

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
CAMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS HENRIQUE  
SANTILLO  
MESTRADO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA  
PEDRO FARIA LOPES

**FERMENTAÇÃO DE MANDIOCA – “PUBA 2.0”:**  
Estudos Físico-químicos, Microbiológicos e Perfil De Viscosidade

ANÁPOLIS-GO  
2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
CAMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS HENRIQUE  
SANTILLO  
MESTRADO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA  
PEDRO FARIA LOPES

**FERMENTAÇÃO DE MANDIOCA - “PUBA 2.0”:**  
Estudos Físico-químicos, Microbiológicos e Perfil de Viscosidade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Agrícola do Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo, Universidade Estadual de Goiás para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola.

**Área de concentração CNPQ:** Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas

**Orientador:** Prof. Dr. Diego Palmiro Ramirez Ascheri

**Coorientador:** Prof. Dr. Rodrigo Barbosa Monteiro Cavalcante

ANÁPOLIS-GO  
2021

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TESES E DISSERTAÇÕES  
NA BIBLIOTECA DIGITAL (BDTD)**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Estadual de Goiás a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UEG), regulamentada pela Resolução, **CsA n.1087/2019** sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**Dados do autor (a)**Nome Completo: PEDRO FARIA LOPESE-mail: pf.floresta@gmail.com**Dados do trabalho**Título FERMENTAÇÃO DE MANDIOCA – “PUBA 2.0”:Estudos Físico-químicos, Microbiológicos e Perfil De Viscosidade**Tipo**☐ Tese     ☒ DissertaçãoCurso/Programa Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia AgrícolaConcorda com a liberação documento ☒ SIM     ☐ NÃO<sup>1</sup>Anápolis, 29 / 03 / 2021

Local

Data

Pedro Faria Lopes

Assinatura do autor (a)

Diego Palmiro Ramiro Ascheri

Assinatura do orientador (a)

**<sup>1</sup> Casos de impedimento:**

- Período de embargo é de um ano a partir da data de defesa
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da Dissertação/Tese em livro.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

LL864

f

Lopes, Pedro Faria

FERMENTAÇÃO DE MANDIOCA - "PUBA 2.0": Estudos Físico-químicos, Microbiológicos e Perfil de Viscosidade / Pedro Faria Lopes; orientador Diego Palmiro Ramirez Ascheri Ascheri; co-orientador Rodrigo Barbosa Monteiro Cavalcante Cavalcante. -- Anápolis, 2021.

96 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação Mestrado Acadêmico em Engenharia Agrícola) -- Câmpus Central - Sede: Anápolis - CET, Universidade Estadual de Goiás, 2021.

1. Manihot esculenta. 2. Propriedades físico-químicas. 3. Sistema de cultivo orgânico. 4. Aproveitamento integral dos alimentos. 5. Alimentos sem glúten. I. Ascheri, Diego Palmiro Ramirez Ascheri, orient. II. Cavalcante, Rodrigo Barbosa Monteiro Cavalcante, co-orient. III. Título.

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Coordenação do Programa de Pós-graduação Stricto sensu em Engenharia Agrícola

### ATA DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO - M.sc

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO PARA CONCESSÃO DO GRAU DE MESTRE EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

REALIZADA EM **dezesseis de março de dois mil e vinte e um** (16/03/2021)

PROGRAMA de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Agrícola

CANDIDATO **Pedro Faria Lopes**

BANCA EXAMINADORA:

1. Prof. Dr. **Diego Palmiro Ramirez Ascheri** (Orientador/UEG)
2. Profa. Dra. **Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira** (UFG)
3. Profa. Dra. **Cristiane Maria Ascari Morgado** (UEG)

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "**Fermentação de mandioca — "Puba 2.0": estudos físico-químicos, microbiológicos e perfil de viscosidade**"

LOCAL: Via Webconferência - <https://meet.google.com/wwd-jqnr-vsd> (Conforme Portaria CAPES n. 036/2020; e Instrução Normativa n. 1, 31/03/2020, da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação -- UEG).

HORÁRIO DE INÍCIO: 14:00 horas, em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o candidato foi arguido oralmente, pelos membros da banca, tendo demonstrado suficiência de conhecimento e capacidade de sistematização no tema de sua Dissertação, sendo aprovado por unanimidade, com correções.

Na forma regulamentar foi lavrada a presente Ata que é assinada pelos membros da banca, e pelo candidato.

Anápolis, 16 de março de 2021.

Orientador: Diego Palmiro Ramirez Ascheri  
[Assinatura]  
Cristiane Maria Ascari Morgado

Candidato: Pedro Faria Lopes

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, O Primeiro Mestre, pela vida e pela oportunidade de evoluir espiritualmente.

Agradeço à minha mãe Ester Faria, pelo o amor, cuidado e apoio imensuráveis.

Agradeço ao meu pai Zemir, por sua maneira mansa e amorosa, o senhor é vivo em minha memória.

Agradeço à minha companheira Mayara pelo amor, compreensão, conselhos e parceria. Quero ser cada vez mais respeitoso, amoroso e presente.

Agradeço ao meu filho Ravi, por me motivar a ser uma pessoa melhor a cada dia e por me fazer reconhecer o valor de ser pai.

Agradeço aos meus avós Eurípedes e Leila, exemplos de conduta e dignidade. É uma honra poder vê-los com saúde, convivendo com Ravi.

Agradeço às minhas Tias Fátima e Heliane que, desde o início, e cada vez mais, são um exemplo de serenidade e organização, além de todo o amor e carinho comigo e com minha família.

Agradeço ao meu tio Estevão, sua força de vontade e amorosidade são inspiradoras.

Agradeço ao companheiro de minha mãe Eliézer, o Vovô Éze. Admiro sua maneira calma e espiritualizada de ser, seu amor com o Ravi e com minha família.

Agradeço ao Professor Dr. Diego Ascheri, por ter aceitado a minha intenção de abordar esse tema, e por todo o auxílio com a interpretação dos resultados.

Agradeço ao professor Dr. Rodrigo Barbosa, pela confiança em estabelecer a coorientação. Essa parceria foi fundamental para a realização da parte experimental do presente trabalho.

Agradeço à professora Dra. Tânia Ferreira, que concedeu uma autorização especial e me acompanhou na parte laboratorial, mesmo durante período de isolamento social. O seu apoio e amorosidade me marcaram.

Agradeço à professora Dra. Roberta Passini, por todo o apoio e compreensão.

Agradeço ao senhor José Gabriel da Costa, fundador do CEBUDV, que vem nos ensinando a subir a escada da espiritualidade, degrau a degrau.

Agradeço ao agricultor e pesquisador Ernst Götsch, o seu trabalho me inspirou a mudar de vida no ano de 2009, e segue me inspirando a conhecer cada vez mais a Natureza, de tal maneira que é a principal inspiração pra realização do presente estudo.

“O homem planta um rebolinho de maniva  
Aquele maniva com dez dias tá inchada  
Começa nascer aquela folha orvalhada  
Ali vai se criando aquela obra positiva

Muito esverdeada muito linda e muito viva  
Embaixo cria uma batata que engorda e faz crescer  
Aquilo dá farinha pra todo mundo comer  
E para toda criatura vai servir de alimento

Deus corrige o mundo pelo seu domínio  
A terra gira com o seu grande poder”

Mestre Verdelino

## Resumo

A mandioca (*Manihot esculenta*), planta nativa da América do Sul, pode ser consumida de diversas formas. As raízes, tradicionalmente, passam por processos de cocção ou secagem antes de serem consumidas, sendo a fermentação da mandioca uma técnica desenvolvida por comunidades indígenas da América do Sul com o intuito de permitir o armazenamento das raízes por longos períodos, reduzir o teor de cianeto em variedades tóxicas, além de desenvolver aroma e sabor. Em 2014, o agricultor e pesquisador de Sistemas Agroflorestais Ernst Götsch protagonizou um vídeo intitulado “Mandioca: uma receita - “Puba 2.0”” mostrando o preparo de uma silagem de mandioca em frascos de vidro, com propriedades sensoriais análogas à Puba tradicional, com sugestão de consumo na forma de Beijú. A técnica descrita por Ernst é diferente de todos os produtos fermentados de mandioca relatados na literatura consultada, por isso o presente trabalho tem por objetivo estudar o processo de fermentação da “Puba 2.0” de Ernst Götsch e analisar as suas características físico-químicas, tecnológicas e microbiológicas. Foram realizados dois experimentos: o Experimento 1 foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 14. Os tratamentos foram: raízes de mandioca em cultivo convencional com e sem entrecasca (SCCE e SCCS, respectivamente) e tempo de fermentação de 0 a 14 dias (Tf0 a Tf14). O Experimento 2 foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2 x 2, com três repetições. Os fatores foram: com entrecasca e sem entrecasca (CE e SE, respectivamente), sistema de cultivo convencional (SCC) e orgânico (SCO) e fermentada e sem fermentar (F e SF, respectivamente). Os resultados do Experimento 1 e 2 foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de probabilidade. As principais diferenças significativas entre as cultivares orgânica e convencional se deram no teor de vitamina C e no desenvolvimento microbiológico de bactérias de interesse, que foram significativamente maiores na cultivar orgânica (teste t,  $p \leq 0.05$ ). A entrecasca agregou maiores teores significativos de proteína e de fibras, insolúveis e totais, à “Puba 2.0”. A fermentação reduziu todos os teores nutricionais e foi eficaz em reduzir a contagem de organismos patogênicos presentes na massa sem fermentar. Foram identificadas a presença das bactérias *Lactococcus garvieae*, *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactococcus lactis* nas amostras de “Puba 2.0”. Essas bactérias representam, um potencial probiótico na “Puba 2.0”. A fermentação apresentou bons parâmetros de viscosidade, que indicam um potencial de uso da “Puba 2.0” no desenvolvimento de produtos de panificação, como pães, bolos e pizzas.

Palavras chave: *Manihot esculenta*. Propriedades físico-químicas. Sistema de cultivo orgânico. Aproveitamento integral dos alimentos. Alimentos sem glúten.

## Resumo

Cassava (*Manihot esculenta*), a South America's native plant, can be consumed in different ways. Cassava roots traditionally go through cooking or drying processes before being consumed. Cassava fermentation is a technique developed by indigenous communities in South America that allows the roots to be stored for long periods, reduces the cyanide content in toxic varieties, and develops aroma and flavor. In 2014, a farmer and researcher of Agroforestry Systems, Ernst Götsch, starred in a video entitled "Cassava: a recipe - "Puba 2.0"", showing the preparation of cassava silage in glass jars, with sensory properties similar to traditional Puba, with suggested consumption in the form of Beiju. The technique described by Ernst is different from all the fermented cassava products found in the literature, so this work aims to study the fermentation process of Ernst Götsch's recipe "Puba 2.0" and analyze its physical-chemical, technological, and microbiological characteristics. Two experiments were carried out: Experiment 1 was conducted in a completely randomized design, in a 2 x 14 factorial arrangement. The treatments were: cassava roots in conventional cultivation with and without peel (SCCE and SCCS, respectively) and fermentation time from 0 to 14 days (Tf0 to Tf14). Experiment 2 was conducted in a completely randomized design, in a 2 x 2 x 2 factorial arrangement, with three replications. The factors were: with and without the peel (CE and SE, respectively), conventional cultivation system (SCC) and organic cultivation system (SCO) and fermented and without fermenting (F and SF, respectively). The results of Experiment 1 and 2 were submitted to variance analysis (ANOVA), at the level of 5% probability. The main differences between the organic and conventional cultivars were the vitamin C content and beneficial microbiological development, which were significantly higher in the organic cultivar. The cortex added higher values of protein and fibers, insoluble and total, to "Puba 2.0". Fermentation reduced all nutritional contents and was effective in reducing the count of pathogenic organisms presented in the dough without fermenting. The bacteria *Lactococcus garvieae*, *Leuconostoc mesenteroides*, and *Lactococcus lactis* were identified in the samples of "Puba 2.0". These bacteria represents, according to the literature, a probiotic potential in "Puba 2.0". The fermentation showed suitable viscosity parameters, which indicate a potential use of "Puba 2.0" in developing bakery products, such as bread, cakes, and pizzas.

Palavras chave: *Manihot esculenta*. Physical-chemical properties. Organic farming system.

Whole food processing. Gluten-free foods

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Fluxograma de produção da “Puba 2.0” .....                                                                                                            | 37 |
| Figura 2 - Variação dos valores de acidez total titulável e pH das silagens de mandioca com e sem entrecasca submetidas a diferentes tempos de fermentação ..... | 47 |
| Figura 3 - Bactérias ácido lácticas identificadas nas amostras de “Puba 2.0” .....                                                                               | 63 |
| Figura 4 - Viscoamilograma dos tratamentos de MSF e de Pubas 2.0 .....                                                                                           | 64 |
| Figura 5 – Remoção da película corticácea (tratamento com entrecasca) .....                                                                                      | 91 |
| Figura 6 - Remoção da entrecasca (tratamento sem entrecasca) .....                                                                                               | 91 |
| Figura 7 - Pesagem das mandiocas descascadas .....                                                                                                               | 91 |
| Figura 8 - Etapa de ralação das mandiocas .....                                                                                                                  | 91 |
| Figura 9 - Etapa de ralação das mandiocas .....                                                                                                                  | 92 |
| Figura 10 - Pesagem da massa ralada .....                                                                                                                        | 92 |
| Figura 11 - Massa ralada sendo colocada na prensa .....                                                                                                          | 92 |
| Figura 12 - Prensagem da massa de mandioca .....                                                                                                                 | 92 |
| Figura 13 - Coleta do "leite de amido" .....                                                                                                                     | 93 |
| Figura 14 - Pesagem da massa prensada .....                                                                                                                      | 93 |
| Figura 15 - Peneiramento da massa prensada .....                                                                                                                 | 93 |
| Figura 16 - Ensilagem da Massa sem fermentar (MSF) .....                                                                                                         | 93 |
| Figura 17 - Pesagem dos frascos ensilados .....                                                                                                                  | 94 |
| Figura 18 - Homogeneização e quarteamento das amostras para análise .....                                                                                        | 94 |
| Figura 19 - Massa homogeneizada .....                                                                                                                            | 94 |
| Figura 20 - Análises de Acidez Total Titulável .....                                                                                                             | 94 |
| Figura 21 - Análise de pH .....                                                                                                                                  | 95 |
| Figura 22 - Pesagem dos frascos antes da abertura .....                                                                                                          | 95 |
| Figura 23 - Detalhe do ponto de viragem na análise de açúcares .....                                                                                             | 95 |
| Figura 24 - Determinação de teor de umidade .....                                                                                                                | 95 |
| Figura 25 - Determinação do teor de lipídios em extrator Soxhlet .....                                                                                           | 96 |
| Figura 26 - Calcinação prévia para determinação de resíduo mineral fixo .....                                                                                    | 96 |
| Figura 27 - Determinação de amido .....                                                                                                                          | 96 |
| Figura 28 - Determinação de proteínas .....                                                                                                                      | 96 |
| Figura 29 - Equipamento RVA uti utilizado para obtenção d .....                                                                                                  | 97 |
| Figura 30 - Analisador de umidade .....                                                                                                                          | 97 |
| Figura 31 - Analisador de umidade .....                                                                                                                          | 97 |

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 32 - Placa com ágar MRS e colonizada com Bactérias ácido lácticas (BAL) .....                                    | 98 |
| Figura 33 - Conjunto de placacas com BAL e tampões utilizados para envio de amostras pra identificação bacteriana ..... | 98 |
| Figura 34 - Transferencia das colônias das placas para a solução tampão .....                                           | 98 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Valores médios e desvios padrão da acidez total titulável (ATT) e pH determinados nas silagens de mandioca com entrecasca e sem entrecasca submetidas a diferentes tempos de fermentação. ....                                                                                                                                                                                                    | 45 |
| <b>Tabela 2</b> - Valores médios, desvios padrão da acidez total titulável (ATT) e pH e correlação de Pearson (R) entre ATT e pH das massas de mandioca com entrecasca (CE) e sem entrecasca (SE) submetidas a diferentes tempos de fermentação .....                                                                                                                                                               | 46 |
| <b>Tabela 3</b> - Quantidade em massa (kg) das etapas do processamento da mandioca e rendimento em MSF em função da entrecasca e sistema de cultivo de mandioca .....                                                                                                                                                                                                                                               | 49 |
| <b>Tabela 4</b> - Quantidade em massa da silagem de mandioca submetida a fermentação por 9 dias do produto fermentado (“Puba 2.0”), e o rendimento em massa da “Puba 2.0” para amostras com e sem entrecasca de mandioca obtidas de sistemas convencional e orgânico de cultivo .                                                                                                                                   | 50 |
| <b>Tabela 5</b> - Valores da composição proximal [g (100 g) <sup>-1</sup> ] e valor energético (VE) [kcal (100 g) <sup>-1</sup> ] de silagem e “Puba 2.0”, elaboradas a partir de raízes de mandioca cultivadas em sistemas convencional e orgânica, com e sem entrecasca, todos os valores em base úmida.....                                                                                                      | 51 |
| <b>Tabela 6</b> - Valores da Amido, Fibras Alimentares Solúveis, Açúcares Redutores, Açúcares Totais [g (100 g) <sup>-1</sup> ], Ácido Ascórbico [mg (100 g) <sup>-1</sup> ], Acidez Total Titulável (mL NaOH 0,1N/100g) e valor de pH das MSF e das Pubas 2.0, elaboradas a partir de raízes de mandioca cultivadas em sistemas convencional e orgânica, com e sem entrecasca.....                                 | 51 |
| <b>Tabela 7</b> - Resumo da análise de variância dos valores da composição proximal e valor energético (VE) das silagens e “Puba 2.0” obtidas em função do sistema de cultivo, ausências ou não de entrecasca e de fermentação.....                                                                                                                                                                                 | 52 |
| <b>Tabela 8</b> - - Resumo da análise de variância dos teores de amido, fibra alimentar solúvel (FAS), açúcares redutores (AR), açúcares totais (Aç. totais), ácido cítrico (Ác. cítrico), acidez total titulável (ATT) e pH das silagens e “Puba 2.0” obtidas em função do sistema de cultivo, ausências ou não de entrecasca e fermentação. ....                                                                  | 52 |
| <b>Tabela 9</b> – Tabela de informação nutricional pra as Pubas 2.0 elaboradas. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 60 |
| <b>Tabela 10</b> - Valores das unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC g <sup>-1</sup> ) de <i>Salmonella spp</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. coagulase</i> , <i>B. cereus</i> , bolores e leveduras, <i>Salmonella spp</i> . e Bactérias ácido-láticas, analisadas nas MSF e Pubas 2.0, elaboradas com raízes de mandioca colhidas nos sistemas convencional e orgânicos com e sem entrecasca. .... | 61 |
| <b>Tabela 11</b> - - Valores dos parâmetros obtidos na análise RVA da “Puba 2.0” para todos os tratamentos .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 65 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                                   | <b>14</b> |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                                                                                                                         | <b>18</b> |
| 2.1. Agricultura Orgânica.....                                                                                                                               | 18        |
| 2.2. Sistemas Agroflorestais – SAFs e a Agricultura Sintrópica.....                                                                                          | 20        |
| 2.3. Mandioca.....                                                                                                                                           | 21        |
| 2.4. Fermentação .....                                                                                                                                       | 23        |
| 2.5. Centesimal.....                                                                                                                                         | 26        |
| 2.6. Viscosidade .....                                                                                                                                       | 29        |
| 2.7. Qualidade Microbiológica .....                                                                                                                          | 31        |
| 2.8. Bactérias Ácido Lácticas.....                                                                                                                           | 34        |
| <b>3. OBJETIVO GERAL.....</b>                                                                                                                                | <b>35</b> |
| <b>4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>                                                                                                                        | <b>36</b> |
| <b>5. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                                                                                                                          | <b>36</b> |
| 5.1. Raízes de Mandioca .....                                                                                                                                | 36        |
| 5.2. Elaboração da “Puba 2.0” .....                                                                                                                          | 37        |
| 5.3. Locais e Período do Estudo .....                                                                                                                        | 38        |
| 5.4. Delineamento experimental.....                                                                                                                          | 39        |
| 5.4.1. Experimento 1: Determinação do Ponto de Estabilização da Fermentação.....                                                                             | 39        |
| 5.4.2. Experimento 2: Efeito da fermentação, da entrecasca e do sistema de cultivo nas características físico-químicas, tecnológicas e microbiológicas ..... | 40        |
| 5.5. Cálculo do rendimento.....                                                                                                                              | 40        |
| 5.6. Propriedades físico-químicas .....                                                                                                                      | 41        |
| 5.7. Qualidade Microbiológica .....                                                                                                                          | 42        |
| 5.8. Propriedades reológicas.....                                                                                                                            | 43        |
| 5.9. Análises estatísticas .....                                                                                                                             | 44        |
| <b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                                       | <b>44</b> |
| 6.1. Experimento 1 - Determinação do Ponto de Estabilização da Fermentação.....                                                                              | 44        |
| 6.2. Experimento 2: Efeito da fermentação, da entrecasca e do sistema de cultivo nas características físico-químicas, tecnológicas e microbiológicas .....   | 48        |
| 6.2.1. Rendimento da fabricação da “Puba 2.0” .....                                                                                                          | 48        |
| 6.2.2. Características Físico-químicas.....                                                                                                                  | 50        |
| 6.2.3. Microbiologia.....                                                                                                                                    | 60        |
| 6.2.4. Identificação das bactérias isoladas .....                                                                                                            | 62        |
| 6.2.5. Propriedades reológicas .....                                                                                                                         | 64        |
| <b>7. CONCLUSÕES .....</b>                                                                                                                                   | <b>67</b> |
| <b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>                                                                                                                         | <b>68</b> |
| <b>BIBLIOGRAFIA .....</b>                                                                                                                                    | <b>70</b> |
| <b>APÊNDICE .....</b>                                                                                                                                        | <b>91</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

O crescimento da população humana exige um aumento da produtividade agroindustrial, porém as mudanças climáticas, a erosão do solo e a intervenção humana diminuem continuamente as áreas cultiváveis. A crescente destruição dos sistemas florestais nativos no Brasil e no mundo tem despertado a busca por uma agricultura inovadora e que alcance um equilíbrio social, ambiental e ecológico (BEL-RHLID; BERGER; BLANK, 2018).

Nesse contexto, os Sistemas Agroflorestais (SAFs) têm ganhado protagonismo na busca por uma agricultura inovadora, em razão da alta produtividade aliada aos serviços ambientais que proporcionam. Dentre as diferentes técnicas de SAFs descritas no mundo, uma em particular tem ganhado espaço no cenário mundial: a Agricultura Sintrópica (AS) de Ernst Götsch (MICCOLIS *et al.*, 2016).

Ernst Götsch, por não fazer parte do âmbito acadêmico diretamente, tem seu trabalho sistematizado na academia por Hoffmann (2005), Miccolis *et al.* (2016) e outros autores. Dentre deles, Andrade (2019), Andrade, Pasini e Scarano (2020), Pasini (2017) foram também responsáveis por criar o projeto Agenda Götsch, que registra por meio de vídeos e textos o trabalho de Ernst Götsch.

No ano de 2014, foi publicado no projeto Agenda Götsch um vídeo intitulado “Mandioca: uma receita - “Puba 2.0”” (ANDRADE; PASINI, 2014), onde Ernst Götsch ensina a preparar um produto fermentado de mandioca, o qual denomina “silagem de mandioca”. Essa receita, chamada aqui “Puba 2.0” (Pb2), motivou o desenvolvimento do presente trabalho, para confirmar ou não as afirmativas de Ernst Götsch, em relação ao aumento do teor de Vitamina C em relação à mandioca não fermentada e possível biossíntese de Vitamina B12 no processo.

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é cultivada na América tropical há mais de 5000 anos (VILPOUX; GUILHERME; CEREDA, 2017). Suas raízes tuberosas, ricas em carboidratos, constituem-se em alimento energético para mais de 400 milhões de pessoas no mundo (CHISTÉ; COHEN, 2011) e são compostas por casca (película corticácea), entrecasca e cilindro central (BRASIL, 2005) e (Figuras 5 e 6).

As fecularias (indústria de extração do polvilho, ou fécula) utilizam a entrecasca e o cilindro central da mandioca, no entanto, o processo gera um resíduo sólido chamado bagaço, composto principalmente por rapas de casca, entrecasca e a polpa do cilindro central após a etapa de prensagem (CAMARGO *et al.*, 2008). O bagaço apresenta altos teores de umidade,

fibra alimentar total e amido, subprodutos que podem ser utilizados como matéria-prima alternativa para o desenvolvimento de novos produtos (FIORDA *et al.*, 2013).

O processo de produção e a qualidade da puba tradicional já foram estudados por diversos autores (ALMEIDA, 1992; MENEZES *et al.*, 1998; PIMENTEL *et al.*, 2001; CHISTÉ; COHEN, 2011; FERREIRA, 2010). A Pb2 difere da puba tradicional por substituir a etapa de imersão das raízes de mandioca em água pela etapa de ensilagem da massa ralada em vidros, reduzindo assim a quantidade de água necessária para obter a massa puba, além de concomitantemente manter um ambiente anaeróbico durante a fermentação. A pubagem tradicional é um processo muito dependente de água e gera efluentes potencialmente tóxicos em grandes volumes. Valores próximos de 6 m<sup>3</sup> de efluentes são gerados em indústrias que processam polvilho, para cada tonelada de mandioca processada e no caso de produções em pequena escala são gerados valores médios 0.3 m<sup>3</sup> de efluente para cada tonelada de mandioca processada. O descarte desses efluentes em corpos hídricos reduz drasticamente os níveis de oxigênio na água e somada a presença de compostos cianogênicos apresenta um grave risco à fauna aquática (SÁNCHEZ *et al.*, 2017).

É importante ressaltar que o processo de produção da Pb2 e as qualidades deste produto fermentado ainda não foram elucidados. A Pb2 foi desenvolvida para ser consumida como Beiju ou Tapioca, e também apresenta potencial de uso como matéria-prima para o desenvolvimento de novos produtos como pães, bolos, biscoitos e outras massas (CARVALHO *et al.*, 2017; FERNANDES, 2017).

O processo de fermentação da mandioca é uma tecnologia indígena e foi desenvolvido tendo em vista que a vida útil da mandioca *in-natura* é inferior a 5 dias. As reações de oxidação começam em menos de 24 h após a colheita e as técnicas de fermentação prolongam a sua vida-de-prateleira (SHAH; SINGHAL, 2017). No Brasil, a fermentação de mandioca é denominada popularmente de pubagem (CEREDA; VILPOUX, 2010) e confere características sensoriais peculiares de aroma e sabor ao produto final (CHISTÉ; COHEN, 2010), além de diminuir algumas substâncias tóxicas que podem estar presentes em certas variedades de raízes de mandioca, principalmente compostos cianogênicos como a Linamarina (ADEBIYI *et al.*, 2019; BECHOFF *et al.*, 2017; CHISTÉ *et al.*, 2010; FRANZ *et al.*, 2014; KAUR, AHLUWALIA, 2017; NJANKOUO NDAM *et al.*, 2019 e SALAMI, AKOMOLAFE, OLUFEMI-SALAMI, 2017).

O estudo do processo de fermentação é importante pois o amido da mandioca é modificado, promovendo mudanças nas características desse amido permitindo múltiplas aplicações. Dentre essas modificações, estão o aumento da capacidade de expansão no

forneamento dispensando a utilização de agentes desenvolvedores de crescimento de massa. (FALADE; IBANGA-BAMIJOKO; AYETIGBO, 2019).

Os amidos de mandioca, fermentados ou não, podem ser utilizados como substitutos ao glúten, presente na farinha de trigo e outros cereais utilizados na panificação (AGUILAR; VILLALOBOS, 2013). Essa possibilidade de utilização como substituto à farinha de trigo na panificação, é importante para indivíduos com intolerância ao glúten e/ou alergia alimentar ao glúten, estes últimos considerados como celíacos (SANTOS; SARTORI; CABELLO, 2012).

A fécula de mandioca apresenta alto valor energético, em torno de 356,72 kcal (100 g)<sup>-1</sup>, e, em média, 0,12; 1,56; 0,14; 0,20; 0,41 e 85,53 g (100 g)<sup>-1</sup> de cinzas, lipídios, proteínas, fibra alimentar solúvel, fibra alimentar insolúvel e carboidratos disponíveis, respectivamente. Já o bagaço é menos energético e contém maior quantidade de fibras que a fécula, fornecendo 141,08 kcal (100 g)<sup>-1</sup>, contendo, ainda, teores de cinzas, lipídios, proteínas, fibra alimentar solúvel, fibra alimentar insolúvel e carboidratos disponíveis de 1,81; 2,35; 1,97; 3,51; 56,84 e 24,50 g (100 g)<sup>-1</sup>, respectivamente (FIORDA *et al.*, 2013). A composição química da puba tradicional é relatada entre 9-10, 0,4-1,6, 0,7-0,8, 0,1-0,5, 41,8-87,3 e 2,1-4,2 g (100 g)<sup>-1</sup> de umidade, proteínas, cinzas, lipídios, carboidratos totais e fibras, respectivamente, e fornece um valor energético entre 178,7-360 kcal (100 g)<sup>-1</sup> (AGUIAR, 1996; BRASIL, 2011).

A mandioca em sistema de cultivo orgânico apresenta rendimento de raízes 10 a 20% maior, em comparação com o sistema de cultivo convencional, e o lucro líquido é maior em até 28%. A melhora na qualidade das raízes, no cultivo orgânico, resulta em aumento da matéria seca e dos teores de amido, proteína bruta, potássio, cálcio e magnésio, e na redução dos fatores antinutricionais das raízes de mandioca (SUJA *et al.*, 2014).

A agricultura orgânica é uma alternativa para a produção sustentável e segura de alimentos. Ela inclui o gerenciamento de resíduos das culturas, compostagem, plantio de forragens perenes em rotação com outras culturas, adição de cal e outros pós de rochas naturais para gerenciar o pH e garantir minerais adequados ao solo (UDDIN; BARI, 2019). A agricultura orgânica minimiza o uso de defensivos agrícolas e pode reduzir os custos de cultivo (SUJA; JAGANATHAN, 2020). Os alimentos assim obtidos se destacam por sua baixa toxicidade, maior durabilidade e maior teor de alguns nutrientes em relação a alimentos convencionais (SOUSA *et al.*, 2012).

Pelo exposto, e considerando que as características tecnológicas e nutricionais da Pb2 ainda não foram estudadas, considerou-se estudar a hipótese de que as raízes de mandioca procedentes de sistema de cultivo orgânico resultarão em uma Pb2 de qualidade superior ao produto fermentado obtido de raízes de mandioca colhidas de um sistema de cultivo

convencional. Além disso, postula-se também, que a presença da entrecasca resultará em um produto com qualidades nutricionais diferentes daquela Pb2 processada sem a entrecasca.

A chamada “Puba 2.0” é uma técnica que pode ser facilmente replicada por agricultores familiares e tem potencial para a indústria, podendo representar uma forma segura de conservação da mandioca com melhorias nutricionais e tecnológicas. A investigação de um novo produto, com tecnologia acessível e pouco difundida, motivou o desenvolvimento do presente trabalho.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Agricultura Orgânica

A história das sociedades humanas mostra um impasse elementar: o uso insustentável de recursos naturais com a prática da agricultura causou alterações no uso do solo e no clima e contribuiu para o declínio de muitas civilizações antigas (MONTGOMERY, 2007). Além disso, a diversidade da oferta de alimentos e nutrientes está diminuindo devido às mudanças climáticas e à globalização da cultura alimentar (GREEN *et al.*, 2020).

O conceito de agricultura orgânica começou no início do século XX na Europa e nos Estados Unidos. Os pioneiros do movimento de agricultura orgânica foram motivados pelo desejo de reverter os problemas da agricultura e da pecuária industrializadas — erosão, diminuição de nutrientes e vida do solo, declínio das variedades de culturas, alimentação humana e animal de baixa qualidade, contaminação dos solos e da água, diminuição da biodiversidade, pobreza social e empobrecimento cultural (NIELSEN, 2019; UDDIN e BARI, 2019).

A agricultura orgânica inclui o gerenciamento de resíduos das culturas, aplicação de estrume animal, compostagem, manejo verde, plantio de forragens perenes em rotação com outras culturas, adição de calcário e outros pós de rochas naturais para gerenciar o pH e garantir minerais adequados ao solo, entre outras iniciativas. Essas ideias ganharam popularidade na Europa e nos Estados Unidos durante as décadas de 1940 a 1960 entre os grupos interessados em reduzir os produtos químicos e pesticidas em seus alimentos. (UDDIN e BARI, 2019)

No Brasil, a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003), define agricultura orgânica e o Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007 (BRASIL, 2007), regulamenta a Certificação da Produção Orgânica em nível nacional, realizada por meio de Organismos de Avaliação da Conformidade (OAC), previamente credenciados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

No geral, os produtos orgânicos são relatados como de melhor sabor e estudos mostram maiores teores de matéria seca e proteínas de melhor qualidade. Frutas e vegetais orgânicos têm maiores teores de compostos fenólicos, isoflavonas e carotenoides. Além disso, apresentam menos nitrato e metais pesados do que os convencionais, sem resíduos de pesticidas (OLIVEIRA *et al.*, 2017; POPA *et al.*, 2019 e YU *et al.*, 2018)

A agricultura orgânica está conectada a um conjunto de padrões de produção, certificação, rotulagem e marketing, que não estão necessariamente relacionados com a ideia inicial de estabelecimento de um solo bom e fértil como uma resposta adequada à pobreza e aos baixos rendimentos na agricultura (NIELSEN, 2018). A legislação brasileira estabelece três instrumentos de certificação para que os produtores possam ser reconhecidos como produtores orgânicos: Certificação por Auditoria (CA), Organização Participativa de Avaliação da Conformidade Orgânica (OPAC) e Organização de Controle Social (OCS) (BRASIL, 2007).

O principal desafio para o agricultor, tanto convencional quanto orgânico, é a comercialização. Uma alternativa criada para uma comercialização mais justa são as “Comunidades que Sustentam a Agricultura” (CSA), termo originário do inglês Community Supported Agriculture. As CSAs consistem em uma associação de pessoas que, por meio de um contrato, estabelecem um compromisso de compra periódica da produção do agricultor e este, em contrapartida, permite que os associados visitem a produção, fiscalizem as técnicas de plantio, além de promoverem encontros para a entrega dos produtos. Portanto as CSAs estabelecem uma relação de comércio mais humana e cooperativa (AMORIM, 2018).

O movimento CSA surge com três princípios: o fortalecimento da produção de alimentos orgânicos e agroecológicos em oposição à agricultura convencional; o encurtamento da cadeia produtiva ao permitir o comércio do produtor diretamente ao consumidor final; e as atividades coletivas mobilizadas pelo grupo CSA, que envolvem ações sociais e educativas para além dos momentos de troca (MATZEMBACHER; MEIRA, 2020).

O interesse por alimentos orgânicos progride em consonância com os movimentos em prol do desenvolvimento sustentável (MORAES; OLIVEIRA, 2017). Ciências como a Agroecologia apontam que os plantios biodiversos são importantes para a sustentabilidade agrícola, pois reconciliam as ciências ecológicas e agronômicas, além de apresentarem a vantagem de serem mais resilientes, energeticamente eficientes e socialmente justos (ALTIERI, 2004 e GLIESSMAN, 2001). Entre as técnicas de plantios biodiversos estão inclusos os chamados Sistemas Agroflorestais (SAFs).

## 2.2. Sistemas Agroflorestais – SAFs e a Agricultura Sintrópica

A legislação brasileira define sistemas agroflorestais como:

“sistemas de uso e ocupação do solo em que plantas lenhosas perenes são manejadas em associação com plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas, culturas agrícolas, forrageiras em uma mesma unidade de manejo, de acordo com arranjo espacial e temporal, com alta diversidade de espécies e interações entre estes componentes” (BRASIL, 2011a).

SAFs sustentáveis sempre foram e continuam sendo desenvolvidos por muitos povos indígenas ou populações autóctones em todo o mundo, cujos princípios estão intrinsicamente arraigados às culturas milenares de adaptação aos ambientes florestais (PENEIREIRO, 1999). Os SAFs podem ser compreendidos como a combinação do elemento arbóreo com espécies anuais e/ou animais, organizados no espaço e/ou no tempo (STEENBOCK; VEZZANI, 2013).

Existe um crescente interesse sobre o papel dos SAFs na mudança de paradigmas dos sistemas de produção rural. Esse fato está ligado aos problemas socioambientais dos sistemas convencionais de produção agrícola e animal em monoculturas (HOFFMANN, 2005) e à capacidade de resposta dos SAFs à degradação do solo devido à sua capacidade de regeneração de áreas degradadas (MICCOLIS *et al.*, 2016).

Uma das principais referências de SAFs no Brasil é Ernst Götsch (EG), citado por (ANDRADE, 2019; ANDRADE; PASINI; SCARANO, 2020; HOFFMANN, 2005; MICCOLIS *et al.* 2016; PASINI, 2017; PASINI, 2020; PENEIREIRO, 1999; VAZ DA SILVA, 2002) e com publicações próprias (GÖTSCH, 1996, 1997). Nascido em 1948 em Raperswilen, na Suíça, Ernst Götsch migrou para o Brasil no começo da década de 1980, estabelecendo-se em uma fazenda na zona cacaueteira do sul da Bahia, onde se dedica ao estudo de SAFs (PASINI, 2017).

No domínio prático, Ernst Götsch desenvolveu métodos de poda de estratificação, capina seletiva, espaçamento de plantios, identificação e manejo das inúmeras influências que definem a saúde de um sistema natural (PASINI, 2017). No campo teórico, criou a chamada Agricultura Sintrópica, que recebeu esse nome em 2013. Antes disso, seu trabalho era reconhecido principalmente como agrofloresta sucessional (PENEIREIRO, 1999) e agrofloresta sucessional regenerativa análoga (VAZ DA SILVA, 2002).

O projeto Agenda Götsch surge de uma parceria de Felipe Pasini, Dayana Andrade e Ernst Götsch com o objetivo de registrar em vídeos e textos a recuperação de uma área degradada na fazenda de Ernst Götsch na Bahia. Entre 2011 e 2014, Pasini (2017) relatou 12 viagens para a Bahia com objetivo de coletar imagens e entrevistas, as quais resultaram na publicação de 13 vídeos e um trabalho em congresso científico com a descrição da área implantada. O material produzido está organizado e publicado no site [www.agendagotsch.com](http://www.agendagotsch.com), de livre acesso ao público, sob a licença *creative commons* de uso não comercial (ANDRADE, 2019). Entre eles, o vídeo intitulado *Life in Syntropy* (ANDRADE; PASINI, 2015), que alcançou mais de 7 milhões de visualizações em redes sociais, foi traduzido para 6 idiomas e premiado em festivais internacionais (PASINI, 2017).

No ano de 2014, foi publicado no projeto Agenda Götsch o vídeo intitulado “Mandioca: uma receita - “Puba 2.0”” (ANDRADE; PASINI, 2014), onde Ernst Götsch ensina a preparar uma receita fermentada de mandioca, por ele denominada silagem de mandioca, como uma forma alternativa de produzir a massa puba de mandioca. Esta receita foi objeto de estudo do presente trabalho.

### 2.3. Mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) pertence à classe das Dicotiledôneas, à família *Euphorbiaceae* e ao gênero *Manihot* (DAVI *et al.*, 2014). É cultivada na América tropical há mais de 5000 anos e existem diferentes teorias quanto à sua origem na literatura: a bacia do sul do Amazonas; a região entre a floresta amazônica brasileira e venezuelana; e, ainda, uma possível origem mesoamericana (VILPOUX; GUILHERME; CEREDA, 2017).

As raízes tuberosas ricas em carboidratos constituem-se em alimento energético para mais de 400 milhões de pessoas no mundo, sobretudo nos países em desenvolvimento (CHISTÉ; COHEN, 2011) e são utilizadas como matéria-prima para a preparação de diversos produtos, entre eles: farinha, fécula, puba, chips, xaropes, papel, colas especiais, aditivos alimentares, cervejas e rações. Por muito tempo, algumas espécies do gênero *Manihot* constituíram uma fonte importante de látex, ao lado da seringueira, sendo extraído por meio de cortes realizados no caule ou através da sangria nas raízes (DAVI *et al.*, 2014).

A mandioca é uma ótima criadora de árvores (GÖTSCH, 1997) e é uma espécie muito importante no desenho de SAFs para as regiões tropicais - nas áreas de plantio de Ernst,

é possível observar três, quatro, às vezes cinco árvores crescendo a partir do mesmo ponto, plantadas de sementes no pé de cada mandioca (PASINI, 2017).

A cultura da mandioca foi amplamente registrada pelos viajantes que passaram pelo Brasil entre os séculos XVI e XIX. Em seus relatos, expõem, discutem e registram minúcias do preparo das farinhas e dos Beijus, que eram dois elementos básicos da alimentação da época. A farinha acompanhava tudo, da carne à fruta; e os Beijus eram boas provisões para a caça e a pesca (MARANHÃO; BASTOS; MARCHI, 2015)

Os povos indígenas do Brasil, que tinham e ainda têm grande conhecimento sobre a mandioca, foram os responsáveis por sua domesticação e seleção, conscientes de sua toxicidade e também de suas características e versatilidade (MARANHÃO; BASTOS; MARCHI, 2015). Em sua revisão, Rahman (2017) citou trabalhos antropológicos que relataram a percepção entre algumas etnias de que o plantio de mandioca e seu processamento afetam a reprodução e a fertilidade humana. Relatou ainda ser o mandiocal um lugar apropriado para o parto, o que mostra a importância da mandioca na cosmovisão desses povos.

Em uma revisão histórica dos diferentes alimentos preparados com mandioca na região amazônica, Monteiro (1963) descreveu o Beiju como uma espécie de bolo chato confeccionado com a massa da mandioca puba e que possui a forma mais comum de disco. O Beiju, depois da farinha, é o segundo alimento derivado da mandioca mais descrito pelos cronistas de todas as épocas, não só no Brasil, mas também em outras regiões da América pré-colombiana. Monteiro (1963) seguiu descrevendo a Tapioca como uma espécie de bolo discoide, feito em frigideira ou forno pequeno, dobrada como os Beijus ou enrolada, e que é feita com massa de mandioca não fermentada.

A mandioca apresenta baixa necessidade de insumos agroquímicos no seu cultivo, o que é uma vantagem em relação a outras culturas (SÁNCHEZ *et al.*, 2017). Em 2014, o continente africano dominou a produção mundial de mandioca, seguido pela Ásia e pela América Latina. A mandioca é a segunda cultura amilácea mais importante em termos de produção, atrás apenas do milho (VILPOUX; GUILHERME; CEREDA, 2017).

Nas indústrias de processamento de polvilho, é gerado um subproduto fibroso após a prensagem da massa de mandioca, denominado bagaço, que é caracterizado pelo alto teor de fibra alimentar total e alto teor de amido residual (FIORDA *et al.*, 2013). O bagaço pode ser considerado um ingrediente alternativo para a indústria de alimentos, no desenvolvimento de produtos de maior valor agregado (SÁNCHEZ *et al.*, 2017).

A Instrução Normativa nº 23, de 14 de dezembro de 2005 (BRASIL, 2005), estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Amiláceos

derivados da Raiz de Mandioca, onde são definidos a casca, a entrecasca e o cilindro central das raízes de mandioca.

Segundo a Instrução Normativa nº 23, de 2005 (BRASIL, 2005), os produtos amiláceos obtidos da mandioca são classificados em dois grupos: Grupo I – Fécula e Grupo II – Tapioca. Fécula é o produto amiláceo extraído das raízes de mandioca, não fermentada, obtida por decantação, centrifugação ou outros processos tecnológicos adequados. Já a Tapioca é o produto que, conforme processo de fabricação, se apresenta sob forma de grânulos irregulares, poliédricos ou esféricos (BRASIL, 2005). A Tapioca é dividida em dois subgrupos: a) Tapioca granulada e b) Tapioca pérola ou sagú artificial. A Fécula e a Tapioca que não se enquadrarem nos limites de tolerância estabelecidos no Regulamento Técnico são consideradas “Fora de Tipo”, podendo ser comercializadas, desde que conste no rótulo a classificação. Além disso, os produtos embalados para a venda direta à alimentação humana deverão conter obrigatoriamente as informações relativas à classificação de Grupo, Subgrupo e Tipo (BRASIL, 2005).

A Instrução Normativa nº 52, de 7 de novembro de 2011 (BRASIL, 2011), estabelece o padrão de classificação de farinhas em três Grupos: I - Seca, II - D'água e III – Bijusada, onde I e III não são produtos fermentados e II é descrita como um produto predominantemente fermentado. São consideradas como “Fora de Tipo” as farinhas de mandioca que excederem os limites estabelecidos, podendo ser comercializadas desde que identificadas como “Fora de Tipo”. A fermentação é uma importante técnica para aumentar o tempo de prateleira da mandioca.

#### 2.4. Fermentação

A fermentação tem participação na alimentação humana desde 8.000 A.C. e representa quase um terço do consumo mundial de alimentos (XIANG *et al.*, 2019). O processo de silagem, tradicionalmente utilizado para conservação de ração e alguns alimentos por longos períodos, é caracterizado pela fermentação láctica em ambiente anaeróbico pela retirada de ar ou por adição de líquido (ARAÚJO *et al.*, 2016).

No caso da mandioca, a fermentação tem como objetivo alterar a estrutura do amido, o que ocorre pela ação de enzimas amilolíticas e ácidos orgânicos. Esse processo fornece carbono para o metabolismo dos agentes fermentadores, principalmente bactérias ácido-láticas (BAL) (ALONSO-GOMEZ *et al.*, 2016 e ZHU, 2015).

A fermentação de mandioca pode melhorar seus valores nutricionais e adicionar características sensoriais desejadas, como aroma e sabor. Esse processo possibilita o aumento

da vida de prateleira dos produtos resultantes, sendo portanto um importante método de conservação (TONETTO, 2018).

A melhora das propriedades funcionais dos alimentos pela fermentação láctica resulta de vários mecanismos: eliminação de fatores antinutricionais; produção de metabólitos com efeito positivo (peptídeos bioativos, exopolissacarídeos); melhora da biodisponibilidade por hidrólise de polímeros (ésteres de compostos fenólicos); aumento dos compostos vitamínicos, entre eles a Vitamina C (LONČAR *et al.*, 2006), e dos compostos minerais e fenólicos, que levam ao aumento da capacidade antioxidante do produto. Também é relatado um efeito positivo na flora intestinal, que resulta em uma maior absorção intestinal de compostos bioativos (SEPTEMBRE-MALATERRE; REMIZE; POUCHERET, 2018).

Os produtos fermentados de mandioca mais consumidos no Brasil são: farinha d'água, polvilho azedo, carimã, pães, a bebida cauim e o destilado tiquira. Com novas tecnologias, foi possível ainda a criação de produtos como etanol, chips, cerveja, vinagre, biofilmes finos, ácido polilático (PLA) e até plástico a base de amido conhecido como *Thermo Plastic Starch* – TPS (SENA *et al.*, 2016).

O consumo do polvilho azedo é difundido em todas as regiões do Brasil, principalmente para uso na panificação. Todavia a farinha d'água ou farinha puba, resultante da fermentação espontânea das raízes da mandioca, apesar de bastante apreciada nas regiões Norte e Nordeste, é pouco conhecida e consumida nas regiões Sul e Sudeste (GARCIA *et al.*, 2016).

A fermentação natural de raízes de mandioca é denominada pubagem e é uma etapa fundamental no preparo da puba ou carimã, um alimento disseminado no Nordeste brasileiro. Esse processo é semelhante a diversos alimentos fermentados de origem africana, como o “Fufu” e o “Gari” (MENEZES; SARMENTO; DAIUTO, 1998). A pubagem é uma tecnologia indígena tradicionalmente feita por imersão das raízes em água, com ou sem casca, com o intuito de amolecer as raízes e conferir sabor e aroma característicos da fermentação (CEREDA; VILPOUX, 2010; MARANHÃO, BASTOS, MARCHI, 2015; MONTEIRO, 1963). Durante a pubagem, parte do amido e a maioria dos nutrientes hidrossolúveis, incluindo os açúcares, são lixiviados e arrastados para a água de fermentação, ocasionando perdas de rendimento e diminuição da qualidade nutricional (CEREDA; VILPOUX, 2010). A massa puba, antes do processo de torra para obtenção da farinha, é o produto brasileiro mais próximo da “Puba 2.0” proposta por Ernst Götsch. O processo de torra se faz necessário devido à dificuldade de conservação do produto em meio aeróbico. A “Puba 2.0” é uma forma de conservação da massa

Puba fresca, sem necessidade de torra ou desidratação, e, em teoria, não apresenta perdas por lixiviação como no caso da puba tradicional.

Na literatura são relatados muitos produtos elaborados a partir da fermentação de mandioca no continente africano. “Agbelima”, “Gari” e “Attieke” são os produtos mais citados para fermentação em estado sólido e “Fufu”, “Lafun” e “Chikwangu” são os produtos fermentados por submersão mais citados (BECHOFF *et al.*, 2017). De acordo com Sobowale *et al.* (2017), o principal produto fermentado de mandioca consumido na África Ocidental é o “Gari”, sendo este o produto fermentado de mandioca, no continente africano, que mais se assemelha à “Puba 2.0”, na literatura consultada. O processamento de Gari consiste na limpeza, descascamento, ralação, e ensacamento em sacos de rafia ou juta, que são prensados gradualmente para retirada de água, os sacos são deixados fermentar por 4 a 5 dias e a massa é depois tostada para ser guardada. (NICOLAU, 2016 e OYEYINKA, *et al.*, 2019). Diferentemente do Gari, a puba 2.0 é prensada antes da ensilagem, que é feita em frascos de vidro em ambiente anaeróbico.

Os principais compostos bioquímicos produzidos durante a fermentação láctica de mandioca responsáveis pela alteração de aroma e sabor são folatos e ácidos orgânicos (FLIBERT; ABEL; ALY, 2016). Os autores Escobar *et al.* (2018) citam a produção de ácidos Oxálico, Cítrico, Málico, Succínico, Fumárico e L-Láctico na produção de Gari, em estudo realizado na Colômbia.

Os autores Pastore; Park e Min (1994) isolaram, a partir de amostras de Beiju, oito cepas diferentes de fungos do gênero *Neurospora sp.* capazes de produzir hexanoato de etila, que confere ao produto aromas frutados agradáveis. Esses autores consideram a Puba como massa de mandioca naturalmente fermentada usada para fermentação de uma bebida alcoólica indígena tradicional no estado do Maranhão. O álcool 1-octen-3-ol, conhecido como "sabor cogumelo" e "sabor cogumelo cru", tem sido produzido por diferentes espécies do gênero *Neurospora sp.* isoladas de Beiju (SARANRAJ; BEHERA; RAY, 2019).

A fermentação é uma técnica antiga que ainda atrai a atenção de diversos pesquisadores pelo mundo. Como seus potenciais e aplicações são extremamente diversos, suas vantagens devem ser avaliadas para cada processo. Algumas limitações para a escala são observadas, por isso é importante conhecer os microrganismos envolvidos, o substrato e as condições de fermentação (SOCCOL *et al.*, 2017). O presente trabalho é dedicado a estudar as características físico-químicas, microbiológicas e o perfil de viscosidade da “Puba 2.0” (fermentado anaeróbico de mandioca), visando popularizar seu processo e uso.

## 2.5. Centesimal

O conhecimento da composição dos alimentos consumidos no Brasil é importante para se alcançar a segurança alimentar e nutricional. As informações de uma tabela de composição de alimentos são fundamentais para o controle de qualidade e avaliação de ingestão de nutrientes em indivíduos ou populações (NEPA, 2011).

Por meio da composição centesimal, autoridades de saúde pública podem estabelecer metas nutricionais e guias alimentares que levem a uma dieta mais saudável. Em um mercado globalizado e competitivo, dados sobre a composição de alimentos auxiliam na comercialização nacional e internacional de produtos alimentícios. A composição centesimal inclui a determinação do teor de umidade, proteínas, lipídeos totais, carboidratos totais, fibra alimentar total e cinzas (NEPA, 2011).

A umidade é um importante parâmetro da estabilidade dos alimentos, e a sua secagem adequada reduz a quantidade de umidade disponível para o crescimento microbiano, aumentando assim a vida útil do produto (ZAMBRANO *et al.*, 2019). Pode ser classificada em: umidade de superfície, que é a água livre ou presente na superfície externa do alimento, facilmente evaporada; e umidade adsorvida, que é a água ligada, localizada no interior do alimento, sem combinar-se quimicamente com ele. A determinação de umidade corresponde à perda em peso sofrida pelo produto quando aquecido em condições nas quais a água é removida, sendo o aquecimento direto da amostra a 105°C o processo mais usual (IAL, 2008).

O papel fundamental da proteína dietética é fornecer nitrogênio e aminoácidos suficientes para garantir o crescimento normal e a renovação corporal dos indivíduos. As diferenças relatadas entre a digestibilidade das proteínas vegetais e animais parecem ser pequenas, ao contrário dos relatos, pois elas não necessariamente são consumidas isoladamente, mas em associação com os alimentos que as contêm, e juntas construirão as características nutricionais finais de uma dieta (MARIOTTI, 2017). A determinação de proteínas baseia-se na determinação de nitrogênio, geralmente feita por alguma modificação do processo de digestão Kjeldahl, idealizado em 1883 e que se baseia em três etapas: digestão, destilação e titulação (IAL, 2008).

Os lipídios são compostos orgânicos altamente energéticos que contêm ácidos graxos essenciais ao organismo e atuam como transportadores das vitaminas lipossolúveis, sendo classificados como simples, compostos e derivados. Quando em temperatura ambiente, os óleos apresentam aspecto líquido e as gorduras, pastoso ou sólido. A determinação de lipídios em alimentos é normalmente realizada utilizando-se solventes em uma extração contínua em

aparelho do tipo Soxhlet, seguida da remoção por evaporação ou destilação do solvente empregado (IAL, 2008).

Os açúcares, ou glicídios, são carboidratos classificados como monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos. Qualquer que seja o produto a ser analisado, faz-se necessário, inicialmente, a obtenção de uma solução dos glicídios presentes na amostra, livres de substâncias interferentes. Os métodos de determinação são baseados nas propriedades físicas das soluções ou no poder redutor dos glicídios mais simples (IAL, 2008). Alguns autores ressaltam que os organismos presentes na fermentação de mandioca são capazes de converter carboidratos, principalmente açúcares redutores, em proteínas (IBARRURI; CEBRIÁN; HERNÁNDEZ, 2019; OBI, 2019 e SALAMI; AKOMOLAFE e OLUFEMI-SALAMI, 2017).

As fibras alimentares são o resíduo orgânico obtido após variadas etapas de extração. Esse resíduo foi inicialmente definido como resultante das paredes celulares vegetais que resistem à ação das secreções do trato gastrointestinal. Atualmente a definição mais aceita é polissacarídeos (exceto amido) e lignina, que não são digeridos pelo intestino delgado humano. Para a análise de alimentos de consumo humano, o conhecimento do teor de fibra alimentar é mais adequado do que o de fibra bruta, sendo classificadas pela solubilidade. As fibras solúveis são responsáveis pelo aumento da viscosidade e incluem as gomas, mucilagens, a maioria das pectinas e algumas hemiceluloses. As fibras insolúveis diminuem o tempo de trânsito intestinal, aumentam o peso das fezes, tornam mais lenta a absorção da glicose, retardam a digestão do amido e incluem a celulose, lignina, hemicelulose e algumas pectinas (IAL, 2008).

A maioria dos alimentos possui ambos os tipos de fibras. As leguminosas e as frutas apresentam um maior teor de fibras solúveis e os grãos, cereais, hortaliças e cascas de frutas apresentam um maior teor de fibras insolúveis. O método mais utilizado atualmente para obtenção do teor de fibras é o enzimático-gravimétrico, que consiste em tratar o alimento com enzimas fisiológicas simulando as condições do intestino humano. Este método permite quantificar por gravimetria as frações solúveis, insolúveis e total. Em seus estudos, Salami; Akomolafe e Olufemi-Salami (2017) confirmaram que a fibra solúvel é utilizada pelos microrganismos durante a fermentação.

Resíduo por incineração, ou cinzas, é o nome dado ao resíduo obtido após aquecimento de um produto na temperatura entre 550-570 °C. É usado para estimar a fração inorgânica dos alimentos, no entanto pode não representar essa fração da amostra, pois alguns sais podem sofrer redução ou volatilização nesse aquecimento (IAL, 2008). Estudos conduzidos por Kasaye *et al.* (2018) avaliaram os teores de Cálcio (Ca), Ferro (Fe) e Zinco (Zn) antes e

depois de fermentar mandioca, e todos os valores reduziram significativamente após a fermentação.

Os processos de aferição do pH podem ser colorimétricos ou eletrométricos. Nos processos eletrométricos empregam-se potenciômetros que permitem uma determinação direta e precisa do pH. A determinação de acidez pode ser um indicador do estado de conservação de um produto alimentício. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, modifica a concentração dos íons de hidrogênio alterando o pH e a acidez, que podem ser determinados (IAL, 2008). Os autores Chisté e Cohen (2011), ao realizarem testes sensoriais de farinhas de mandioca do grupo d'água, concluíram que os provadores possuíram preferência pelo sabor da farinha com maior acidez total.

A vitamina C é historicamente conhecida por conta dos estudos sobre sua deficiência que foi demonstrada ser a causa do escorbuto, doença anteriormente comum entre marinheiros e exploradores. A vitamina C é quimicamente definida como ácido L-ascórbico, um ácido fraco de açúcar, de seis carbonos e com uma estrutura de anel pentágono (IAL, 2008).

As funções fundamentais da vitamina C são a capacidade antioxidante e os efeitos de cofator na síntese de colágeno, carnitina e hormônios como a adrenalina. A produção industrial de vitamina C começou inicialmente pela extração de frutas. O principal processo na síntese industrial é o processo Reichstein-Grüssner (IAL, 2008; e STAHMANN, 2019), no entanto esse processo consome muita energia e conta com o uso de uma série de produtos químicos ambientalmente danosos (YANG e XU, 2016).

No final da década de 1960 fabricantes chineses de vitamina C desenvolveram um processo microbiano de duas etapas que resultaram na formação do composto precursor 2KGA. Embora essa técnica exija um passo de rearranjo químico para alcançar o produto final, resulta em custo mais baixo e menos rejeitos contaminantes (GHOSH; DE e MAITI, 2015; JAGANNATH; RAJU e BAWA, 2012; LI *et al.*, 2019; SUGISAWA *et al.*, 1995; WANG *et al.*, 2018; YANG e XU, 2016 e YE *et al.*, 2014)

A Instrução Normativa – IN nº 75, de 8 de outubro de 2020, estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados (BRASIL, 2020), e foi utilizada no presente trabalho como referência para o cálculo dos valores diários de referência (VDR) e elaboração de tabela de informação nutricional da “Puba 2.0”.

Para o desenvolvimento de novos produtos, além das propriedades físico-químicas, é importante conhecer o comportamento tecnológico para prever as melhores formas de apresentação do produto. No presente estudo, é esperado que a fermentação “Puba 2.0” melhore os valores nutricionais em comparação com a mandioca sem fermentação.

Adicionalmente espera-se aumento do teor de proteínas, vitaminas, redução do teor de açúcares e com alto teor de fibras e com valores de acidez, pH, e cinzas dentro do estabelecido pela legislação vigente no Brasil.

## 2.6. Viscosidade

O amido, nutriente com maior teor nas raízes de mandioca, é um carboidrato composto por amilopectina e amilose, geralmente insolúvel em água fria, que pode gelatinizar com o aquecimento, propriedades que o tornam importante para o preparo de biomateriais. (HAN *et al.*, 2019) A amilose tem uma estrutura linear, enquanto a amilopectina é ramificada (PIROSKI, 2019). O teor de amilose desempenha um papel importante na digestibilidade dos alimentos, pois amidos com baixo teor de amilose são mais fáceis de digerir do que aqueles com alto teor (AGUILAR e VILLALOBOS, 2013). Amidos modificados são usados na indústria, principalmente, para melhorar a reologia, manuseio, textura, solubilidade em água, brilho e emulsificação dos alimentos (FALADE; IBANGA-BAMIJOKO e AYETIGBO, 2019).

A gelatinização ocorre quando o amido nativo é aquecido na presença de umidade suficiente. A água entra inicialmente nos anéis de crescimento amorfos, o grânulo incha, em seguida a água começa a atingir os anéis de crescimento cristalino e, nessa fase, as moléculas de amilose começam a lixiviar, perdendo sua estrutura helicoidal (PIROSKI, 2019).

A viscosidade do sistema aumenta à medida que os grânulos de amido incham. O pico de viscosidade é atingido com o máximo inchamento dos grânulos, sem o seu rompimento. Após o pico, a viscosidade cai por conta da ruptura dos grânulos (PIROSKI, 2019 e ZHU, 2015). Quando é resfriado, o amido gelatinizado pode sofrer um fenômeno denominado retrogradação. Esse fenômeno ocorre porque as moléculas do amido perdem energia e as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes, com as cadeias dos grânulos de amido associando-se em um estado mais ordenado (WATERSCHOOT *et al.*, 2014). Essa associação culmina com a formação de hélices simples e duplas, resultando em zonas cristalinas, o que aumenta novamente a viscosidade (OYEYINKA *et al.*, 2019 e PIROSKI, 2019).

A retrogradação de longo prazo é determinada pela recristalização da amilopectina (ZHU, 2015). A diferença entre a viscosidade final e a mínima é denominada *Setback* e está associada à tendência à retrogradação. A diferença entre a viscosidade de pico e a viscosidade mínima é denominada quebra de viscosidade (PIROSKI, 2019).

As propriedades de pasta são algumas das características mais relatadas do amido e o instrumento mais utilizado para determinar é o Rapid Visco-Analyzer (RVA). Nele os

grânulos de amido, na presença de água, são submetidos a um ciclo de aquecimento e resfriamento programado com uma força de cisalhamento constante, enquanto o desenvolvimento da viscosidade é computado em um software específico (ZHU, 2015).

O poder de expansão é um importante fator para a panificação, especialmente em formulações sem glúten, onde têm sido empregados tanto o polvilho azedo quanto os amidos modificados por ácido, em substituição à farinha de trigo (GERVIN *et al.*, 2016). De acordo com Falade; Ibanga-Bamijoko e Ayetigbo (2019), uma alta viscosidade final (VF) é desejável em alimentos onde o aumento do volume do produto é necessário, como pães e bolos.

O amido de mandioca possui uma temperatura de gelatinização que varia de 49 a 73 °C (AGUILAR e VILLALOBOS, 2013). Em estudos com volume de expansão de biscoitos tipo *cookie*, Carvalho *et al.* (2017) concluíram que a adição de bagaço de mandioca afetou negativamente o volume de expansão do produto.

Dos ácidos orgânicos formados na fermentação, os que apresentam maior influência sobre a expansão são os ácidos lático e acético (GERVIN *et al.*, 2016). A fermentação também pode afetar significativamente as propriedades reológicas dos alimentos por meio da produção de exopolissacarídeos (EPS) e pela gelificação de caseína e outras proteínas. EPS são polissacarídeos extracelulares de origem microbiana, que podem estar ligados à superfície das células microbianas e serem secretados no ambiente extracelular na forma de suspensão ou mucilagem. Os EPS exibem propriedades espessantes, tixotrópicas e pseudoplásticas no iogurte e em alguns outros produtos fermentados (BEVILACQUA; SINIGAGLIA; CORBO, 2016).

Bactérias Ácido Lácticas (BAL) apresentam baixa capacidade de hidrolisar o amido durante o processamento do Fufu (JASKO *et al.*, 2011), pois BAL, em geral, não são amilolíticas. De acordo com Kostinek *et al.* (2005), nenhuma das BAL predominantes de isolados de mandioca fermentada, em seus estudos, apresentaram atividade de amilase, portanto infere-se que o teor de amido não apresentará muita variação na Pb2.

Alguns autores verificaram que diferentes camadas das raízes de mandioca possuem quantidades distintas de amilose e diferentes propriedades de pasta (MONTHE *et al.*, 2019). É relatado por Gervin *et al.* (2016) que os amidos com maior expansão apresentaram as menores tendências à retrogradação. A temperatura de pasta (TP) é a temperatura na qual os cristais de amido começam a derreter. Diferenças significativas na TP entre as farinhas de mandioca sugerem diferenças na genética e composição da cultivar (FALADE; IBANGA-BAMIJOKO; AYETIGBO, 2019). Diante do exposto, acredita-se que a entrecasca possa afetar significativamente a viscosidade do produto “Puba 2.0”.

A mandioca fermentada é, geralmente, cozida em pasta antes do consumo, por isso as propriedades de pasta tornam-se importantes na previsão do comportamento da farinha de mandioca durante e após o cozimento (ROSALES-SOTO *et al.*, 2016). A “Puba 2.0” é sugerida para ser consumida como Beiju ou Tapioca, preparada em frigideira. No entanto o estudo das propriedades de pasta pode auxiliar na elaboração de novos produtos que utilizem “Puba 2.0” como matéria prima e permitir a comparação com produtos fermentados de mandioca tradicionalmente usados, como o polvilho azedo. Uma vez investigados os aspectos físico-químicos e tecnológicos da “Puba 2.0”, é fundamental avaliar a qualidade microbiológica desse produto para garantir a segurança sanitária desse processo fermentativo, e permitir testes de aceitação do consumidor.

## 2.7. Qualidade Microbiológica

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças transmitidas por alimentos (DTA) são aquelas de natureza infecciosa ou tóxica causadas pela ingestão de alimentos ou água contaminados por agentes biológicos, químicos e físicos, representando um sério risco à saúde (BRASIL, 2010; CAMPOS *et al.*, 2016; MELO *et al.*, 2018). Dentre os principais sintomas, estão náuseas, vômitos e diarreias, acompanhadas ou não de febre (BRASIL, 2010; MENDES e RIBEIRO, 2021).

No Brasil, foi implantado em 1999 o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA), no entanto, o desempenho de controle de DTAs entre os estados ainda é heterogêneo. De acordo com dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), as regiões Sudeste e Sul apresentaram os maiores índices de DTA no Brasil, seguidos pela região Nordeste em terceiro lugar (BRASIL, 2018). Existem muitos casos subnotificados, principalmente em regiões remotas, o que pode alterar a classificação real de casos por região (MENDES e RIBEIRO, 2021). As bactérias causadoras de DTA são divididas em grupos de acordo com as manifestações clínicas. As principais infecciosas são *Salmonella*, *Campylobacter* e *E. coli*; as principais intoxicantes são *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens* (BRASIL, 2010).

A Resolução - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019, da Anvisa (BRASIL, 2019), dispõe sobre Os Padrões Microbiológicos de Alimentos e sua Aplicação, apresentando, em seu anexo I, os limites a serem considerados para cada classe de produto. A “Puba 2.0” foi

classificada no Item 19 – “Cereais, Farinhas, Massas Alimentícias e Produtos de Panificação” e Subitem c) “Massas alimentícias frescas e produtos semielaborados”.

Essa classificação foi escolhida por representar os padrões microbiológicos mais criteriosos, por se tratar de um produto que necessita de um processo de cocção ou forneamento prévio, como descrito por Ernst Götsch no vídeo produzido por Andrade e Pasini (2014). As análises determinadas pelo Anexo I da RDC nº 331, de 2019, (BRASIL, 2019) são: Contagem de *Escherichia coli*, Contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva, Contagem Presuntiva de *Bacillus cereus*, Contagem Total de Bolores e Leveduras e Detecção de *Salmonella sp.*

As bactérias da espécie *E. coli* são bastonetes gram-negativos, não esporulados, anaeróbicas facultativas e pertencentes à família Enterobacteriaceae. Estão presentes na microbiota intestinal normal dos humanos e de muitos outros animais e podem fazer parte da microflora do solo (DRIEHUIS *et al.*, 2018). Algumas cepas de *E. coli*, frequentemente, causam inflamação do epitélio intestinal com consequente quadro de diarreia e vômitos em indivíduos infectados. São ingeridas através de alimentos e água contaminados, comuns em países em desenvolvimento (ADEGBEHINGBE *et al.*, 2019).

As bactérias da espécie *Staphylococcus aureus*, pertencentes à família Micrococcaceae, comumente identificados na pele e cavidades nasais de humanos, são cocos gram-positivos e anaeróbicas facultativas, mas que têm maior crescimento sob condições aeróbicas. A intoxicação alimentar por *S. aureus* é uma DTA comum, normalmente provocada por alimentos contaminados deixados em uma faixa de temperatura de 36°C, ideal ao crescimento desse microrganismo. Suas cepas são resistentes ao calor, mas são facilmente destruídas na pasteurização ou cocção, ao contrário de suas toxinas, que suportam tratamentos térmicos severos, como a esterilização de alimentos (MELO *et al.*, 2018).

As bactérias da espécie *Bacillus cereus* são bastonetes gram-positivos, esporogênicos, aeróbicos e anaeróbicos facultativos, podendo ser encontrados no solo, em vegetais e em muitos alimentos crus ou processados. Sua temperatura ótima de crescimento é entre 30° e 40°C e o pH ótimo varia entre 6,0-7,0. Os alimentos mais frequentemente envolvidos em surtos de contaminação são proteínas ou produtos amiláceos cozidos, pois tanto o cozimento como a refrigeração inadequada podem ativar os esporos levando-os a germinar e produzir toxinas (MENDES, 2021). A verificação da presença de *B. cereus* é importante porque suas toxinas podem causar intoxicações com quadros de diarreias e vômitos. Existem relatos de bactérias ácido lácticas (BAL) que atuam como inibidoras do patógeno *B. cereus*, devido à produção de compostos antimicrobianos como peróxido de hidrogênio, diacetil e bacteriocinas (PENIDO *et al.*, 2018).

As salmonelas são bactérias em formato de bacilo, gram-negativas, não encapsuladas, anaeróbicas facultativas e que não esporulam. O gênero *Salmonella* é o mais importante da família Enterobacteriaceae, sendo composto pelas espécies *Salmonella bongori* e *Salmonella entérica*, subdividida em seis subespécies (CARDOSO e TESSARI, 2013). Estas bactérias podem estar presente no solo, na água e nas fezes humanas e de animais (MENDES, 2021). As infecções causadas pelas bactérias do gênero *Salmonella* são consideradas importantes causas de DTA (NICOLAU, 2016 e ZHANG *et al.*, 2019) e costumam apresentar três classificações: a febre tifoide, causada pela *Salmonella Typhi*; as febres entéricas, causadas por *S. Paratyphi*; e as enterocolites ou salmoneloses, causadas pelas demais salmonelas (MELO *et al.*, 2018).

*Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium* são comumente identificadas em fermentação de tubérculos de mandioca (KAMAL *et al.*, 2018). *Staphylococcus aureus* é considerado a principal causa para intoxicação alimentar e gastroenterite em todo o mundo (ABDELFATAH; MAHBOUB, 2018). Assim, a falta de boas práticas de higiene durante a produção de fermentados de mandioca constitui um fator de risco de contaminação alimentar por microrganismos patogênicos como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia*, *Shigella*, *Samonella*, *Clostridium* e suas toxinas (MUANDZE NZAMBE *et al.*, 2017). Para manter essas boas práticas higiênicas entre manipuladores e fornecedores de alimentos, a educação deve ser levada em consideração (OMAFUVBE *et al.*, 2007).

As micotoxinas, que são metabólitos fúngicos, representam outra preocupação e risco quando presentes em produtos fermentados de mandioca. As micotoxinas podem causar doenças de gravidade variada e até mesmo morte em animais e seres humanos (SHUKLA *et al.*, 2017). Por isso a importância de avaliar a presença de bolores e leveduras em alimentos. O crescimento de fungos patogênicos pode acontecer durante a fermentação em estado sólido, se não for conduzida adequadamente, ou durante o armazenamento em condições úmidas (NICOLAU, 2016). Ressalta-se, entretanto, que a fermentação bem conduzida é um processo viável para a redução de micotoxinas (ADEBIYI *et al.*, 2019).

Quando os produtos fermentados de mandioca são obtidos em nível industrial, os riscos de contaminação são facilmente controlados pelos Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (SAPPCC, derivada do inglês HACCP)) (BRASIL, 2002). Porém, quando resultantes da produção doméstica, caso da maioria dos produtos no continente africano e em algumas regiões do Brasil, a educação dos membros domésticos torna-se essencial (NICOLAU, 2016).

## 2.8. Bactérias Ácido Lácticas

Os principais microrganismos envolvidos na fermentação espontânea de mandioca citados na literatura consultada são Bactérias Ácido Lácticas (BAL). A fermentação de alimentos é considerada um método de conservação de alimentos principalmente pelo aumento da acidez promovida pelo crescimento bacteriano e também pela produção de bacteriocinas (COULIN *et al.*, 2006; FRANZ *et al.*, 2014; KAMAL *et al.*, 2018; MUANDZE NZAMBE *et al.*, 2017). Estudos constataram que bacteriocinas são proteínas com atividade antimicrobiana (FOSSI e NDJOUENKEU, 2017), o que é valioso do ponto de vista da segurança alimentar. Portanto, a segurança dos produtos fermentados pode ser melhorada selecionando-se culturas de BAL com propriedades antimicrobianas, como culturas *starters* (ANYOGU *et al.*, 2014).

Em um estudo amplo de revisão bibliográfica a respeito de segurança em produtos fermentados de mandioca, Nicolau (2016) relatou que em vários estudos consultados, independente do produto, o *Lactobacillus plantarum* é a espécie que predomina no processo fermentativo da mandioca, seguido por outros lactobacilos (*L. fermentum*, *L. brevis*, *L. fallax*, *L. cellobiosus*, *L. coprophilus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*), por espécies do gênero *Leuconostoc spp.* (*L. mesenteroides*, *L. pseudomesenteroides*, *L. fallax*, *L. lactis*), por espécies do gênero *Lactococci* (*Lactococcus lactis*) e por espécies do gênero *Weissella spp.* (*Weissella beninensis*, *W. ghanensis*, *W. koreensis*). Os autores Elijah *et al.*, 2014; Flibert; Abel e Aly, 2016; Kostinek *et al.*, 2005; Njoku e Obi, 2010; Penido *et al.*, 2018; e Pereira, 2016, também citam o *Lactobacillus plantarum* como a espécie dominante na fermentação de mandioca seguidas por *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Enterococcus*.

*Lactobacillus plantarum* é descrito como inibidor de muitos fungos e bactérias deteriorantes, em processos de fermentação tradicionais da África Oriental (Tanzânia) e da África Ocidental (Gana) (COULIN *et al.*, 2006; FRANZ *et al.*, 2014; e KAMAL *et al.*, 2018)

Os ácidos orgânicos produzidos pelas BAL, especialmente o ácido láctico e o ácido acético, são responsáveis pela redução do pH, influenciando o sabor do produto e reduzindo a deterioração causada por bactérias e bolores (TONETTO, 2018). Algumas espécies de BAL são capazes de produzir ácido ascórbico (Vitamina C) (ADETUYI e IBRAHIM, 2014; BUCKENHUESKES, 2015; KAPRASOB *et al.*, 2017; LONČAR *et al.*, 2006; OGUNTOYINBO *et al.*, 2016; SAVADOGO; GUIRA; e TAPSOBA, 2016; TOKA; DJENI; e BOUATENIN, 2016; e XIA *et al.*, 2019) e os pesquisadores Revuelta *et al.* (2016) afirmaram que as BAL podem ser uma fonte de cepas para o desenvolvimento e a produção de vitaminas industriais.

A espécie *Leuconostoc mesenteroides* é citada como produtora de exopolissacarídeos (EPS), que conferem propriedades antioxidantes naturais (LI *et al.*, 2020), antiinflamatórias (KOOK *et al.*, 2019) e inibitórias de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Staphylococcus aureus* (COULIBALY *et al.*, 2017) e de *Listeria monocytogenes* em produtos frescos (alface) (HOSSAIN *et al.*, 2020).

Microrganismos naturais que concedem benefícios comprovados à saúde do hospedeiro são chamados de probióticos. Algumas espécies de BAL, citadas com frequência em fermentados de mandioca, são consideradas com potencial probiótico (FREIRE; RAMOS; SCHWAN, 2015). A legislação brasileira define probiótico como microrganismo vivo que, quando administrado em quantidades adequadas, confere um benefício comprovado à saúde do indivíduo (BRASIL, 2018).

O estudo de alimentos probióticos representa uma área promissora da indústria, pois possibilita a elaboração de alimentos com propriedades benéficas, mantendo os padrões de qualidade exigidos pela legislação brasileira (SILVA e ORLANDELLI, 2019). Entre os fatores que impulsionam o desenvolvimento de produtos probióticos não lácteos estão o aumento do número de vegetarianos (incluindo veganos), a intolerância à lactose, alergia às proteínas do leite, o teor de colesterol dos produtos lácteos e a necessidade permanente de inovação da indústria de alimentos (VINDEROLA; BURNS; REINHEIMER, 2017).

As BAL com potencial probiótico comprovado pertencem aos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* e *Leuconostoc* (AHAOTU *et al.*, 2017; ALMUTAIRI *et al.*, 2020; D'ANGELO *et al.*, 2017; DÍAZ *et al.*, 2018; DONG *et al.*, 2021; HERNANDEZ-VALDES *et al.*, 2020; LEE e KIM, 2019; MOKOENA, MUTANDA, OLANIRAN, 2016; OLIVEIRA e GONZÁLES-MOLERO, 2016; SANTOS *et al.*, 2016; XIANG *et al.*, 2019; WALTHER e SCHMID, 2017; e YERLIKAYA, 2019). BAL comprovadamente probióticas foram isoladas de produtos fermentados a partir do produto de mandioca “Gari” conforme relatado por Mokoena, Mutanda e Olaniran (2016).

### 3. OBJETIVO GERAL

Desenvolver produto obtido da silagem de mandioca proposta por Ernst Götsch (“Puba 2.0”) e analisar as suas características físico-químicas, tecnológicas e microbiológicas sob diferentes tratamentos.

#### **4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Determinar o ponto de estabilidade da fermentação (PEF) da “Puba 2.0”;
- b) Obter os dados de rendimento de cada operação da elaboração do produto “Puba 2.0”;
- c) Testar o efeito do sistema de cultivo orgânico (SCO) e convencional (SCC) e de processamento com entrecasca (CE) e sem entrecasca (SE), como tratamentos adicionais no desenvolvimento do produto;
- d) Determinar pH, acidez Titulável e composição nutricional , para todos os tratamentos antes e depois da fermentação (“Puba 2.0”);
- e) Realizar o perfil de viscosidade dos produtos obtidos pelos diferentes tratamentos;
- f) Verificar a qualidade microbiológica dos produtos obtidos pelos diferentes tratamentos;
- g) Identificar as bactérias ácido lácticas (BAL) presentes nas amostras obtidas dos diferentes tratamentos.

#### **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

##### **5.1. Raízes de Mandioca**

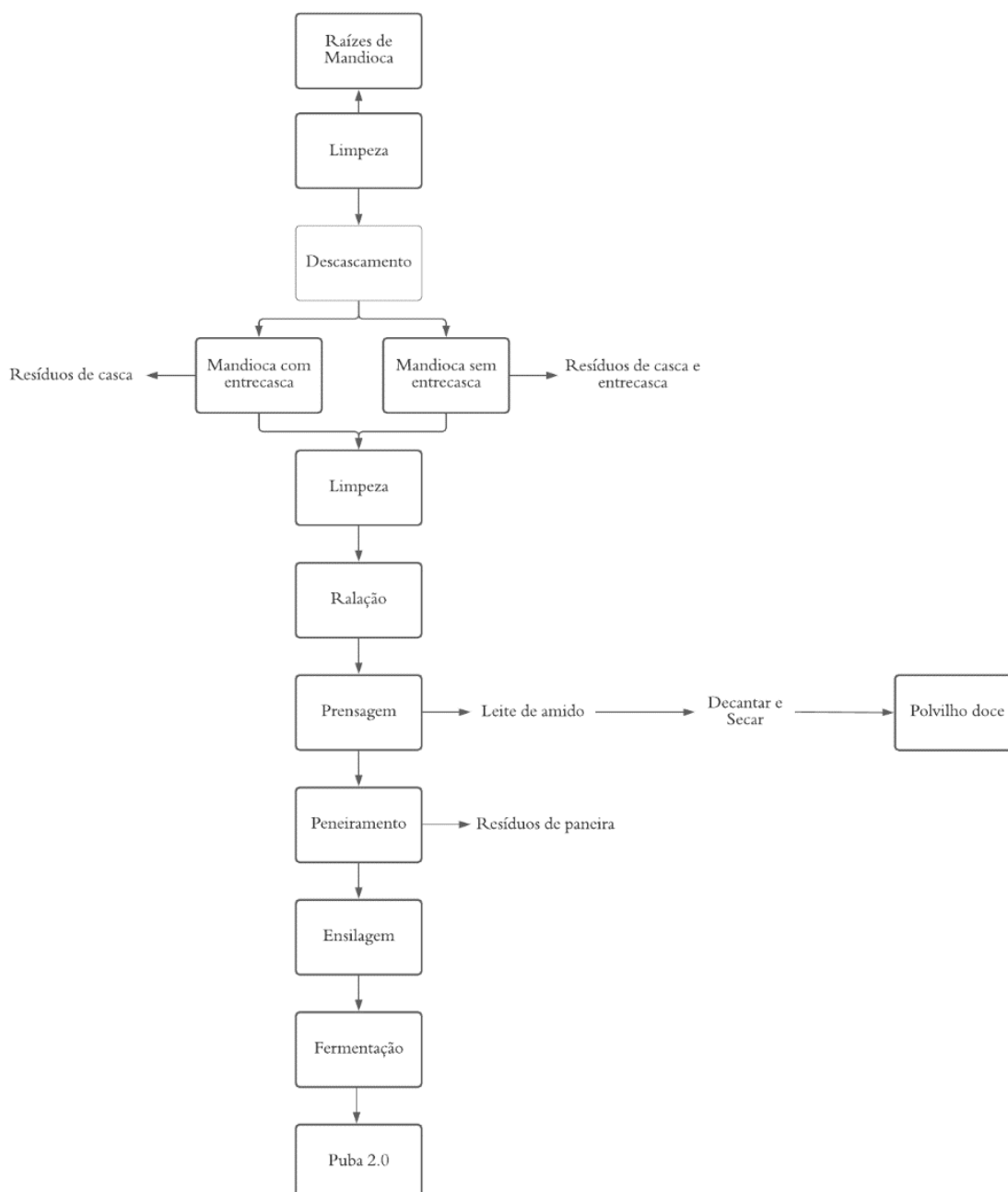
As raízes de mandioca, variedade cacau amarela, cultivadas sob sistema convencional foram adquiridas na Central de Abastecimento de Anápolis (CEASA – Anápolis, GO), provenientes de uma das fazendas do município de Teresópolis, Goiás, Brasil, localizada nas coordenadas 16°29'13.9"S e 49°08'13.1"W. O plantio foi realizado, pelo produtor, em novembro de 2019 sendo que as raízes de mandioca utilizadas no Experimento 1 foram colhidas, pelo produtor, no dia 05 de julho de 2020 e as raízes utilizadas no Experimento 2 foram colhidas, pelo produtor, no dia 26 de julho de 2020.

As Raízes de mandioca, variedade cacau amarela, cultivadas sob sistema orgânico foram adquiridas da Estância Arcos da Boa Vista, propriedade certificada pelo organismo certificador IBD certificações. A propriedade está localizada no município de Goianira, Goiás, Brasil, nas coordenadas 16°29'04.9"S e 49°24'03.3"W. O plantio foi realizado em dezembro de 2019 e a colheita realizada no 26 de julho de 2020.

## 5.2. Elaboração da “Puba 2.0”

O fluxograma da Figura 1 mostra a sequência das principais etapas utilizadas para a elaboração da Pb2, adaptado de Andrade e Pasini (2014).

Figura 1 - Fluxograma de produção da “Puba 2.0”



Fonte: Autor, adaptado de Andrade e Pasini (2014)

Todas as etapas do fluxograma da Figura 1 foram realizadas tanto para as raízes de mandioca do SCC quanto para as de SCO. Após a coleta, as raízes foram higienizadas com

água potável, retirando-se a terra e outros detritos com auxílio de escova de limpeza de frutas. Após a limpeza, as raízes foram arejadas e determinadas a massa de 12,0 kg de raízes para cada tratamento, em balança de semi precisão (US 15/5 POP-S, Urano, Belo Horizonte, Brasil).

A remoção da película corticácea e da entrecasca foi feita com ajuda de uma faca para frutas e legumes de aço inoxidável de 20 cm. As raízes dos tratamentos foram lavadas novamente com água potável e raladas, separadamente, com auxílio de um ralador elétrico (B145A, Botini, São Paulo, Brasil). A massa ralada passou para a etapa de prensagem utilizando-se uma prensa de rosca manual de aço inoxidável, com capacidade de 30 L. Com a prensagem, separou-se a água de amido, conhecida como “leite” de amido da massa de mandioca, que foi coletado em garrafas de Polietileno Tereftalato (PET) de 1 L para decantação do polvilho.

A massa de mandioca prensada foi peneirada em peneira de aro plástico com chapa metálica da marca TELAS MM (modelo Feijão 55) com malha de 5 mm, obtendo-se, dessa forma, distintas massas de mandioca sem fermentar (MSF) para cada tratamento. As MSFs foram ensiladas sob compressão manual com intuito de retirar o ar entre as camadas de MSF, com auxílio de um pilão de polipropileno. No Experimento 1 foram utilizados frascos de Poliestireno tipo cristal de 200 mL com tampa rosca hermética e no Experimento 2 foram utilizados frascos de vidro de 598 mL com tampa rosca hermética. Os frascos foram ensilados de tal forma que o peso final, a diferença fosse a mesma de acordo com a precisão da balança de semi-precisão citada acima. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

### **5.3. Locais e Período do Estudo**

O preparo da silagem, o cálculo de rendimento, a determinação do PEF e as análises de pH, acidez total titulável, composição centesimal, açúcares redutores, amido e teor de vitamina C foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos (LANAL) da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás – UFG (Goiânia – GO).

As análises de Fibras alimentares foram realizadas no Laboratório Amazile Biagioni Maia (LABM) (Belo Horizonte – MG).

O perfil de viscosidade (RVA) foi realizado no Laboratório de Aproveitamento de Resíduos e Subprodutos Agroindustriais (LABDARSA) da Universidade Federal de Goiás (Goiânia – GO).

As análises de qualidade microbiológica foram realizadas no Centro de Pesquisa de Alimentos (CPA) da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (Goiânia – GO).

As análises de identificação bacteriana foram realizadas no laboratório NEOPROSPECTA Microbiome Technologies (Florianópolis – SC).

#### **5.4. Delineamento experimental**

No presente estudo foram realizados dois experimentos: No primeiro experimento, foram realizados ensaios preliminares de fermentação sobre a massa de mandioca do SCC com entrecasca (SCC1) e sem entrecasca (SCC2) com objetivo de alcançar um tempo onde o pH da massa fermentada começa a permanecer estável, o qual foi denominado de ponto de estabilidade da fermentação (PEF). Já o segundo experimento foi realizado com a finalidade de estudar o efeito da fermentação “Puba 2.0”, da entrecasca e do sistema de cultivo da mandioca sobre o rendimento, as propriedades físico-químicas, reológicas e microbiológicas das amostras elaboradas. Todas as etapas foram feitas em triplicata

##### **5.4.1. Experimento 1: Determinação do Ponto de Estabilização da Fermentação**

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 14. Os tratamentos foram: raízes de mandioca em cultivo convencional com e sem entrecasca (SCCE e SCCS, respectivamente) e tempo de fermentação de 0 a 14 dias ( $T_{f0}$  a  $T_{f14}$ ).

A fermentação foi natural, isto é, os frascos contendo a silagem de mandioca foram acondicionados em temperatura ambiente (cerca de 25 a 35°C) e sem inóculo controlado de microrganismos. A massa, o pH e a acidez titulável de cada tratamento foram registrados desde o início do experimento e em cada tempo de fermentação. A medida da massa, em gramas, foi registrada com a finalidade de realizar cálculos do rendimento do processo de obtenção da “Puba 2.0”.

#### 5.4.2. Experimento 2: Efeito da fermentação, da entrecasca e do sistema de cultivo nas características físico-químicas, tecnológicas e microbiológicas

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2 x 2, com três repetições. Os fatores foram: com entrecasca e sem entrecasca (CE e SE, respectivamente), sistema de cultivo convencional (SCC) e orgânico (SCO) e fermentada e sem fermentar (F e SF, respectivamente). A MSF de cada tratamento foi elaborada seguindo as mesmas etapas estabelecidas no fluxograma da Figura 1.

Os tratamentos foram nomeados: T1 - convencional com entrecasca sem fermentar (CCS); T2 - convencional sem entrecasca sem fermentar (CSS); T3 - orgânica com entrecasca sem fermentar (OCS); e T4 - orgânica sem entrecasca sem fermentar (OSS).

Para obter os tratamentos com fermentados, os frascos contendo as silagens foram condicionados a temperatura ambiente e deixados a fermentar naturalmente até o tempo estabelecido no estudo do ponto de estabilização da fermentação do item 6.1. Após a fermentação, as amostras foram condicionadas e identificadas em embalagens de PEBD de 2 kg, e mantidas sob refrigeração de -20°C, em até 60 dias, para posteriores análises das propriedades físico-químicas, microbiológicas e reológicas. Após a fermentação, os tratamentos T1, T2, T3 e T4 resultaram, respectivamente, nos tratamentos: T5 - convencional com entrecasca fermentada (CCF); T6 - convencional sem entrecasca fermentada (CSF); T7 - orgânica com entrecasca fermentada (OCF); e T8 - orgânica sem entrecasca fermentada (OSF).

#### 5.5. Cálculo do rendimento

O rendimento foi calculado em dois momentos. No primeiro, foram aferidas as massas da mandioca *in natura* e em cada etapa do processamento. O rendimento do processamento foi calculado de acordo com a seguinte equação (1):

$$\text{Rendimento do processamento (\%)} = \frac{\text{massa da MSF}}{\text{Massa da mandioca } in \text{ natura}} \times 100 \quad (1)$$

No segundo, o rendimento final da “Puba 2.0” foi calculado após o produto pronto, em comparação com a quantidade de MSF ensilada nos frascos, de acordo com a seguinte equação (2):

$$\text{Rendimento da “Puba 2.0” (\%)} = \frac{\text{massa da “Puba 2.0”}}{\text{Massa da MSF}} \times 100 \quad (2)$$

## 5.6. Propriedades físico-químicas

A avaliação do pH foi feita com a utilização de um potenciômetro digital (AD1000, ADWA, Szeged, Hungria e seguiu a metodologia **017/IV** (IAL, 2008).

A acidez titulável foi calculada seguindo metodologia de acidez álcool-solúvel **415/IV** (IAL, 2008), onde 2,5g de amostra foram diluídas em 50 mL de álcool p.a. e mantidas em repouso por 24h. Após, as amostras foram tituladas com hidróxido de sódio fatorado 0,1N. A titulação foi feita com auxílio de uma bureta digital TITRETTE 50ml CLASSE A. Os dados foram expressos como mL de solução de NaOH/100g.

Os valores de umidade foram determinados seguindo metodologia oficial **935.29** (AOAC, 2019), onde 10 g da amostra foram submetidos a secagem em estufa de secagem e esterilização (TE 393/1, TECNAL, Piracicaba, Brasil), na temperatura de 105°C, até peso constante na terceira casa decimal e os dados foram expressos como g(100g)<sup>-1</sup>.

Os teores de cinzas foram determinados utilizando metodologia oficial **923.03** (AOAC, 2019), onde 2g da amostra seca em estufa, previamente calcinada em chama direta, foram submetidos a incineração em forno mufla (EDG 10P, EDG, São Carlos, Brasil), na temperatura de 550°C, até peso constante na terceira casa decimal e os dados foram expressos como g(100g)<sup>-1</sup>.

Os teores de lipídios, ou extrato etéreo, foram determinados utilizando metodologia oficial **2003.05** (AOAC, 2019), onde 3g da amostra seca foram submetidos a extração em aparelho Soxhlet, por 2h, utilizando o solvente éter de petróleo. Os dados foram expressos como g(100g)<sup>-1</sup>.

Os teores de proteínas foram determinados utilizando metodologia oficial **960.52** (AOAC, 2019), onde 0,1g da amostra seca foram submetidos à digestão e posterior titulação, seguindo método padrão de Micro-Kjeldahl. Os dados foram expressos como g(100g)<sup>-1</sup>.

Os valores de açúcares redutores foram determinados utilizando metodologia oficial **923.09** (AOAC, 2019), que é conhecido como método de Lane-Eynon, onde 25 g da

amostra fresca foram diluídos em 100 mL de água destilada, e adicionados 10 mL das soluções de Fehling A e B. A solução foi submetida a aquecimento e titulação para determinação final. Os dados foram expressos como  $\text{g}(100\text{g})^{-1}$ .

Os valores de açúcares totais foram determinados utilizando metodologia oficial **958.06** (AOAC, 2019), onde 25g da amostra fresca foram diluídas em 250 mL de água destilada, submetidas a uma hidrólise ácida utilizando 2 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl) e aquecidas por 60 min em banho-maria a 60°C. Após resfriamento, foi feito o mesmo procedimento de Lane-Eynon **923.09** (AOAC, 2019). Os dados foram expressos como  $\text{g}(100\text{g})^{-1}$ .

Os valores de amido foram determinados utilizando metodologia oficial **958.06** (AOAC, 2019), onde 10 g da amostra fresca foram diluídas em 250 mL de água destilada, submetidos a uma hidrólise fortemente ácida pela adição de 10 mL ácido clorídrico concentrado (HCl) e, posteriormente, submetidos a aquecimento com refluxo por 30 min a 120°C. Após o resfriamento, foi feito o mesmo procedimento de Lane-Eynon **923.09** (AOAC, 2019). Os dados foram expressos como  $\text{g}(100\text{g})^{-1}$ .

Os teores de ácido ascórbico (Vitamina C) foram determinados utilizando metodologia oficial **967.21** (AOAC, 2019), onde 30 g de amostra fresca foram submetidas a titulação com indicador sal de sódio de 2,6-diclorofenolindolfenol. Os dados foram expressos como  $\text{mg}(100\text{g})^{-1}$ .

Os valores de fibras solúveis, insolúveis e totais foram determinados utilizando método enzimático-gravimétrico oficial **991.43** (AOAC, 2019). Os dados foram expressos como  $\text{g}(100\text{g})^{-1}$ .

Os valores energéticos das amostras foram determinados de acordo com a Instrução Normativa – IN nº 75, de 8 de outubro de 2020, que estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados (BRASIL, 2020) usando a seguinte equação (3):

$$(3) \text{ Energia (kcal/100 g)} = 4 \cdot (\text{g proteínas} + \text{g carboidratos}) + 2 (\text{g FAS}) + 9 (\text{g lipídios})$$

## 5.7. Qualidade Microbiológica

As análises de qualidade microbiológica foram obtidas por plaqueamento e incubação, sob responsabilidade técnica do CPA-UFG, e seguiram as seguintes metodologias oficiais: Contagem de *Escherichia coli* **991.14** (AOAC, 2019); Contagem de *Staphylococcus*

Coagulase Positiva **6888-1:1999** (ISO, 1999); Contagem Presuntiva de *Bacillus cereus* **7932:2004** (ISO, 2004); Contagem Total de Bactérias Ácido Lácticas **15214:1998** (ISO, 1998); Contagem Total de Bolores e Leveduras **21527-2:2008** (ISO, 2008); Detecção de *Salmonella* sp. **6579-1:2017** (ISO, 2017).

A identificação de bactérias ácido lácticas foi realizada no laboratório NEOPROSPECTA Microbiome Technologies (Florianópolis – SC) e seguiu metodologia de Christoff *et al.* (2017), na qual é feita uma triagem de alta sensibilidade do gene 16S rRNA usando uma PCR de duas etapas. Para aumentar a precisão nos resultados, a região hipervariável V3-V4 do gene 16S rRNA foi amplificada com DNA polimerase padrão.

## 5.8. Propriedades reológicas

Determinou-se o perfil de viscosidade em equipamento RVA (RVA 4500, Perten, Macquarie Park, Austrália), seguindo o método padrão número 1 do seu manual. É importante considerar alguns aspectos de preparação das amostras, como o tipo de moinho e tamanho de partículas do material a ser analisado no RVA. As amostras moídas em moedor de café (Di grano, Cadence, Balneário Piçarras, Brasil), foram peneiradas até passar pelos furos de uma peneira de aço inoxidável de 250 µm/60 mesh.

Para a análise no RVA, adicionou-se água destilada, até peso final de 28,5 g, em 3,5 g de amostra com umidade corrigida para 14% (em base úmida). Aumentou-se a temperatura inicial de 50°C gradualmente para 95°C, com taxa de aquecimento de 10°C / min, permanecendo constante nessa temperatura por 2 min. O resfriamento também ocorreu gradualmente até atingir a temperatura final de 50°C, seguindo a mesma taxa de 10°C/min, permanecendo constante nessa temperatura por 2 min. Desse modo, foram obtidos viscoamilogramas para cada tratamento e para sua interpretação foram considerados os seguintes parâmetros: Viscosidade Máxima (VMAX), Viscosidade Mínima (VMIN), Quebra de Viscosidade (QV), Viscosidade Final (VF), Temperatura de Pasta (TP) e Tempo de viscosidade Máxima (TVM).

## 5.9. Análises estatísticas

Foram realizadas análises descritivas dos resultados, onde as médias de três repetições e respectivos desvios padrão amostral dos resultados obtidos no presente estudo foram descritos em forma de tabelas e figuras.

Os resultados do Experimento 1 foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de probabilidade, para verificar os efeitos que causam a presença de entrecasca (EC) e o tempo de fermentação (TF) no rendimento em massa da “Puba 2.0”, no pH e na acidez total titulável da massa de mandioca fermentada. Quando significativa a interação EC x TF, aplicou-se análise de regressão até terceiro grau para TF e teste t de médias para EC (PIMENTEL-GOMES, 1995). Aplicou-se análise de correlação de Pearson entre as respostas pH e ATT.

Os resultados do Experimento 2 foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de probabilidade, para verificar os efeitos que causam o sistema de cultivo de raízes de mandioca (SC), a entrecasca (EC) e a fermentação (F) nas propriedades físico-químicas, reológicas e microbiológicas das amostras analisadas. Quando significativa a interação SC x EC x F, aplicou-se ANOVA, seguida do teste de Duncan.

Os resultados foram avaliados com auxílio do software Statistica para Windows versão 12.0.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. Experimento 1 - Determinação do Ponto de Estabilização da Fermentação

A determinação da acidez é de grande importância, uma vez que sugere a qualidade das características químicas e sensoriais (Ribeiro *et al.*, 2016), reduz os resíduos pós-colheita e possibilita o consumo de produtos agrícolas processados fora dos períodos de colheita (ESCOBAR *et al.*, 2018).

A Instrução Normativa nº 52, de 7 de novembro de 2011 (BRASIL, 2011b), que estabelece o Regulamento Técnico da Farinha de Mandioca, define que as farinhas Grupo D'água (fermentadas) que apresentem valores de até 5,0 meq de NaOH (0,1N)/100g são consideradas de acidez aquosolúvel baixa, e acima desse valor são consideradas de acidez alta.

A Instrução Normativa nº 23, de 14 de dezembro de 2005 (BRASIL, 2005), que apresenta o “Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Amiláceos

Derivados da Raiz de Mandioca”, possibilita a classificação da “Puba 2.0” como Grupo II – Tapioca, Subgrupo Granulada, Fora de Tipo. Os produtos do Grupo II não possuem limites de pH e acidez estabelecidos.

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios e desvios padrão das determinações da acidez total titulável das “Puba 2.0” submetidas a diferentes tempos de fermentação.

Tabela 1 - Valores médios e desvios padrão da acidez total titulável (ATT) e pH determinados nas silagens de mandioca com entrecasca e sem entrecasca submetidas a diferentes tempos de fermentação.

| <b>Tempo de<br/>fermentação<br/>(dias)</b> | <b>Com entrecasca</b>                |           | <b>Sem entrecasca</b>                |           |
|--------------------------------------------|--------------------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------|
|                                            | <b>ATT</b><br>(mL ác. láctico/100 g) | <b>pH</b> | <b>ATT</b><br>(mL ác. láctico/100 g) | <b>pH</b> |
| 0                                          | 0,23±0,02                            | 6,37±0,04 | 0,19±0,06                            | 6,61±0,02 |
| 1                                          | 0,26±0,02                            | 6,15±0,01 | 0,22±0,02                            | 6,32±0,02 |
| 2                                          | 0,33±0,06                            | 5,91±0,02 | 1,25±0,03                            | 4,90±0,01 |
| 3                                          | 1,03±0,06                            | 5,33±0,06 | 1,81±0,19                            | 4,68±0,02 |
| 4                                          | 1,91±0,12                            | 4,96±0,01 | 1,86±0,01                            | 4,60±0,01 |
| 5                                          | 2,09±0,09                            | 4,86±0,02 | 1,95±0,3                             | 4,62±0,01 |
| 6                                          | 2,33±0,06                            | 4,80±0,02 | 1,98±0,07                            | 4,59±0,01 |
| 7                                          | 2,54±0,14                            | 4,75±0,01 | 2,04±0,03                            | 4,61±0,01 |
| 8                                          | 2,86±0,08                            | 4,73±0,02 | 2,28±0,06                            | 4,63±0,01 |
| 9                                          | 2,95±0,04                            | 4,67±0,01 | 2,21±0,04                            | 4,63±0,00 |
| 10                                         | 3,21±0,24                            | 4,67±0,01 | 2,48±0,06                            | 4,58±0,00 |
| 11                                         | 3,53±0,26                            | 4,61±0,01 | 2,54±0,15                            | 4,62±0,01 |
| 12                                         | 3,38±0,27                            | 4,63±0,01 | 2,68±0,06                            | 4,57±0,01 |
| 13                                         | 3,59±0,30                            | 4,55±0,00 | 2,57±0,08                            | 4,51±0,01 |
| 14                                         | 4,03±0,34                            | 4,55±0,01 | 2,77±0,02                            | 4,53±0,01 |

Fonte: Autor

Como pode ser observado pelos dados da Tabela 1, praticamente até o terceiro dia de fermentação, as silagens com e sem entrecasca apresentaram valores de ATT semelhantes ou menores ao valor máximo permitido pela legislação para farinha de mandioca Grupo d'água ( $ATT \leq 5,0$  meq de NaOH (0,1N)/100g).

Tabela 2 - Valores médios, desvios padrão da acidez total titulável (ATT) e pH e correlação de Pearson (R) entre ATT e pH das massas de mandioca com entrecasca (CE) e sem entrecasca (SE) submetidas a diferentes tempos de fermentação

| Causas da variação    | Gl* | ATT          |          | pH           |           |
|-----------------------|-----|--------------|----------|--------------|-----------|
|                       |     | QM           | F        | QM           | F         |
| Entrecasca            | 1   | 2,96         | 198,51** | 0,6350       | 2313,91** |
| Tempo                 | 14  | 6,31         | 422,27** | 2,2593       | 8232,36** |
| Entrecasca x Tempo    | 14  | 0,58         | 38,55**  | 0,1482       | 540,03**  |
| Error                 | 60  | 0,02         |          | 0,0003       |           |
| Correlação de Pearson |     | Rce= -0,9389 |          | Rse= -0,9137 |           |

\*Gl= graus de liberdade, \*\* Altamente significativo em nível de 1% de probabilidade. QM= Quadrado Médio, F= teste F

Fonte: Autor

Segundo a ANOVA aplicada para as respostas de ATT (Tabela 2), notam-se diferenças significativas na interação entre o efeito da presença da entrecasca na silagem e o tempo de fermentação, indicando que, no presente estudo, o efeito da entrecasca sobre a variação da ATT da massa fermentada depende do fator tempo e vice-versa.

Após o quarto dia de fermentação, observou-se nitidamente o efeito da entrecasca (Figura 2). As silagens com entrecasca apresentaram maior valor de ATT ( $4,03 \pm 0,34$  mL de ácido láctico/100 g) que as silagens sem entrecasca fermentadas ao final do processo de fermentação ( $2,77 \pm 0,02$ ) em períodos equivalentes.

Estes valores de ATT mostraram que a “Puba 2.0” apresenta acidez alta, uma vez que os metabólitos produzidos durante a fermentação permanecem no produto. O consumo da “Puba 2.0” é similar ao consumo da Tapioca. Segundo Machado *et al.* (2010), a preferência do consumidor é para Tapiocas com acidez semelhante à de polvilho azedo ( $3,12 \pm 0,03$  meq de NaOH/100g ; ou 2,81 mL ác. Láctico/100 g).

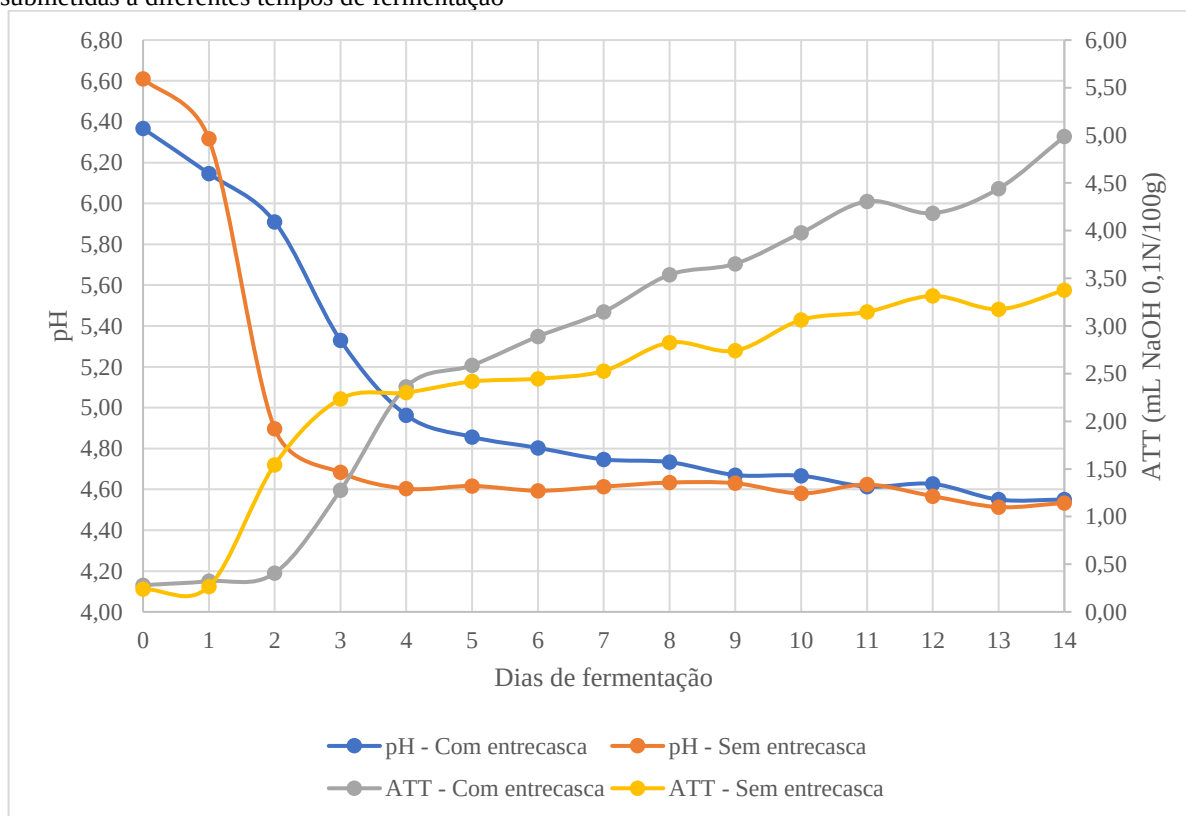
Na produção da “Puba 2.0”, Ernst Götsch não demonstrou parâmetros exatos para verificar o ponto de estabilização da fermentação da silagem e qualidade da “Puba 2.0”. Esse autor sugere, empiricamente, o ponto final da fermentação, ao relatar que o produto está pronto quando não existir mais extravasamento de líquido pela tampa do frasco utilizado para a ensilagem (ANDRADE e PASINI, 2014)

O processo de fermentação produz dióxido de carbono que auxilia na substituição do ar (oxigênio) e aprimoramento das condições anaeróbicas (BUCKENHUESKES, 2015). Os gases produzidos no processo fermentativo aumentam a pressão interna no frasco, o que resulta nesse extravasamento citado. No presente estudo, esse extravasamento cessou no quinto dia de fermentação para ambos os tratamentos, com e sem entrecasca.

O presente estudo buscou determinar um ponto quantitativo em que se pudesse afirmar que o produto está pronto para o consumo. Assim, estudou-se o perfil de acidez (Figura 1) em busca de valores adequados de ATT da “Puba 2.0” para seu consumo. Os dados da Figura 2 mostram tendência ascendente da ATT com o aumento do tempo de fermentação. A ATT da silagem contendo a entrecasca aumentou até o final do experimento, enquanto a ATT da silagem sem entrecasca pareceu atingir um patamar entre 8 e 9 dias de fermentação, porém, continuou aumentando após o décimo dia.

Conclui-se que a ATT não pode ser utilizada como parâmetro indicador da estabilidade da fermentação, pois os tratamentos apresentaram curvas com comportamento diferentes e não demonstraram sinais de estabilização até o 14º dia.

Figura 2 - Variação dos valores de acidez total titulável e pH das silagens de mandioca com e sem entrecasca submetidas a diferentes tempos de fermentação



Analisando o pH na Tabela 1 2, verificou-se que esse parâmetro apresenta uma relação inversa com a ATT, com forte e semelhantes correlações de Pearson (-0,9389 e -0,9137), respectivamente para os tratamentos com entrecasca e sem entrecasca. Pela ANOVA da Tabela 2, também se notou que o valor do pH das silagens é influenciado pela interação dos fatores entrecasca e tempo de fermentação. Embora a curva de pH da silagem sem entrecasca apresente uma queda mais rápida (Figura 2), ela chega a se igualar com a curva de pH da silagem com entrecasca ao 9º dia de fermentação. A partir desse dia, as curvas praticamente apresentaram o mesmo valor de pH. Esse fato indica que a avaliação do pH pode ser utilizada como uma ferramenta para determinar a estabilidade da fermentação da silagem de mandioca, com e sem entrecasca, na elaboração da “Puba 2.0”. Parâmetro interessante na fermentação em pequena escala ou domiciliar pois pode ser avaliada de forma rápida e econômica, com uma fita de pH

No nono dia de fermentação, o pH e a ATT das silagens foram de  $4,67 \pm 0,01$  e  $2,95 \pm 0,04$  para amostras com entrecasca e  $4,63 \pm 0,00$  e  $2,21 \pm 0,04$  para amostras entrecasca. A “Puba 2.0” é caracterizada como um produto com baixa acidez (pH superior a 4,5), de acordo com Jay *et al.*, 2005; Franco e Landgraf, 2008 e Ray, 2004 e, por isso, pode estar propícia à multiplicação microbiana indesejada após a abertura do frasco e, conseqüente, contato do produto com o ar atmosférico. Recomenda-se, portanto, que o produto deva ser consumido no dia em que for aberta a embalagem, ou ser mantido sob refrigeração menor que 8°C até , também recomenda-se que sejam feitas futuras análises de tempo de prateleira do produto conservado com e sem refrigeração.

## **6.2. Experimento 2: Efeito da fermentação, da entrecasca e do sistema de cultivo nas características físico-químicas, tecnológicas e microbiológicas**

### **6.2.1. Rendimento da fabricação da “Puba 2.0”**

O cálculo do rendimento em massa de silagem foi conduzido seguindo o fluxograma da Figura 1. As massas (kg) em cada uma das etapas do fluxograma estão descritas na Tabela 3 adiante.

Os tratamentos sem entrecasca tiveram menores rendimento em massa de silagem (CSS= 58,97% e OSS= 59,94%). Já os tratamentos contendo a entrecasca apresentaram maior

rendimento (CCS= 70,21% e OCS= 78,07%). Isso ocorreu porque foi retirada somente a película corticéa, mantendo-se a entrecasca. Desta forma, as perdas em massa durante o descascamento foram menores. Cereda e Vilpoux (2010) também fizeram essa mesma observação ao avaliar o rendimento da produção de farinha de mandioca mantendo a entrecasca.

Tabela 3 - Quantidade em massa (kg) das etapas do processamento da mandioca e rendimento em MSF em função da entrecasca e sistema de cultivo de mandioca

| Etapas do processo             | CCS   | CSS   | OCS   | OSS   |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Mandioca <i>in natura</i> (kg) | 12,15 | 11,99 | 11,13 | 10,09 |
| Descascada (kg)                | 10,99 | 8,91  | 9,60  | 7,48  |
| Massa Prensada (kg)            | 9,31  | 7,58  | 9,18  | 6,38  |
| MSF (kg)                       | 8,53  | 7,07  | 8,69  | 6,05  |
| Rendimento (%)                 | 70,21 | 58,97 | 78,07 | 59,94 |

Fonte: Autor CCS: sistema convencional com entrecasca sem fermentar. CSS: sistema convencional sem entrecasca sem fermentar. OCS: sistema orgânico com entrecasca sem fermentar. OSS: sistema orgânico sem entrecasca sem fermentar.

Independentemente da entrecasca, a cultivar de sistema orgânico apresentou maior rendimento na produção de MSF, o que pode estar relacionado com a menor perda de água durante a etapa de prensagem. Nessa etapa do processo, os tratamentos OCS e OSS perderam 8,22 e 5,21% de água, respectivamente, enquanto os tratamentos CCS e CSS perderam 18,10 e 11,38% de água, respectivamente.

A diferença no conteúdo de água em raízes de mandioca pode estar relacionada com a quantidade de água disponível no solo. Os pesquisadores Luna *et al.*, 2013, e Piroski, 2019, apontaram para uma grande variação em conteúdo de água em farinhas de mandioca produzidas em localidades próximas, o que pode explicar a diferença observada entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional estudados.

Entre os tratamentos estudados, o maior rendimento em MSF foi obtido aplicando o tratamento OCS (rendimento de 78,07%). Aproximadamente 22% de resíduos foram obtidos, o que representa as perdas, que foram assim determinadas: casca 8,90%, água 8,27% e resíduo na peneira 4,04%.

Cabe ressaltar que durante o processamento da “Puba 2.0”, ao deixar decantar o “leite” de amido obtido durante a prensagem, pode-se recuperar o polvilho doce. As quantidades em porcentagem de polvilho doce obtidas dos tratamentos aplicados foram de 8,0, 9,0, 10,0 e 9,0% para os tratamentos CCS, CSS, OCS e OSS. Esses valores são inferiores aos relatados por Fiorda (2013), em féculas de mandioca (25%), no entanto o polvilho é considerado

aqui um subproduto, que pode ser incorporado à massa antes da ensilagem ou utilizado em outras preparações.

A “Puba 2.0” foi obtida após a ensilagem e fermentação à temperatura ambiente por 9 dias, de acordo com o PEF estabelecido no item 6.1. Na Figura 6, a seguir, são apresentados os valores em massa (kg) da MSF produzida e o Rendimento em massa “Puba 2.0”.

Tabela 4 - - Quantidade em massa da silagem de mandioca submetida a fermentação por 9 dias do produto fermentado (“Puba 2.0”), e o rendimento em massa da “Puba 2.0” para amostras com e sem entrecasca de mandioca obtidas de sistemas convencional e orgânico de cultivo

| Massa (kg)     | CC          | CS          | OC          | OS          |
|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| MSF            | 0,708±0,002 | 0,712±0,003 | 0,708±0,003 | 0,718±0,006 |
| “Puba 2.0”     | 0,635±0,014 | 0,665±0,009 | 0,665±0,009 | 0,681±0,009 |
| Rendimento (%) | 89,60       | 93,44       | 93,88       | 94,90       |

Fonte: Autor CC: sistema convencional com entrecasca. CS: sistema convencional sem entrecasca. OC: sistema orgânico com entrecasca. OS: sistema orgânico sem entrecasca.

No decorrer da fermentação ocorreu um extravasamento de líquidos pela tampa do frasco. Esse extravasamento é relatado por Ernst no vídeo produzido por Andrade e Pasini (2014), resultante do aumento da pressão interna, causado pela produção de gases por parte dos microrganismos presentes na fermentação. A quantidade de líquido extravasado foi de 0,074±0,017, 0,047±0,009, 0,043±0,012 e 0,037±0,008 kg, correspondendo a 10,40, 6,56, 6,12 e 5,10% da massa de silagem dos tratamentos CCS, CSS, OCS e OSS, respectivamente.

À exceção do tratamento CCS, cujo rendimento foi de 89,60%, os demais tratamentos tiveram alto rendimento em massa da “Puba 2.0” de 93,44, 93,88 e 94,90%.

É possível inferir que o menor rendimento em massa da “Puba 2.0” do tratamento CCS foi devido à maior perda de líquido vindo da entrecasca. Considerando que quanto maior a quantidade de água em um meio de fermentação, maior a proliferação de microrganismos e, portanto, maior a perda de líquido pelo aumento da pressão interna.

### 6.2.2. Características Físico-químicas

Na Tabela 5 estão representados os resultados da composição proximal (em base úmida) e valor energético, e na Tabela 6 estão representados os valores dos teores de amido,

fibras alimentares solúveis, açúcares redutores e totais, ácido cítrico, acidez e pH das amostras obtidas no Experimento 2 do presente trabalho.

Tabela 5 - Valores da composição proximal [g (100 g)<sup>-1</sup>] e valor energético (VE) [kcal (100 g)<sup>-1</sup>] de silagem e “Puba 2.0”, elaboradas a partir de raízes de mandioca cultivadas em sistemas convencional e orgânica, com e sem entrecasca, todos os valores em base úmida

| Tratamento | Umidade*               | Cinzas*                | Lipídios*              | Proteínas*            | Fibras*               | Carboidratos*          | VE**                    |
|------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| CCS        | 53,1±0,4 <sup>b</sup>  | 1,00±0,02 <sup>e</sup> | 0,25±0,01 <sup>a</sup> | 3,1±0,18 <sup>a</sup> | 3,6±0,11 <sup>b</sup> | 39,0±0,4 <sup>f</sup>  | 177,5±1,5 <sup>f</sup>  |
| CCF        | 52,9±0,1 <sup>bc</sup> | 0,99±0,01 <sup>e</sup> | 0,17±0,01 <sup>d</sup> | 2,3±0,04 <sup>c</sup> | 2,9±0,01 <sup>d</sup> | 40,7±0,2 <sup>d</sup>  | 179,5±0,6 <sup>e</sup>  |
| CSS        | 55,5±0,6 <sup>a</sup>  | 1,08±0,02 <sup>d</sup> | 0,22±0,00 <sup>b</sup> | 2,6±0,06 <sup>b</sup> | 3,2±0,03 <sup>c</sup> | 37,4±0,6 <sup>g</sup>  | 168,4±2,3 <sup>g</sup>  |
| CSF        | 52,6±0,1 <sup>c</sup>  | 1,01±0,00 <sup>e</sup> | 0,22±0,00 <sup>b</sup> | 1,8±0,06 <sup>d</sup> | 2,5±0,02 <sup>f</sup> | 41,9±0,1 <sup>c</sup>  | 181,5±0,5 <sup>de</sup> |
| OCS        | 51,4±0,2 <sup>d</sup>  | 1,64±0,01 <sup>a</sup> | 0,18±0,01 <sup>d</sup> | 3,0±0,03 <sup>a</sup> | 3,8±0,05 <sup>a</sup> | 40,0±0,2 <sup>e</sup>  | 181,1±0,7 <sup>d</sup>  |
| OCF        | 51,0±0,0 <sup>d</sup>  | 1,55±0,01 <sup>b</sup> | 0,13±0,01 <sup>e</sup> | 2,4±0,06 <sup>c</sup> | 2,6±0,08 <sup>e</sup> | 42,3±0,1 <sup>bc</sup> | 185,0±0,2 <sup>c</sup>  |
| OSS        | 49,6±0,1 <sup>e</sup>  | 1,65±0,01 <sup>a</sup> | 0,21±0,01 <sup>b</sup> | 2,4±0,08 <sup>c</sup> | 3,5±0,03 <sup>b</sup> | 42,6±0,1 <sup>b</sup>  | 188,8±0,3 <sup>b</sup>  |
| OSF        | 48,7±0,1 <sup>f</sup>  | 1,46±0,01 <sup>c</sup> | 0,20±0,01 <sup>c</sup> | 2,3±0,06 <sup>c</sup> | 2,2±0,02 <sup>g</sup> | 45,2±0,1 <sup>a</sup>  | 196,1±0,4 <sup>a</sup>  |

CCS e CCF: sistema convencional com entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. CSS e CSF: sistema convencional sem entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. OCS e OCF: sistema orgânico com entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. OSS e OSF: sistema orgânico sem entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. Diferentes letras em cada coluna representam médias com diferença significativa a 5% de significância.

Fonte: Autor

Tabela 6 - Valores da Amido, Fibras Alimentares Solúveis, Açúcares Redutores, Açúcares Totais [g (100 g)<sup>-1</sup>], Ácido Ascórbico [mg (100 g)<sup>-1</sup>], Acidez Total Titulável (mL NaOH 0,1N/100g) e valor de pH das MSF e das Pubas 2.0, elaboradas a partir de raízes de mandioca cultivadas em sistemas convencional e orgânica, com e sem entrecasca

| Tratamento | Amido*                 | FAS*                   | AR*                    | Aç. totais*           | Ác. ascórbico*        | ATT                   | pH                   |
|------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| CCS        | 19,8±0,9 <sup>e</sup>  | 1,31±0,05 <sup>b</sup> | 0,77±0,02 <sup>b</sup> | 2,7±0,06 <sup>a</sup> | 8,2±0,3 <sup>e</sup>  | 0,38±0,0 <sup>d</sup> | 6,2±0,0 <sup>c</sup> |
| CCF        | 26,4±1,0 <sup>ab</sup> | 0,00±0,00 <sup>e</sup> | 0,36±0,00 <sup>d</sup> | 1,2±0,05 <sup>f</sup> | 11,7±0,3 <sup>c</sup> | 3,56±0,4 <sup>a</sup> | 4,5±0,0 <sup>f</sup> |
| CSS        | 18,0±1,0 <sup>e</sup>  | 1,12±0,02 <sup>c</sup> | 0,80±0,04 <sup>a</sup> | 2,4±0,02 <sup>b</sup> | 9,1±0,4 <sup>d</sup>  | 0,30±0,0 <sup>d</sup> | 6,3±0,0 <sup>b</sup> |
| CSF        | 28,3±1,7 <sup>a</sup>  | 0,00±0,00 <sup>e</sup> | 0,34±0,00 <sup>d</sup> | 1,7±0,05 <sup>c</sup> | 11,6±0,2 <sup>c</sup> | 3,10±0,1 <sup>b</sup> | 4,5±0,0 <sup>f</sup> |
| OCS        | 25,5±1,0 <sup>cd</sup> | 1,05±0,04 <sup>d</sup> | 0,46±0,02 <sup>c</sup> | 1,5±0,05 <sup>d</sup> | 5,1±0,1 <sup>f</sup>  | 0,31±0,0 <sup>d</sup> | 6,3±0,0 <sup>b</sup> |
| OCF        | 28,2±1,0 <sup>a</sup>  | 0,00±0,00 <sup>e</sup> | 0,30±0,00 <sup>e</sup> | 1,3±0,01 <sup>f</sup> | 15,0±0,2 <sup>a</sup> | 2,80±0,2 <sup>c</sup> | 4,7±0,0 <sup>e</sup> |
| OSS        | 24,3±1,2 <sup>d</sup>  | 1,48±0,08 <sup>a</sup> | 0,45±0,02 <sup>c</sup> | 1,4±0,10 <sup>e</sup> | 2,0±0,2 <sup>g</sup>  | 0,20±0,0 <sup>d</sup> | 6,5±0,0 <sup>a</sup> |
| OSF        | 27,5±1,5 <sup>ab</sup> | 0,00±0,00 <sup>e</sup> | 0,09±0,00 <sup>f</sup> | 0,4±0,01 <sup>g</sup> | 13,0±0,4 <sup>b</sup> | 3,61±0,1 <sup>a</sup> | 4,8±0,0 <sup>d</sup> |

\* Em gramas por 100 g de amostra úmida. \*\* Em kcalorias por 100 g de amostra úmida.

CCS e CCF: sistema convencional com entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. CSF e CSF: sistema convencional sem entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. OCS e OCF: sistema orgânico com entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. OSS e OSF: sistema orgânico sem entrecasca sem fermentar e fermentado, respectivamente. Diferentes letras em cada coluna representam médias com diferença significativa a 5% de significância.

Fonte: Autor

Tabela 7 - Resumo da análise de variância dos valores da composição proximal e valor energético (VE) das silagens e “Puba 2.0” obtidas em função do sistema de cultivo, ausências ou não de entrecasca e de fermentação.

| Causa da<br>variação | Valores do teste F |                   |                   |           |                   |              |         |
|----------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-----------|-------------------|--------------|---------|
|                      | Umidade            | Cinzas            | Lipídios          | Proteínas | Fibras            | Carboidratos | VE      |
| Cultivo (C)          | 896,3**            | 8804,2**          | 144,2**           | 4,3*      | 1,8 <sup>ns</sup> | 545,9**      | 664,0** |
| Entrecasca (E)       | 22,0**             | 0,4 <sup>ns</sup> | 108,8**           | 183,0**   | 273,6**           | 119,0**      | 46,9**  |
| Fermentação (F)      | 97,5**             | 215,1**           | 154,0**           | 275,3**   | 2211,9*<br>*      | 547,5**      | 235,3** |
| C x E                | 195,2**            | 57,5**            | 46,1**            | 3,3*      | 0,3 <sup>ns</sup> | 161,2**      | 230,0** |
| C x F                | 15,2**             | 78,1**            | 1,1 <sup>ns</sup> | 48,3**    | 184,1**           | 7,9*         | 4,8*    |
| E x F                | 50,1**             | 49,0**            | 85,7**            | 8,1**     | 7,6**             | 41,4**       | 69,8**  |
| C x E x F            | 19,8**             | 2,1 <sup>ns</sup> | 12,9**            | 19,8**    | 4,4*              | 24,1**       | 20,1**  |

Fonte: Autor \*Interação significativa em nível de 5% de probabilidade, \*\* Altamente significativo em nível de 1% de probabilidade. <sup>ns</sup>: interação não significativa em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8 - - Resumo da análise de variância dos teores de amido, fibra alimentar solúvel (FAS), açúcares redutores (AR), açúcares totais (Aç. totais), ácido cítrico (Ác. cítrico), acidez total titulável (ATT) e pH das silagens e “Puba 2.0” obtidas em função do sistema de cultivo, ausências ou não de entrecasca e fermentação.

| Causa da<br>variação | Valores do teste F |                   |          |                   |                    |                   |            |
|----------------------|--------------------|-------------------|----------|-------------------|--------------------|-------------------|------------|
|                      | Amido              | FAS               | AR       | Ac. totais        | Ác. cítrico        | ATT               | pH         |
| Cultivo (C)          | 45,6**             | 3,0 <sup>ns</sup> | 1147,3** | 1612,5**          | 183,1**            | 3,0 <sup>ns</sup> | 5151,0**   |
| Entrecasca (E)       | 1,0 <sup>ns</sup>  | 16,2**            | 59,6**   | 88,7**            | 101,3**            | 0,5 <sup>ns</sup> | 3160,0**   |
| Fermentação (F)      | 141,6**            | 7298,1**          | 2329,5** | 1644,7**          | 3962,6**           | 2354,5**          | 523776,0** |
| C x E                | 1,1 <sup>ns</sup>  | 113,6**           | 69,3**   | 202,3**           | 191,5**            | 25,1**            | 630,0**    |
| C x F                | 33,4**             | 3,0 <sup>ns</sup> | 146,7**  | 137,4**           | 1216,1**           | 0,2 <sup>ns</sup> | 595,0**    |
| E x F                | 4,7*               | 16,2**            | 75,9**   | 1,2 <sup>ns</sup> | 0,02 <sup>ns</sup> | 4,9*              | 325,0**    |
| C x E x F            | 2,8 <sup>ns</sup>  | 113,6**           | 23,5**   | 306,2**           | 26,81**            | 28,5**            | 120,0**    |

Fonte: Autor \*Interação significativa em nível de 5% de probabilidade, \*\* Altamente significativo em nível de 1% de probabilidade. <sup>ns</sup>: interação não significativa em nível de 5% de probabilidade.

À exceção do teor de cinzas e amido, os demais constituintes da composição proximal, valor energético e outros constituintes químicos mostraram variações em função da interação dos três fatores C x E x F (Tabelas 7 e 8). Essas variações indicam que a composição proximal da MSF e da “Puba 2.0” diferiram em razão do sistema de cultivo da mandioca (tradicional ou orgânico), da presença da entrecasca na massa de mandioca utilizada (com ou sem entrecasca) e da fermentação da “Puba 2.0”.

Pela Tabela 5, após transformação dos valores em base úmida para base seca, as médias globais dos teores de cinzas, fibras totais e de amido foram de 1,3%, 3,01% e 24,5%, respectivamente, com valores máximos e mínimos respectivos de 1,63 e 0,98%, 3,75 e 2,14%

e 27,98 e 17,7%. Esses valores não atendem aos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 52, (BRASIL, 2011b), para o produto fermentado Farinha D'água, que estabelece teor de amido maior ou igual a 80% e teores de cinzas e fibras menores ou iguais a 1,4% e 2,3%, respectivamente. O produto “Puba 2.0”, portanto, não pode ser considerado uma farinha.

A MSF e a “Puba 2.0” apresentaram teores de umidade entre 49 e 56 g.100 g<sup>-1</sup>. Esses valores são inferiores aos da mandioca crua e superiores à fécula de mandioca [61,8 e 17,8 g.100 g<sup>-1</sup>, respectivamente], como descritos na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011). Porém os teores de umidade das amostras foram superiores ao observado por Fernandes *et al.* (2013) para mandioca triturada e prensada [45,47 g (100 g)<sup>-1</sup>] e próximos aos teores de umidade determinados por Muandze-Nzambe *et al.* (2017) para massa de mandioca fermentada [52.28±2.66 g (100 g)<sup>-1</sup>].

Os pesquisadores Adetunji *et al.* (2017) avaliaram o teor de umidade de diferentes produtos fermentados de mandioca e observaram uma grande variação, mostrando a heterogeneidade dos processos de fermentação. A umidade é um importante parâmetro da estabilidade dos alimentos. A secagem dos alimentos reduz a quantidade de umidade disponível para o crescimento microbiano, aumentando assim a vida útil do produto (ZAMBRANO *et al.*, 2019). Cabe ressaltar que, no caso da “Puba 2.0”, é importante que ela seja mantida úmida, uma vez que este produto fermentado deve ser conservado fresco, mas, se desidratado, poderá perder as qualidades sensoriais e microbiológicas de interesse.

Na Tabela 5 observam-se diferenças marcantes entre os tratamentos aplicados. A MSF produzida com raízes de mandioca descascadas colhidas em sistema convencional sem fermentar (CSS) apresentou o maior teor de umidade, que foi igual a 55,5±0,6 g (100 g)<sup>-1</sup>. Porém, quando esta amostra foi submetida à fermentação, a umidade da “Puba 2.0” resultante (CSF) apresentou o teor de 52,6±0,1 g (100 g)<sup>-1</sup>, aproximadamente 5% menor que o da silagem que a originou.

Esse fenômeno também ocorreu no sistema de cultivo orgânico sem entrecasca. A MSF (OSS) apresentou teor de umidade igual a 49,6±0,1 g (100 g)<sup>-1</sup>, mas, quando fermentada, produziu a “Puba 2.0” (OSF) com teor de umidade de 48,7 g (100 g)<sup>-1</sup>, aproximadamente 2% menor que o da silagem de origem.

Todavia esse fenômeno não acontece em amostras de ambos os sistemas de cultivo contendo a entrecasca de mandioca. Pelos dados da Tabela 5, observou-se que não houve diferenças significativas entre as silagens e seus produtos fermentados. O tratamento CCS e o CCF apresentaram teores de umidade de 53,1±0,4 e 52,±0,1 g (100 g)<sup>-1</sup>, respectivamente, enquanto que a OCS e a OCF apresentaram teores de umidade de 51,4±0,2 e 51,0±0,0 g (100

$\text{g})^{-1}$ , respectivamente. Este fato sugere que a entrecasca é um fator importante na retenção de /umidade na “Puba 2.0”.

A perda de umidade durante a fermentação também é um indicativo da intensa atividade microbiana que, pela produção de metabólitos e gases, aumenta a pressão interna do sistema de fermentação, resultando no extravasamento de líquido entre a tampa e a borda do pote de fermentação.

Pelas Figuras 7 e 8, após transformação dos valores de base úmida para base seca, as médias globais dos teores de cinzas e de amido foram de 1,3% e 24,5%, respectivamente, com valores máximos e mínimos respectivos de 1,63 e 0,98% e 27,98 e 17,7%. Estes valores estão de acordo com os padrões estabelecido pela Instrução Normativa nº 23, de 14 de dezembro de 2005 (BRASIL, 2005), para produtos classificados como Grupo II – Tapioca, Subgrupo Granulada - Fora de Tipo (cinzas < 2,0%). Os valores mínimos de amido não são estabelecidos.

Em produtos de mandioca, os valores maiores de cinzas permitidos pela legislação brasileira podem indicar processamento inadequado, com lavagem e descascamento incompletos e até fraude pela adição de outros componentes (DIAS e LEONEL, 2006). Pela Tabela 5, todas as amostras apresentaram teores de cinzas permitidos pela legislação, correspondentes a < 1,4% (Brasil, 2011b), para farinhas tipo d'água, e < 2% ,para Tapioca (BRASIL, 2005). O maior teor de cinzas foi observado nas amostras obtidas de mandiocas do sistema de cultivo orgânico com e sem entrecasca e sem fermentar (OCS e OSS) (Figura 6), cujos teores de cinzas foram estatisticamente iguais, com média de  $1,65 \text{ g } (100 \text{ g})^{-1}$ .

A silagem e a “Puba 2.0”, com e sem entrecasca, apresentaram valores energéticos entre 168 e 197 kcal  $(100 \text{ g})^{-1}$ . Esses produtos são menos energéticos que seus similares farinhas de mandioca crua e farinha puba, que fornecem valores energéticos de 361 e 360 kcal. $(100 \text{ g})^{-1}$ , respectivamente, mas fornecem maior quantidade de energia que a mandioca crua e a mandioca cozida, cujos valores energéticos são de 151 e 125 kcal. $(100 \text{ g})^{-1}$ , respectivamente (NEPA, 2011).

A cultivar em sistema orgânico de cultivo apresentou um teor maior de cinzas, o que pode significar um maior teor de minerais presentes na cultivar orgânica. A fermentação reduziu o teor de cinzas em ambas as cultivares. Os autores Kasaye *et al.*, (2018) fizeram estudos avaliando os teores de Cálcio (Ca), Ferro (Fe) e Zinco (Zn), antes e depois de fermentar mandioca, e constataram que todos eles reduziram significativamente após a fermentação. Essa redução pode estar associada ao metabolismo microbiano ou, no caso da “Puba 2.0”, resultado

do extravasamento de líquido até o quinto dia e portanto, do extravasamento conjunto de minerais.

Os teor de cinzas observado por Luna *et al.*, (2013) é de 1,35%, que é similar ao observado no presente estudo. Os valores foram superiores aos estabelecidos para cinzas na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011), que é de 0,6 g/100g para mandioca crua e 0,8 g/100g para farinha de puba. Os autores Muandze-Nzambe *et al.* (2017) relataram valores que variaram de 0,30g/100g a 2,82g/100g, em massa de mandioca fermentada no continente Africano, o que revela uma grande variabilidade.

Quanto ao teor de lipídios, nota-se pela Tabela 5 que tanto as MSF quanto as Pubas 2.0 apresentaram teor de lipídios [ $<0,25 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ ] inferiores ao estabelecido pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011) para farinha puba [ $0,5 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ ] e próximo do estabelecido para fécula de mandioca [ $0,3 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ ]. Os pesquisadores Jasko *et al.* (2011) relataram valores médios de lipídios de  $0,11 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$  para bagaço de mandioca não fermentado. No entanto os teores de lipídios das amostras do presente estudo foram superiores aos estabelecidos na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011) que é de  $1,1 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$  para mandioca crua e  $1,6 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$  para farinha de puba.

É possível identificar o efeito de redução de teor de lipídios em todos os tratamentos após a fermentação. Vale ressaltar que somente nos tratamentos CCF e OCF essa redução foi significativa. Essa diferença no teor de lipídios pode ser resultado do extravasamento durante a fermentação. Valores observados no presente estudo são inferiores aos relatados por Alves; Klososki e Montanhini (2015) e por Luna *et al.* (2013) para amidos de mandioca não modificados. Os valores observados estão de acordo com o relatado por Kasaye *et al.* (2018) para farinha de mandioca (0,3 g/100g) e estão um pouco inferiores aos relatados por Muandze-Nzambe *et al.* (2017). Os pesquisadores Jasko *et al.* (2011) observaram valores médios de lipídios de 0,11 g/100g para bagaço de mandioca sem fermentação.

Os valores de proteínas (Tabela 5) variaram de 1,8g/100g a 3,1 g/100g, nos tratamentos CCS e CSF, respectivamente. Os valores determinados estão de acordo com os relatados por Aguilar e Villalobos (2013) para amidos de mandioca e são superiores aos valores de 0,43 g/100g relatados por (LUNA *et al.*, 2013), de 1,7 g/100g observados por (JASKO *et al.*, 2011), e de 1,9 g/100g de proteína presentes na amostra composta por somente bagaço (MIRANDA, 2014). Os resultados estão condizentes com o valor de  $0,98 \pm 0,05$  e  $2,13 \pm 0,09\%$  relatados por (MUANDZE NZAMBE *et al.*, 2017) e são superiores aos apresentados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011), que é de 1,1 g/100g para mandioca crua e 1,6 g/100g para farinha de puba.

Com relação ao teor proteico, as MSF elaboradas com raízes de ambos sistemas de cultivo contendo a entrecasca (CCS e OCS) apresentaram médias que não diferiram entre si e são iguais a  $3,0 \text{ g (100 g)}^{-1}$ . As diferença do teor proteico das MSF sem entrecasca são mínimas, apresentando um valor médio de  $2,5 \text{ g (100 g)}^{-1}$ . Essa diferença entre as MSF com e sem a entrecasca provavelmente se deve ao teor proteico contido na entrecasca, confirmado por Fernandes *et al.* (2013) e por Versino; López e García (2015).

Independentemente do sistema de cultivo e da entrecasca, as Pubas 2.0 apresentaram menor teor de proteína que suas MSF. As Pubas 2.0 dos tratamentos CCF, CSF e OCF apresentaram teores de 2,3, 1,8 e  $2,4 \text{ g.(100 g)}^{-1}$  de proteína, respectivamente, um teor aproximadamente 26%, 31% e 20% menor do que suas respectivas MSF. Isso indica que as perdas de proteínas, assim como de minerais, das amostras fermentadas podem estar relacionadas com o extravasamento do líquido de fermentação já explicado anteriormente, pois essas porcentagens estão estreitamente relacionadas com o rendimento de “Puba 2.0” por MSF, discutido anteriormente, onde foi notado que quanto menor o rendimento, menor é o teor de proteínas no produto fermentado.

Essa relação entre o rendimento em massa de “Puba 2.0” e o teor proteico não foi observada na amostra OSF [com  $2,3 \text{ g (100 g)}^{-1}$  de proteínas, Tabela 5]. O seu teor proteico é estatisticamente igual ao da amostra não fermentada, com  $2,3 \text{ g.(100 g)}^{-1}$  de proteínas também visto na Tabela 5. Em condições normais, isto é, em tanques de fermentação sem extravasamento de fluídos, espera-se ganho do teor proteico, como ocorre no polvilho azedo ou na produção de Gari, com aumentos que variam de 35 a 60% (IBARRURI; CEBRIÁN; e HERNÁNDEZ, 2019; LAYA *et al.* 2018; OBI, 2019; SALAMI; AKOMOLAFE; e OLUFEMI-SALAMI, 2017). Na produção de farinhas d’água e outros tipos de farinhas, onde se utiliza a prensagem para a retirada da manipueira, ocorrem perdas de nutrientes (CHISTÉ e COHEN, 2006; DIAS e MAGALI, 2006). Por isso, em futuros estudos é importante avaliar a composição centesimal do líquido que extravasa dos frascos, ou pensar em modificações no processamento que evitem esse extravasamento.

Analisando o teor de açúcares redutores, ficou clara sua redução após a fermentação. Nos tratamentos fermentados CCF, CSF, OCF e OCS, a redução foi de 52,90, 57,73, 35,14 e 80,40%, respectivamente. Autores como Salami; Akomolafe; e Olufemi-Salami (2017), Ibarruri; Cebrián; Hernández (2019), e Obi (2019) citam a conversão de açúcares por parte dos microrganismos envolvidos na fermentação.

O tratamento OSF apresentou uma redução claramente superior aos demais, o que pode significar que a cultivar orgânica sem entrecasca apresentou um maior desenvolvimento microbiano, que culminou em um consumo mais rápido dos açúcares redutores.

Os pesquisadores Neta *et al.* (2018) observaram valores de açúcares redutores em mandioca que variaram de 0,51% a 0,19%, onde somente os tratamentos CCS e CSS apresentaram teores superiores. A cultivar em sistema convencional apresentou uma quantidade maior de glicídios redutores em comparação com a cultivar submetida ao sistema orgânico. Essa diferença pode ser resultante da diferença da data de plantio. A retirada da entrecasca não alterou significativamente o teor de glicídios redutores em comparação com os tratamentos com entrecasca equivalentes.

Considerando o teor de amido, os valores observados no presente estudo variaram de  $28,3 \pm 1,0$  à  $19,8 \pm 0,9 \text{ g.100g}^{-1}$ , nos tratamentos CSF e CCS, respectivamente. Em estudo com diferentes variedades de mandioca, Neta *et al.* (2018) observaram valores que variaram de 23,47% até 38,97%. Os autores Fernandes *et al.* (2013) observaram valores que variaram de 25,47% até 37,36%. Os valores observados no presente trabalho estão próximos do valor médio de 26,8%, observado por Chisté e Cohen (2011) em raízes de mandioca.

Foi detectado um aumento de 33,61, 57,62, 10,63 e 13,05% no teor de amido após a fermentação. Estudos de Jasko *et al.* (2011) mostraram que BAL apresentam uma baixa capacidade de hidrolisar o amido durante o processamento do fufu, pois BAL, em geral, não são amilolíticas. De acordo com Kostinek *et al.* (2005), nenhuma das BAL isoladas de mandioca fermentada apresentaram atividade de amilase em seus estudos.

Não foi descrito aumento do teor de amido na literatura consultada, portanto, a hipótese para tal aumento é que o extravasamento de líquidos e a consequente mudança no teor de umidade ampliou a concentração de amido nas amostras fermentadas.

O valor energético desses produtos se relaciona com os índices de lipídios, proteínas, fibras e carboidratos. Observou-se que esses nutrientes apresentaram menos valores nas Pubas 2.0, enquanto que o teor de amido aumentou após a fermentação da silagem. Portanto é possível inferir que o aumento do valor energético das Pubas 2.0 se deve principalmente ao aumento no teor de amido e menor teor de umidade.

A “Puba 2.0” com maior valor energético [ $196,1 \pm 0,4 \text{ g (100 g)}^{-1}$ ] foi aquela elaborada com raízes de mandioca do sistema orgânico sem entrecasca e fermentada (OSF). A “Puba 2.0” contendo menor valor energético [ $177,5 \pm 1,5 \text{ g (100 g)}^{-1}$ ] foi aquela elaborada com raízes de mandioca de sistema convencional com entrecasca sem fermentar (CCS).

Segundo a IN nº 75 (BRASIL, 2020), produtos do Grupo I: Produtos de panificação, cereais, leguminosas, raízes, tubérculos e seus derivados apresentam valor energético médio da porção é 150 kcal, o que permite definir a porção da “Puba 2.0”, para fins de rotulagem, como sendo de 85g. Esse valor é concordante com a classificação “produtos à base de tubérculos e cereais pré-fritos ou congelados” na mesma IN nº 75.

Considerando o valor de fibras alimentares solúveis, no presente estudo, os valores variaram de  $1,48 \pm 0,08$  no tratamento OSS à  $0,00 \pm 0,00 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , em todos os tratamentos fermentados. Os valores observados de fibras solúveis antes da fermentação são semelhantes aos valores médios ( $1 \text{ g}/100\text{g}$ ) observados por Aguilar e Villalobos (2013) para raízes de mandioca.

Em seus estudos, Salami; Akomolafe; e Olufemi-Salami (2017) demonstram que a fibra solúvel é utilizada pelos organismos durante a fermentação, o que corrobora com os valores de  $0,00\text{g}/100\text{g}$  observados após a fermentação para todos os tratamentos (CCF, CSF, OCF e OSF), confirmando que todas as fibras alimentares solúveis foram digeridas pelos microrganismos envolvidos na fermentação.

Os valores de fibras alimentares totais foram superiores aos apresentados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011), que é  $1,9 \text{ g}/100\text{g}$  para mandioca crua e inferiores a  $4,2 \text{ g}/100\text{g}$  para farinha de puba. É possível afirmar, com os resultados obtidos, que a entrecasca da mandioca apresenta um maior teor de fibras insolúveis e o cilindro central apresenta um maior teor de fibras solúveis. A fermentação reduziu significativamente o teor de fibras totais em todos os tratamentos.

No presente trabalho, o teor de vitamina C aumentou significativamente após a fermentação. A média de aumento foi de 43,05%, 26,87%, 194,57% e 562,81% nos tratamentos CCF, CSF, OCF, OSF, respectivamente. Cabe ressaltar que a cultivar orgânica, após a fermentação, passou dos menores teores de vitamina C ( $5,07 \text{ mg}/100\text{g}$ ) para os maiores ( $14,93 \text{ mg}/100\text{g}$ ). Esse maior incremento pode estar relacionado com uma maior colonização da MSF por BAL. Os valores de vitamina C foram inferiores aos estabelecidos na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011), que é  $16,5 \text{ mg}/100\text{g}$  para mandioca crua, e superiores ao estabelecido para farinha de puba, que apresenta somente traços. É importante conduzir futuros estudos com o objetivo de avaliar a percentagem do teor de vitamina C da “Puba 2.0” que é mantida após o cozimento ou forneamento, e pensar em usos diferentes para a “Puba 2.0” que mantenham esse teor de vitamina C íntegro.

Os valores da acidez titulável variaram de  $0,20 \pm 0,0 \text{ mL NaOH}/100\text{g}$  a  $3,61 \pm 0,01 \text{ mL NaOH}/100\text{g}$ , nos tratamentos OSS e OSF, respectivamente. Os valores da “Puba 2.0” estão

próximos dos valores de 3,70mL NaOH/100g, determinados por Gervin *et al.* (2016) em fermentação espontânea de mandioca e estão bem superiores aos valores de 0,45 mL NaOH/100g observados por Fernandes *et al.* (2013).

Os valores de pH observados no presente trabalho variaram de  $6,5 \pm 0,0$  a  $4,5 \pm 0,0$  nos tratamentos OSS e CCF, respectivamente, valor que está próximo dos relatados para o produto fermentado de mandioca Lafun produzido em Benin (KASAYE *et al.*, 2018).

Os valores de pH da massa de mandioca fermentada, estudadas no Gabão por Muandze-Nzambe *et al.* (2017), apresentaram média de pH de  $4,23 \pm 0,29$ , enquanto os autores Fernandes *et al.* (2013) relataram valores médios de pH de 4,27 e os autores Gervin *et al.* (2016) observaram valores médios de pH de 3,94.

Conforme já relatado no item 6.1 do presente trabalho, a fermentação aumentou significativamente a ATT e o pH diariamente. Não foi possível determinar diferenças significativas nos valores ATT e no pH entre os sistemas de cultivo e após retirada da entrecasca. Apenas os tratamentos com entrecasca representaram valores significativamente menores de pH.

A Instrução Normativa nº 23, de 2005 (BRASIL, 2005), não estabelece limites de fator Ácido e de pH para o Grupo II – Tapioca. Os autores Chisté e Cohen (2011), ao realizarem testes sensoriais de farinhas de mandioca do grupo d'água, concluíram que os provadores manifestaram preferência pelo sabor da farinha com maior acidez total. Futuros estudos de avaliação sensorial são importantes para avaliar a aceitação da “Puba 2.0” com os níveis de acidez relatados no presente trabalho.

Com os presentes resultados foi possível apresentar um modelo de tabela de composição nutricional para as diferentes pubas preparadas, na tabela 9 a seguir.

Tabela 9 – Tabela de informação nutricional pra as Pubas 2.0 elaboradas no presente estudo, seguindo as normas e diretrizes da IN nº 75, de outubro de 2020.

| <b>INFORMAÇÃO NUTRICIONAL</b>                                                                                                                                                 |                                           |                                           |                                           |                                           |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|------------|
| Porção 85g                                                                                                                                                                    |                                           |                                           |                                           |                                           |            |
|                                                                                                                                                                               | CCF                                       | CSF                                       | OCF                                       | OSF                                       | %VD(*)(**) |
| Valor energético                                                                                                                                                              | 154 kcal                                  | 157 kcal                                  | 160 kcal                                  | 167 kcal                                  | 8%         |
| Carboidratos                                                                                                                                                                  | 35,68g                                    | 36,49g                                    | 37,18g                                    | 39,71                                     | 12%        |
| Proteínas                                                                                                                                                                     | 1,47g                                     | 1,09g                                     | 1,52g                                     | 1,42g                                     | 3%         |
| Gorduras totais                                                                                                                                                               | quantidades não significativas por porção | quantidades não significativas por porção | quantidades não significativas por porção | quantidades não significativas por porção | 0%         |
| Fibras alimentares                                                                                                                                                            | 2,45g                                     | 2,13g                                     | 2,21g                                     | 1,83g                                     | 9%         |
| Vitamina C                                                                                                                                                                    | 10 mg                                     | 10 mg                                     | 13 mg                                     | 11 mg                                     | 11%        |
| *% Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8400kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas |                                           |                                           |                                           |                                           |            |
| ** Valores foram calculados utilizando a média de todos os tratamentos, para fins de rotulagem.                                                                               |                                           |                                           |                                           |                                           |            |

Fonte: Autor. CCF: sistema convencional com entrecasca fermentado. CSF: sistema convencional sem entrecasca fermentado. OCF: sistema orgânico com entrecasca fermentado. OSF: sistema orgânico sem entrecasca fermentado.

A Instrução Normativa – IN nº 75, de 8 de outubro de 2020, que estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados (BRASIL, 2020), define que um produto é considerado “fonte” de fibra quando apresentar teor mínimo de 10% do valor diário de referência (VDR) por porção de referência, como “alto conteúdo de fibras” quando apresentar teor mínimo de 20% do VDR e como “teor de fibra aumentado” quando apresentar teor mínimo de 25% do VDR.

Considerando a porção como sendo 85g, as pubas 2.0 elaboradas apresentaram VDR médio para fibras alimentares (9%) inferior ao estabelecido como “fonte de fibras” (10%), no entanto após o forneamento ou aquecimento em chapa, o valor do produto final pode se enquadrar como “fonte de fibras”.

### 6.2.3. Microbiologia

A “Puba 2.0” é um produto não pronto para o consumo. Para tal, ele passará por processo de cocção para ser consumido na forma de Tapioca ou Beiju, como descrito por (ANDRADE e PASINI, 2014). Este produto fermentado também pode ser utilizado para confecção de pães e bolos, porém, como produto fresco, ele deve ser mantido refrigerado ou congelado após abertura da embalagem. Por essa razão, foi escolhida a categoria de análises mais criteriosas do ponto de vista microbiológico.

As análises determinadas pelo Anexo I da RDC Nº 331, de 2019 (BRASIL, 2019), são: Contagem de *Escherichia coli*, Contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva, Contagem Presuntiva de *Bacillus cereus*, Contagem Total de Bolores e Leveduras e Detecção de *Salmonella sp.* Os resultados, juntamente com a Contagem Total de BAL, estão apresentados na Tabela 10 a seguir.

Tabela 10 - Valores das unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC g<sup>-1</sup>) de *Salmonella spp.*, *E. coli*, *S. coagulase*, *B. cereus*, bolores e leveduras, *Salmonella spp.* e Bactérias ácido-láticas, analisadas nas MSF e Pubas 2.0, elaboradas com raízes de mandioca colhidas nos sistemas convencional e orgânicos com e sem entrecasca.

| Tratamento | <i>Salmonella spp.</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. coagulase</i> | <i>B. cereus</i>      | Bolores e leveduras   | Bactérias ácido-láticas |
|------------|------------------------|----------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|
| CCS        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 2,7 x 10 <sup>1</sup> | ≤ 10                  | 3,0 x 10 <sup>1</sup>   |
| CCF        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 1,0 x 10 <sup>1</sup> | ≤ 10                  | 8,3 x 10 <sup>6</sup>   |
| CSS        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 5,7 x 10 <sup>1</sup> | ≤ 10                  | 7,0 x 10 <sup>1</sup>   |
| CSF        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 1,0 x 10 <sup>1</sup> | ≤ 10                  | 1,1 x 10 <sup>7</sup>   |
| OCS        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 1,6 x 10 <sup>2</sup> | ≤ 10                  | 2,8 x 10 <sup>2</sup>   |
| OCF        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 1,0 x 10 <sup>1</sup> | ≤ 10                  | 1,8 x 10 <sup>7</sup>   |
| OSS        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 5,0 x 10 <sup>4</sup> | 4,0 x 10 <sup>1</sup> | 2,9 x 10 <sup>4</sup>   |
| OSF        | Não detectado          | ≤ 10           | ≤ 10                | 1,0 x 10 <sup>1</sup> | ≤ 10                  | >3,0 x 10 <sup>7</sup>  |

Fonte: Autor

Pela Tabela 10, pode-se observar que espécies de *Salmonella* não foram detectadas nas amostras de MSF e Pubas 2.0. As contagens de *E. coli* e de *S. coagulase* positiva foram menores ou iguais a 10 UFC g<sup>-1</sup>, inferiores ao limite de 5,0 10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup> estabelecido pela RDC Nº 331, de 2019, da ANVISA (BRASIL, 2019).

Na análise das unidades formadoras de colônias de *B. cereus*, o único tratamento que apresentou valores acima de 1,0 10<sup>3</sup> UFC g<sup>-1</sup>, limite estabelecido pela RDC 331/19, foi a MSF OSS (5,0 10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup>). A verificação da presença de *B. cereus* é importante porque suas toxinas podem causar intoxicações alimentares quando consumidas em quantidades superiores a 10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> (PENIDO et al., 2018).

A MSF OSS apresentou valor maior de UFC de bolores e leveduras que as demais amostras, ainda que esse valor de 40 UFC g<sup>-1</sup> esteja dentro dos limites estabelecidos pela RDC Nº 331/19, que é de 1,0 10<sup>3</sup> UFCg<sup>-1</sup>. Os pesquisadores (MUANDZE NZAMBE et al., 2017) observaram média de 3,95 ± 0,97 log UFC/g de bolores e leveduras em massa de mandioca. No entanto todas as Pubas apresentaram valores menores do que as MSF equivalentes, permitido afirmar que a técnica “Puba 2.0” foi eficaz na redução da contagem de bolores e leveduras.

As MSF com e sem entrecasca de raízes de mandioca do sistema orgânico apresentaram maior quantidade de bactérias ácido-láticas ( $2,8 \cdot 10^2$  e  $2,9 \cdot 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>) quando comparadas com os tratamentos com mandioca no sistema de cultivo convencional ( $3,0 \cdot 10^1$  e  $7,0 \cdot 10^1$ ). É importante destacar que a fermentação “Puba 2.0” aumentou significativamente as concentrações de BAL em todos os tratamentos. Os pesquisadores Ahaotu *et al.* (2017) relataram média de  $6,0 \times 10^8$  UFC g<sup>-1</sup> de bactérias ácido-láticas em amostras de Gari, valores que estão próximos dos determinados no presente trabalho.

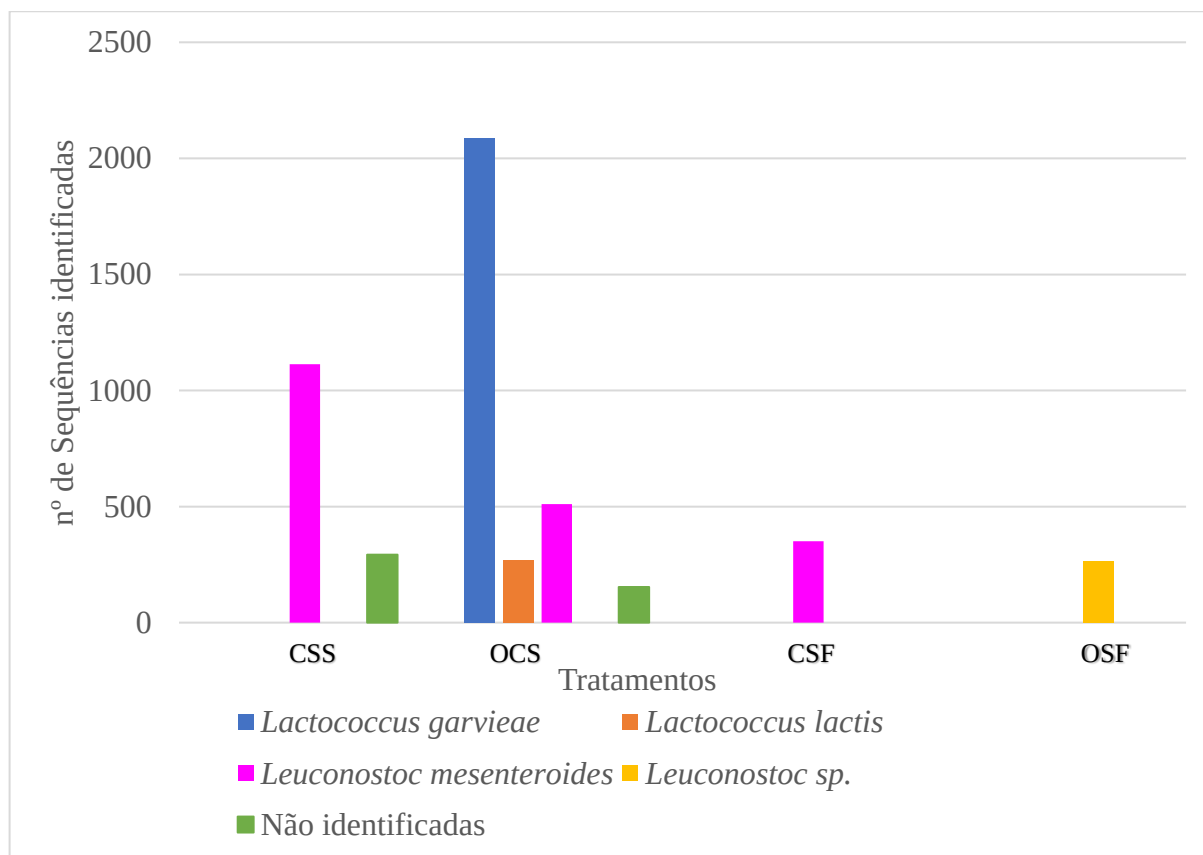
A baixa população de microrganismos patogênicos nas Pubas 2.0 provavelmente está relacionada ao uso de boas práticas de fabricação durante todo o processo de elaboração das MSF e Pubas, mas também pode ser atribuído à ação de BAL que produzem metabólitos secundários, como peróxido de hidrogênio, diacetil e bacteriocinas (THAMER e PENNA, 2006; e PENIDO *et al.*, 2018). Essa hipótese é reforçada pela observação do tratamento OSS com contagens de *B. cereus* acima do permitido de  $5,0 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup> e que, após a fermentação, a Puba OSF equivalente passou a valores de  $1,0 \times 10^1$  UFC.g<sup>-1</sup>, mostrando que a fermentação “Puba 2.0” foi eficaz na redução da contagem de *Bacillus cereus* em todos os tratamentos.

A maior quantidade de bactérias ácido-láticas presente nas amostras do sistema orgânico de cultivo pode ser explicada pelo uso de defensivos agrícolas e adubos sintéticos, utilizados no sistema convencional de cultivo, que podem reduzir a propagação de bactérias ácido-láticas, o que, nesse caso, é indesejável (FLEURY *et al.*, 2017). Esse resultado corrobora hipóteses levantadas anteriormente nesse trabalho (item 6.2.2.1) de que as mandiocas do sistema orgânico apresentaram uma maior colonização bacteriana se comparadas às do sistema convencional.

#### 6.2.4. Identificação das bactérias isoladas

Os autores Ahaotu *et al.* (2017); Díaz *et al.* (2018); Fekri *et al.* (2020); Fleming *et al.* (2012); Huch *et al.* (2008); Lacerda *et al.* (2005) também utilizaram técnicas de triagem do gene 16S rRNA, similares à utilizada no presente trabalho.

Figura 3 - Bactérias ácido lácticas identificadas nas amostras de “Puba 2.0”



Fonte: Autor

Os resultados são apresentados para os tratamentos CSS (T2), OCS (T3), CSF (T6) e OSF (T8), na Figura 3. Os demais tratamentos não puderam ser identificados por conta da perda de amostras durante o transporte e devido à uma interferência do ágar MRS nas análises de identificação bacteriana. Os resultados mostram a variedade de microrganismos isolados das amostras.

Foram identificadas as espécies *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis* e *Lactococcus garvieae* a partir das amostras de MSF e de Pubas 2.0. Os pesquisadores Mokoena, Mutanda e Olaniran (2016) também relatam a espécie *Leuconostoc mesenteroides*, além da espécie *Lactobacillus plantarum* no produto fermentado “Gari”, que é o fermentado de mandioca mais próximo da “Puba 2.0”

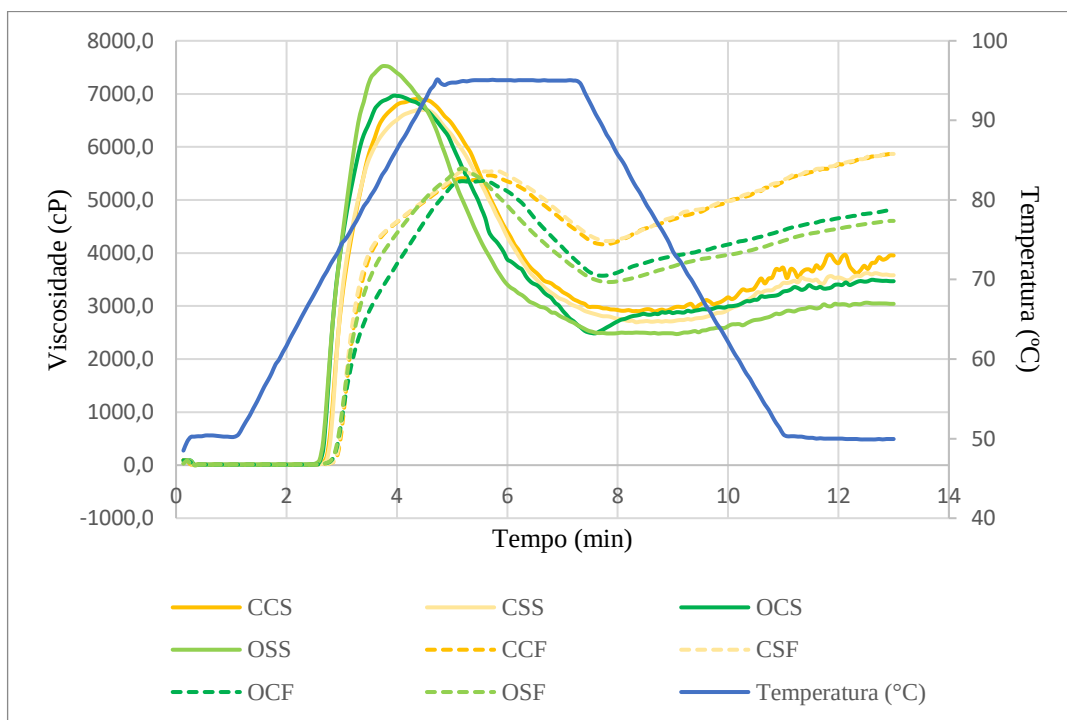
Algumas sequências genômicas de BAL presentes que não puderam ser identificadas podem ser espécies do gênero *Lactobacillus* que são citadas como espécies predominantes na fermentação espontânea de mandioca (ELIJAH *et al.*, 2014; KOSTINEK *et al.*, 2005; NICOLAU, 2016; NJOKU e OBI, 2010; PENIDO *et al.*, 2018; e PEREIRA, 2016).

Ao pensarmos no efeito do manejo e das condições ecológicas do cultivo, é importante considerar, em futuros estudos, a inclusão de mandiocas cultivadas em Sistemas Agroflorestais Biodiversos, como os sistemas propostos por Ernst Götsch, com o intuito de verificar a hipótese de que a biodiversidade presente nas áreas agrícolas reflete nas características físico-químicas, reológicas e microbiológicas da “Puba 2.0”.

#### 6.2.5. Propriedades reológicas

A determinação da viscosidade de pasta de produtos amiláceos é importante, visto que permite visualizar as variações possíveis entre amostras sem tratamento submetidas a determinado processo hidrotérmico e/ou aplicação em meios de mudanças de pH. Na Figura 4 e na tabela 11, observa-se que os tempos de início de gelatinização, de viscosidade máxima, e a tendência à retrogradação nas MSF foram menores em relação as pastas da “Puba 2.0”.

Figura 4 - Viscoamilograma dos tratamentos de MSF e de Pubas 2.0



Fonte: Autor

Tabela 11 - - Valores dos parâmetros obtidos na análise RVA da “Puba 2.0” para todos os tratamentos

| <b>Parâmetro</b>                  | <b>CCS</b> | <b>CSS</b> | <b>OCS</b> | <b>OSS</b> | <b>CCF</b> | <b>CSF</b> | <b>OCF</b> | <b>OSF</b> |
|-----------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Viscosidade Máxima (cP)           | 6908,67    | 6704,00    | 6968,00    | 7523,33    | 5465,33    | 5565,00    | 5363,00    | 5600,67    |
| Viscosidade Mínima (cP)           | 2829,33    | 2687,33    | 2483,67    | 2449,67    | 4160,67    | 4222,00    | 3567,67    | 3451,67    |
| Quebra de Viscosidade (cP)        | 4079,33    | 4016,67    | 4484,33    | 5073,67    | 1304,67    | 1343,00    | 1795,33    | 2149,00    |
| Viscosidade Final (cP)            | 3953,00    | 3580,00    | 3468,00    | 3041,00    | 5868,00    | 5867,00    | 4798,33    | 4604,67    |
| Tendência à Retrogradação (cP)    | 1123,67    | 892,67     | 984,33     | 591,33     | 1707,33    | 1645,00    | 1230,67    | 1153,00    |
| Tempo de Viscosidade Máxima (min) | 4,42       | 4,40       | 3,98       | 3,78       | 5,69       | 5,60       | 5,47       | 5,16       |
| Temperatura de Pasta (°C)         | 62,30      | 62,93      | 61,45      | 60,80      | 63,50      | 63,95      | 63,15      | 62,57      |

Fonte: Autor

As temperaturas de pasta das MSF foram registradas entre 60 e 62°C e das Pubas 2.0, entre 63 e 64°C. Uma redução na temperatura de início de gelatinização das Pubas 2.0 era esperada, uma vez que os ácidos produzidos durante a fermentação modificam o amido, contribuindo para a desorganização da estrutura dos grânulos, reduzindo as forças associativas na região amorfa dos grânulos e interferindo nas ligações de hidrogênio intra e intermoleculares que estabilizam a estrutura dos mesmos (RAINA *et al.*, 2007).

No entanto deve ser ressaltado que durante a fermentação das silagens há perda de líquido, tendo como consequência a redução de massa, principalmente de substâncias solúveis em água, como proteínas, fibras solúveis, minerais, açúcares redutores e totais (Tabelas 5 e 6). A perda de substâncias solúveis promoveu a concentração do teor de amido das amostras de “Puba 2.0” (Tabela 6). Segundo Ragae e Abdel-Aal (2006), as farinhas refinadas podem apresentar maior temperatura de início de gelatinização do que as farinhas integrais, por possuírem maior teor de amido na mesma porção. No presente caso, os ácidos formados durante

a fermentação podem ter danificado os grânulos de amido contidos nas Pubas 2.0 e parte da amilose pode ter lixiviado e escapado junto com os demais componentes solúveis. Em conformidade com Franco *et al.* (2002), amidos que consistem em grande parte de amilopectina podem apresentar maior temperatura de pasta. Por essas razões, se pode inferir que a maior concentração de amido seja responsável pelo aumento da temperatura de pasta das Pubas 2.0.

O perfil de viscosidade das MSF apresenta pico de viscosidade máxima com formato agudo, registrado entre 6.000 e 7.000 cP, alcançado entre 3,7 e 4,4 min de aquecimento a temperaturas entre 83 e 92°C. Estas observações indicam que o amido contido nas MSF tem grânulos homogêneos com maior capacidade de absorver água e, consequentemente, com maior grau de intumescimento durante o aquecimento e cisalhamento e requerem menos energia para gelatinizar do que as amostras fermentadas. Esses valores estão próximos dos descritos por Falade; Ibanga-Bamijoko; Ayetigbo, (2019) para amidos de mandioca sem modificação que são de 6509.5–6564.0 cP.

O perfil de viscosidade das Pubas 2.0 apresenta pico de viscosidade máxima com formato achatado, registrado entre 5.360 e 5.610 cP, onde os grânulos de amido requerem mais tempo (5-6 min) e maior temperatura (95 °C) para se intumescerem. Isso pode ser atribuído à presença de componentes não amiláceos, principalmente fibras insolúveis, frações proteicas, bem como também à possível modificação da estrutura amilácea em razão da ocorrência de hidrólises durante o processo de fermentação, fazendo com que os grânulos de amido percam a capacidade de absorção de água, impedindo, assim, o aumento da viscosidade máxima. Este comportamento viscoso também foi relatado por Sriburi *et al.* (1999) e Franco *et al.* (2010) durante a modificação química de amido de mandioca com ácido L-ascórbico, e por Zhang *et al.* (2017), que estudaram os efeitos de ácidos e soluções salinas nas propriedades reológicas de amido extraído de raízes de Lotus.

A redução da viscosidade máxima após a fermentação observada nesse estudo também é relatada por Zhu (2015), Gervin *et al.* (2016), Alves *et al.* (2015) e por Qi *et al.* (2019). Reduções similares foram constatadas em modificações de amido utilizando ácido cítrico por Falade; Ibanga-Bamijoko; Ayetigbo (2019). A diminuição do pico de viscosidade está diretamente relacionada ao ambiente ácido, de acordo com Alonso-Gomez *et al.* (2016).

Os maiores efeitos da fermentação foram observados na redução da quebra de viscosidade e do aumento da retrogradação das pastas produzidas com as Pubas 2.0 (Figura 4). O valor da quebra de viscosidade das Pubas 2.0 (1.304-2.149 cP) diminuiu para menos da metade dos valores apresentados pelas MSF (4.016-5.073 cP), o que é esperado, de acordo com os autores Falade; Ibanga-Bamijoko; Ayetigbo (2019), que, em seus estudos, demonstraram

que todas as modificações reduziram significativamente a quebra da viscosidade. Os valores de retrogradação das Pubas 2.0 (1.153,0-1.707,3 cP) aumentaram quase duas vezes o valor apresentado pelas MSF (591,3-1.123,7 cP).

Esses resultados indicam que as pastas das “Puba 2.0” possuem maior estabilidade ao aquecimento a 95°C com cisalhamento, porém, suas pastas tendem a retrogradar quando resfriadas. Estas informações são muito importantes e devem ser levadas em consideração quando as Pubas 2.0 forem utilizadas como alimento assado em frigideira ou chapa previamente aquecimentos. O produto resultante deve ser consumido ainda quente para que não perca sua característica viscoelástica, caso contrário, após resfriado, o produto tende a retrogradar, perdendo sua viscoelasticidade e enrijecendo devido às moléculas de amilose que se reorganizam tentando retornar à sua estrutura original (Asante *et al.*, 2013). O aumento nos valores de retrogradação pode ser atribuído aos ácidos formados durante a fermentação, pois, de acordo com Wang *et al.* (2015), o ácido cítrico aumenta a retrogradação de géis de amido.

A fermentação de raízes de mandioca na técnica “Puba 2.0” é um processo que sofre modificações diárias, e o presente estudo foi eficaz em responder muitas hipóteses levantadas no início do trabalho em especial a qualidade microbiológica desse produto, entretanto, algumas permanecem para próximos trabalhos: o aumento do teor de vitamina B12 após a fermentação Puba 2.0 relatado por Ernst Götsch, digestibilidade *in vivo*, propriedades prébióticas, testes sensoriais e o desenvolvimento de produtos que utilizem essa matéria prima devem ser encorajados.

## 7. CONCLUSÕES

Foi possível, por meio do pH, indicar o nono dia de fermentação como o ponto de estabilização da fermentação (PEF).

Em relação aos diferentes tipos de cultivo, as amostras preparadas com mandioca cultivada no sistema convencional apresentaram maior umidade e maior quantidade de açúcares totais. A mandioca em sistema orgânico apresentou maior colonização de BAL, o que resultou em maior biossíntese de vitamina C.

As amostras com entrecasca apresentaram maiores teores de proteínas, de fibras e de umidade, não interferindo significativamente na qualidade microbiológica ou nas propriedades reológicas.

A fermentação “Puba 2.0” aumentou a acidez das amostras, reduziu o pH, reduziu o teor de fibras solúveis e de açúcares redutores, mas, por outro lado, aumentou o teor de

vitamina C. Do ponto de vista microbiológico, foi eficaz em reduzir a contagem de microrganismos contaminantes em todas as amostras e aumentou significativamente a presença de BAL com indicadores da presença das espécies *Lactococcus garvieae*, *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactococcus lactis*, que são bactérias com potencial probiótico.

A fermentação “Puba 2.0” também reduziu a viscosidade máxima, diminuiu os valores de quebra de viscosidade e aumentou a tendência à retrogração dos grânulos de amidos presentes nas amostras.

A “Puba 2.0” é uma técnica facilmente replicável, podendo ser realizada em locais sem acesso à energia elétrica, e representa uma forma eficaz de conservação da mandioca, não necessitando de refrigeração ou secagem enquanto os frascos estiverem fechados. Essa técnica pode contribuir para a segurança alimentar de agricultores familiares que cultivam mandioca em todo o mundo e, com modificações, pode ser utilizada em escala industrial para o desenvolvimento de novos produtos à base de mandioca fermentada em estado sólido em situação aneróbica.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

São recomendados futuros estudos que avaliem:

- a) Resíduos de agrotóxicos, para confirmar a hipótese de que a cultivar convencional apresentou menor atividade microbiana por conta dos tratamentos culturais utilizados;
- b) Potencial prebiótico da “Puba 2.0”, por meio de detecções de Oligossacarídeos, em especial Frutooligossacarídeos (FOS);
- c) Cultivares estabelecidas em Sistemas Agroflorestais Biodiversos;
- d) Novas análises de identificação de BAL, utilizando técnicas mais bem adaptadas para a natureza do produto;
- e) Composição nutricional do líquido exudado;
- f) Diferentes embalagens para aprimorar a fabricação da “Puba 2.0”. A utilização de embalagens com válvulas desgaseificadoras, semelhantes às utilizadas em cafés especiais, pode ser uma solução para controlar o extravasamento de líquidos, mantendo o ambiente anaeróbico necessário;
- g) Identificação de compostos bioativos presentes na “Puba 2.0”;
- h) Potencial antioxidante, para comparar com citações de autores que detectaram aumento do potencial antioxidante em produtos de mandioca fermentada.

- i) Seleção de culturas *starters*, visando o estabelecimento de protocolos para produção industrial da “Puba 2.0”, onde a carga microbiana inicial seja conhecida.
- j) Testes *in vivo* com a “Puba 2.0”, de modo a investigar os potenciais prebióticos e probióticos da “Puba 2.0”.
- k) Forneamento em produtos elaborados a partir da “Puba 2.0”, com o intuito de averiguar a sua qualidade tecnológica e inferir, assim, a melhor utilização da “Puba 2.0” em preparações.
- l) Desenvolvimento de novos produtos, com estudos microbiológicos no produto final para determinar a sua segurança microbiológica.
- m) Análises sensoriais e de preferência do consumidor, com produtos elaborados a partir da “Puba 2.0”, de modo a averiguar o potencial comercial deste produto.

## BIBLIOGRAFIA

ABDELFATAH, Eman N.; MAHBOUB, Heba Hassan H. Studies on the effect of *Lactococcus garvieae* of dairy origin on both cheese and Nile tilapia (*O. niloticus*). **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, Cairo, v. 6, n. 2, p. 201–207, 2018. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2018.11.002. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.11.002>.

ABIA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO. **Compêndio da legislação de alimentos: consolidação das normas e padrões de alimentos**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002. v. 1, 1ª Ed.

ABRIBA, Clement; HENSHAW, Effiom E.; LENOX, Josiah; EJA, Matthew; IKPOH, Ikpoh S.; AGBOR, Bassey E. Microbial succession and odour reduction during the controlled fermentation of cassava tubers for the production of ‘foofoo’, a staple food consumed popularly in Nigeria. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, Heathrow, v. 2, n. 4, p. 500–506, 2012.

ADEBIYI, Janet A.; KAYITESI, Eugenie; ADEBO, Oluwafemi A.; CHANGWA, Rumbidzai; NJOBEH, Patrick B. Food fermentation and mycotoxin detoxification: An African perspective. **Food Control**, Vurrey, v. 106, s/n., p. 106731, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106731>.

ADEGBEHINGBE, Kehinde Tope; FAKOYA, Soji; MARCUS, BELLO, Oluyemi; ADELEKE, Bartholomew Saanu; FAGBOHUN, Olatomide Samuel; ADEJORO, Damola Olabanji. Antibacterial properties of the predominant microorganisms isolated from fermenting cassava tubers during fufu production against selected enteropathogenic bacteria. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, London, v. 9, n. 3, p. 287–296, 2019. DOI: 10.9734/ejnfs/2019/v9i330068.

ADETUNJI, C. O.; AKANDE, S. A.; OLADIPO, A. K.; SALAWU, R. A.; ONYEGBULA, A. F. Determination of the microbiological quality and proximate composition of fermented cassava food products sold in Ilorin-west local government area, Nigeria. **Ruhuna Journal of Science**, Ruhuna, v. 8, n. December, p. 76–89, 2017.

ADETUYI, F. O.; IBRAHIM, T. A. Effect of fermentation time on the phenolic, flavonoid and vitamin C contents and antioxidant activities of Okra (*Abelmoschus esculentus*) seeds. **Nigerian Food Journal**, Lagos, v. 32, n. 2, p. 128–137, 2014. DOI: 10.1016/s0189-7241(15)30128-4. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0189-7241\(15\)30128-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0189-7241(15)30128-4).

AGUIAR, J. P. L. Tabela de composição de alimentos da Amazônia. **ACTA Amazônica**, v. 26, n. ½, p. 121–126, 1996.

AGUILAR, Pedro Vargas; VILLALOBOS, Diana Hernández. Harinas y almidones de yuca, ñame, camote y ñampí: propiedades funcionales y posibles aplicaciones en la industria alimentaria. **Tecnología en Marcha**, Cartago, v. 25, n. 6, p. 37–45, 2013. DOI: 10.18845/tm.v26i1.1120. Disponível em: [http://tecdigital.tec.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec\\_marcha/article/view/1120](http://tecdigital.tec.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec_marcha/article/view/1120).

AHAOTU, Ndidiamaka Nnenaya; ANYOGU, Amarachukwu; OBIOHA, Promiselynda; ARIRIATU, Lawrence; IBEKWE, Vincent Ifeanyi; ORANUSI, Solomon; SUTHERLAND, Jane P.; OUOBA, Labia Irene Ivette. Influence of soy fortification on microbial diversity during cassava fermentation and subsequent physicochemical characteristics of gari. **Food Microbiology**, Wageningen, v. 66, p. 165–172, 2017. ISSN: 10959998. DOI: 10.1016/j.fm.2017.04.019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.019>.

ALMEIDA, Paulo Fernando. **Processamento e caracterização da puba**. 1992. 134f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.

ALMUTAIRI, Batlah; TURNER, Mark S.; FLETCHER, Mary T.; SULTANBAWA, Yasmina. The impact of commercial prebiotics on the growth, survival and nisin production by *Lactococcus lactis* 537 in milk. **LWT - Food Science and Technologies**, Zürich, v. 137, n. Fevereiro 2021, 110356, 2020. ISSN: 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110356. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110356>.

ALONSO-GOMEZ, Leonardo; NIÑO-LÓPEZ, Ana Maria; ROMERO-GARZÓN, Ana Maria; PINEDA-GOMEZ, Posidia; REAL-LOPEZ, Alicia Del; RODRIGUEZ-GARCIA, Mario E. Physicochemical transformation of cassava starch during fermentation for production of sour starch in Colombia. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 68, p. 1–9, 2016. DOI: 10.1002/star.201600059.

ALVES, Thatiane Mariano; KLOSOSKI, Suellen Jensen; MONTANHINI, Maike Taís Maziero. Produção e caracterização de amidos de mandioca modificados. **Revista Agropecuária Técnica, UFPB** - João Pessoa, v. 36, n. 1 Versão Online ISSN 0100-7467 <http://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/at/index>, p. 58–64, 2015.

AMORIM, Joana. **Comunidade que sustenta a agricultura (CSA) em São Paulo e agricultura solidária (SoLaWi) na Alemanha: construindo indicadores sociais, econômicos e ambientais**. 2018. 147f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) - Campus Araras, Universidade Federal de São Carlos, Araras 2018.

ANDRADE, Dayana; PASINI, Felipe; **Mandioca – Uma receita**. Rio de Janeiro, 2014. Entrevista em Vídeo - Youtube: @agendagotsch. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=rcOtHku5vF0>. Acesso em: 23 de Fevereiro de 2021.

ANDRADE, Dayana; PASINI, Felipe; **Life in Syntropy**. Rio de Janeiro, 2015. Entrevista em Vídeo - Youtube: @agendagotsch. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=gSPNRu4ZPvE>. Acesso em: 23 de Fevereiro de 2021

ANDRADE, Dayana; PASINI, Felipe; SCARANO, Fabio Rubio. Syntropy and innovation in agriculture. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, Amsterdam, v. 45, s/n., p. 20–24, 2020.

ANDRADE, Dayana Velozo Pastor. **Agricultura, meio ambiente e sociedade. Um estudo sobre a adaptabilidade da agricultura sintrópica**. 2019. 160f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais e Conservação) - Campus Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

ANYOGU, A.; AWAMARIA, B.; SUTHERLAND, J. P.; OUOBA, L. I. I. Molecular characterisation and antimicrobial activity of bacteria associated with submerged lactic acid cassava fermentation. **Food Control**, Vurrey, v.39, p.119–127, 2014. ISSN: 0956-7135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.11.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.11.005>.

AOAC. ‘**Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists**’, 21st Ed., Association of Analytical Chemists, Gathersburg, MDUSA, 2019

ARAÚJO, Diego D.; AMORIM, Alessandro B.; SALEH, Mayra A. D.; CURCELLI, Felipe; PERDIGÓN, Pedro L.; BICUDO, Silvio J.; BERTO, Dirlei A. Nutritional evaluation of integral cassava root silages for growing pigs. **Animal Nutrition**, [S. l.], v.2, n.3, p. 149–153, 2016. ISSN: 24056383. DOI: 10.1016/j.aninu.2016.04.006.

Asante, M., Offei, S., Gracen, V., Adu-Dapaah, H., Danquah, E., Bryant, R., & Mcclung, A. (2013). Starch physicochemical properties of rice accessions and their association with molecular markers. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.65, p.1022-1028. DOI: 10.1002/star.201300058

BECHOFF, A.; TOMLINS, K.; FLIEDEL, G.; BECERRA LOPEZ-LAVALLE, L. A.; WESTBY, A.; HERSHEY, C.; DUFOUR, D. Cassava traits and end-user preference: Relating traits to consumer liking, sensory perception, and genetics. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 58, n. 4, p. 547–567. DOI: 10.1080/10408398.2016.1202888.

BEL-RHLID, Rachid; BERGER, Ralf G.; BLANK, Imre. Bio-mediated generation of food flavors – Towards sustainable flavor production inspired by nature. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 78, s/n, p. 134–143, 2018. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.06.004.

BENNETT, Sarah D.; WALSH, Kelly A.; GOULD, L. Hannah. Foodborne Disease outbreaks caused by *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus* — United States, 1998 – 2008. **Food Safety**, [S. l.], v. 57, n. 3, p. 425–433, 2013. DOI: 10.1093/cid/cit244.

BEVILACQUA, A.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M. R. Fermented Foods: Origins and Applications. In: CABALLERO, Benjamin; FINGLAS, Paul M.; TOLDRÁ, Fidel (org.). **Encyclopedia of Food and Health**. 1. ed. University of Foggia, Foggia, Italy: Elsevier Ltd., 2016. p. 675–680. ISBN: 9780123849533. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00281-6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00281-6>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 352**, de 23 de dezembro de 2002 - Dispõe sobre o regulamento técnico de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de frutas e ou hortaliças em conserva e a lista de verificação das boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de frutas e ou hortaliças em conserva. Diário Oficial da União: nº 6, Brasília, DF, 8 de janeiro de 2002. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0352\\_23\\_12\\_2002.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0352_23_12_2002.html)

BRASIL. **Lei nº 10.831**, de 23 de dezembro de 2003 - Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Presidência da República Casa Civil Subchefia para Assuntos

Jurídicos, Brasília - DF, p. 1–3, 2003. Disponível em:  
[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/2003/110.831.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/110.831.htm)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Gabinete do Ministro. **Instrução Normativa 23/2005** - Regulamento técnico de identidade e qualidade dos produtos amiláceos derivados da raiz de mandioca. Brasília, DF, p.1-7, 2005. Disponível em  
<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/normativos-cgqv/pocs/instrucao-normativa-no-23-de-14-de-dezembro-de-2005-derivados-da-raiz-da-mandioca-1/view>

BRASIL. Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Decreto nº 6.323**, de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a lei no 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. Diário Oficial da União, p. 2, de 28 de dezembro de 2007. Disponível em:  
<https://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=DEC&numero=6323&ano=2007&ato=4a0k3aE1UNRpWT22f>

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA **Resolução nº 429**, de 28 de fevereiro de 2011 - Dispõe sobre a metodologia de recuperação das Áreas de Preservação Permanente - APPs., Brasília, DF. Diário Oficial da União nº43, p.76, 02 de março de 2011. Disponível em:  
[http://www.mpsp.mp.br/portal/page/portal/cao\\_urbanismo\\_e\\_meio\\_ambiente/legislacao/leg\\_federal/leg\\_fed\\_resolucoes/leg\\_fed\\_res\\_conama/Resol-CONAMA-429-11\\_\(metologia-recuperacao-APPs\).pdf](http://www.mpsp.mp.br/portal/page/portal/cao_urbanismo_e_meio_ambiente/legislacao/leg_federal/leg_fed_resolucoes/leg_fed_res_conama/Resol-CONAMA-429-11_(metologia-recuperacao-APPs).pdf)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 52** de 2011 – Estabelece o regulamento técnico da farinha de mandioca., Brasília, DF. Diário Oficial da União, seção 1, pg. 9-20, 8 de novembro de 2011. Disponível em:  
<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/normativos-cgqv/pocs/instrucao-normativa-no-52-de-07-de-novembro-de-2011-farinha-de-mandioca/view>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada- RDC nº 54**, de 12 de novembro de 2012 - Regulamento técnico sobre informação nutricional complementar., Brasília, DF. Diário Oficial da União, p. 1–6, 2012. Disponível em: [bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0054\\_12\\_11\\_2012.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0054_12_11_2012.html)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa – IN nº 75**, de 8 de outubro de 2020. Estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados. Diário Oficial da União, ed. 195. seq. 1 pg. 113, 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-75-de-8-de-outubro-de-2020-282071143>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 331**, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019 – Dispõe sobre padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Brasília, DF. Diário Oficial da União, ed.249, seção 1 p. 96, 26 de dezembro de 2019. Disponível em: [www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272](https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272)

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da diretoria colegiada RDC nº 241**, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. Ministério da saúde/agência nacional de vigilância sanitária. Diário Oficial da União, ed. 144. seq. 1 pg. 97, 2018. Disponível em: [www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379910/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-241-de-26-de-julho-de-2018-34379900](http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379910/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-241-de-26-de-julho-de-2018-34379900)

BUCKENHUESKES, H. J. Quality improvement and fermentation control in vegetables. In: HOLZAPFEL, Wilhelm (org.). **Advances in fermented foods and beverages: improving quality, technologies and health benefits**. 1. ed. LWB, Hemmingen, Germany: Elsevier Ltd, 2015. p. 516–539. ISBN: 9781782420248. DOI: 10.1016/B978-1-78242-015-6.00022-0.

CAMARGO Karina Fernandes de.; LEONEL Magali.; MISCHAN Martha Maria. Produção de biscoitos extrusados de polvilho azedo com fibras: efeito de parâmetros operacionais sobre as propriedades físicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 586–591, 2008.

CAMPOS, Ana Paula Rocha; CARMO, Juliana Rodrigues; CARVALHO, Ana Vânia; MATTIETTO, Rafaella de Andrade. Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas de tucupi comercial. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Amazônia Oriental** - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Belém, PA, v. 112, p. 25, 2016.

CARDOSO, Ana Lúcia Sicchiroli Paschoal; TESSARI, Eliana, N. Castiglioni. *Salmonella enteritidis* em aves e na saúde pública: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça, Ano XI, n. 21, Julho, 2013. ISSN: 1679-7353. Disponível em: [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/WZ1K6clcvLAtpdc\\_2013-8-13-16-35-48.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/WZ1K6clcvLAtpdc_2013-8-13-16-35-48.pdf)

CARVALHO, João Victor Chiquito de; JORGE, Luana Mariani; FREITAS, Janiely Dorini de; TERHAAG, Marcela Moreira. Desenvolvimento e aceitabilidade de cookies formulados a partir de bagaço de mandioca. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 21, n. 3, p. 193–199, 2017.

CEREDA, Marney P.; VILPOUX, Olivier. Metodologia para divulgação de tecnologia para agroindústrias rurais: exemplo do processamento de farinha de mandioca no Maranhão. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, Taubaté, v. 6, n. 2, p. 219–250, 2010.

CHISTÉ, Renan Campos; Cohen, Kelly de Oliveira. Caracterização físico-química da farinha de mandioca do grupo d'água comercializada na cidade de Belém, Pará. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 91–99, 2010.

CHISTÉ, Renan Campos; Cohen, Kelly de Oliveira. Influência da fermentação na qualidade da farinha de mandioca do grupo d'água. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 41, n. 2, p. 279–284, 2011.

CHISTÉ, Renan Campos; Cohen, Kelly de Oliveira. Efeito do Processo de Fabricação da Farinha de Mandioca. Documento 26. Belém: Embrapa, 2006. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Amazônia Oriental** - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Belém, PA, v. 267, p. 75, 2016

CHISTÉ, Renan Campos; COHEN, Kelly De Oliveira; MATHIAS, Erla De Assunção; OLIVEIRA, Suzy Sarzi. Quantificação de cianeto total nas etapas de processamento das farinhas de mandioca dos grupos seca e d'água. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, n. 1, p. 221–226, 2010. ISSN: 0044-5967. DOI: 10.1590/S0044-59672010000100028. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0044-59672010000100028&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672010000100028&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt).

CHRISTOFF, Ana Paula; FERNANDA, Aline; SEREIA, Rodrigues; RODRIGUES, Dellyana; LUCIO, Rômulo; MORAES, Vale De; FELIPE, Luiz; OLIVEIRA, Valter De. Bacterial identification through accurate library preparation and high-throughput sequencing. **Neoprosecta Microbiome Technologies**, Florianópolis, SC, n. 25 May 2017, p. 1–5, 2017.

COULIBALY, Kougoman Emmanuel; COULIBALY, Kalpy-Julien; THIERRY, Lessoy; AKPA, Esso Eric; GOUALIE, Glossi Bernadette; NIAMKE, Sebastien Lamine; DOSSO, Mireille. Probiotic profiling of *Leuconostoc* species isolated from a traditional fermented cassava product. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 11, n. 10, p. 408–413, 2017. ISSN: 1996-0808. DOI: 10.5897/ajmr2017.8457.

COULIN, P.; FARAH, Z.; ASSANVO, J.; SPILLMANN, H.; PUHAN, Z. Characterisation of the microflora of attiéké, a fermented cassava product, during traditional small-scale preparation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 106, n. 2, p. 131–136, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.012>.

D'ANGELO, Luisa; CICOTELLO, Joaquín; ZAGO, Miriam; GUGLIELMOTTI, Daniela; QUIBERONI, Andrea; SUÁREZ, Viviana. *Leuconostoc* strains isolated from dairy products: Response against food stress conditions. **Food Microbiology**, [S. l.], v. 66, p. 28–39, 2017. ISSN: 10959998. DOI: 10.1016/j.fm.2017.04.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.001>.

DAVI, Edmar Henrique Dairell; PIRES, Edilson Araújo; FERREIRA, Mariza Alves; SANTOS, Ferlando Lima. Investigação prospectiva sobre o uso da mandioca e seus subprodutos no ramo das ciências médicas entre os anos de 1969 a 2012. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, v. 1, n.1, v. 7, n. 1, p. 97–106, jan. mar., 2014. ISBN: 0534393217.

DIAS, Larissa Tavares; LEONEL, Magali. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 692–700, 2006.

DÍAZ, Andrea; DINI, Cecilia; VIÑA, Sonia Z.; GARCÍA, María Alejandra. Technological properties of sour cassava starches: effect of fermentation and drying processes. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 93, n. July, p. 116–123, 2018. ISSN: 0023-6438. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.03.029. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.029>.

DONG, Anran; MALO, Alesana; LEONG, Mabel; HO, Van T. T.; TURNER, Mark S. Control of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat ham and fresh cut iceberg lettuce using a nisin containing *Lactococcus lactis* fermentate. **Food Control**, [S. l.], v. 119, n. June 2020, p. 107420, 2021. ISSN: 09567135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107420. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107420>.

DRIEHUIS, F.; WILKINSON, J. M.; JIANG, Y.; OGUNADE, I.; ADESOGAN, A. T. Silage review: animal and human health risks from silage. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 101, n. 5, p. 4093–4110, 2018. ISSN: 15253198. DOI: 10.3168/jds.2017-13836. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13836>.

ELIJAH, A. I.; ATANDA, O. O.; POPOOLA, A. R.; UZOCHUKWU, S. V. A. Molecular characterization and potential of bacterial species associated with cassava waste. **Nigerian Food Journal**, Lagos, v. 32, n. 2, p. 56–65, 2014. ISSN: 01897241. DOI: 10.1016/s0189-7241(15)30118-1. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0189-7241\(15\)30118-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0189-7241(15)30118-1).

ESCOBAR, Andrés; DAHDOUH, Layal; RONDET, Eric; RICCI, Julien; DUFOUR, Dominique; TRAN, Thierry; CUQ, Bernard; DELALONDE, Michèle. Development of a novel integrated approach to monitor processing of cassava roots into gari: macroscopic and microscopic scales. **Food and Bioprocess Technology**, [S. l.], v. 11, n. 7, p. 1370–1380, 2018. ISSN: 19355149. DOI: 10.1007/s11947-018-2106-5.

FALADE, Kolawole O.; IBANGA-BAMIJOKO, Blessing; AYETIGBO, Oluwatoyin E. Comparing properties of starch and flour of yellow-flesh cassava cultivars and effects of modifications on properties of their starch. **Journal of Food Measurement and Characterization**, Genebra, v. 13, n. 4, p. 2581–2593, 2019. ISSN: 21934134. ISBN: 0123456789. DOI: 10.1007/s11694-019-00178-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00178-5>.

FEKRI, Arezoo; TORBATI, Mohammadali; KHOSROU SHAHI, Ahmad Yari; SHAMLOO, Hasan Bagherpour; AZADMARD-DAMIRCHI, Sodeif. Functional effects of phytate-degrading, probiotic lactic acid bacteria and yeast strains isolated from Iranian traditional sourdough on the technological and nutritional properties of whole wheat bread. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 306, n. October 2019, p. 125620, 2020. ISSN: 18737072. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125620. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125620>.

FERNANDES, Hugo Rangel; OLIVEIRA, Denize Cristine Rodrigues de; SOUZA, Gabriela Souza; LOPES, Alessandra Santos. Parâmetros de qualidade física e físico-química da farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante processamento. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 9, n. 11, p. 1–9, 2013.

FERNANDES, Raquel Onozato Castro. **Desenvolvimento de massa alimentícia à base de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): avaliação físico-química, microbiológica e sensorial**. 2017. 71f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2017.

FERREIRA, Daniel Costa. **Avaliação do teor dos compostos cianogênicos e identificação dos pontos críticos de controle químico no processamento de massa puba**. 2010, 73f.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

FIORDA, Fernanda A.; JÚNIOR, Manoel S. S.; SILVA, Flávio A.; SOUTO, Luciana R. F.; GROSSMANN, Maria V. E. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 4, p. 408–416, 2013.

FLEMING, Holly; FOWLER, Star V.; NGUYEN, Luong; HOFINGER, Diedre M. *Lactococcus garvieae* multi-valve infective endocarditis in a traveler returning from South Korea. **Travel Medicine and Infectious Disease**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 101–104, 2012. DOI 10.1016/j.tmaid.2012.02.004. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmaid.2012.02.004>.

FLEURY, Ségolène; BEMRAH, Nawel; NOUGADÈRE, Alexandre; ALLES, Benjamin; TOUVIER, Mathilde; RIVIÈRE, Gilles. Exposure to Pesticide Residues and Contaminants of the Vegetarian Population-French data. In: MARIOTTI, François. **Vegetarian and Plant-Based Diets in Health and Disease Prevention**. 1.ed. Amsterdam: Academic Press – Elsevier. p. 837-851. Capítulo 45. Ltd. 2017. DOI 10.1016/B978-0-12-803968-7.00045-9. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803968-7.00045-9>.

FLIBERT, Guira; ABEL, Tankoano; ALY, Savadogo. African cassava traditional fermented food: the microorganism's contribution to their nutritional and safety values-a review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Tamilnadu, v. 5, n. 10, p. 664–687, 2016. ISSN: 23197692. DOI: 10.20546/ijcmas.2016.510.074. Disponível em: <http://www.ijcmas.com/abstractview.php?ID=1011&vol=5-10-2016&SNo=74>.

FOSSI, Bertrand Tatsinkou; NDJOUENKEU, Robert. Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from “Gari” a cassava-based African fermented food. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, [S. l.], v. 5, n. 04, p. 1–5, 2017. ISSN: 24557005. DOI: 10.7324/jabb.2017.50401.

Franco, Bernadette D. Gombossy de Melo; Landgraf, Mariza. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008, 182p.

FRANCO, Célia Maria Landi; WONG, Kit-Sum; YOO, Sang-ho; JANE, Jay-lin. Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. **Cereal Chemistry**, [S. l.], v.79, n.2, p.243- 248, 2002.

FRANCO, Célia Maria Landi; OGAWA, Cristina; RABACHINI, Taís; ROCHA, Thais de Souza; CEREDA, Marney Pascoli; JANE, Jay-lin. Effect of lactic acid and UV irradiation on the cassava and corn starches. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 3., n. 2, p. 443-454, 2010.

FRANZ, Charles M. A. P.; HUCH, Melanie; MATHARA, Julius M.; ABRIOUEL, Hikmate; BENOMAR, Nabil; REID, Gregor; GALVEZ, Antonio; HOLZAPFEL, Wilhelm H. African fermented foods and probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, Boca Raton, v. 190, p. 84–96, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.033>.

FREIRE, Ana Luiza; RAMOS; Cintia Lacerda; SCHWAN, Rosane Freitas. Microbiological and chemical parameters during cassava based-substrate fermentation using potential starter

cultures of lactic acid bacteria and yeast. **Food Research International**, [S. l.], v. 76, p. 787–795, 2015. ISSN: 09639969. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.041. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.041>.

GARCIA, Emerson Loli; URBANO, Luiz Henrique; SANTOS, Thaís Paes Rodrigues dos; FERNANDES, Daiana de Souza; BEM, Marília Sbragia Del; LEONEL, Magali. Farinha fermentada de mandioca como matéria prima para snacks extrusados. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 69–82, 2016.

GARCIA, Marina. C.; ELIAS, Thaissa. M.; RIBEIRO, Keyla O.; SOARES JUNIOR, M. S.; CALIARI, Márcio. Avaliação das propriedades microbiológica, estrutural e físico-química do farelo obtido da agroindustrialização da mandioca. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Gramado: FAURGS, 2016. **Anais [...]**. Disponível: <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/1529.pdf>.

GERVIN, Vanessa Maria; CAROLINA, Ana; SENA, Moura De; AMANTE, Edna Regina. Efeitos da modificação por ácidos orgânicos e do processo de secagem sobre as propriedades de expansão do amido de mandioca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 75:1693, p. 1–12, 2016. Disponível em: [http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/10/rial75\\_completa/artigos-separados/1693.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/10/rial75_completa/artigos-separados/1693.pdf)

GHOSH, Pallab Kumar; DE, Tarun Kumar; MAITI, Tushar Kanti. Ascorbic acid production in root, nodule and *Enterobacter* spp. (Gammaproteobacteria) isolated from root nodule of the legume *Abrus precatorius* L. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 127–134, 2015. ISSN: 18788181. DOI: 10.1016/j.bcab.2014.11.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2014.11.006>.

GLIESSMAN, Stephen R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 2.ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, 2001

GÖTSCH, Ernst. **O Renascer da Agricultura**. Trad.: VAZ, Patrícia, 2.ed. Rio de Janeiro: AS-PTA Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 1996. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/204349>

GÖTSCH, Ernst. **Homem e Natureza Cultural na Agricultura**. 2.ed. Recife: Centro de Desenvolvimento Agroecológico Sabiá, 1997.

GREEN, Ashley; NEMECEK, Thomas; CHAUDHARY, Abhishek; MATHYS, Alexander. Assessing nutritional, health, and environmental sustainability dimensions of agri-food production. **Global Food Security**, [S. l.], v. 26, n. August, p. 100406, 2020. ISSN: 22119124. DOI: 10.1016/j.gfs.2020.100406. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100406>.

HAN, Huijie; HOU, Jingwen; YANG, Ning; ZHANG, Yihui; CHEN, Huanfei; ZHANG, Zhipeng; SHEN, Yuanyuan; HUANG, Shengtang; GUO, Shengrong. Insight on the changes of cassava and potato starch granules during gelatinization. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 126, n. 1 April, p. 37–43, 2019. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.201. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.201>.

HERNANDEZ-VALDES, Jhonatan A.; STEGGE, Myrthe aan De; HERMANS, Jos; TEUNIS, Johan; VAN TATENHOVE-PEL, Rinke J.; TEUSINK, Bas; BACHMANN, Herwig; KUIPERS, Oscar P. Enhancement of amino acid production and secretion by *Lactococcus lactis* using a droplet-based biosensing and selection system. **Metabolic Engineering Communications**, [S. l.], v. 11, n. March, p. e00133, 2020. ISSN: 22140301. DOI: 10.1016/j.mec.2020.e00133. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mec.2020.e00133>.

HOFFMANN, Mauricio Rigon. **Sistema Agroflorestal Sucessional - Implantação Mecanizada. Um estudo de caso**. 2005. 71f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenheiro Agrônomo) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2005. Disponível em: [http://www.agrofloresta.net/static/artigos/saf\\_sucessional\\_mecanizado\\_hoffman.pdf](http://www.agrofloresta.net/static/artigos/saf_sucessional_mecanizado_hoffman.pdf)

HOSSAIN, Md Iqbal; MIZAN, Md Furkanur Rahaman; ASHRAFUDOULLA, Md; NAHAR, Shamsun; JOO, Hyun Jung; JAHID, Iqbal Kabir; PARK, Si Hong; KIM, Keun Sung; HA, Sang Do. Inhibitory effects of probiotic potential lactic acid bacteria isolated from kimchi against *Listeria monocytogenes* biofilm on lettuce, stainless-steel surfaces, and MBEC™ biofilm device. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 118, n. June, p. 108864, 2020. ISSN: 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108864. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108864>.

HUCH, Melanie; HANAK, Alexander; SPECHT, Ingrid; DORTU, Carine M.; THONART, Philippe; MBUGUA, Samuel; HOLZAPFEL, Wilhelm H.; HERTEL, Christian; FRANZ, Charles M. A. P. Use of *Lactobacillus* strains to start cassava fermentations for Gari production. *International Journal of Food Microbiology*, [S. l.], v. 128, n. 2, p. 258–267, 2008. ISSN: 01681605. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.08.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.08.017>.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. ISSN: 1098-6596. ISBN: 9788578110796. DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004.

IBARRURI, Jone; CEBRIÁN, Marta; HERNÁNDEZ, Igor. Solid State Fermentation of Brewer's Spent Grain Using *Rhizopus sp.* to Enhance Nutritional Value. **Waste and Biomass Valorization**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. 3687–3700, 2019. ISSN: 1877265X. ISBN: 0123456789. DOI: 10.1007/s12649-019-00654-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00654-5>.

ISO (International Standardization Organization). **ISO 15214:1998** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 degrees °C. Genebra, 1998.

ISO (International Standardization Organization). **ISO 6888-1:1999** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. Genebra, 1999

ISO (International Standardization Organization). **ISO 7932:2004** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus*

cereus — Colony-count technique at 30 degrees °C. Genebra, 2004.

ISO (International Standardization Organization). **ISO 21527-2:2008** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95 Genebra, 2008.

ISO (International Standardization Organization). **ISO 6579-1:2017** Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella — Part 1: Detection of Salmonella spp. Genebra, 2017

JAGANNATH, A.; RAJU, P. S.; BAWA, Amarinder Singh. Controlled lactic fermentative stabilization of ascorbic acid in amaranthus paste. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 48, n. 2, p. 297–301, 2012. ISSN: 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2012.04.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.003>.

JASKO, Ariana Cranshak; ANDRADE, Jéssica De; CAMPOS, Priscilla Faber De; PADILHA, Luciane; PAULI, Renata Baraldi De; QUAST, Leda Battestin; SCHNITZLE, Egon; DEMIATE, Ivo Mottin. Caracterização físico-química de bagaço de mandioca *in natura* e após tratamento hidrolítico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Curitiba, v. 5, n. S1, p. 427–441, 2011. ISSN: 1981-3686. ISBN: 1981368620. DOI: 10.3895/S1981-36862011000100006S1.

JAY, James M.; LOESSNER, Martin J.; GOLDEN, David A. **Modern food Microbiology**. 7th Ed. New York: Springer US, 2005. ISSN: 1572-0330. DOI:10.1007/b100840.

KAMAL, Rania M.; ALNAKIP, Mohamed E.; ABD EL AAL, Salah F.; BAYOUMI, Mohamed A. Bio-controlling capability of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* against some common foodborne pathogens in yoghurt. **International Dairy Journal**, [S. l.], v. 85, n. Outubro, p. 1–7, 2018. ISSN: 09586946. ISBN: 2010005260. DOI: 10.1016/j.idairyj.2018.04.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.04.007>.

KAPRASOB, Ratchadaporn; KERDCHOECHUEN, Orapin; LAOHAKUNJIT, Natta; SARKAR, Dipayan; SHETTY, Kalidas. Fermentation-based biotransformation of bioactive phenolics and volatile compounds from cashew apple juice by select lactic acid bacteria. **Process Biochemistry**, [S. l.], v. 59, n. May, p. 141–149, 2017. ISSN: 13595113. DOI: 10.1016/j.procbio.2017.05.019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.019>.

KASAYE, T.; MELESE, A.; AMARE, G.; HAILAYE, G. Effect of fermentation and boiling on functional and physico chemical properties of yam and cassava flours. **Journal of Agricultural Science and Food Research**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 1000231, 2018. ISBN: 2519672927. Disponível em: <https://www.longdom.org/open-access/effect-of-fermentation-and-boiling-on-functional-and-physico-chemical-properties-of-yam-and-cassava-flours.pdf>.

KAUR, Kamaljit; AHLUWALIA, Preeti. Cassava as potential crop for the food and fermentation industry: A review. **International Journal of Food Fermentation Technology**, New Delhi, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017. DOI: 10.5958/2277-9396.2017.00001.0.

KOOK, Sun Young; LEE, Yaelim; JEONG, Eui Cheon; KIM, Seokjin. Immunomodulatory effects of exopolysaccharides produced by *Bacillus licheniformis* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from Korean kimchi. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 54, n. January, p. 211–219, 2019. ISSN: 17564646. DOI: 10.1016/j.jff.2019.01.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.003>.

KOSTINEK, Melanie; SPECHT, Ingrid; EDWARD, Vinodh A.; SCHILLINGER, Ulrich; HERTEL, Christian; HOLZAPFEL, Wilhelm H.; FRANZ, Charles M. A. P. Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria from fermented cassava used for the preparation of Gari, a traditional African food. **Systematic and Applied Microbiology**, [S. l.], v. 28, n. 6, p. 527–540, 2005. ISSN: 07232020. DOI: 10.1016/j.syapm.2005.03.001.

LACERDA, Inayara C. A.; MIRANDA, Rose L.; BORELLI, Beatriz M.; NUNES, Álvaro C.; NARDI, Regina M. D.; LACHANCE, Marc André; ROSA, Carlos A. Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, [S. l.], v. 105, n. 2, p. 213–219, 2005. ISSN: 01681605. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.04.010.

LAYA, Alphonse; KOUBALA, Benoît Bargui; KOUNINKI, Habiba; NCHIWAN NUKENINE, Elias. Effect of harvest period on the proximate composition and functional and sensory properties of gari produced from local and improved cassava (*Manihot esculenta*) varieties. **International Journal of Food Science**, [S. l.], v. 2018, n. 6241035, 2018. ISSN: 23145765. DOI: 10.1155/2018/6241035.

LEE, Saerom; KIM, Misook. *Leuconostoc mesenteroides* MKSR isolated from kimchi possesses  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, antioxidant activity, and cholesterol-lowering effects. **LWT – Food Science and Technology**, Zürich, v. 116, n. January, p. 108570, 2019. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108570. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108570>.

LI, Yan; LI, Zheng; HE, Xiaoying; CHEN, Liangliang; CHENG, Yinchu; JIA, Honghua; YAN, Ming; CHEN, Kequan. Characterisation of a *Thermobacillus* sucrose phosphorylase and its utility in enzymatic synthesis of 2-O- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid. **Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 305, n. February, p. 27–34, 2019. ISSN: 18734863. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.08.018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.08.018>.

LI, Yang; LIU, Yiming; CAO, Chengxu; ZHU, Xin Yuan; WANG, Cong; WU, Rina; WU, Junrui. Extraction and biological activity of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc mesenteroides* SN-8. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 157, p. 36–44, 2020. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.150. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.150>.

LONČAR, Eva S.; DJURIĆ, M.; MALBAŠA, Radomir.; KOLAROV, L. J.; KLAŠNJA, Mile. Influence of working conditions upon Kombucha conducted fermentation of black tea. **Food and Bioprocess Processing**, [S. l.], v. 84, n. 3 C, p. 186–192, 2006. ISSN: 09603085. DOI: 10.1205/fbp.04306.

LUNA, Aurilene T.; RODRIGUES, Fabíola F. G.; COSTA, José G. M.; PEREIRA, Anita O. B. Estudo físico-químico, bromatológico e microbiológico de *Manihot esculenta* Crantz (mandioca). **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, Juazeiro do Norte, v. 1, n. 3, jun., 2013.

MACHADO, A. V.; ARAÚJO, F. M. M. C.; PEREIRA, J. Caracterização física, química e tecnológica do polvilho azedo. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 3, p. 01-06, 2010.

MARANHÃO, Ricardo Frota de Albuquerque; BASTOS, Senia Regina; MARCHI, Marília Malzoni. Cultura e Sociedade no Sistema Culinário da Mandioca no Brasil. **Sociais e Humanas**, Santa Maria, v. 28, n. 02 mai./ago., p. 54–68, 2015 b.

MARIOTTI, François. Plant Protein, Animal Protein, and Protein Quality.. In: MARIOTTI, François. **Vegetarian and plant-based diets in health and disease prevention**. 1.ed. Amsterdam: Academic Press - Elsevier Ltd. 2017. p. 621-642. Capítulo 36. DOI 10.1016/B978-0-12-803968-7.00045-9. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803968-7.00036-8>

MATZEMBACHER, Daniele Eckert; MEIRA, Fabio Bittencourt. Mercantilização & contramovimento: agricultura sustentada pela comunidade (CSA): estudo de caso em Minas Gerais, Brasil. **Revista Organizações & Sociedade**, Salvador, v. 27, 94, 2020. ISSN: 1984-9230. DOI: 10.1590/1984-9270942.

MELO, Eveny Silva de; AMORIM, Wenderson Rodrigues de; PINHEIRO, Raizza Eveline Escórcio; CORRÊA, Paulo Gomes do Nascimento; CARVALHO, Sávio Matheus Reis de; SANTOS, Alan Rodrigo Sousa Soares; BARROS, Danielle de Souza; OLIVEIRA, Elke Taline Alencar Cavalcante; MENDES, Carine Augusto; SOUSA, Flávio Vieira de. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil : Revisão. **Pubvet**, Maringá, v.12, n.10, p. 1–9, 2018.

MENEZES, Tobias José Barreto de; SARMENTO, Silene Bruder Silveira; DAIUTO, Érica Regina. Influência de enzimas de maceração na produção de puba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, vol. 18 n. 4, out./dez, p. 386-390, 1998.

MICCOLIS, Andrew; PENEIREIRO, Fabiana M.; MARQUES, Henrique R.; VIEIRA, Daniel Luis M.; ARCO-VERDE, Marcelo F.; HOFFMANN, Mauricio R.; REHDER, Tatiana; PEREIRA, Abilio V. B. **Restauração ecológica com Sistemas Agroflorestais: Como conciliar conservação com produção opções para Cerrado e Caatinga**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza – ISPN / Centro Internacional de Pesquisa Agroflorestal – ICRAF, 2016.

MIRANDA, Juliane Cristina. **Bioconversão energética da folha e bagaço de mandioca pelo fungo *Rhizopus oligosporus* para obtenção de alimento funcional**. 2014. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, UNESP, São Paulo, 2014.

MOKOENA, Mduduzi Paul; MUTANDA, Taurai; OLANIRAN, Ademola O. Perspectives on the probiotic potential of lactic acid bacteria from African traditional fermented foods and beverages. **Food and Nutrition Research**, cidade, [S. l.], v. 60, n. July 2017, p. 1–12, 2016. ISSN: 16546628. DOI: 10.3402/fnr.v60.29630.

MONTEIRO, Mário Ypiranga. Alimentos preparados à base da mandioca. **Revista Brasileira de Folclore** - Ministério da Educação e Cultura - Campanha de Defesa do Folclore Brasileiro, Rio de Janeiro: FUNARTE. Ano III, n. 5 Janeiro/Abril, 1963.

MONTGOMERY, David. R. **Dirt**: The erosion of civilization. 1.ed. Berkeley: University of California Press, 2007.

MONTHÉ, Orissa Charlène; GROSMARE, Lidwine; NGUIMBOU, Richard Marcel; DAHDOUH, Loyal; RICCI, Julien; TRAN, Thierry; NDJOUENKEU, Robert. Rheological and textural properties of gluten-free doughs and breads based on fermented cassava, sweet potato and sorghum mixed flours. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 101, p. 575–582, 2019. ISSN: 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.11.051. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.051>.

MORAES, Murilo Didonet De; OLIVEIRA, Nilton Aparecido Marques de. Produção orgânica e agricultura familiar: obstáculos e oportunidades. **Revista Desenvolvimento Socioeconômico em Debate**, UNESC, Criciúma, v. 3, n. 1, p. 19–37, 2017.

MUANDZE NZAMBE, Jean Ulrich; GUIRA, Flibert; CISSE, Hama; ZONGO, Oumarou; ZONGO, Cheikna; DJBRINE, Adoum Oumar; TRAORE, Yves; SAVADOGO, Aly. Technological, biochemical and microbiological characterization of fermented cassava dough use to produce cassava stick, a Gabonese traditional food. **International Journal of Multidisciplinary and Current Research**, [S. l.], v. 5, n. (July/Aug), p. 808–817, 2017.

NEPA. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – TACO. 4.ed., Campinas, SP, 2007. ISSN: 16248597. ISBN: 1578810728. DOI: 10.1007/s10298-005-0086-x. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>.

NETA, Palmira De Jesus; OLIVEIRA, Luciana Alves de; JESUS, Jaciene Lopes de; NUNES, Paulo Jackson. Perfil de viscosidade e teor de amido de clones de mandioca de mesa em três épocas de colheita. In: 12a Jornada Científica – Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2018, Brasília. **Anais [...]**, p.71, 2018.

NICOLAU, Anca Ioana. Safety of Fermented Cassava Products. In: PRAKASH, V.; MARTIN-BELLOSO, O.; KEENER, L.; ASTLEY, S.; BRAUN, S.; MCMAHON, H.; LELIEVELD, H. (org.). **Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods**. 1.ed. Amsterdam : Elsevier Inc., 2016. p. 319–335. ISBN: 9780128006054. DOI: 10.1016/B978-0-12-800605-4/00016-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800605-4/00016-5>.

NIELSEN, Karen M. Organic Farming. In: FATH, Brian (org.). **Encyclopedia of Ecology**. Volume 4.ed. [S. l.]: Elsevier Inc., 2019. p. 2780. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10603-7>

NDAM, Youchahou Njankouo; MOUNJOUENPOU, Pauline; KANSCI, Germain; KENFACK, Marie Josiane; MEGUIA, Merlène Priscile Fotso; EYENGA, Nina Sophie Natacha Ngono; AKHOBAKOH, Maximilienne Mikhaïl; NYEGUE, Ascension. Influence of cultivars and processing methods on the cyanide contents of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its traditional food products. **Scientific African**, Boca Raton, v. 5, s/n, p. 1-8, 2019. ISSN: 24682276. DOI: 10.1016/j.sciaf.2019.e00119.

NJOKU, Victor O.; OBI, Chidi. Assessment of Some Fermentation Processes of Cassava Tubers. **International Archive of Applied Sciences and Technology**, Agra, v. 1, n. 1 June, p. 20–25, 2010.

OBI, Clifford Nkemnaso. Solid state fermentation: substrates uses and applications in biomass and metabolites production - A Review. **South Asian Research Journal of Biology and Applied Biosciences**, Sylhet, v. 01, n. 01, p. 20–29, 2019. ISSN: 26644169. DOI: 10.36346/sarjbab.2019.v01i01.004.

OGUNTOYINBO, Folarin A.; CHO, Gyu-Sung; TRIERWEILER, Bernhard; KABISCH, Jan; RÖSCH, Niels; NEVE, Horst; BOCKELMANN, Wilhelm; FROMMHERZ, Lara; NIELSEN, Dennis S.; KRYCH, Lukasz; FRANZ, Charles M.A.P.. Fermentation of African kale (*Brassica carinata*) using *L. plantarum* BFE 5092 and *L. fermentum* BFE 6620 starter strains. **International Journal of Food Microbiology**, [S. l.], v. 238, n. December, p. 103–112, 2016. ISSN: 18793460. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.030. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.030>.

OLIVEIRA, Gabriel; GONZÁLEZ-MOLERO, Inmaculada. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. **Endocrinología y Nutrición**, Oviedo, v. 63, n. 9, p. 482–494, 2016. ISSN: 15792021. DOI: 10.1016/j.endonu.2016.07.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.2016.07.006>.

OMAFUVBE, B. O.; ADIGUN, A. R., OGUNSUYI, J. L.; ASUNMO, A. M. Microbial diversity in ready-to-eat fufu and lafun-fermented cassava products sold in Ile-Ife, Nigeria. **Research Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 2, n. 11, p. 831–837, 2007.

ORJI, J. O.; NNACHI, A. U.; OJIOCHIE, C. O.; EGWUATU, C. C.; EFUNSHILE, A. M.; EZEJIOFOR, O. I.; EZEAMA, C. O.; NWANELI, C. U.; MBACHU, I. Bacteriological quality and public health implications of fermented cassava (garri) sold in Okwor and Nkalagu markets in Ebonyi state, Nigeria. **International Journal of Scientific & Technology Research**, Delhi, v. 5, n. 11, p. 85–91, 2016.

OYEYINKA, Samson A.; AJAYI, Olamilekan I.; GBADEBO, Christiana T.; KAYODE, Rowland M. O.; KARIM, Olayinka R.; ADELOYE, Abiodun A. Physicochemical properties of gari prepared from frozen cassava roots. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 99, p. 594–599, 2019. ISSN: 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.10.004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.004>.

PASINI, Felipe dos Santos. **A Agricultura Sintrópica de Ernst Götsch: história, fundamentos e seu nicho no universo da Agricultura Sustentável**. 2017. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Conservação) – Campus Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, 2017. Disponível em: [http://ppgciac.macaé.ufrj.br/images/Dissertações/FELIPE\\_DOS\\_SANTOS\\_PASINI\\_ok.pdf](http://ppgciac.macaé.ufrj.br/images/Dissertações/FELIPE_DOS_SANTOS_PASINI_ok.pdf).

PASTORE, Glaucia Maria; PARK, Y. K.; MIN, D. B. Production of fruity aroma by *Neurospora* from beiju. **Mycological Research**, London, v. 98, n. 11, p. 1300–1302, 1994. ISSN: 0953-7562. DOI: 10.1016/S0953-7562(09)80302-X. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80302-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80302-X).

PENEIREIRO, Fabiana Mongeli. **Sistemas agroflorestais dirigidos pela sucessão natural : um estudo de caso**. 1999. 149p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

PENIDO, Fernanda Corrêa Leal; PILÓ, Fernanda Barbosa; SANDES, Sávio Henrique de Cicco; NUNES, Álvaro Cantini; COLEN, Gecernir; OLIVEIRA, Evelyn de Souza; ROSA, Carlos Augusto; LACERDA, Inayara Cristina Alves. Selection of starter cultures for the production of sour cassava starch in a pilot-scale fermentation process. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 49, n. 4, p. 823–831, 2018. ISSN: 16784405. DOI: 10.1016/j.bjm.2018.02.001. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.02.001>.

PEREIRA, Juliane Mascarenhas. **Características funcionais, antimicrobianas e aplicação das águas sobrenadantes da fermentação do amido de mandioca**. 2016. 173p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina UFSC, Florianópolis, 2016.

PIMENTEL, Flávio Araújo; OLIVEIRA, Solange Maria Gadelha de.; DAMASCENO, Márcio Jander Ribeiro. Processamento da farinha carimã. **Instruções Técnicas - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa** - Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Rio Branco, AC, v.38 n. dez, p.1-3, 2001.

PIMENTEL-GOMES, Frederico. **Curso de estatística experimental**. 12. ed. São Paulo: FEALQ, 2000. 467 p.

PIROSKI, CAMILA SZTOLTZ. **Avaliação da digestibilidade e características físico químicas das farinhas de milho e mandioca**. 2019. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa UEPG, Ponta Grossa, PR, 2019.

POPA, Mona Elena; MITELUT, Amalia Carmen; POPA, Elisabeta Elena; STAN, Andreea; POPA, Vlad Ioan. Organic foods contribution to nutritional quality and value. **Trends in Food Science and Technology**, Wageningen, v. 84, n. February 2019, p. 15–18, 2019. ISSN: 09242244. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.01.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.01.003>.

QI, Qiaoting; HONG, Yan; ZHANG, Yayuan; GU, Zhengbiao; CHENG, Li; LI, Zhaofeng; LI, Caiming. Combinatorial effect of fermentation and drying on the relationship between the structure and expansion properties of tapioca starch and potato starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, 2019. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.187. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.187>.

RAGAE, Sanaa.; ABDEL-AAL, El-Sayed M. Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. **Food Chemistry**, [S. l.], v.95, n.1 p.9-18, 2006. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.12.012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.012>

RAHMAN, Elizabeth. Weaning and the rendering of substances nourishing: food shamanism amongst the Warekena of north-western Brazil. **Women's Studies International Forum**, Birmingham, v. 60, n. January-February, p. 144–152, 2017. ISSN: 0277-5395. DOI: 10.1016/j.wsif.2016.10.013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wsif.2016.10.013>.

RAINA, C. S.; SINGH, Sukhcharn.; BAWA, A. S.; SAXENA, D. C. A comparative study of Indian rice starches using different modification model solutions. **LWT - Food Science and**

**Technology**, Zürich, v.40, n. 5, p.885–892. DOI:10.1016/j.lwt.2006.03.025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.025>

RAY, Bibek. **Fundamental food microbiology**. 3.ed. Florida: CRC Press LLC, 2004. 624 p. ISBN 0-8493-1610-3

REVUELTA, Jose L.; BUEY, Ruben M.; LEDESMA-AMARO, Rodrigo; VANDAMME, Erick J. Microbial biotechnology for the synthesis of (pro)vitamins, biopigments and antioxidants: challenges and opportunities. **Microbial Biotechnology**, New Jersey, v. 9, n. 5, p. 564–567, 2016. ISSN: 17517915. DOI: 10.1111/1751-7915.12379.

ROSALES-SOTO, Maria U.; GRAY, Peter M.; FELLMAN, John K.; MATTINSON, D. Scott; ÜNLÜ, Gülhan; HUBER, Kerry; POWERS, Joseph R. Microbiological and physico-chemical analysis of fermented protein-fortified cassava (*Manihot esculenta* Crantz) flour. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 66, p. 355–360, 2016. ISSN: 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.10.053. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.053>.

SALAMI, O. S.; AKOMOLAFE, O. M.; OLUFEMI-SALAMI, F. M. Fermentation: A Means of Treating and Improving the Nutrition Content of Cassava (*Manihot esculenta* C.) Peels and Reducing Its Cyanide Content Salami. **Genomics and Applied Biology**, British Columbia, v. 8, n. 3, p. 17–25, 2017. DOI: 10.5376/gab.2017.08.0003.

SÁNCHEZ, Antonio S.; SILVA, Yuri L.; KALID, Ricardo A.; COHIM, Eduardo; TORRES, Ednildo A. Waste bio-refineries for the cassava starch industry: New trends and review of alternatives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 73, s/n., p. 1265–1275, 2017.

SANTOS, Thais P. R.; SARTORI, Maria M. P.; CABELLO, Claudio. Relação entre tempo de exposição e concentração de ácido láctico nas características de expansão do amido de mandioca modificado. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, São Paulo, v. 8, p. 27–35, 2012.

SANTOS, Tizá Teles; ORNELLAS, Roberta Maria Santos; ARCUCIO, Leonardo Borges; OLIVEIRA, Mayara Messias; NICOLI, Jacques Robert; DIAS, Cristiano Villela; UETANABARO, Ana Paula Trovatti; VINDEROLA, Gabriel. Characterization of lactobacilli strains derived from cocoa fermentation in the south of Bahia for the development of probiotic cultures. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 73, p. 259–266, 2016. ISSN: 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.06.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.003>.

SARANRAJ, P.; BEHERA, Sudhanshu S.; RAY, Ramesh C. Traditional Foods From Tropical Root and Tuber Crops. In: GALANAKIS, Charis M. **Innovations in Traditional Foods** Cambridge: Woodhead Publishing - Elsevier Inc., 2019. p. 159-191. Capítulo 7. ISBN: 9780128148877. DOI: 10.1016/b978-0-12-814887-7.00007-1. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-814887-7.00007-1>.

SAVADOGO, Aly; GUIRA, Flibert; TAPSOBA, François. Probiotic microorganisms involved in cassava fermentation for Gari and Attiéké production. **Journal of Advances in Biotechnology**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 858–866, 2016. DOI: 10.24297/jbt.v6i2.4798.

SENA, Hildo Costa; PIRES, Helenice Aparecida; SILVA, Bruce Wellington Amorin; MELO,

Leilaine Santos; SANTOS, Luiz Claudio; CASTRAVECHI, Jean Marcos. Fermentado de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): Características físico-químicas e sensoriais dos processos de desenvolvimento de bebida alcoólica tipicamente brasileira. **Jornal da Cidade na Escola Ciência, Tecnologia e Sociedade: Mobilizar o Conhecimento para Alimentar o Brasil**, São Paulo, p. 338–351, 2016. Disponível em:

<https://www.agbbauru.org.br/publicacoes/Mobilizar2ed/pdf/Mobilizar2ed-27.pdf>

SEPTEMBRE-MALATERRE, Axelle; REMIZE, Fabienne; POUCHERET, Patrick. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. **Food Research International**, Ontario, v. 104, p. 86–99, 2018. ISSN: 18737145. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.09.031. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.031>.

SHAH, N. N.; SINGHAL, R. S. Fermented Fruits and Vegetables. In: PANDEY, Ashok; SANROMÁN, Maria Á.; DU, Guocheng; SOCCOL, Carlos R.; DUSSAP, Claude-Gilles (orgs.). **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Food and Beverages Industry**. Amsterdam: Elsevier B.V., 2017. p. 45–89. Capítulo 3. DOI: 10.1016/B978-0-444-63666-9.00003-0. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63666-9.00003-0>.

SHUKLA, S.; KIM, D. H.; CHUNG, S. H.; KIM, M. Occurrence of Aflatoxins in Fermented Food Products. In: FRIAS, Juana; MARTINEZ-VILLALUENGA, Cristina; PEÑAS, Elena (org.). **Fermented Foods in Health and Disease Prevention**. Amsterdam: Elsevier Inc., 2017. p. 653–674. Capítulo 28. ISBN: 9780128023099. DOI: 10.1016/B978-0-12-802309-9.00028-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802309-9.00028-5>.

SILVA, Vania Santos da; ORLANDELLI, Ravely Casarotti. Desenvolvimento de alimentos funcionais nos últimos anos: uma revisão. **Revista Uningá**, Maringá, v. 56, n. 2, p. 182–194, 2019. ISSN 2318-0579. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uninga/article/view/1110>

SOBOWALE, Sunday. S.; AWONORIN, Samuel Olusegun; SHITTU, Taofik. A.; AJISEGIRI, Emmanuel. S.; ADEBO, O. A.; OLATIDOYE, O. P. Modeling of the garification process of fermented cassava mash. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, Brussels, v. 7, n. 5, p. 1–5, 2017. ISBN: 2347060937. DOI: 10.4172/2155-9821.1000311.

SOCCOL, Carlos Ricardo; COSTA, Eduardo Scopel Ferreira da; LETTI, Luiz Alberto Junior; KARP, Susan Grace; WOICIECHOWSKI, Adenise Lorenci; VANDENBERGHE, Luciana Porto de Souza. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 52–71, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biori.2017.01.002>

SRIBURI, P.; HILL, S. E.; MITCHELL, J. R. Effects of L-ascorbic acid on the conversion of cassava starch. **Food Hydrocolloids**, v.13, n.2, p.177–183, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(98\)00080-0](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(98)00080-0)

STAHMANN, Klaus Peter. Vitamins and vitamin-like compounds: Microbial production. **Encyclopedia of Microbiology**, [S. l.], n. October 2016, p. 569–580, 2019. ISBN: 9780128117378. DOI: 10.1016/B978-0-12-809633-8.13017-1.

STEENBOCK, Walter; VEZZANI, Fabiane Machado. **Agrofloresta: aprendendo a produzir com a natureza**. 1.ed., Curitiba: Fabiane Machado Vezzani, 2013. 148p. ISBN: 978-85-908740-1-0. Disponível em: [http://www.dsea.ufpr.br/publicacoes/agrofloresta\\_aprendendo\\_a\\_produzir\\_com\\_a\\_natureza.pdf](http://www.dsea.ufpr.br/publicacoes/agrofloresta_aprendendo_a_produzir_com_a_natureza.pdf)

SUGISAWA, Teruhide; OJIMA, Setsuko; HOSHINO, Tatsuo; MATZINGER, P. K. Isolation and characterization of a new vitamin C producing enzyme (L-Gulonolactone Dehydrogenase) of bacterial origin. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 59, n. 2, p. 190–196, 1995. ISSN: 13476947. DOI: 10.1271/bbb.59.190.

SUJA, Girija; JAGANATHAN, D. Organic farming for sustainable production of tropical tuber crops. **Kerala Karshakan**, v. 8, n. 4, p. 1-9, 2020. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/344685340\\_Organic\\_farming\\_for\\_sustainable\\_production\\_of\\_tropical\\_tuber\\_crops](https://www.researchgate.net/publication/344685340_Organic_farming_for_sustainable_production_of_tropical_tuber_crops)

SUJA G.; SANTHOSH MITHRA, V. S.; SREEKUMAR, J.; JYOTHI, A. N. Is organic tuber production promising? Focus on implications, technologies and learning system development. In: ORGANIC WORLD CONGRESS - 4th ISOFAR Scientific Conference. 'Building Organic Bridges' – 2014. Istanbul. **Anais [...]**. Istanbul, Turkey, 2014. Disponível em: [https://orgprints.org/23666/1/23666%20SujaRevisedpaper%20OWC14\\_MM.pdf](https://orgprints.org/23666/1/23666%20SujaRevisedpaper%20OWC14_MM.pdf)

THAMER, Karime Gianetti; PENNA, Ana Lúcia Barretto. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de probiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v.26 n.3, p.589-595, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000300017>

TOKA, Marie Djegba; DJENI, N'Dede Theodore; BOUATENIN, Jean-paul Koffi Maïzan; YORO, Dezay Thierry; DJE, Koffi Marcellin. Biodiversity and technological potential of lactic acid bacteria involved in cassava dough fermentation for *Ahizi attieke* production (Laguna Area, Cote D'Ivoire ). **Journal of Global Biosciences**, Maharashtra, v. 5, n. 7, p. 4369–4385, 2016. Disponível em: <https://www.mutagens.co.in/jgb/vol.05/7/050713.pdf>

TONETTO, Tatiane Codem. **Melhoria nas características sensoriais de pão isento de glúten a partir da fermentação natural**. 2018. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, 2018. Disponível em: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/13820/DIS\\_PPGCTA\\_2018\\_TONETTO\\_TATIANE.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/13820/DIS_PPGCTA_2018_TONETTO_TATIANE.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

UDDIN, M. Nazim; BARI, Latiful. Governmental policies and regulations including FSMA on Organic Farming in the United States and around the globe. In: BISWAS, Debabrata; MICALLEF, Shirley A. (org.). **Safety and Practice for Organic Food**. 1.ed. Amsterdam: Academic Press - Elsevier Inc., 2019. p. 33–62. Capítulo 3. ISBN: 9780128120606. DOI: 10.1016/B978-0-12-812060-6.00003-9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-812060-6.00003-9>.

VERSINO, Florencia; LÓPEZ, Olivia V.; GARCÍA, M. Alejandra. Sustainable use of cassava (*Manihot esculenta*) roots as raw material for biocomposites development. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 65, p. 79–89, 2015. ISSN: 09266690. DOI:

10.1016/j.indcrop.2014.11.054. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.054>.

VILPOUX, Olivier F.; GUILHERME, Denilson de Oliveira.; CEREDA, Marney Pascoli. Cassava cultivation in Latin America. In: HERSHEY, Clair (org.). **Achieving sustainable cultivation of cassava**. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing Limited, 2017. p.149–174. Capítulo 7. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/318868830\\_Cassava\\_cultivation\\_in\\_Latin\\_America](https://www.researchgate.net/publication/318868830_Cassava_cultivation_in_Latin_America)

VINDEROLA, Gabriel; BURNS, Patricia; REINHEIMER, Jorge. Probiotics in Nondairy Products. In: MARIOTTI, François (org.). **Vegetarian and plant-based diets in health and disease prevention**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 809–835. Capítulo 44. ISBN: 9780128039694. DOI: 10.1016/B978-0-12-803968-7.00044-7. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803968-7.00044-7>.

WALTHER, B.; SCHMID, A. Effect of Fermentation on Vitamin Content in Food. In: FRIAS, Juana; MARTINEZ-VILLALUENGA, Cristina; PEÑAS, Elena (org.). **Fermented foods in health and disease prevention**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier Inc., 2017. p. 131–157. Capítulo 7. ISBN: 9780128023099. DOI: 10.1016/B978-0-12-802309-9.00007-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802309-9.00007-8>.

WANG, Panpan; ZENG, Weizhu; XU, Sha; DU, Guocheng; ZHOU, Jingwen; CHEN, Jian. Current challenges facing one-step production of L-ascorbic acid. **Biotechnology Advances**, [S. l.], v. 36, n. 7, p. 1882–1899, 2018. ISSN: 07349750. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.07.006. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.07.006>.

WANG, Shujun; LI, Caili; COPELAND, Les; NIU, Qing; WANG, Shuo. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.14, n.5, p.568–585, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>

WATERSCHOOT, Jasmien; GOMAND, Sara V.; FIERENS, Ellen; DELCOUR, Jan A. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 66, p. 1–16, 2014. ISSN: 1521379X. ISBN: 1521-379X. DOI: 10.1002/star.201300238.

XIA, Xiudong; DAI, Yiqiang; WU, Han; LIU, Xiaoli; WANG, Ying; YIN, Liqing; WANG, Zhe; LI, Xiaonan; ZHOU, Jianzhong. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 62, n. August, p. 103549, 2019. ISSN: 17564646. DOI: 10.1016/j.jff.2019.103549. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103549>.

XIANG, Huan; SUN-WATERHOUSE, Dongxiao; WATERHOUSE, Geoffrey I. N.; CUI, Chun; RUAN, Zheng. Fermentation-enabled wellness foods: A fresh perspective. **Food Science and Human Wellness**, [S. l.], v. 8, n. 3, p. 203–243, 2019. ISSN: 22134530. DOI: 10.1016/j.fshw.2019.08.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.08.003>.

YANG, Weichao; XU, Hui. Industrial Fermentation of Vitamin C. In: VANDAMME, Erick J.; REVUELTA, José Luis (org.). **Industrial Biotechnology of Vitamins, Biopigments, and**

**Antioxidants**. 1.ed. New Jersey: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. 2016 p. 161–192.  
Capítulo 7. ISBN: 9783527681754. DOI: 10.1002/9783527681754.ch7.

YE, Chao; ZOU, Wei; XU, Nan; LIU, Liming. Metabolic model reconstruction and analysis of an artificial microbial ecosystem for vitamin C production. **Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 182–183, n. 1, p. 61–67, 2014. ISSN: 18734863. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2014.04.027. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.04.027>.

YERLIKAYA, Oktay. Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 102, n. 1, p. 124–134, 2019. ISSN: 15253198. DOI: 10.3168/jds.2018-14983. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2018-14983>.

YU, Xiaofan; GUO, Liyue; JIANG, Gaoming; SONG, Yanjie; MUMINOV, Mahmud Abdimuratovich. Advances of organic products over conventional productions with respect to nutritional quality and food security. **Acta Ecologica Sinica**, [S. l.], v. 38, n. 1, p. 53–60, 2018. ISSN: 18722032. DOI: 10.1016/j.chnaes.2018.01.009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.01.009>.

ZAMBRANO, M. V.; DUTTA, B.; MERCER, D. G.; MACLEAN, H. L.; TOUCHIE, M. F. Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, s/n, p. 484–496, 2019.

ZHANG, Fusheng.; LIU, Min.; MO, Fang.; ZHANG, Meixia.; ZHENG, Jiong. Effects of Acid and Salt Solutions on the Pasting, Rheology and Texture of Lotus Root Starch–Konjac Glucomannan Mixture. **Polymers**, Basel, v. 9, n. 12 p. 1–14, 2017.

ZHANG, J. S.; CORREDIG, M.; MORALES-RAYAS, R.; HASSAN, A.; GRIFFITHS, M. W.; LAPOINTE, G. Effect of fermented milk from *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* strain JFR1 on *Salmonella* invasion of intestinal epithelial cells. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 102, n. 8, p. 6802–6819, 2019. ISSN: 15253198. DOI: 10.3168/jds.2018-15669. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2018-15669>.

ZHU, Fan. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 122, n. May, p. 456–480, 2015. ISSN: 01448617. ISBN: 0144-8617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.10.063. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.063>.

## APÊNDICE

Figura 5 – Remoção da película corticácea (tratamento com entrecasca)



Figura 6 - Remoção da entrecasca (tratamento sem entrecasca)



Figura 7 - Pesagem das mandiocas descascadas



Figura 8 - Etapa de ralação das mandiocas



Figura 9 - Etapa de ralação das mandiocas



Figura 11 - Massa ralada sendo colocada na prensa



Figura 10 - Pesagem da massa ralada



Figura 12 - Prensagem da massa de mandioca



Figura 13 - Coleta do "leite de amido"



Figura 15 - Peneiramento da massa prensada



Figura 14 - Pesagem da massa prensada



Figura 16 - Ensilagem da Massa sem fermentar (MSF)

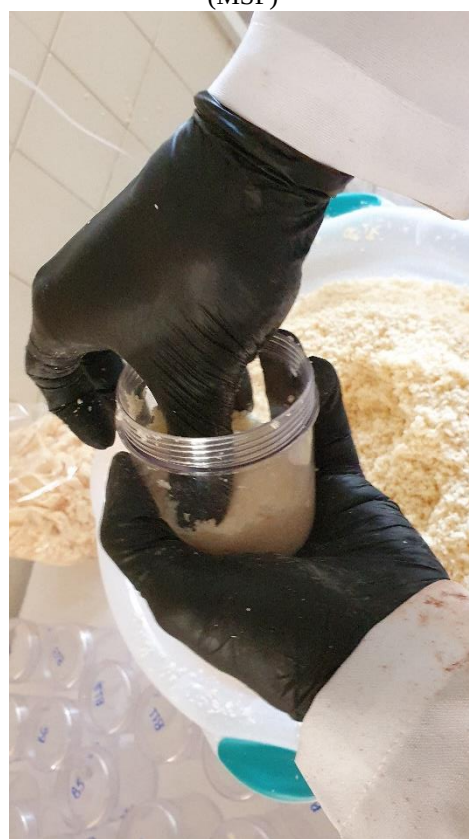


Figura 17 - Pesagem dos frascos ensilados



Figura 19 - Massa homogeneizada

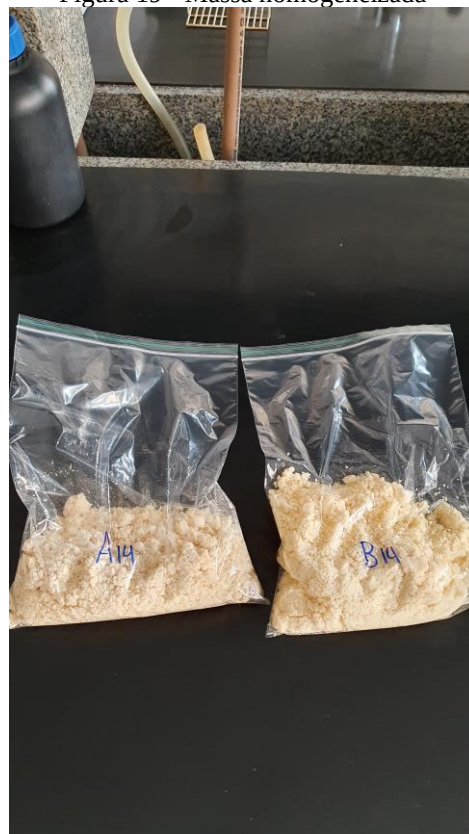


Figura 18 - Homogeneização e quarteamento das amostras para análise

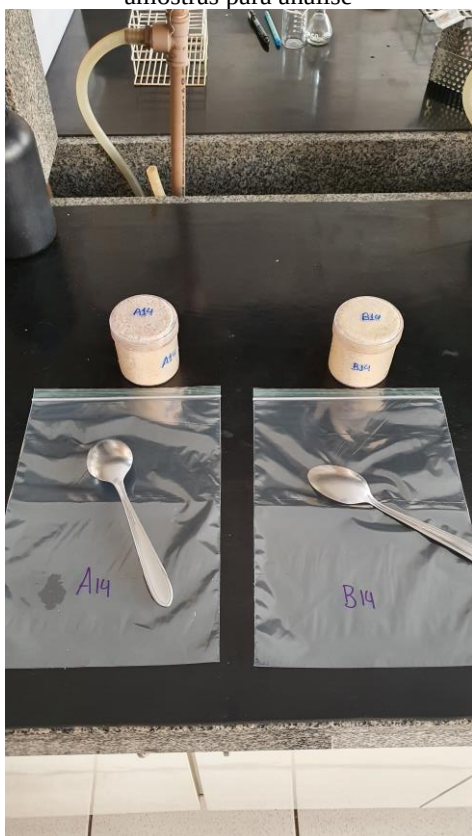


Figura 20 - Análises de Acidez Total Titulável



Figura 21 - Análise de pH



Figura 23 - Detalhe do ponto de viragem na análise de açúcares

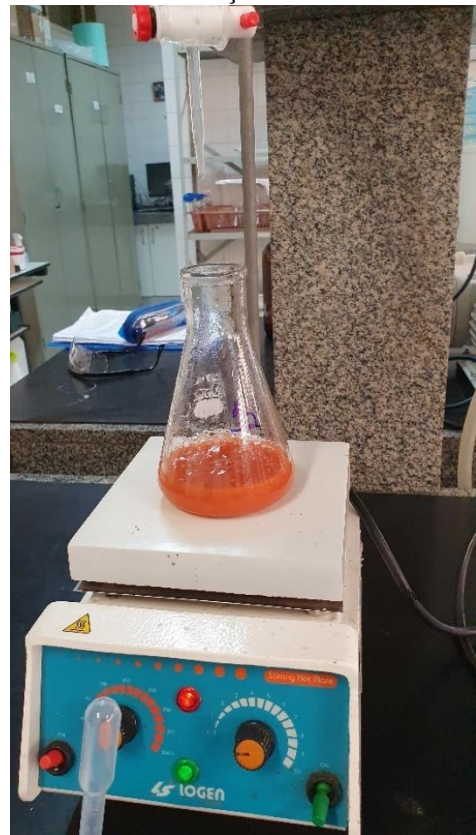


Figura 22 - Pesagem dos frascos antes da abertura



Figura 24 - Determinação de teor de umidade



Figura 25 - Determinação do teor de lipídios em extrator Soxhlet



Figura 26 - Calcinação prévia para determinação de resíduo mineral fixo

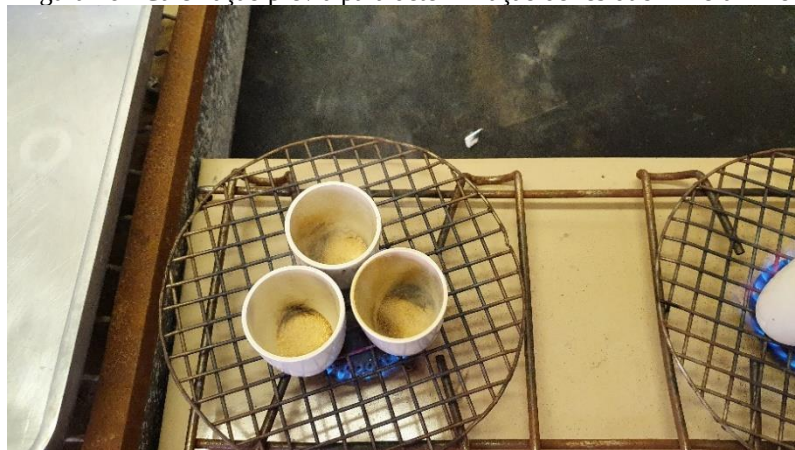


Figura 27 - Determinação de amido



Figura 28 - Determinação de proteínas



Figura 29 - Equipamento RVA utilizado para obtenção d

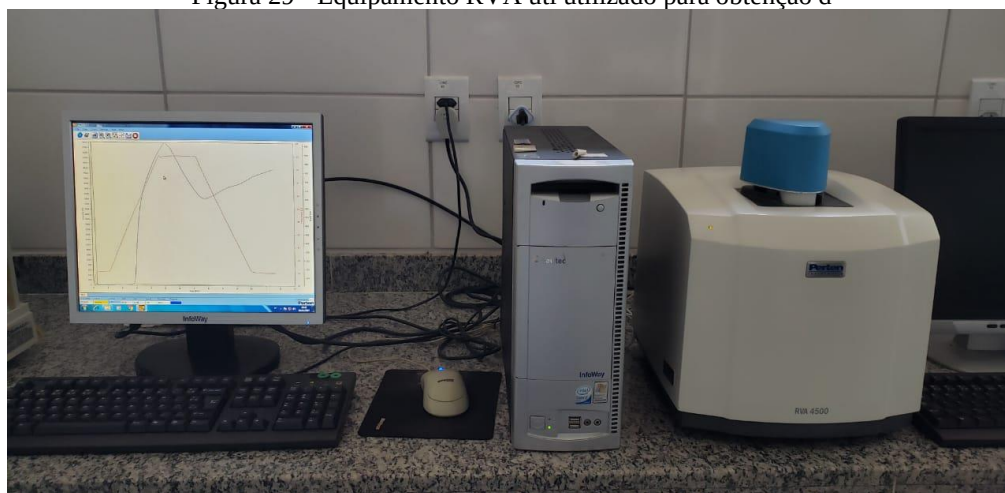


Figura 30 - Analisador de umidade



Figura 31 - Analisador de umidade



Figura 32 - Placa com ágar MRS e colonizada com Bactérias ácido lácticas (BAL)

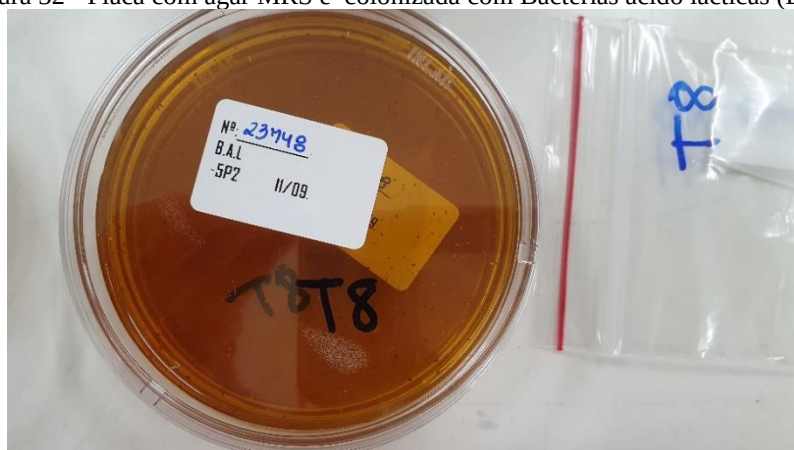


Figura 33 - Conjunto de placacas com BAL e tampões utilizados para envio de amostras pra identificação bacteriana



Figura 34 - Transferencia das colônias das placas para a solução tampão

