



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

VALENA EMANUELLEN RODRIGUES LEÃO

**DEGRADAÇÃO TÉRMICA DOS GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS
E CAROTENÓIDES TOTAIS DO TUCUPI**

BELÉM-PA

2013



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

VALENA EMANUELLEN RODRIGUES LEÃO

**DEGRADAÇÃO TÉRMICA DOS GLICOSÍDEOS CIANOGÊNICOS
E CAROTENÓIDES TOTAIS DO TUCUPI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR :

Prof^a. Dra. Alessandra Santos Lopes

BELÉM –PA

2013



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

VALENA EMANUELLEN RODRIGUES LEÃO

**DEGRADAÇÃO TÉRMICA DOS GLICOSÍDEOS CIANOGENÍCOS
E CAROTENÓIDES TOTAIS DO TUCUPI**

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Alessandra Santos Lopes
(Universidade Federal do Pará/ITEC/FEA –Orientador)

Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
(Universidade Federal do Pará/ITEC/FEA – Membro)

Prof^a. Dra. Vanessa Albres Botelho da Cunha
(Universidade Federal do Pará /ITEC/FEA – Membro Externo)

**Dedico aos meus pais, José Cordeiro e Regina minha inspiração e meu
exemplo de ser humano e de vida;**

À minha irmã Vanessa, que muitas vezes atuou como mãe na minha vida;

Aos meus irmãos Junior, Marcos, Suzana e Suzete;

Às minhas filhas Victória, Sofia e Alice (minhas valiosas conquistas);

**Ao meu grande amor, amigo e companheiro, meu esposo Stéphanou,
simplesmente por tudo.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por fazer parte da minha vida. A minha mãe e minha irmã Vanessa, pois são as minhas bases e ao meu Pai pela confiança.

Às minhas filhas Victória e Sofia, minha oficial torcida organizada e as maiores vitórias da minha vida.

Ao meu grande parceiro, amigo, “orientador” e amor da minha vida, meu marido maravilhoso e espetacular Stéphan.

À minha orientadora Professora Alessandra Lopes pela confiança depositada em mim no início deste trabalho, pela paciência, e claro, pela amizade.

Ao meu grande Professor Rosinelson Pena, pela disponibilidade, paciência ao ensinar e pela amizade.

À professora Vanessa Botelho pelo apoio, orientação e aconselhamentos e pela amizade construída.

Aos queridos, magníficos e grandes amigos, Anny do Rosário, Thais Faria, Diego, Gigi, Rafaelle, Vitti, Bia, Iris, João Paulo, Joyce, Marilúcio, Nívea, Jardim, Wellington e Fábio que, mesmo distantes, fizeram-se presentes tantas vezes e torceram sempre por mim.

Aos meus novos amigos, mas não menos importante, Fábio, Sulema, Edcleise e Edilene (Família FQPOA – LANAGRO/PA) que em tão pouco tempo me faz sentir em casa, agradeço a Deus todos os dias por isso.

A professora Luiza Helena Meller da Silva pelo apoio, suporte e disponibilidade.

Ao PPGCTA em nome da professora Lúcia de Fátima Henriques Lourenço pelo suporte.

À EMBRAPA Amazônia Oriental, principalmente Dr. Roberto Lisboa Cunha por ceder os laboratórios e equipamentos.

Ao CNPq, e ao projeto “Criação da Rede de Pesquisa MANI: Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Setor Produtivo de Mandioca” pela concessão da bolsa de estudos.

Sumário

LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 MANDIOCA.....	14
2.1.1 Considerações gerais.....	14
2.1.2 Composição química.....	16
2.1.3 Processamento da mandioca.....	18
2.1.4 Resíduo líquido do processamento da farinha de mandioca (manipueira).....	18
2.2 TUCUPI.....	20
2.3 GLICOSÍDEOS CIANOGENÍCOS.....	21
2.4 CAROTENÓIDES.....	23
2.5 DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS.....	29
2.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 MATÉRIA PRIMA.....	30
3.2 MÉTODOS.....	31
3.2.1 Produção do tucupi.....	31
3.2.2 Caracterização físico-química da mandioca e do tucupi.....	31
✓ <i>POTENCIAL HIDROGENIÔNICO – PH (AOAC, N° 943.02).</i>	31
✓ <i>ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (AOAC, N° 943.02).</i>	31
✓ <i>PROTEÍNAS (AOAC, N° 31.1.08).</i>	31

✓	LIPÍDEOS (AOAC, N° 31.4.02).....	31
✓	UMIDADE (AOAC, N° 31.1.02).....	31
✓	CINZAS (AOAC, N° 31.1.04).....	31
3.2.3	Quantificação de carotenóides totais no tucupi	32
3.2.4	Quantificação de cianeto total no tucupi	32
3.2.5	Delineamento experimental.....	32
3.2.6	Aplicação da metodologia de superfície de resposta na degradação térmica de compostos cianogênicos e carotenóides totais no tucupi	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DA MANIPUEIRA.....	34
4.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MANDIOCA E DO TUCUPI	34
5	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química de diferentes cultivares de raízes de mandioca.	16
Tabela 2. Composição físico-química da manipueira segundo diversos autores.	20
Tabela 3. Composição físico-química do tucupi comercializadas em Belém/Pa.	21
Tabela 4. Variáveis independentes e seus diferentes níveis.	32
Tabela 5. Planejamento Experimental completo 2^2	33
Tabela 6. Rendimento de manipueira (kg manipueira /100 kg massa ralada) .	34
Tabela 7. Caracterização físico-química da parte interna das raízes demandioca e do ucupi	35
Tabela 8. Planejamento composto central com valores reais das variáveis independentes e resultados experimentais da degradação de cianeto total no tucupi.....	37
Tabela 9. Análise de variância (ANOVA) para o teste de falta de ajuste dos modelos de degradação de cianeto dos tucupis das três variedades de mandioca estudadas.	38
Tabela 10. Coeficientes de regressão para o modelo de segunda ordem.	39
Tabela 11. Planejamento composto central com valores reais das variáveis independentes e resultados experimentais de concentração de carotenóides.	42
Tabela 12. Análise de variância para o teste de falta de ajuste.	43
Tabela 13. Coeficientes de regressão para o modelo de segunda ordem.	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta da Mandioca.....	14
Figura 2. Fluxograma do processamento da Mandioca.....	18
Figura 3. Esquema geral da biossíntese da linamarase em plantas.	22
Figura 4. Estrutura química de compostos pertencentes ao grupo das xantofilas (a) e dos carotenos (b).	24
Figura 5. Estrutura de carotenóides acíclicos e cíclicos.	24
Figura 6. Fluxograma dos estágios da biossíntese dos carotenóides.	26
Figura 7. Estrutura química e clivagem dos carotenóides.	28
Figura 8. Fluxograma da produção do tucupi.	31
Figura 9. Superfícies de resposta para o Cianeto Total em função do tempo e temperatura para as variedades a) Ouro Preto, b) Tucumã e c) Bonitinha.	40
Figura 10. Superfícies de resposta para o teor de Carotenóides em função do tempo e temperatura para as variedades a) Ouro Preto, b) Tucumã e c) Bonitinha.	46
Figura 11. Curva de cianeto total em forma de linha sobreposta à curva de carotenóides totais para o tucupi da variedade tucumã.	47

Resumo

O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo da cinética de degradação térmica dos compostos cianogênicos e dos carotenóides do tucupi produzido a partir de três variedades regionais de mandioca de polpa amarela (Ouro Preto, Tucumã e Bonitinha), com o intuito de avaliar tempo e temperatura ótimos para a obtenção de um produto com níveis seguros de compostos cianogênicos e a mínima perda dos carotenóides. Durante o preparo do tucupi não houve diferença significativa no rendimento entre as quatro variedades estudadas, com valores médios de 36,11%. A variedade Ouro Preto apresentou diferença significativa em todas as análises físico-químicas. Os dados experimentais de degradação de cianeto e carotenóides totais se ajustaram ao modelo polinomial de segunda ordem ($P > 0,05$). A temperatura foi o parâmetro que mais influenciou o processo de degradação térmica dos carotenóides e compostos cianogênicos. Apenas a variedade Tucumã apresentou níveis aceitáveis de compostos cianogênicos ao final da degradação térmica, com condições ideais de temperatura e tempo para o seu processamento térmico de 93 °C e 57 minutos, onde foi obtida a maior concentração de carotenóides para valores de cianeto abaixo do nível tóxico (90,83 µg HCN/mL).

Palavras-chave: *Manihot esculenta* Crantz; mandioca; cianeto; carotenóides.

Abstract

The objective of this work was to study the thermal degradation kinetics of cyanogenic compounds and carotenoids of tucupi produced from three regional yellow varieties of cassava (Ouro Preto, Tucumán and Bonitinha), in order to evaluate the optimum time and temperature for obtaining a product with safe levels of cyanogenic compounds, and minimum loss of carotenoids. During the preparation of tucupi there was no significant difference in yield between the four varieties studied, with mean values of 36.11%. The Ouro Preto variety was significantly different from the other varieties in all physical-chemical analysis. The experimental data of cyanide and total carotenoids degradation fits to the second order polynomial model ($P > 0.05$). The temperature was the parameter that most influenced the thermal degradation process of carotenoids and cyanogenic compounds. Only the Tucumã variety presented acceptable levels of cyanogenic compounds at the end of thermal degradation of cyanogenic compounds, with ideal conditions of temperature and time for its heat treatment of 93 ° C and 57 minutes, where the highest concentration of carotenoids for cyanide value below the toxic level (HCN 90,83 µg/mL) was obtained.

Keywords: Manihot esculenta Crantz; cassava; cyanide; carotenoids.

1 INTRODUÇÃO

A mandioca ocupa um lugar de destaque na dieta alimentar da população do estado do Pará, sendo consumida principalmente na forma de farinha, mas também é utilizada como matéria-prima para elaboração de diversos pratos típicos. Durante o processo de fabricação da farinha, as raízes de mandioca são trituradas e prensadas para a remoção da sua fração líquida, denominado de manipueira, que pode ser descartado ou transformado no tucupi (CHISTÉ; COHEN; OLIVEIRA, 2007). Alguns estudos apresentam uma grande variabilidade genética (Macaxeira, Macaxeira branca, Amarela I, Amarela II, Maniva inajá, entre outras), que influencia no conteúdo de nutrientes que podem ser armazenados na raiz da mandioca (MÜHLEN; MARTINS; ANDO, 2000). Para a produção de tucupi é utilizada a mandioca de cor amarela, e para estas especificamente, o nutriente mais conhecido é a variabilidade para acúmulo de carotenóides (NASSAR et al. 2005; IGLESIUS et al. 1997). Os carotenóides são os principais precursores da vitamina A e apresentam um papel importante no organismo humano, como antioxidante natural e na prevenção de doenças. São sintetizados apenas por plantas e organismos fotossintetizantes, sendo, portanto necessário o consumo de alimentos que contenham esse nutriente, para suprir à deficiência de vitamina A no organismo humano (MEZETTE, 2007; TRABER; ATKINSON, 2007).

Com o acúmulo de cianeto em suas raízes, a mandioca possui um grande potencial tóxico, e pode ser classificada em três categorias, com base em seu conteúdo cianogênico: a) inócuas: menos do que 50 mg HCN/kg raízes frescas; b) moderadamente venenosas: entre 50-100 mg HCN/kg de polpa fresca; e perigosamente venenosas (mandioca brava): acima de 100 mg HCN/kg (CHISTÉ; COHEN; OLIVEIRA, 2007). Por conseguinte os mais ressaltados problemas de saúde associados à dieta altamente rica em compostos cianogênicos incluem o hipertireoidismo, resultante do metabolismo do tiocianato no metabolismo do iodo; a neuropatia atáxica tropical, uma desordem neurológica; e uma paralisia rápida e permanente conhecida como *Konzo* (TYLLESTAR, 1992; ROSLING, 1994).

A manipueira é um resíduo da produção de farinha e fécula de mandioca problemático por possuir elevada carga orgânica, causando sérios problemas ao ambiente, e seu efeito tóxico está associado ao glicosídeo cianogênico linamarina, mas apesar do potencial poluente no estado do Pará, ela é utilizada para a produção de tucupi, um produto resultante da fermentação deste resíduo, o qual é obtido de forma artesanal, através do processamento da mandioca brava (CHISTÉ; COHEN; OLIVEIRA, 2007).

O processo de fabricação do tucupi varia de produtor para produtor, bem como a variedade da mandioca utilizada no processo de extração da manipueira. O tratamento térmico aplicado para a eliminação dos compostos cianogênicos no tucupi, degrada os carotenóides existentes, já que estes são susceptíveis à ação da luz e do calor (RIBEIRO; BARRETO; COELHO, 2011).

O consumo de tucupi faz parte da alimentação tradicional na região Norte do Brasil e não há dados sobre segurança alimentar para este produto, bem como não se conhece os parâmetros térmicos para garantir essa segurança, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo da degradação térmica dos compostos cianogênicos e dos carotenóides, no tucupi de quatro variedades regionais de mandioca de polpa amarela (Ouro Preto, Tucumã, Miriti e Bonitinha), com intuito de avaliar tempo e temperatura ótimos para a obtenção de um produto com níveis seguros de compostos cianogênicos e a menor perda dos carotenóides.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MANDIOCA

2.1.1 Considerações Gerais

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (Figura 1) pertencente à família *Euphorbiaceae* Juss que é uma das maiores das *Angiospermae*, com cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies, distribuídas em todo o mundo. É a única do gênero *Manihot*, que é cultivada e possui relevância econômica (CRONQUIST, 1981; CEBALLOS, 2002).



Fonte: EMBRAPA, 2005

Figura 1. Planta da Mandioca.

O continente africano é o maior produtor de mandioca, onde a maior parte produzida é oriunda principalmente da Nigéria com 45,1 milhões de toneladas/ano. O Brasil é o segundo nesse ranking, com mais de 23,9 milhões de toneladas no ano de 2014, a produção nacional deve crescer 3,9% no ano de 2015 em relação a 2014. Houve aumento nas estimativas de produção nas Regiões Norte (2,4%), Sul (4,7%) e Nordeste (10,6%) (IBGE, 2015).

A sua alta heterozigosidade, favorecida pelos cruzamentos naturais intraespecíficos e propagação vegetativa, resultou em um grande número de variedades com diferentes características morfológicas, permitindo adaptações às diversas condições de clima e solo, bem como resistência e/ou tolerância às pragas e doenças. Para alguns autores a mandioca originou-se no continente americano, possivelmente no Brasil Central, sendo amplamente cultivada pelos indígenas, já na época do descobrimento (LORENZI, 2003), porém estudo no campo da fisiologia atribuiu sua origem ao Nordeste do Brasil, justificando que a planta da mandioca é de terreno aberto, quente e seco, e com alto índice de insolação (VIÉGAS, 1976).

A diversidade genética da mandioca tem sido caracterizada em termos de variedades cultivadas em cerca de 7.000 acessos encontradas em todo o mundo. Estudos mais detalhados, em função de características morfológicas, caracteres agrônômicos e bioquímicos, isoenzimas e marcadores de DNA quantificaram e mostraram alguns aspectos da distribuição da variabilidade genética da cultura (STITT et al. 1989; HERSHEY, 1994).

A descrição morfológica de cultivares de mandioca é muito importante, pois a mesma variedade de mandioca pode apresentar-se com nomes diferentes, de acordo com a região onde é cultivado. Também não é raro, se observar variedades distintas com o mesmo nome em diferentes regiões. Não existe, portanto, uniformidade na nomenclatura de cultivares, fazendo-se necessário a sua descrição em trabalhos de pesquisa (LORENZI; MONTEIRO, 1980; MAIEVES, 2010).

2.1.2 Composição Química

A mandioca é uma importante fonte de carboidratos na alimentação humana, sendo responsável pela alimentação de aproximadamente 700 milhões de pessoas no mundo, contribuindo assim com a agricultura e com o crescimento econômico nos países em desenvolvimento (FAO, 2012).

As variedades das raízes de mandioca para a comercialização *in natura* devem apresentar além de alta produtividade, bom padrão comercial e resistência às pragas e doenças (características de grande interesse para o produtor), acrescidas de baixo potencial cianogênico e alto teor de matéria seca (NORMANHA, 1971; PEREIRA et al. 2005), considerando que essas características são altamente influenciadas pelo ambiente (MEZETTE, 2007).

Na Tabela 1 são apresentados alguns dados sobre a composição química de cultivares de raízes de mandiocas oriundas de diferentes localidades (MAIEVES, 2010).

Tabela 1. Composição química de diferentes cultivares de raízes de mandioca.

Cultivar	Umidade %	Amido %	Cinzas %	Proteína %	Lipídios %
STS 2/03-10*	61,76	73,28	1,65	2,41	1,14
SCS 252*	65,94	74,42	1,49	3,66	0,76
Mandim Branca*	53,91	73,58	1,36	2,64	0,85
STS1302/96-3*	49,01	74,51	1,44	2,42	1,97
SCS 253*	53,91	73,52	1,50	2,22	0,44
STS1311/96-1*	60,59	74,00	1,50	2,87	0,38
STS1302/96-4*	60,39	74,08	1,64	2,42	0,46
Preta*	68,53	73,71	2,46	2,35	0,83

STS1309/96-7*	63,44	72,92	1,24	2,45	0,50
STS2/03-7*	60,47	73,88	1,31	2,48	0,55

*Classificação estabelecida pelo Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA,1999).

Fonte: MAIEVES, 2010.

A mandioca, nos últimos anos, tem se revelado uma fonte potencial de carotenóides, como β -caroteno, precursor da vitamina A (CARVALHO et al. 2005). Os carotenóides são importantes no combate ao câncer, doenças cardiovasculares, degeneração muscular relacionada à idade e a catarata (MAYNE, 1996; BERNSTEIN et al. 1997; VAN HET HOF et al. 2000; ALMEIDA-MURADIAN, 2003).

Estudos avaliaram algumas raízes de mandioca e observaram que os teores de carotenóides variaram muito (0,102 a 1,040 mg/100g de tecido fresco), entre mais de dois mil genótipos avaliados (CHÁVEZ et al. 2005).

Muitas espécies alimentícias são cianogênicas (mandioca, feijão, cana-de-açúcar, aveia e vagem), sendo a cianogênese tida como um mecanismo de defesa química das plantas, as quais produzem compostos tóxicos derivados do metabolismo secundário (KAKES, 1994; JONES, 1998; OLIVEIRA, 2003).

Os glicosídeos cianogênicos (HCN) da mandioca são compostos por 95% de linamarina e 5% de lotaustralina, distribuídos de forma variável nas diferentes partes da planta. Entretanto, a parte comestível das raízes contém menores níveis de HCN do que as folhas, o caule e o córtex das raízes (MACMAHON; WHITE; SAYRE, 2005; BRADBURY; DENTON, 2010). Estudos afirmaram que esses cianoglicosídeos distribuem-se por toda a planta, porém a concentração varia substancialmente entre as variedades (BOLHUIS, 1954; PERERA, 2010).

2.1.3 Processamento da Mandioca

A produção de raízes de mandioca na região Norte é voltada em sua maior parte para produção de farinha dos tipos d'água, seca e mista (mistura da massa ralada e fermentada), que podem ser branca ou amarela, obtendo-se esporadicamente, como subproduto, a goma e o tucupi, para consumo familiar e/ou, para comercialização nas feiras (NASSAR, 2006). Segue abaixo o fluxograma (Figura 2), para a obtenção de vários produtos e subprodutos a partir das raízes de mandioca.

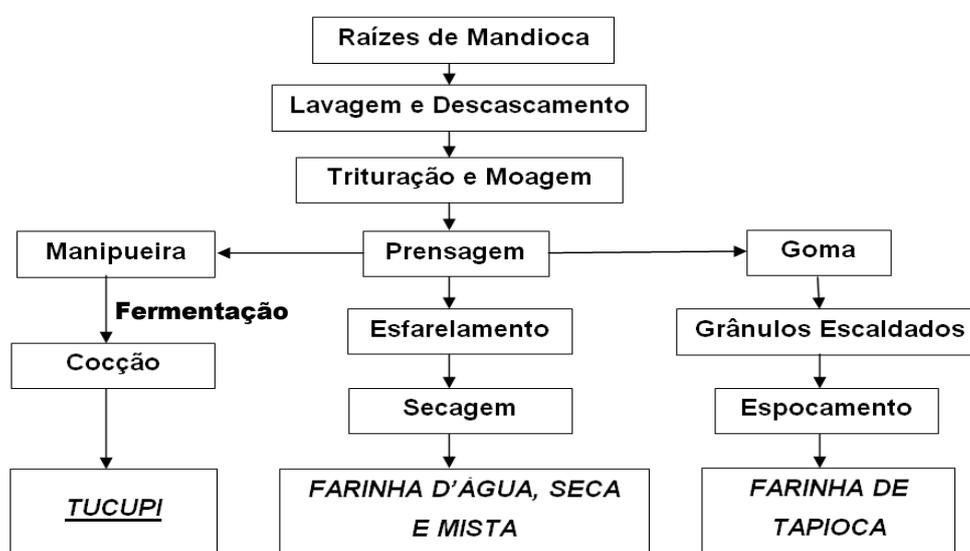


Figura 2. Fluxograma do processamento da Mandioca.

2.1.4 Resíduo líquido do processamento da farinha de mandioca (Manipueira)

A obtenção de farinha, fécula, polvilho azedo e outros derivados industrializados da mandioca geram resíduos sólidos de descarte, tais como: partes lenhosas e deterioradas das raízes; porções fibrosas retidas em peneiras; bagaços e resíduos líquidos da água de lavagem das raízes e a manipueira (líquido resultante da prensagem da massa ralada). Os resíduos das diversas etapas do processamento, além de serem fontes de contaminação do meio ambiente, também podem ser considerados desperdícios do processo. A maioria das empresas que processam a mandioca

desconhece o balanço de massa, portanto, não possuem dados exatos qualitativos e quantitativos referentes às suas perdas em resíduos sólidos e líquidos (AMARAL; JAIGOBIND; JAISINGH, 2007). A destacada posição do Brasil na produção de mandioca, que na sua maioria é voltada para a produção de farinha e fécula, traduz também a elevada produção de resíduos gerados diariamente pelas indústrias (MARQUES; MAGGIONI, 2009).

Durante a fabricação da farinha de mandioca são gerados cerca de 300 L de manipueira por tonelada de raiz processada (BARANA, 2000). Estima-se que cerca de 60% das raízes colhidas sejam empregadas na produção de farinha (DEL BIANCHI; CEREDA, 1999), o que no Brasil no ano de 2012 representa cerca de 9,5 milhões de toneladas de farinha (IBGE, 2012).

Na maioria das indústrias, a manipueira gerada tem como destino as lagoas de estabilização, onde sofre ação de agentes naturais, tais como foto decomposição, precipitação e atividade microbiana local. Não ocorre qualquer tratamento adicional no sentido do aproveitamento deste efluente como um subproduto. Esse resíduo tende a penetrar no solo, alcançando lençóis freáticos e contaminando aquíferos, além de produzir odor desagradável, atrair insetos e degradar a vegetação adjacente (CAMILI, 2007).

Apesar de altamente poluente, esse resíduo pode ser considerado não esgotado, ou seja, pode ser empregado como matéria-prima para outros processos industriais, por apresentar altas concentrações de carboidratos, nitrogênio e sais minerais. Entre as alternativas para o uso do resíduo encontra-se a produção de biossurfactantes (SANTOS, et al. 1999; NITSCHKE, 2004), produção de biomassa (DAMASCENO, 1999), e a produção de biogás (BARANA, 2000).

Segundo Pantaroto (2001) microrganismos presentes na manipueira, assim como os presentes nos ambientes sujeitos a contínuos descartes destes efluentes líquidos, encontram-se naturalmente adaptados ao conteúdo cianogênico de seu habitat. Pesquisa realizada por Menezes (2001) apontou a possibilidade da produção de proteína microbiana a partir da manipueira. Damasceno (1999) e Maróstica (2006) utilizaram a manipueira como meio de

cultura para a biotransformação de terpenos (hidrocarbonetos, principais responsáveis pelo aroma dos óleos essenciais), com o objetivo de produzir compostos de aromas funcionais.

A composição química da manipueira (Tabela 2) sustenta a potencialidade desse resíduo como nutriente, em função da sua riqueza em potássio, magnésio, fósforo, cálcio, enxofre, ferro e outros micronutrientes (CASSONE, 2008).

Tabela 2. Composição físico-química da manipueira segundo diversos autores.

COMPONENTES	Damasceno (1999)	Cereda(2001)	Nistschke (2004)	Maróstica(2006)	Cassone (2008)
Umidade(%)	-	93,75	-	-	92,89
pH	5,5	6,3	5,8	5,3	6,6
Fósforo (mg/L)	83,30	160,84	244,50	368,80	260,00
Potássio (mg/L)	895,00	1863,50	3472,60	3641,00	1500,00
Magnésio (mg/L)	173,00	405,00	519,00	438,10	260,00
Ferro (mg/L)	8,00	15,35	7,80	2,72	3,00
Cobre (mg/L)	0,75	1,15	1,00	1,11	3,00
Zinco (mg/L)	4,50	4,20	2,80	3,01	2,00
Manganês (mg/L)	1,50	3,70	1,70	3,46	5,00
Enxofre (mg/L)	38,00	19,50	154,00	61,35	40,00
Cálcio (mg/L)	184,00	227,50	292,53	236,00	110,00
Nitrogênio total (mg/L)	1,60	0,49	2,08	1,72	0,70

2.2 TUCUPI

O processo de produção do tucupi se desenvolveu artesanalmente em sistema de transferência familiar de conhecimentos. É de fácil obtenção, pois é necessário apenas descascar, ralar e prensar as raízes de mandioca. O líquido obtido através da prensagem, a manipueira, fica em repouso por 1 ou 2 dias, quando ocorre naturalmente a fermentação da manipueira e a decantação do amido, que posteriormente é removido. A fermentação é encerrada com a formação de espuma na superfície e o desprendimento de gás do interior do líquido (OLIVEIRA et al. 2006).

O tucupi é o molho parcialmente fermentado, obtido de água prensada (manipueira), da massa triturada ou ralada de mandiocas de polpa amarela,

reconhecidamente brava (dosagem acima de 100 mg de HCN/kg de raiz fresca sem casca) (CAGNON et al. 2002).

A dosagem de compostos cianogênicos nos produtos provenientes do processamento das raízes de mandioca pode ser representada por compostos cianogênicos totais (linamarina+acetonacianidrina+HCN) e cianeto livre (HCN). Um estudo mostrou que não há uma padronização da composição físico-química (Tabela 3) do tucupi comercializado em Belém-PA, e o teor de cianeto total em 60% das amostras analisadas foi superior a 100 mg HCN/kg, que é o limite para ser considerado como altamente tóxico (CHISTÉ; COHEN; OLIVEIRA, 2007).

Tabela 3. Composição físico-química do tucupi comercializadas em Belém/Pa.

Análises	Amostras									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Umidade (%)	95,05	97,44	97,46	94,68	96,85	97,41	97,29	96,69	96,91	94,64
Sólidos Totais (%)	4,95	2,56	2,55	5,33	3,15	2,59	2,71	3,31	3,09	5,36
Cinzas (%)	0,70	0,18	0,97	1,08	0,75	0,72	0,51	0,54	0,74	0,95
Acidez (meqNaOH/100mL)	4,23	10,66	4,30	4,23	4,23	4,24	7,30	3,92	5,54	5,04
pH	4,35	3,46	3,66	4,14	3,55	3,71	3,0	3,95	3,64	3,64
Proteínas (%)	0,61	0,41	0,41	0,66	0,42	0,46	0,33	0,51	0,41	0,41
Cianeto Livre (mgHCN/kg)	38,03	9,47	35,41	46,70	31,94	42,43	14,67	18,86	44,86	46,86
Cianeto Total (mgHCN/kg)	157,17	103,87	119,26	152,39	126,25	72,40	55,58	67,38	95,11	111,32

Fonte: CHISTÉ; COHEN; OLIVEIRA, 2007.

2.3 GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS

Os glicosídeos cianogênicos são amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo produzidos por mais de 2.600 plantas. Quimicamente, os glicosídeos cianogênicos são definidos como glicosídeos de α -hidroxinitrilas, na planta, estes compostos são armazenados em vacúolos, e tem papel de atuar principalmente no seu sistema de defesa (GANJEWALA et al. 2010). A maioria dos glicosídeos cianogênicos é derivada de cinco aminoácidos hidrofóbicos: valina, leucina, isoleucina, fenilalanina e tirosina (POULTON, 1990; OWUAMANAM, 2010).

A mandioca acumula dois destes glicosídeos, linamarina e lotaustralina, em proporção de aproximadamente 93:7. O primeiro é derivado da valina e o último derivado da isoleucina (WHITE et al. 1998; ANDERSEN et al. 2000). A via de síntese de glicosídeos cianogênicos envolve a conversão de um aminoácido em uma aldoxima, catalisada por um citocromo P-450. Essa provável reação prossegue através de duas hidroxilações sucessivas do grupo amino, seguida de descarboxilação e desidratação (OWUAMANAM, 2010).

Na mandioca, são as enzimas CYP79D1 e CYP79D2 que catalisam a N-hidroxilação da valina e isoleucina, às suas respectivas aldoximas (ANDERSEN et al. 2000). A aldoxima é então convertida em uma hidroxinitrila, através da ação de um segundo citocromo P-450. Essa reação (Figura 3) envolve a desidratação para nitrila, seguida por hidroxilação do carbono alfa. A etapa final na síntese do glicosídeo cianogênico é a glicosilação do grupamento alfa-hidroxi, catalisada por uma glicosiltransferase (GANJEWALA et al. 2010).

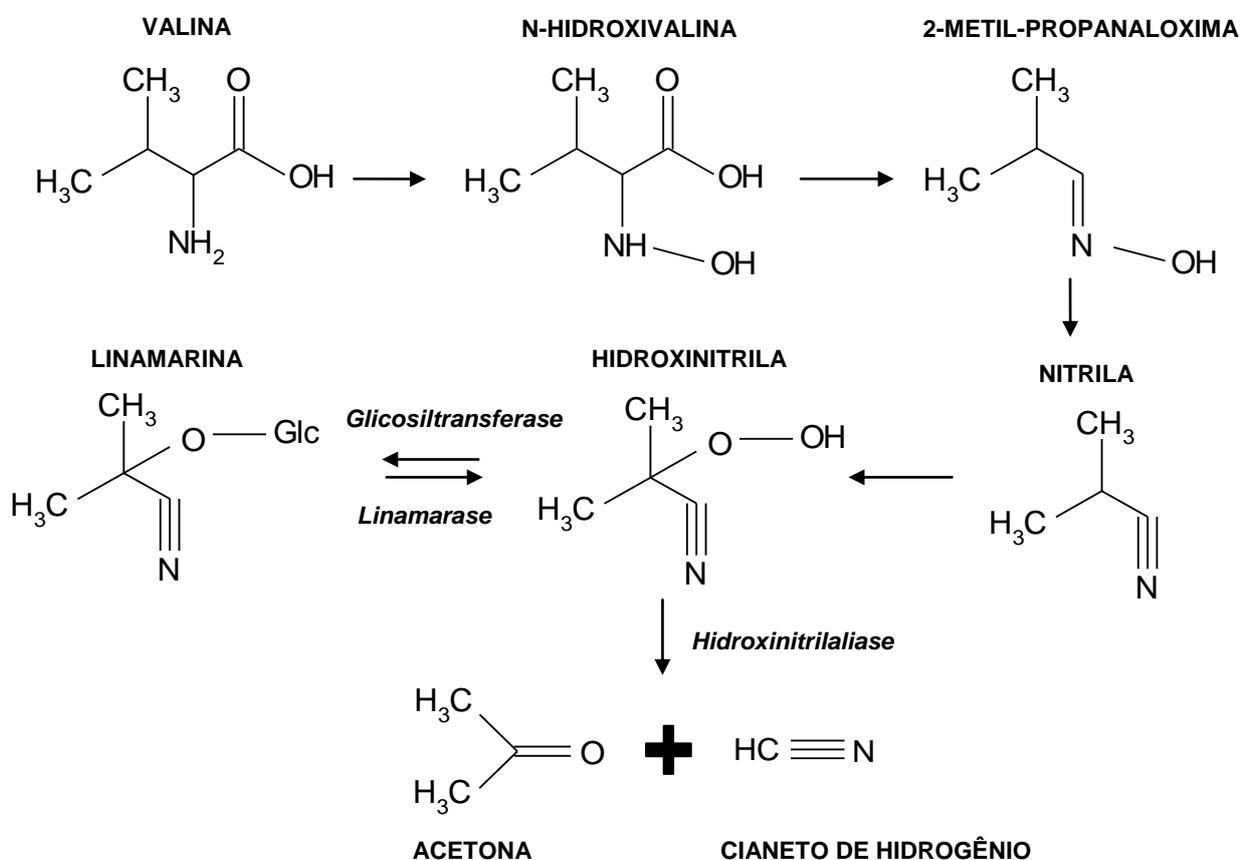


Figura 3. Esquema geral da biossíntese da linamarase em plantas.

A β -glicosidase (linamarase) no tecido vegetal intacto está separada da linamarina. Quando o tecido é rompido há a interação dos dois compostos, levando à hidrólise. A hidrólise da linamarina pela linamarase resulta em intermediários instáveis como a hidroxinitrila e acetona cianidrina (NASU et al. 2010).

A hidroxinitrila se decompõe espontaneamente em HCN e acetona em pH superior a 5,0 ou em temperatura superior a 35°C. Em pH abaixo de 5 a hidroxinitrila não se dissocia espontaneamente, porém pode ser hidrolisada enzimaticamente pela hidroxinitriliase. Essa enzima já foi quantificada na mandioca, e mostrou-se ausente em raízes, justificando os níveis elevados de acetona cianidrina em mandiocas pouco processadas (WHITE et al. 1998).

2.4 CAROTENÓIDES

Os carotenóides estão entre os pigmentos mais encontrados na natureza, com uma estimativa de produção de 100 milhões de toneladas por ano (FRASER; BRAMLEY, 2004). Eles estão presentes em todos os organismos fotossintéticos e são responsáveis por muitas das cores, que vão do amarelo ao vermelho, de muitas frutas, flores, legumes e hortaliças, tubérculos, animais (pássaros, insetos, peixes e crustáceos) e microrganismos (leveduras). Estima-se que mais de 700 carotenóides já tenham sido isolados e identificados (BARBOSA-FILHO et al. 2008; MAIANI et al. 2009).

Considerando a presença ou não de oxigênio em sua estrutura, os carotenóides podem ser classificados em dois grandes grupos, os carotenos, que não contêm oxigênio e as xantofilas, que contêm oxigênio na sua estrutura. As formas mais frequentes de grupos oxigenados em carotenóides são os grupos hidroxila (zeaxantina, lactucaxantina), metoxila (esfereidona, espiriloxantina), epóxido (anteroxantina, licopeno-1,2-epóxido), carbonila (capsantina, esferoidenona) e carboxila (norbixantina) (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICÁRIO; HEREDIA, 2007). Na Figura 4 são apresentadas as estruturas de dois compostos pertencentes a estes grupos.

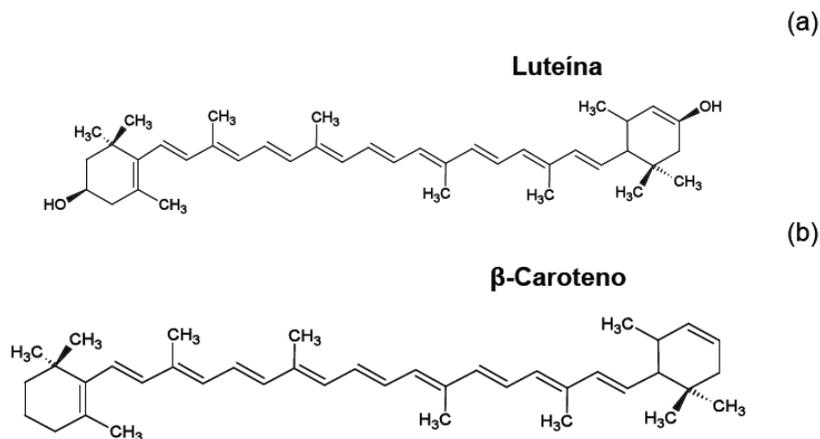


Figura 4. Estrutura química de compostos pertencentes ao grupo das xantofilas (a) e dos carotenos (b).

Os carotenóides constituídos apenas de carbono e hidrogênio são chamados de carotenos. Esses hidrocarbonetos podem ser acíclicos como o licopeno ou cíclicos como o α -caroteno e β -caroteno (Figura 5) (NASCIMENTO, 2006).

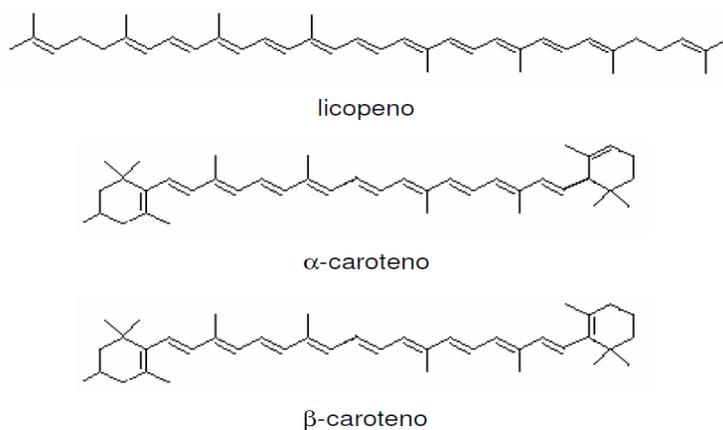


Figura 5. Estrutura de carotenóides acíclicos e cíclicos.

Essa estrutura pode ser modificada de várias maneiras, através de hidrogenação, desidrogenação, ciclização, migração de dupla ligação, encurtamento ou extensão da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de substituintes ou combinações de processos (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

A estrutura básica dos carotenóides é de um tetraterpeno (C_{40}), formado por isoprenóides (C_5H_8) unidas por ligações tipo “cabeça-cauda”, com exceção da posição central onde a ligação é do tipo “cauda-cauda” (PFANDER, 1987; FELTL et al. 2005)

As propriedades físico-químicas, funções e ações dos carotenóides estão intimamente ligadas às suas estruturas. A capacidade de absorver luz na região visível e, conseqüentemente o poder corante dos carotenóides, deve-se ao sistema dessas duplas ligações conjugadas, presente em suas estruturas. Pelo menos sete duplas ligações conjugadas são necessárias para que um carotenóide seja colorido, como no caso do ζ -caroteno, que confere uma coloração amarela ao maracujá. À medida que o sistema conjugado vai sendo estendido, a cor também se intensifica; portanto, o licopeno com 11 duplas ligações conjugadas, colore o tomate de vermelho (RIBEIRO; BARRETO; COELHO, 2011).

A ciclização coloca as duplas ligações que se encontram dentro dos anéis, fora do plano daquelas da cadeia poliênica, diminuindo a sua coloração. Assim, o γ -caroteno, com uma dupla ligação conjugada localizada no anel, é laranja-avermelhado, enquanto o β -caroteno, com duas destas ligações em anéis, é laranja (cenoura), embora ambos tenham 11 duplas ligações conjugadas como o licopeno (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 1989; NASCIMENTO, 2006; RIBEIRO; BARRETO; COELHO, 2011).

A maioria dos carotenóides encontrados naturalmente em frutas e vegetais apresentam uma cadeia carbônica composta por quarenta átomos de carbono. A sequência da rota biossintética dos carotenóides em plantas está descrita na Figura 6, a qual se inicia com ácido mevalônico (5C) e após uma série de reações, forma o geranyl-geranyl difosfato (20 C) (TANAKA; SASAKI; OHMIYA, 2008).

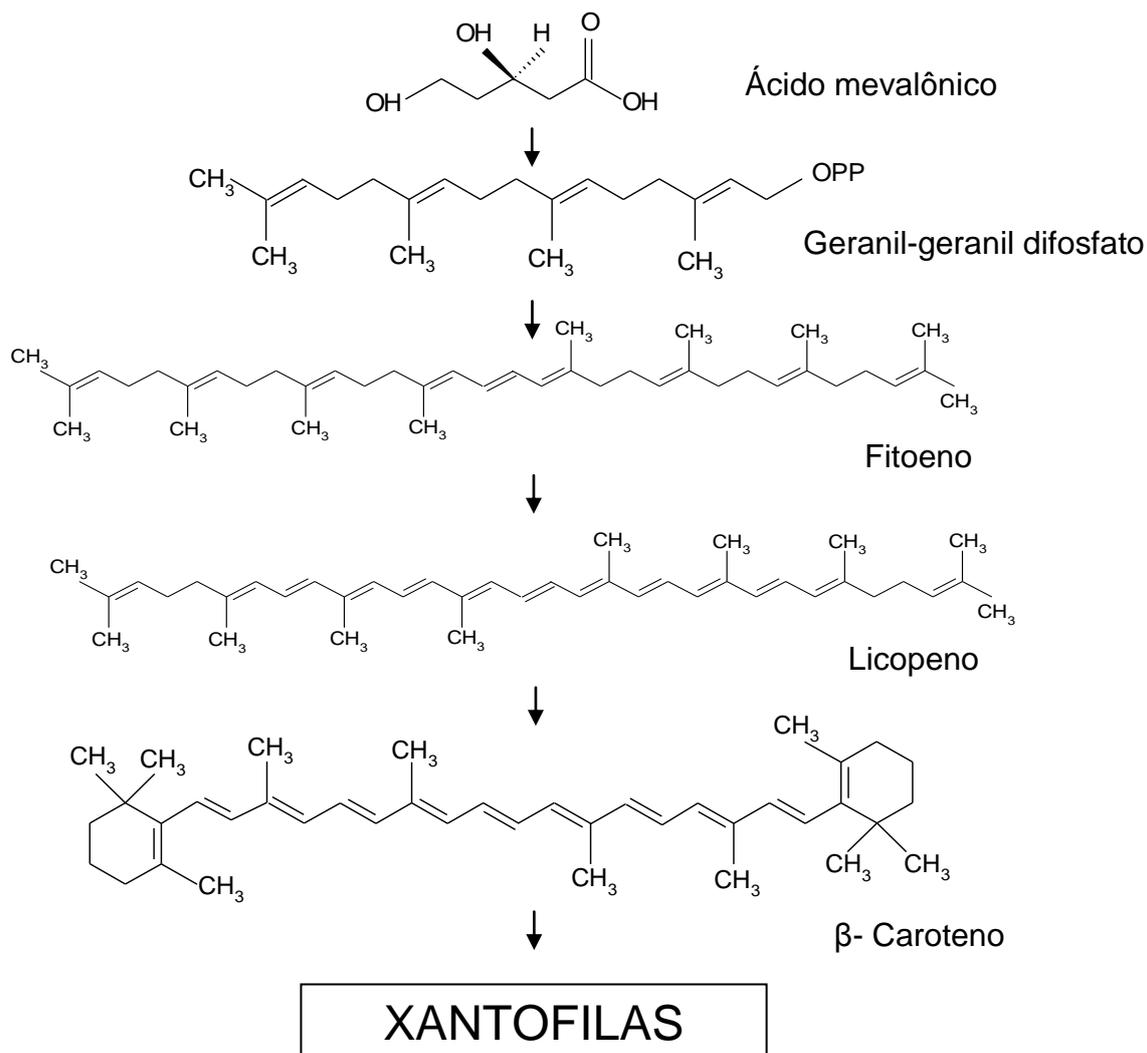


Figura 6. Fluxograma dos estágios da biossíntese dos carotenóides.
 Fonte: VALDUGA et al. (2009).

A dimerização de duas moléculas de geranyl-geranyl difosfato produz o fitoeno. Subsequentemente, cada etapa enzimática do fitoeno adiciona uma dupla ligação à molécula, resultando no licopeno, uma molécula simétrica que contém 13 ligações duplas (VETTER, 2000).

Várias metodologias têm sido empregadas na análise individual de carotenóides em alimentos, incluindo métodos colorimétricos, espectrofotométricos, espectrofluorimétricos, polarimétricos e cromatográficos (EITENMILLER; YE; LANDEN, 2008). O β-caroteno não emite fluorescência, porém apresenta uma forte capacidade de absorção à 450nm (YE; LANDEN, EITENMILLER, 2001).

Além do poder corante, funções e ações biológicas têm sido atribuídas aos carotenóides, sendo a atividade pró-vitáminica A, a principal função fisiológica. No entanto, o carotenóide para ser um precursor da pró-vitamina A, deve possuir pelo menos um anel de β -ionona não substituído, com cadeia lateral poliênica contendo no mínimo de 11 carbonos (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006). Em países em desenvolvimento, onde os produtos de origem animal (fontes de vitamina A pré-formada) não são economicamente acessíveis a grande parte da população, a vitamina A da dieta é proveniente principalmente das pró-vitaminas A (RIBEIRO; BARRETO; COELHO, 2011).

A ingestão de pró-vitamina A tem a vantagem de ser apenas bioconvertida pelo organismo quando há carência, evitando-se assim a hipervitaminose. Os carotenóides que podem ser convertidos em vitamina A são aqueles que possuem pelo menos um anel β -ionona não substituído, ligado a uma cadeia poliênica conjugada de no mínimo 11 carbonos. A transformação dos carotenóides pró-vitáminicos em vitamina A ocorre por clivagem central (mecanismo principal), onde o carotenóide é dividido ao meio, formando duas moléculas de retinal, no caso do β -caroteno, ou uma molécula de retinal no caso dos demais carotenóides pró-vitáminicos A. Alternativamente, pode ocorrer clivagem excêntrica em que segmentos são retirados de uma das extremidades da molécula do carotenóide, formando apocarotenóides e eventualmente retinal (NIIZU, 2003; RIBEIRO; BARRETO; COELHO, 2011).

Em virtude dos novos dados sobre a biodisponibilidade da provitamina A proveniente de carotenóides de vários alimentos, os fatores de conversão de vitamina A atuais são superiores às antigas recomendações, em que 1 equivalente de retinol (RE) é igual a 1 μg de retinol ou 6 μg de β -caroteno ou 12 μg de outros carotenóides precursores de vitamina A (CAMPOS; ROSADO, 2005). Com base nisso, a ingestão diária recomendada (IDR) pela RDC n° 269 é de 600 μg para adultos, 800 μg para gestantes, 850 μg para lactantes e 500 μg para crianças (7-10 anos) (BRASIL, 2005).

O β -caroteno é o carotenóide mais ativo em relação a conversão à vitamina A, com 100% de atividade pró-vitáminica (Figura 7), enquanto o γ -

caroteno, o α -caroteno, o β -zeacaroteno, a β -criptoxantina e a α -criptoxantina apresentam apenas 50% de atividade (RIBEIRO; BARRETO; COELHO, 2011).

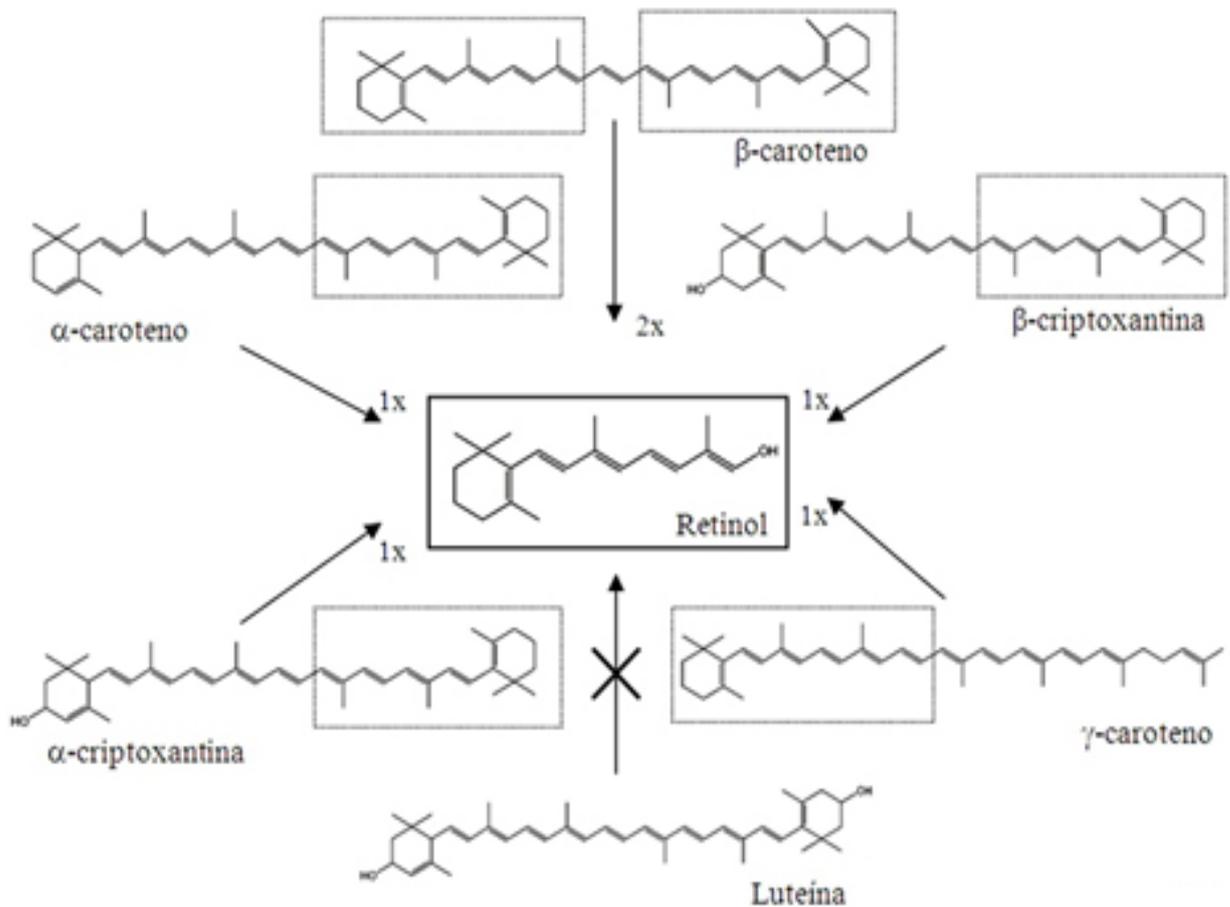


Figura 7. Estrutura química e clivagem dos carotenóides.

Nas células vegetais uma das funções do β -caroteno é de proteger o aparelho fotossintético de fenômenos de foto oxidação, provocado por um eventual excesso de luz (ARMSTRONG, 1997; HAVAUX, 1998). Na presença de luz intensa as clorofilas produzem níveis elevados de espécies reativas de oxigênio, como os peróxidos e radicais de oxigênio, estes, porém podem reagir com lipídios membranares, dando origem aos radicais de peróxidos lipídicos. Esses produtos são tóxicos e geram reações de oxidação em cadeia, que podem afetar o material genético das células (TSUCHIHASHI et al. 1995; HAVAUX, 1998; SILVA, 2009).

Marinho e Arckoll (1981) relataram a importância dos carotenos no tucupi, pois os mesmos encontraram que cerca de 35% do teor de carotenos é

cedido ao tucupi durante o processamento da mandioca. Os autores explicam que o caroteno pode estar ligado as proteínas, formando um complexo, pois uma precipitação amarela é obtida a pH 4 contendo 16% de proteína e o restante é pigmento.

2.5 DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS

Segundo Neto (1999), o estudo cinético de um determinado fenômeno ou processo, baseia-se em estudar sua evolução no tempo, através da quantificação de certas grandezas que definem adequadamente esta evolução. Por outro lado, a degradação é o conjunto de reações que envolvem quebra de ligações primárias e formação de outras, com conseqüente mudança da estrutura química e redução da massa molecular (CANEVAROLO, 2002; OLIVEIRA et al. 2006).

Correa et al. (2002), estudaram o efeito da temperatura de secagem de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz cv. Baiana) sobre a liberação do ácido cianídrico. Os autores realizaram ensaios *in vitro* para a determinação do pH ótimo e da estabilidade térmica da linamarase, visando a escolha das temperaturas de secagem. Esses autores observaram que o pH ótimo foi 6,0, e a linamarase manteve-se estável por até duas horas sob temperaturas entre 15 e 30°C e sob temperaturas acima de 30°C a enzima perdeu a atividade.

Os carotenóides degradam principalmente por oxidação pelo fato dos mesmos apresentarem grandes números de duplas ligações conjugadas (SILVA, 2009). A oxidação ocorre por ação de compostos pró-oxidantes, luz e calor, sendo que uma oxidação muito intensa pode provocar a quebra de pigmentos, descoloração e a perda total da atividade biológica (MELÉNDEZ et al. 2004). Sampaio et al. (2012), ao estudar a degradação de carotenóides em óleo de palma relata que a 170°C há uma redução de 50% no conteúdo de carotenóides nos primeiros 20 minutos.

Para Rodriguez-Amaya (2008) a principal causa de perdas ou destruição de carotenoides durante o processamento ou a estocagem é a oxidação, seja ela enzimática ou não.

2.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

As pesquisas realizadas com o objetivo de fornecer respostas sobre como um sistema responde a determinadas variáveis, muitas vezes tomam vários meses de pesquisa a um custo elevado em termos de reagentes, análises químicas e físicas, entre outros. Desta forma os conhecimentos estatísticos tornam-se ferramentas essenciais na obtenção destas respostas, de forma racional e econômica. Usando planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos, podem ser extraídos do sistema estudado o máximo de informação útil, realizando um número mínimo de experimentos (SINHA; SAHA; DATTA, 2012).

A Metodologia de Superfície de Resposta (RSM – Response Surface Methodology) é uma técnica de análise de processos baseada no emprego de planejamentos fatoriais, e seu principal objetivo é a redução do número de ensaios necessários para avaliar a influência de determinadas variáveis na resposta em estudo, além de fornecer melhores resultados com interações que podem existir entre as variáveis (YULIWATI et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA PRIMA

Para a produção do tucupi foram selecionadas três variedades de mandioca, com 10Kg de polpa amarela cada: Ouro Preto, Tucumã e Bonitinha, oriundas do município de Acará, no estado do Pará, todas comercializadas na região metropolitana de Belém, para produção de tucupi e farinha.

As mandiocas foram lavadas, descascadas e trituradas na Feira do Verdô-peso, a massa ralada das raízes (polpa) foi acondicionada em sacos plásticos, transportada ao Laboratório de Fontes Amiláceas (LAFAMI) da UFPA e, posteriormente submetida à centrifugação (900rpm, por 30 minutos) para a extração do resíduo líquido (manipueira). A manipueira foi obtida através de centrifugação da massa ralada em uma Centrifuga HERGUS.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Produção do tucupi

Para a produção do tucupi, a manípueira extraída das três variedades foi fermentada em estufa incubadora micro-processada, marca QUIMIS, modelo Q315M16 a 30°C, por 14h.

O fluxograma da Figura 8 apresenta as etapas realizadas no processamento do tucupi desenvolvido nesta pesquisa.



Figura 8. Fluxograma da produção do tucupi.

3.2.2 Caracterização físico-química da mandioca e do tucupi

A caracterização físico-química das raízes de mandioca e do tucupi foi realizada utilizando as metodologias oficiais da AOAC (1997).

- ✓ *Potencial Hidrogeniônico – pH (AOAC, n° 943.02).*
- ✓ *Acidez Total Titulável (AOAC, n° 943.02).*
- ✓ *Proteínas (AOAC, n° 31.1.08)*
- ✓ *Lipídeos (AOAC, n° 31.4.02)*
- ✓ *Umidade (AOAC, n° 31.1.02)*
- ✓ *Cinzas (AOAC, n° 31.1.04)*

3.2.3 Quantificação de carotenóides totais no tucupi

O teor de carotenóides totais foi realizado nas três variedades estudadas, **Ouro Preto, Tucumã e Bonitinha**, respectivamente, e este foi determinado por espectrofotometria, de acordo com o método descrito por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). De acordo com a literatura consultada (MARINHO; ARKROLL, 1981; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004; VIMALA et al. 2011), o carotenóide predominante em mandiocas pigmentadas é o β -caroteno, e o comprimento de onda utilizado foi de 450 nm.

3.2.4 Quantificação de cianeto total no tucupi

O teor de cianeto total foi determinado pelo método enzimático nas três variedades estudadas (**Ouro preto, Tucumã e Bonitinha**), sendo a metodologia descrita por Cooke (1978) e, posteriormente adaptada por Essers et al. (1993), na qual o cianeto (CN⁻) é oxidado à haleto de cianogênio cloramina T ou N-clorosuccinimida. Este composto reage com ácido isonicotínico para produzir um dialdeído que acopla com aminas ou compostos com o grupamento metileno, como ácido dimetilbarbitúrico para a formação de um complexo colorido e posterior leitura em espectrofotômetro a 605 nm.

3.2.5 Delineamento Experimental

Para avaliar a influência do tratamento térmico (Tempo/Temperatura) na degradação dos carotenóides e compostos cianogênicos do tucupi foi utilizado um planejamento composto central (2^2), constituído por quatro ensaios lineares nos níveis -1 e $+1$, quatro ensaios axiais ($\alpha = 1,414$) e três ensaios no ponto central, o qual pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4. Variáveis independentes e seus diferentes níveis.

Fator	Codificado	Níveis				
		$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Tempo (min)	t	19	25	40	55	61
Temperatura °C	T	66	70	80	90	94

No planejamento experimental as variáveis independentes foram: tempo (minuto) e temperatura (°C). As variáveis dependentes avaliadas foram: teor de carotenóides e teor de compostos cianogênicos. A matriz de experimento é apresentada na Tabela 5.

Tabela 5. Planejamento Experimental completo 2^2 .

Ensaio	X1	X2
1	-1	-1
2	-1	1
3	1	-1
4	1	1
5	-1,41	0
6	1,41	0
7	0	-1,41
8	0	1,41
9(C)	0	0
10(C)	0	0
11(C)	0	0

X1 = tempo (minutos), X2 = temperatura (°C).

Utilizando o programa *Statistica*[®] versão 7.0 (STATSOFT INC., 2004), os resultados foram avaliados através de:

- Verificação dos efeitos significativos ($p \leq 0,05$ ou valores próximos);
- Análise de Variância (ANOVA);
- Metodologia de Superfície de Resposta.

3.2.6 Aplicação da Metodologia de Superfície de Resposta na degradação térmica de compostos cianogênicos e carotenóides totais no Tucupi

Foi realizada uma análise estatística utilizando o programa *Statistica*[®] versão 7.0 (STATSOFT INC., 1995), os resultados foram avaliados através de verificação dos efeitos significativos ($p \leq 0,05$ ou valores próximos), análise de variância (ANOVA) e superfície de resposta.

Os coeficientes de regressão foram gerados apenas com as variáveis que apresentaram efeito significativo no fenômeno estudado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DA MANIPUEIRA

Na Tabela 6 são apresentados os rendimentos de extração da manipueira das variedades estudadas.

Tabela 6. Rendimento de manipueira (kg manipueira /100 kg massa ralada)

Variedades	Rendimentos (% de manipueira)
Ouro Preto	35,54 ^a ± 2,80
Tucumã	35,25 ^a ± 3,21
Bonitinha	35,51 ^a ± 3,08

Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Não houve diferença significativa entre as mesmas, as quais apresentaram rendimento médio de 36,11% (kg manipueira/100kg massa ralada). Para Leonel (2001) a quantidade de manipueira difere bastante em função de uma série de fatores, tais como: cultivar, idade da planta, tempo pós-colheita e processo de extração.

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MANDIOCA E DO TUCUPI

Os resultados da caracterização físico-química das amostras da polpa das raízes de mandioca comercializadas na cidade de Belém - PA e do tucupi estão expostos na Tabela 7.

Tabela 7. Caracterização físico-química da parte interna das raízes de mandioca e do tucupi

MANDIOCA				
	Umidade	Proteínas	Cinzas	Lipídeos
	%	(b.s.)%	(b.s.)%	(b.s.)%
Ouro Preto	70,93 ^a ±0,24	10,86 ^a ±0,12	3,67 ^a ±0,01	0,80 ^b ±0,01
Tucumã	65,75 ^b ±0,80	7,60 ^b ±0,04	2,03 ^c ±0,03	0,55 ^d ±0,01
Bonitinha	71,83 ^a ±0,60	3,73 ^d ±0,02	3,32 ^b ±0,01	0,90 ^a ±0,04

TUCUPI			
	Umidade%	Acidez meqNaOH/100	pH
		ml	
Ouro Preto	94,09 ^a ±0,06	8,12 ^a ± 0,08	3,90 ^c ±0,01
Tucumã	92,10 ^c ±0,08	7,29 ^c ± 0,12	4,79 ^a ±0,02
Bonitinha	91,95 ^c ±0,41	7,00 ^d ± 0,14	4,72 ^a ±0,01

Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$). Média \pm desvio padrão.

A água de um alimento está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição e pode afetar tanto seu processamento, quanto sua embalagem e estocagem. Para a parte interna das raízes de mandioca a umidade se apresentou entre 65,75 e 71,93%, estando de acordo com os dados encontrados por Carvalho et al. (2010). Os parâmetros lipídeos e proteínas apresentaram diferenças significativas ($p<0,05$) entre as variedades,,e situaram-se entre 0,55 e 0,90 (%b.s.) e 3,73 e 10,86 (%b.s.) respectivamente.

Sendo o tucupi um alimento líquido, sua umidade apresentou-se na faixa de 91,95 a 94,09 %. E para as três variedades a acidez variou entre 7,00 e 8,12 meq NaOH.100 mL⁻¹ e o pH entre 3,90 e 4,79, sendo que Tucumã e Bonitinha não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p>0,05$). Segundo Marinho e Arckoll (1981), as raízes bem fermentadas até um pH inferior a 4 apresentam uma boa recuperação dos carotenoides. Estes autores encontraram valores de pH entre 3,8 a 4,7 para amostras de tucupi.

Segundo Chisté, Cohen e Oliveira (2007), o pH também determina a atividade das enzimas cianogênicas. Em consequência de seu processamento,

os tecidos vegetais da mandioca são dilacerados e com isso o glicosídeo cianogênico linamarina é clivado em glicose e acetona cianidrina, devido à ação catalisadora da enzima β -glicosidase (linamarase). Na segunda e última etapa da cianogênese (processo de geração de HCN), em temperaturas superiores a 35 °C a hidroxinitrila espontaneamente se decompõe em HCN e acetona, em uma faixa de pH de 5,0 a 6,0 a decomposição da hidroxinitrila pode ocorrer enzimaticamente pela hidroxinitrilalíase (HNL), pois esta enzima apresenta atividade máxima em pH entre 5,5 e 6,0 (NABISSAN, 1994). Assim, pode-se observar que valores de pH ácidos ou próximos de uma faixa ácida contribuem para a cianogênese da linamarina, estando de acordo com os valores encontrados nas variedades estudadas.

De acordo com Marinho e Arckoll (1981), 35% dos carotenóides são cedidos ao tucupi durante o processamento da mandioca. Para esses autores, em meio ácido (pH 4,0) ocorre a formação de um complexo carotenóide-proteína, e a proteína presente no tucupi atinge seu ponto isoelétrico e coagula, permitindo o arraste das partículas em suspensão.

Através dos resultados apresentados, verificam-se variações significativas entre as características físico-químicas das amostras em estudo, indicando que os tipos de variedade podem influenciar nas características físico-químicas do tucupi produzido.

4.2.1 Degradação térmica dos compostos cianogênicos

Na Tabela 8 são apresentados os valores médios de cianeto total que foram utilizados para avaliação do planejamento experimental composto central 2².

Tabela 8. Planejamento composto central com valores reais das variáveis independentes e resultados experimentais da degradação de cianeto total no tucupi.

Ensaio	X1 t(min)	X2 T(°C)	Ouro Preto*	Tucumã*	Bonitinha*
1	25	70	330,83	199,58	382,50
2	25	90	296,25	174,17	248,75
3	55	70	290,42	182,92	285,42
4	55	90	196,67	137,08	230,42
5	40	66	303,33	226,67	373,33
6	40	94	222,92	90,83	223,33
7	19	80	334,17	214,58	318,33
8	61	80	255,42	142,50	232,92
9	40	80	307,50	161,67	301,67
10	40	80	293,33	178,83	310,83
11	40	80	305,67	169,17	292,50

*($\mu\text{g HCN/mL}$ de tucupi).

Utilizando os valores da Tabela 8, foram realizadas regressões lineares múltiplas, seguindo um modelo polinomial de segunda ordem. Analisando os valores de r^2 das regressões, que indicam quanto os modelos propostos explicam as variações dos dados experimentais (AHERNE et al. 2010), pôde-se verificar que os modelos utilizados conseguiram explicar bem os dados experimentais, pois apresentaram $r^2=0,98$ para a variedade Ouro preto, $r^2=0,99$ para a variedade Bonitinha, $r^2=0,83$ para a variedade Tucumã e $r^2=0,96$ para a variedade Miriti. As ANOVA's para o teste de falta de ajuste (Tabela 9) mostraram que os dados experimentais se ajustam aos modelos propostos ($p>0,05$).

Tabela 9. Análise de variância (ANOVA) para o teste de falta de ajuste dos modelos de degradação de cianeto dos tucupis das três variedades de mandioca estudadas.

OURO PRETO						
	SS	GL	MS	p	F_{tab}	F_{cal}
Falta de ajuste	115,98	3	38,658	0,652	19,164	0,651
Erro puro	118,72	2	59,361	-	-	-
Erro total	234,70	5	-	-	-	-
TUCUMÃ						
	SS	GL	MS	p	F_{tab}	F_{cal}
Falta de ajuste	2211,17	3	737,056	0,092	19,164	9,951
Erro puro	148,13	2	74,065	-	-	-
Erro total	14507,63	5	-	-	-	-
BONITINHA						
	SS	GL	MS	p	F_{tab}	F_{cal}
Falta de ajuste	86,10	3	28,70	0,802815	19,164	0,342
Erro puro	168,06	2	84,03	-	-	-
Erro total	29846,46	5	-	-	-	-

SS: soma dos quadrados, GL: graus de liberdade, MS: média dos quadrados.

Os coeficientes de regressão dos modelos obtidos pelas regressões lineares múltiplas são apresentados na Tabela 10, os quais permitem verificar o efeito das variáveis temperatura e tempo sobre o conteúdo de cianeto total do tucupi. Os coeficientes indicam o quanto cada fator influencia a resposta estudada. O efeito linear da temperatura sobre a degradação de cianeto total foi significativo para todas as variedades estudadas. Para as variedades Tucumã, Bonitinha e Miriti, este efeito apresentou maior influência sobre a degradação do cianeto total, enquanto para a variedade Ouro preto o efeito linear do tempo foi o mais significativo, seguido do efeito linear da temperatura.

Os coeficientes negativos de tempo linear e temperatura linear mostram claramente que o aumento destes fatores causou a diminuição do conteúdo de cianeto total no tucupi. Para a variedade Ouro preto, dentre os efeitos

significativos o efeito quadrático da temperatura foi o que causou menor impacto no fenômeno estudado, sendo este negativo, indicando um ponto de inflexão a partir do qual há um decréscimo da concentração de cianeto.

Tabela 10. Coeficientes de regressão para o modelo de segunda ordem.

OURO PRETO		
	Coeficientes	Erro padrão
Intercepção	298,69	3,24
T(°C) L	-30,41	2,73
T(°C) Q	-18,83	3,15
t(min) L	-31,59	2,73
TUCUMÃ		
	Coeficientes	Erro padrão
Intercepção	170,72	2,59
T(°C) L	-33,00	3,05
t(min) L	-19,52	3,05
BONITINHA		
	Coeficientes	Erro padrão
Intercepção	290,90	2,76
T(°C) L	-50,34	3,25
t(min) L	-29,67	3,25

(L) linear; (Q) quadrático.

Os modelos propostos para representar a variação do cianeto total no tratamento térmico do tucupi para cada variedade são apresentados nas Equações 1 a 3.

$$CT = 298,69 - 30,41 T - 31,59 t - 18,83 T^2 \quad \text{Ouro Preto} \quad \text{Eq.(1)}$$

$$CT = 170,72 - 33,00 T - 19,52 t \quad \text{Tucumã} \quad \text{Eq.(2)}$$

$$CT = 290,90 - 50,31 T - 29,67 t \quad \text{Bonitinha} \quad \text{Eq.(3)}$$

Onde: CT = Cianeto total; T = Temperatura e t = Tempo.

Os modelos de degradação de cianeto do tucupi das três variedades de mandioca estudadas foi significativo ao nível de 95% de confiança e as

variedades Ouro Preto e Bonitinha apresentaram modelos preditivo, satisfazendo o critério sugerido por Box e Wetz (1973) visto que a razão entre o F calculado e o F tabelado foi 29 para variedade Ouro Preto e 56 para a variedade Bonitinha (de acordo com os autores esta razão deve ser acima de 4 para apresentar um modelo preditivo) e a falta de ajuste não foi significativa no mesmo nível de confiança.

A Figura 9 mostra as superfícies de resposta geradas pelos modelos propostos.

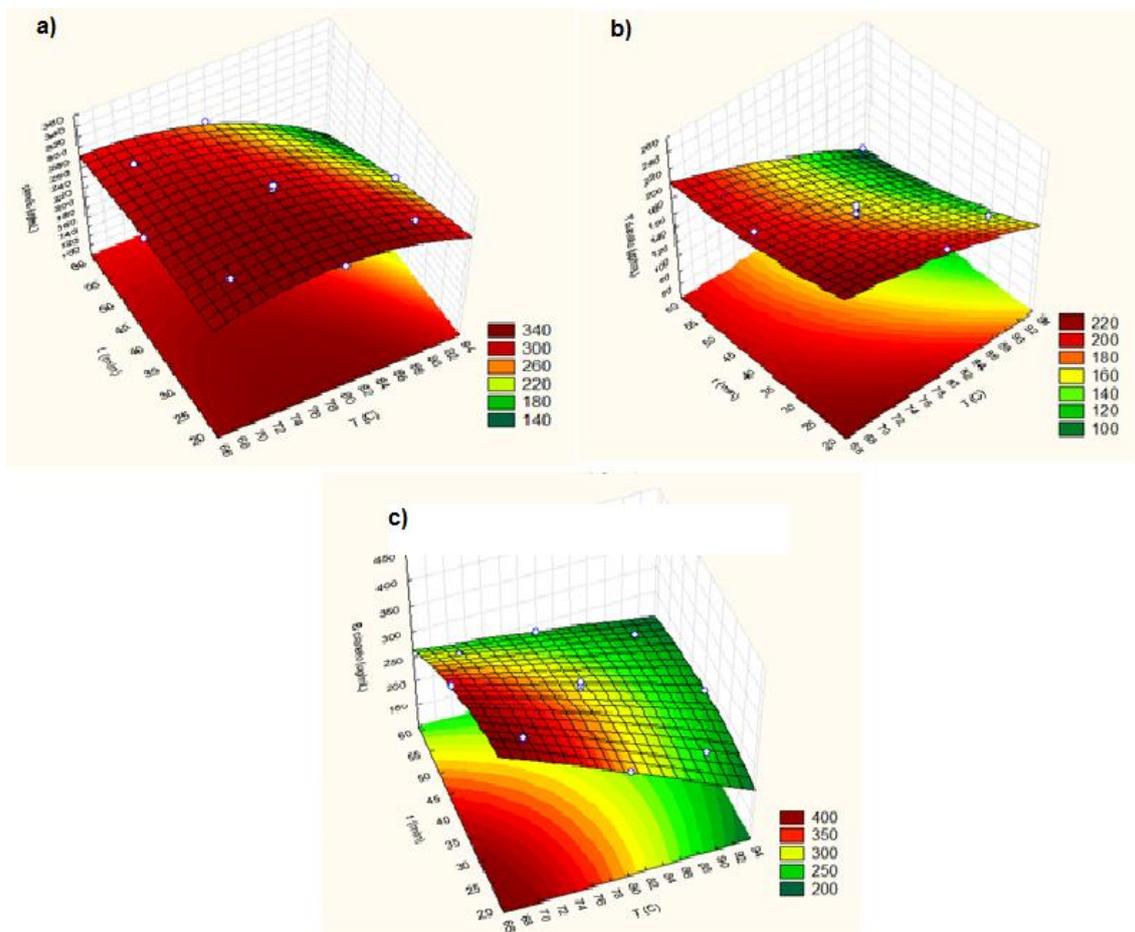


Figura 9. Superfícies de resposta para o Cianeto Total em função do tempo e temperatura para as variedades a) Ouro Preto, b) Tucumã e c) Bonitinha.

As superfícies de resposta podem ser utilizadas na escolha das melhores condições para se realizar a degradação térmica dos compostos cianogênicos. De acordo com Bourdoux et al. (1982), uma concentração de

cianeto total acima de 100 µg HCN/mL é considerada tóxica, logo as condições ideais de degradação são aquelas que gerem uma concentração de cianeto abaixo da concentração máxima permitida para consumo. Desta forma, nos intervalos estudados, apenas a variedade Tucumã apresentou, no final da degradação térmica, níveis aceitáveis de compostos cianogênicos (90,83 µg HCN/mL), no tempo de 40 minutos a 94°C. As duas variedades restantes não apresentaram degradação dos compostos cianogênicos a níveis aceitáveis para consumo, necessitando assim de novos estudos com intervalos de valores maiores para temperatura e tempo, ou ainda a ampliação das variáveis estudadas, podendo ser objeto de outra pesquisa a utilização de variações na pressão do tratamento térmico, a utilização de ultrassom e variações no pH.

Bradbury e Danton (2011) avaliaram a degradação térmica do cianeto de folhas de mandioca e relatam que após 4 horas à 50 °C há 17% de cianeto total remanescente nas folhas, relatam ainda que um mecanismo de perda foi a solubilização do cianeto das folhas na água utilizada no tratamento térmico.

Ressalta-se que o tempo e temperatura adequados para degradação do cianeto do tucupi são cruciais para a obtenção de um produto seguro, Chisté, Cohen e Oliveira (2007) relatam que 60% das amostras de tucupis comerciais apresentaram concentração de cianeto acima do limite de 100 µg HCN/mL.

Oulego, Laga e Diaz (2013) avaliaram a degradação de cianeto a altas temperaturas, pressurizado, com injeção de oxigênio e em pH alcalino e relatam a degradação de 99% do cianeto em 20 minutos. Assim novos estudos com intervalos de valores maiores para temperatura e tempo, ou ainda a ampliação das variáveis estudadas, como a pressão do tratamento térmico, a utilização de ultrassom e variações no pH, se fazem necessário para alcançar um nível de cianeto adequado.

Deve-se observar ainda que apenas a variedade Tucumã apresentou, nas condições estudadas, um nível de cianeto aceitável para ser consumido, as demais variedades precisarão de maiores temperaturas e tempo de degradação, o que diminuirá a concentração de carotenóides no tucupi.

4.2.2 Degradação térmica dos carotenóides no tucupi

Na Tabela 11 são apresentados os valores médios dos teores de cianeto total do tucupi que foram utilizados para avaliação do planejamento experimental composto central 2².

Tabela 11. Planejamento composto central com valores reais das variáveis independentes e resultados experimentais de concentração de carotenóides.

Corrida	X1 t (min)	X2 T(°C)	Ouro Preto*	Tucumã*	Bonitinha*
1	25	70	0,65	0,69	0,77
2	25	90	0,37	0,43	0,37
3	55	70	0,38	0,39	0,49
4	55	90	0,29	0,34	0,34
5	40	66	0,54	0,56	0,66
6	40	94	0,29	0,25	0,29
7	19	80	0,48	0,51	0,53
8	61	80	0,30	0,37	0,40
9	40	80	0,38	0,51	0,46
10	40	80	0,35	0,42	0,47
11	40	80	0,40	0,44	0,50

*(mg de carotenóides/L de tucupi).

Utilizando os valores da Tabela 12 foi realizada uma regressão linear múltipla, seguindo um modelo polinomial de segunda ordem (Eq. 5, 6 e 7). Os modelos utilizados conseguiram explicar bem os dados experimentais, apresentando $r^2=0,97$ para a variedade Ouro preto, $r^2=0,90$ para a variedade Tucumã e $r^2=0,98$ para a variedade Bonitinha. As ANOVA's para o teste de falta de ajuste (Tabela 12) mostraram que os dados experimentais se ajustam aos modelos propostos ($p>0,05$).

Tabela 12. Análise de variância para o teste de falta de ajuste.

OURO PRETO						
	SS	GL	MS	P	F_{tab}	F_{cal}
Falta de ajuste	0,002592	3	0,000864	0,422881	19,164	1,505
Erro puro	0,001147	2	0,000574	-	-	-
Erro total	0,125597	10	-	-	-	-

TUCUMÃ						
	SS	GL	MS	P	F_{tab}	F_{cal}
Falta de ajuste	0,010156	3	0,003385	0,389937	19,164	1,708
Erro puro	0,003963	2	0,001981	-	-	-
Erro total	0,140732	10	-	-	-	-

BONITINHA						
	SS	GL	MS	P	F_{tab}	F_{cal}
Falta de ajuste	0,002713	3	0,000904	0,284454	19,164	2,667
Erro puro	0,000678	2	0,000339	-	-	-
Erro total	0,197280	10	-	-	-	-

SS: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MS: média dos quadrados

Os coeficientes de regressão dos modelos obtidos pelas regressões lineares múltiplas são apresentados na Tabela 13, as quais permitem verificar o efeito de cada variável na concentração de carotenóides totais do tucupi das variedades de mandioca estudadas.

Tabela 13. Coeficientes de regressão para o modelo de segunda ordem.

OURO PRETO		
	Coeficientes	Erro padrão
Intercepção	0,402	0,007
T(°C) L	-0,089	0,008
t(min) L	-0,075	0,008

TUCUMÃ		
	Coeficientes	Erro padrão
Intercepção	0,444	0,013
T(°C) L	-0,093	0,015
t(min) L	-0,074	0,015

BONITINHA		
	Coeficientes	Erro padrão
Intercepção	0,479	0,005
T(°C) L	-0,135	0,006
t(min) L	-0,063	0,006
T x t	0,064	0,009

*ns = Não significativo

O efeito linear da temperatura e do tempo sobre a degradação dos carotenóides foi significativo para as duas variedades estudadas (temperatura e tempo). O efeito linear da temperatura exerceu a maior influência sobre a degradação, seguida pelo efeito linear do tempo. Os coeficientes negativos mostram que com o aumento da temperatura e do tempo há a diminuição da concentração de carotenóides, este resultado é condizente com o apresentado por Sampaio et al. (2012), que ao estudar a degradação de carotenóides em óleo de palma relata que a 170°C há uma redução de 50% no conteúdo de carotenóides nos primeiros 20 minutos. Para a variedade Bonitinha a interação entre temperatura e tempo apresentou efeito significativo.

Os modelos propostos para representar a variação da concentração de carotenóides totais no tratamento térmico do tucupi para cada variedade são

apresentados nas equações 5, 6 e 7, os coeficientes utilizados nos modelos são os que se mostraram significativos para o fenômeno estudado.

$$CR = 0,402 - 0,089 T - 0,075 t \quad \text{Ouro Preto} \quad \text{Eq.(5)}$$

$$CR = 0,444 - 0,093 T - 0,074 t \quad \text{Tucumã} \quad \text{Eq.(6)}$$

$$CR = 0,479 - 0,135 T - 0,063 t + 0,064 T \times t \quad \text{Bonitinha} \quad \text{Eq.(7)}$$

Onde: CR = Carotenóides Totais; T = Temperatura (°C); t = Minutos.

Os modelos de degradação de carotenóides totais dos tucupis das três variedades de mandioca estudadas foi significativo ao nível de 95% de confiança e também preditivo, satisfazendo o critério sugerido por Box e Wetz (1973) visto que a razão entre o F calculado e o F tabelado foi acima de 4 para as variedades estudadas (Ouro Preto aproximadamente 12, Tucumã aproximadamente 11 e Bonitinha aproximadamente 7) e a falta de ajuste não foi significativa no mesmo nível de confiança.

A Figura 10 mostra as superfícies de resposta geradas através dos modelos propostos.

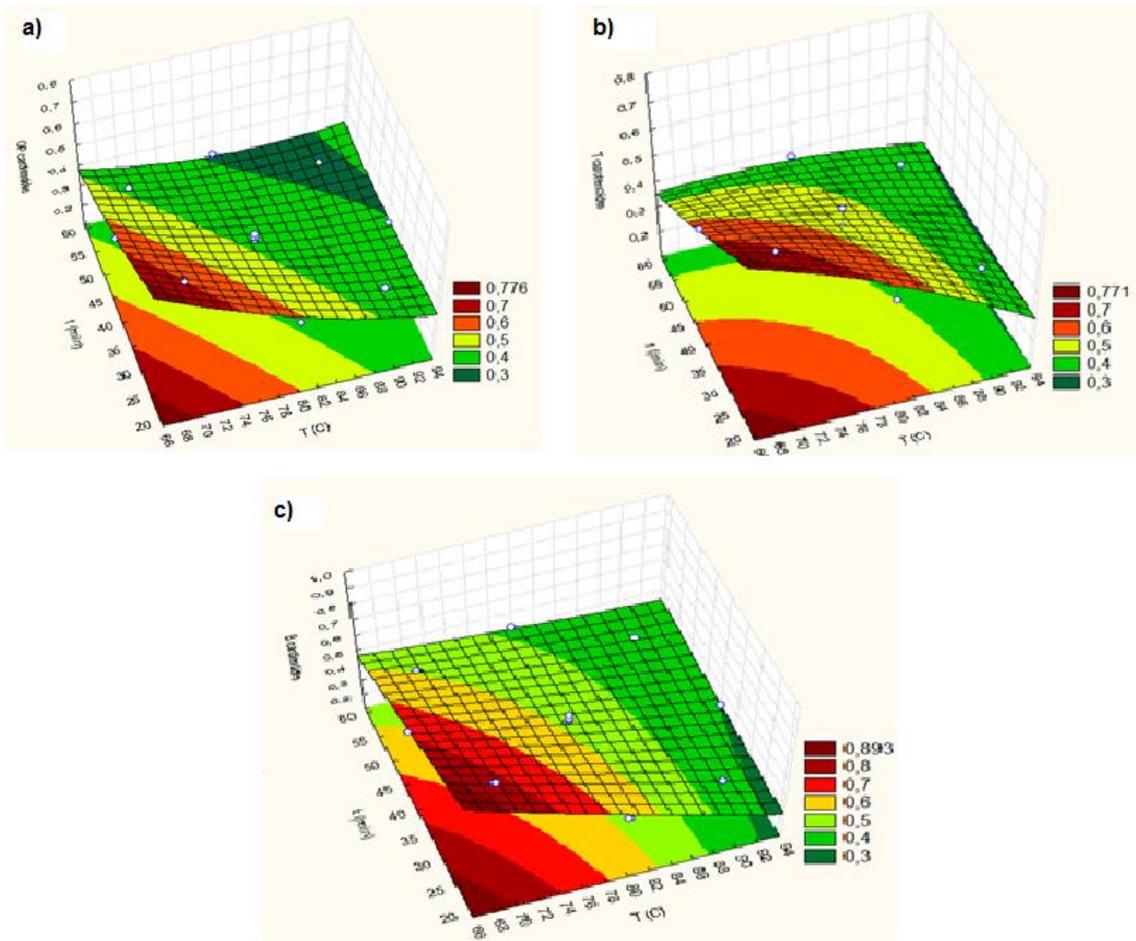


Figura 10. Superfícies de resposta para o teor de Carotenóides em função do tempo e temperatura para as variedades a) Ouro Preto, b) Tucumã e c) Bonitinha.

A ingestão diária recomendada (IDR) de retinol pela RDC n° 269 (ANVISA, 2013) é de 0,6 mg para adultos. Como 1 mg de retinol equivale a 12 mg de β -caroteno, são necessários 7,2 mg de β -caroteno para se obter a IDR de retinol. As superfícies de resposta mostram que o tratamento térmico no tucupi promoveu a degradação dos carotenoides, chegando a concentrações de 0,25 mg/L. Dessa forma, seria necessário a ingestão aproximada de 2,88 L do material estudado para se obter 0,72 mg de carotenóides, que corresponde a 10% da IDR. Desta forma, nestas condições o tucupi não pode ser considerado fonte de vitamina A.

4.2.3 Otimização da degradação térmica dos carotenóides e cianeto total

Através da sobreposição das curvas de níveis da degradação térmica do cianeto total e dos carotenóides pode-se realizar a otimização do processo.

Para as variedades Ouro preto e Bonitinha não foi possível realizar a otimização dos resultados, uma vez que o resultado ótimo para se trabalhar é abaixo de 100 mg de cianeto e nas condições estudadas não foi atingido o mínimo necessário.

A Figura 11 mostra a curva de cianeto total em forma de linha sobreposta à curva de carotenóides totais da variedade tucumã.

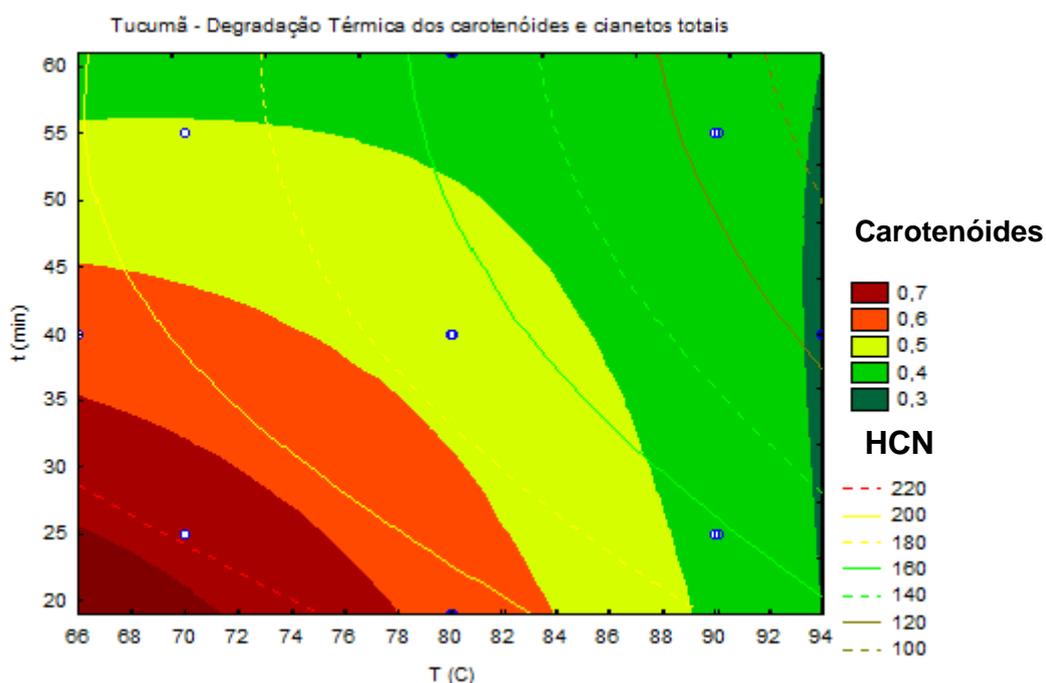


Figura 11. Curva de cianeto total em forma de linha sobreposta à curva de carotenóides totais para o tucupi da variedade tucumã.

Para obterem os valores ideais de trabalho, deve-se encontrar a região onde se tenha os menores valores de cianeto total, que são tóxicos, e maiores valores de carotenóides, que são precursores da vitamina A. Para o tucupi obtido da variedade Tucumã, dentro dos limites estudados, as condições ideais de temperatura e tempo para o processamento térmico são 93 °C e 57 min, onde foi obtida a maior concentração de carotenóides para valores de cianeto abaixo do nível tóxico.

5 CONCLUSÕES

Para o tucupi a variedade Ouro Preto apresentou destaque quanto ao valor de umidade (94,09 %), acidez (8,12 meq NaOH/100 ml), e pH 3,9 , as médias dos valores de umidade foram 92,78 % sendo estes valores previsto visto que o tucupi é um produto líquido. As média dos valores de acidez, e pH foram 7,55 meq NaOH/100 ml e 4,36 respectivamente, o que constata que a variedade, idade da planta, tempo de colheita, solo e a região contribuem para as características específicas e diferenciadas da mandioca (*Manihot esculenta L.*) e de seus subprodutos.

As análises de variância para o teste de falta de ajuste dos modelos de degradação de cianeto e carotenóides totais do tucupi das quatro variedades estudadas mostraram que os modelos propostos se ajustam aos dados experimentais ($p > 0,05$).

O efeito linear da temperatura foi o parâmetro que mais influenciou o processo de degradação térmica dos carotenóides e dos compostos cianogênicos no tucupi. Propõe-se então estudos com a utilização de ultrassom e variações de pH's específicos para o tucupi, visando o melhoramento da degradação total dos compostos cianogênicos a fim de obter a mínima interferência nos carotenóides presentes no tucupi.

Apenas a variedade Tucumã apresentou ao final da degradação térmica níveis aceitáveis de compostos cianogênicos, onde as condições ideais de temperatura e tempo estudadas no processo térmico, obtida através da superfície de resposta, foram 93 °C e 57 min, sendo que nesta condição encontrou-se a maior concentração de carotenóides para valores de cianeto abaixo do nível tóxico, de 90,83µg HCN/mL.

O que torna necessário novos estudos de otimização que avaliem outras variáveis, como pH e pressão, de modo a degradar os compostos cianogênicos e manter, ou degradar o mínimo possível de carotenóides.

REFERÊNCIAS

AHERNE, S. A.; DALY, T.; JIWAN, M. A.; O'SULLIVAN, L.; O'BRIEN, N. M. Bioavailability of β -carotene isomers from raw and cooked carrots using an vitro digestion model coupled with a human intestinal Caco-2 cell model. **FoodResearchInternational**, v. 43, p. 1449–1454, 2010.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.e PENTEADO, M. V. C. **Carotenóides** In: VITAMINAS – Aspectos Nutricionais, Bioquímicos, Clínicos e Analíticos. Editora Manole Ltda., Barueri, SP, 1ª edição, p. 14, 2003.

AMARAL, L. do, JAIGOBIND, A. G. A., JAISINGH, S. Dossiê Técnico. Processamento da mandioca. **Instituto de Tecnologia do Paraná. Serviço Brasileiro de Resposta Técnica – SBRT**, 2007. Disponível em: www.sbrt.ibict.br. Acesso em: 27 de março de 2011.

AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 19, n. 2, p. 233-243, mar./abr., 2006.

ANDERSEN M.D.; BUSK P. K.; SVENDSEN I.; MOLLER B. L. Cytochromes P-450 from cassava (*Manihotesculenta* Crantz) catalyzing the first steps in the biosynthesis of the cyanogenicglucosideslinamarin and lotaustralin. Cloning, functional expression in *Pichiapastoris*, and substrate specificity of the isolated recombinant enzymes. **Journal Biol. Chemical**. v. 275, p.1966-1975, 2000.

ANVISA. RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005 - **Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (idr) de proteína, vitaminas e minerais**. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acessado em 10 de fevereiro de 2013.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**: edited Ig W. Horwitz 16ª ed. Washington, 850p. v.2. 1997.

ARMSTRONG G.A; **Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: a colorful tale**. *Annu. Rev. Microbiol.* p.629-659, V 51, 1997.

BARANA, A. C. **Avaliação de tratamento de manipueira em biodigestores fase acidogênica e metanogênica.** Tese de doutorado em Agronomia, Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP. Botucatu, 2000.

BARBOSA-FILHO, J. M.; ALENCAR, A. A.; NUNES, X. P.; TOMAZ, A.C. A.; SENA-FILHO, J. G. P.; ATHAYDE-FILHO, F.; SILVA, M. S.; SOUZA, M. F. V.; CUNHA, E. V. L. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenoids. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, p. 135-154, jan./mar., 2008.

BELÉN CAMACHO, R. D. ROMÁN, C. J. PANTALEÓN, G. D. MORENO-ÁLVAREZ, J. M. MARTÍNEZ, M. C. ESCALONA, O. E. C. Efecto Del secado solar em los contenidos de humedad, carbohidratos, carotenoides, totales e índice de peróxidos del mesocarpo de La palma coroba (*Atalapha* sp.). **Interciência**, v. 32, n° 4, p. 257-261, 2007.

BERNSTEIN, P. S.; BALASHOR, N. A.; TSONG, E. D. e RANDO, R. R. **Retinal tubulin binds macular carotenoids.** Invest. Ophthalmol. v 38, p.167-175, Biotechnology, p16, 2000.

BOLHUIS, G.G. The toxicity of cassava roots. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v. 2, n. 3, p. 176-185, 1954.

BOURDOUX, P., SEGHERS, P., MAFUTA, M., VANDERPAS, J., VANDERPAS-RIVERA, M., DELANGE, F., ERMANS, A.M. Cassava products: HCN content and detoxification processes. In: DELANGE, F.; ITEKE, F.B.; ERMANS, A.M. (Ed.) **Nutritional factors involved in the goitrogenic action of cassava.** Ottawa: IDRC, (IDRC. Monographs, 184), p. 100, 1982.

BOX, G. E. P. e WETZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. University of Wisconsin Technical Report, n. 9, 1973.

BRADBURY, H. J.; DENTON. C. I.; Simple method to reduce the cyanogen content of gari made from cassava. **Food Chemistry**, p. 840-845, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 de setembro de 2005.

CAGNON, J. R.; CEREDA, M. P.; PANTAROTTO, S. Série: Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas. v. 2 – **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. Fundação Cargill, São Paulo, Brasil, Ago/2002.

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

CAMPOS, F. M.; ROSADO, G. P. Novos fatores de conversão de carotenóidespro-vitamínicos A. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 571-578, jul./set., 2005.

CANEVAROLO, J.R.; S. V. **Ciência dos polímeros**. São Carlos: Artliber, 2002.

CARVALHO, L.J.C.B. **Biodiversidade e biotecnologia em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Disponível em: http://www.cpa0.embrapa.br/11cbm/_html/palestras/arquivoPDF/palestra_003.PDF. Acesso em: 15 Set, 2010.

CARVALHO, P.R.N.; SILVA, M.G.; CARVALHO, C.R.L.; VALLE, T.L; CASTRO; J.V.; FELTRAN, J.C. **Cor e carotenóides provitamínicos em raízes de diferentes clones de mandioca (*Manihotesculentacrantz*)**. In: Anais do XI Congresso Brasileiro de Mandioca, Campo Grande, 2005.

CASSONE, V. **Valorização de resíduo de processamento de farinha de mandioca (manipueira) por acetificação**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, Bocatú – SP, 2008.

CEBALLOS, H. La Yuca en Colombia y el Mundo: Nuevas Perspectivas para un cultivo Milenario. La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción, Procesamiento, Utilización y Comercialización. B. C. Ospina, Hernan, **CIAT - Centro Internacional de Agricultura Tropical**. Cali, Colombia, 2002.

CEREDA, M. P. **Caracterização de matérias primas amiláceas**. In: CEREDA, M.P. (coord) Propriedades gerais do amido. Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas. 220 p. São Paulo: Fundação Cargill, v. 1, cap. 5, p.88-100, 2001.

CHÁVEZ, A.L.; SÁNCHEZ, T.; JARAMILLO, G.; BEDOYA, J.M.; ECHEVERRY, J.; BOLANOS, E.A.; CEBALLOS, H.; IGLESIAS, C.A. **Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones**. Euphytica. v. 143, p. 125-133, 2005.

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

CORREA, A. D.; dos SANTOS, C. D.; NATIVIDADE, M. A. E.; ABREU, C. M. P.; XISTO, A. L. R. P.; CARVALHO, V. D. Farinha de folhas de mandioca I: efeito da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 368-374, mar./abr., 2002.

CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. New York, Columbia Univ. Press. 1262 p., 1981.

DAMASCENO, S. **Manipueira como substrato para desenvolvimento de *Geotrichum fragans***. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

DEL BIANCHI, V.L.; CEREDA, M.P. Balanço de massa de uma fábrica de farinha de mandioca de médio porte do Estado de São Paulo. **Energiana Agricultura**, 14 (3): p. 4-48, 1999.

EITENMILLER, R. R.; YE, L.; LANDEN, W. O. **Vitamin analysis**: For the health and food science. 2. Ed. CRC press. 662p. 2008.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. **Embrapa Solos**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, p.412, 1999.

EMBRAPA. Mandioca: o pão do Brasil (Manioc, lepainduBrésil).Brasília, DF: Embrapa, p. 284, 2005.

ESSERS, A. J. A. et al. **Assay for the cyanogens content in cassava products**. Departament of food Sciense, Wageningen.AgriculturalUniversyt, Netherlands.9 p. Preliminary Version, December, 1993.

FAO/ LATINFOODS – **Organizacion de lasNaciones Unidas para La Agricultura y laAlimentacion / Oficina Regional para América Latina Y el Caribe**. Tabla de Composición de Alimentos de América Latina. 2012.

FELTL, L.; PACAKOVA, V.; STULIK, K; VOLKA, K. ReliabilityofCarotenoid: A Review. **Current Analytical Chemistry**, p. 93-102, 2005.

FRASER, P. D., BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids.**Progress in Lipid Research**, v. 43, p. 228-265, 2004.

GANJEWALA D.; KUMAR S.; DEVI S.A.; AMBIKA K.Advances in cyanogenic glycosides biosynthesis and analyses in plants: A review. **ActaBiologicaSzegediensi** v. 54, p.1-14, 2010.

HAVAUX, M..**Carotenoids as membrane stabilizers in choloroplasts**. Trends Plants Sei,v 3, p.147-151, 1998.

HERSHEY, C.H. **Manihot genetic diversity. In: International network for cassava genetic resources**. InternationalCrop Network Series (IPGRI), v.10, p.111-134, 1994.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/00000020663902102015392812239582.pdf>. Acessado em 31 de março de 2015.

IGLESIUS, C.; MAYEN, J.; CHÁVEZ, L.; CALLE, F. **Genetic potential and stability of carotene content in cassava roots**. *Euphytica*. v. 94, p. 367-373, 1997.

J. Howard BRADBURY H. J; DENTON C, I. Mild methods of processing cassava leaves to remove cyanogens and conserve key nutrients. **Food Chemistry**, v.127, p.1775-1779, 2011.

JONES, D. A. Why are so many food plants cyanogenic. **Phytochemistry**, London, v. 47, n. 2, p. 155-162, 1998.

KAKES, P. The function of cyanogenesis in cassava. **Acta Horticulturae**. p.79-85, 1994.

LEONEL. M. O farelo, subproduto da extração de fécula de mandioca. In.: FUNDAÇÃO CARGILL. **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**: Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca, v.4, cap.15, p.211-217, 2001.

LORENZI, J. O. **Mandioca**. Boletim Técnico CATI – Campinas, n. 245, 116 p., 2003.

LORENZI, J. O.; MONTEIRO, D. A.; **A mandioca (*M. esculenta* Crantz) como matéria-prima de etanol no Brasil**. Boletim Técnico CATI – Campinas, n. 67, p. 80, 1980.

MAIANI, G.; CASTN, M. J. P.; CATASTA, G.; TOTI, E.; CAMBRODN, I.; BYSTED, A.; GRANADO-LORENCIO, F.; OLMEDILLA-ALONSO, B.; KNUTHSEN, P.; VALOTI, M.; BHM, V.; MAYER-MIEBACH, E.; BEHSNILIAN, D.; SCHLEMMER, U. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, p. 194-218, 2009.

MAIEVES, A. H.; **Caracterização Física, físico-química e Potencial Tecnológico de novas cultivares de mandioca.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2010.

MARINHO, H.A.; ARCKOLL, D.B. Estudo sobre o caroteno em algumas variedades amazônicas de mandioca (*Manihot esculente* Crantz). **Acta Amazonica**, n.11, v.1, p. 71-75, 1981.

MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. **Biotransformação de terpenos para a produção de compostos de aroma e funcionais.** 2006. 182p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos/Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

MARQUES, J. A., MAGGIONI, D. Utilização de subprodutos da mandioca na alimentação de ruminantes. **RAT - Revista Raízes e Amidos Tropicais/Universidade Estadual Paulista, Centro de Raízes e Amidos Tropicais.** Botucatu: CERAT/UNESP, v. 8, p. 87 – 99, 2009.

MAYNE, S.T. Beta-carotene, Carotenoids, and disease prevention in humans. **The FASEB Journal**, v.10, p.690–701, 1996.

MCCMAHON, J. M.; WHITE, W. L. B.; SAYRE, R. T. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 46, n. 288, p. 731-741, 1995.

MELÉNDEZ-MARTINEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, V. F. J. **Estabilidad de carotenoides em los alimentos.** Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Caracas, vol.54, nº2, p.209-215, 2004.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, M.I.; HEREDIA, F. J. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. **Archivos Latino Americanos de Nutricion.** v. 57, n. 2, 2007.

MENEZES, J.T.B.; **Produção de Biomassa Protéica a Partir de Manipueira.** In: CEREDA, M. P. (coord). Manejo, Uso e tratamento de subprodutos da

Industrialização da mandioca. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v.4, cap.8, p.118-130. (Série Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americanas). São Paulo: Fundação Cargill, 2001.

MEZETTE, T. F. **Seleção de variedades de mandioca de mesa (*Manihotesculenta* Crantz) com altos teores de carotenóides e vitamina A.** Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia), IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) São Paulo, 2007.

MÜHLEN S. G.; MARTINS S. D.; ANDO, A. Variabilidade Genética de etnovarietades de mandioca, avaliada por marcadores de DNA. **Scientia Agricola**, v.57, n.º2, p. 319-328, 2000.

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

NASCIMENTO, P. **Avaliação de retenção de carotenóides de abóbora, mandioca e batata doce.** Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José do Rio Preto – SP, 2006.

NASSAR, N.M.A. **Mandioca: Opção contra a fome, estudos e lições no Brasil e no mundo.** *Ciência Hoje*, v.39, n.231, p.30-39, outubro. 2006.

NASSAR, N.M.A.; VIZZOTTO, C.S.; SILVA, H.L.; SCHWARTZ, C.A.; PIRES-JÚNIOR, O.R. Potentiality of cassava cultivars as a source of carotenoid. **Gene conserve**, v.15, p. 267-273, 2005.

NASU, E. G. C., PIRES E., FORMENTINI M. H., FURLANETTO, C.; Composição química da manipueira sobre *Meloidogyne incognita* em ensaios in vitro e em tomateiros em casa de vegetação. **Tropical Plant Pathology**, v. 31, p. 32 -36, 2010.

NETO, W.S. **Cinética de processos fermentativos.** *In: Curso Fermentation Technology.* Florianópolis - SC, p.27, 1999.

NIIZU, P. Y.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A melancia como fonte de licopeno. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, n. 3, p. 195-199, 2003.

NISTSCHKE, M. **Produção e caracterização de biossurfactante de *Bacillus Subtilis* utilizando manipueira como substrato**. Tese de Doutorado em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP. Campinas, 2004.

NORMANHA, E.S. Mandioca tem variada aplicação. **Guia Rural**, p. 240-244, 1971.

OLIVEIRA, A. F.; CRISTIANO, C. M. Z.; ANDREANI, L.; PORTO, L. C.; SOLDI, F. **Estudo cinético de degradação térmica de blendas formadas por carboximetilcelulose / goma guar ou hidroxipropilmetilcelulose**. In.: 17º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais – CBECIMat. Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 2006.

OLIVEIRA, S., S. **Metabolismo da linamarina em reator de digestão anaeróbia com separação de fases**. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrônomas, Bocatú – SP, 2003.

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

OULEGO P., LACA A., DIAZ, M. Kinetics and Pathways of Cyanide Degradation at High Temperaturesand Pressures. **Environmental Science Technology**, v. 47, p.1542–1549, 2013.

OWUAMANAM, C. I.; IWOUNO, J. O.; IHEDIOHANMA N. C.; BARBER L. I. Cyanide Reduction, Functional and Sensory Quality of Gari as Affected by pH, temperature and fermentation time. **Journal of Nutrition**, v. 9; p. 980-986, Nigéria, 2010.

PANTAROTO, S. **Isolamento, seleção, identificação e avaliação de microrganismos anaeróbios “in situ”, com habilidade à biodegradação de**

linamarina. Dissertação (Mestre em Agronomia/ Energia na Agricultura)- Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

PEREIRA, M. E.C; FUKUNDA, W. M. G; SILVA, R.P; BISPO, A. S. R; SANTOS, S. B; SILVA, A.S DA; NUTTI, M.R; VIANA, J.L.C. **Quantificação de carotenóides totais em raízes de variedades de mandioca amarela e rosa.** XI Congresso Brasileiro de Mandioca, Campo Grande. 2005.

PERERA, O. C. Removal of CyanogenicGlycosidfrom Cassava duringControlledDrying. **Food Science**, p.68 – 72, 2010.

PFANDER, H. **Key to Carotenoids**, 2nd ed., Basel: BirkhäuserVerlag, 1987.

POULTON J.E. Cyanogenesis in plants. **Plant Physiol.** v.94, p. 401-405, 1990.

RIBEIRO, D., B. BARRETO, W. D. COELHO, Z. A. M. Technological Aspects of β -Carotene Production. **FoodBioprocessTechnol**, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. Carotenóides e valor nutritivo de vitamina A em cajá (*Spondiaslutea*. L). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 9, n. 2, p. 148-162, 1989.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes Brasileiras de carotenóides:** Tabela Brasileira de Composição de Carotenóides em Alimentos. Brasília, p.111, 2008.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. Harvest Plus, Handbook for Carotenoid Analysis.**International Center for Tropical Agriculture**, 2004.

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

SAMPAIO, A. K; AYALA V. J.; SILVA M. S.; CERIANI R.; VERHE R.; MEIRELLES A. J.A. Thermal Degradation Kinetics of Carotenoids in Palm Oil. **J. Am Oil Chem. Soc.** V. 90, p.191–19, 2013.

SANTOS, C.F.C.; PASTORE, G.M.; DAMASCENO, S.; CEREDA, M.P. Produção de biosurfactante por linhagens de *Bacillus subtilis* utilizando manipueira como substrato. **Boletim do SBCTA**, 33 (2): 157-161, 1999.

SILVA, M.H.A. **Mandioca: A rainha do Brasil? Ascensão e queda da *Manihotesculenta* em São Paulo.** 2008.168p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Filosofia, Letras Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SILVA, N. K. **Análise quantitativa de carotenóides totais em acessos de mandioca (*Manihotesculenta* Crantz) com coloração da polpa da raiz creme, rosada e amarela.** Trabalho de Conclusão de Curso. Departamento de agronomia – UPIS, Planaltina/DF, 2009.

SINHA K.; SAHA, P.; DATTA H., S.; Extraction of natural dye from petals of Flame of forest (*Buteamonosperma*) flower: Process optimization using response surface methodology. **Dyes and Pigments**, v.94, p.212-216, 2012.

STATSOFT, INC. (2004). STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2325 East 13th Street, Tulsa, OK 74104, (918) 583-4149, fax: (918) 583-4376.

STITT M., LILLEY R.M.C., GERHARD R., HELDT H.W. Metabolite levels in specific cells and subcellular compartments of plant leaves. **Methods in Enzymology**, v.174, p.518- 552, 1989.

TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. **Plant Journal**, v. 54, p. 733–749, 2008.

TRABER, M.G.; ATKINSON, J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 43, n. 1, p. 4-15, 2007.

TSUCHIHASHI, H., KIGOSHI, M., IWATSUKI, M., NIKI, E. **Action of beta-caroteno as na antioxidant against lipid peroxidation.** Ach.Biochem.biophys v 323, p.137-147, 1995.

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

VALDUGA, E.; TATSCH, P. O.; TIGGEMANN, L.; TREICHEL, H.; TONIAZZO, G.; ZENI, J.; LUCCIO, M. D. Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2429-2436, 2009.

VAN HET HOF, K. H.; WEST, C. E.; WESTSTRATE, J. A.HAUTVAST, G. A. J. Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. **Journal of Nutrition**, v.130, p.503-506, 2000.

VETTER J. Plant cyanogenic glycosides.**Toxicon**, v. 38, p. 11-36, 2000.

VIÉGAS, A. P.; **Estudo sobre a Mandioca.** IAC/BRASCAN/NORDESTE, p.214, 1976.

VIMALA B.; THUSHARA R.; NAMBISAN B.; SREEKUMAR J.; Effect of processing on the retention of carotenoids in yellow-fleshed cassava (*ManihotesculentaCrantz*) roots. **International Journal of Food Science & Technology**, p. 166 – 149, 2011.

WHITE W. L. B., ARIAS-GARZON D. I., McMAHON J.M., SAYRE R. **T.Cyanogenesis in cassava.**The role of hydroxynitrilelyase in root cyanide production. Plant Physiol. v.116, p.1219-1225, 1998.

YE, L.; LANDEN, W.O.; EITENMILLER, R. R. Simplified Extraction Procedure and HPLC Determination for Total Vitamin E and β -Carotene of Reduced-Fat Mayonnaise.**Journal of Food Science**, v. 66, n. 1, p. 78-82, 2001.

YULIWATE, E.; ISMAIL, F. A.; LAU, J. W.; NG, C. B.; MATARAM A.; KASSIM A. M. Effects of process conditions in submerged ultrafiltration for refinery wastewater treatment: Optimization of operating process by response surface methodology. **Desalination**, v.287, p.350-361, 2012.