valores médios de pH, acidez titulável (mL de NaOH N/100 g) e do índice de expansão (mL/g) durante 24 dias de fermentação do polvilho na indústria utilizando-se de inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

Parâmetro	Amostra	Tempo de Fermentação (dias)						
		0	4	8	12	16	20	24
pH	CR	6,63	5,78	5,24	4,86	4,66	4,36	4,29
	ISO	5,60	5,16	5,71	5,45	4,74	4,55	4,33
	BS	4,71	4,83	5,39	5,14	4,97	4,76	4,53
Acidez	CR	2,70	3,08	3,13	3,67	3,71	4,48	5,35
	ISO	2,77	3,84	4,78	4,20	4,28	4,92	5,62
	BS	2,60	3,69	4,88	4,64	4,75	4,88	5,88
Expansão	CR	7,0	6,1	10,3	13,0	16,5	16,0	16,3
	ISO	7,4	9,3	11,6	12,7	15,8	17,2	16,5
	BS	7,6	8,2	13,2	13,7	16,9	16,9	16,9

Valores médios estimados de duas repetições.



**Tabela 8A** – Valores médios das propriedades de pasta polvilho azedo, durante 24 dias de fermentação do polvilho, em nível industrial utilizando inóculo na forma de *pool* (ISO e BS) e controle (CR)

Propriedades de Pasta	Amostra	Tempo de Fermentação (dias)			
		0	8	16	24
TIPasta (°C)	CR	65,55	66,33	65,93	66,05
	ISO	65,55	66,28	67,23	66,60
	BS	65,55	66,13	66,30	65,83
VMáx (RVU)	CR	439,50	402,65	406,10	412,11
	ISO	439,50	397,05	397,98	415,59
	BS	439,50	407,23	403,50	410,42
TVMáx (°C)	CR	77,50	76,95	74,98	75,60
	ISO	77,50	76,50	77,05	76,60
	BS	77,50	76,58	76,73	75,95
Quebra (RVU)	CR	282,34	281,92	314,58	326,78
	ISO	282,34	274,65	290,98	313,92
	BS	282,34	282,19	289,67	319,44
Tendência à retrogradação (RVU)	CR	75,83	36,17	25,38	22,80
	ISO	75,83	35,15	28,97	25,40
	BS	75,83	33,52	36,38	25,25

Valores médios estimados de duas repetições.