

ASPECTOS SOBRE A FERMENTAÇÃO DA FÉCULA DE MANDIOCA. IV — DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES REDUTORES.⁽¹⁾

Marney Pascoli Cereda ⁽²⁾
Urgel de Almeida Lima ⁽³⁾

INTRODUÇÃO

A mandioca é utilizada diretamente na alimentação, podendo também ser submetida a uma série de processamentos que visam aumentar o período de armazenamento ou melhorar suas qualidades organolépticas. Além disso, pode constituir matéria prima para fermentações que visam a obtenção de alimentos ou produtos químicos.

Dentre os alimentos fermentados produzidos da fécula de mandioca, encontra-se o polvilho azedo, que apesar de comercializado em quantidades apreciáveis, é produzido em condições bastante precárias. O polvilho azedo, segundo ALBUQUERQUE (1961), LEME JUNIOR (1967) e SILVEIRA (1956), é obtido por fermentação natural da fécula de mandioca. Esta fermentação é feita em tanques, onde a fécula é recoberta com água e deixada fermentar. Segundo CEREDA (1973), a fermentação é desuniforme e dificilmente se determina visualmente o seu final. Como consequência o produto comercial tem composição variável, como relatado por CEREDA, LIMA & BRASIL (1974), principalmente em teor de acidez titulável, o que decorre da variação encontrada para os teores de ácidos orgânicos. CEREDA (1973) determinou os ácidos orgânicos em vinte e cinco amostras de polvilho azedo comercial e em líquido sobrenadante de doze fermentações realizadas em laboratório, com e sem troca de água, tendo encontrado os seguintes ácidos: butírico, acético, fórmico, láctico, propiônico e succínico, em teores bastante variáveis nas fermentações, em todas as amostras.

(1) Trabalho realizado com auxílio da FAPESP.

(2) Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu, UNESP, S.P.

(3) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, S.P.

Na maioria dos casos de produtos industriais, a fermentação se faz após a hidrólise do amido, ao fim da qual se obtém açúcares fermentescíveis (maltose e glucose) (GREENWOOD, 1964), já que o amido não é diretamente fermentescível. Um dos produtos citados na literatura, em que não há hidrólise prévia do amido, ocorre no preparo da "tiquira", uma aguardente obtida da mandioca. Em seu preparo, descrito por LIMA (1943), após a gomificação, o amido é hidrolisado pela ação enzimática de fungos ocorrentes na flora ambiente local e que pertencem as seguintes espécies: *Monilia citophila*, *Aspergillus niger* e *Penicillium purpurogenum*. Quando a sacarificação, se completa, a massa é diluída em água e submetida a uma fermentação natural, após o que se procede à destilação da "tiquira".

Quanto à fermentação de raízes inteiras ou da fécula, onde o amido deixa de sofrer qualquer tipo de tratamento prévio, resta o problema de como os microrganismos conseguem obter açúcares fermentescíveis necessários ao seu desenvolvimento. GRAVATÁ (1940), propõe que a flora microbiana desenvolve-se à custa dos açúcares fermentescíveis contidos no material a ser fermentado. Se esta hipótese pode ser levada em consideração em casos de fermentações de raízes, apesar do nível muito baixo de carboidratos existentes, seria muito difícil explicar a fermentação da fécula. Neste caso, o teor normalmente baixo de carboidratos torna-se ainda menor pelas sucessivas lavagens durante seu preparo.

Poucos foram os trabalhos encontrados na literatura, que citam casos de degradação do amido, sem processo preliminar de gomificação. GREENWOOD (1964), refere-se a este fato quando descreve a ação de enzimas amilolíticos sobre o amido e seus componentes que se encontram em solução aquosa. O autor afirma que a ação destes enzimas sobre grânulos de amido intactos é limitada, e que muitos detalhes a respeito deste mecanismo ainda não foram perfeitamente compreendidos. EVERS *et alii* (1965), relataram em seus trabalhos a degradação de grãos de amido de trigo intactos e "in vitro", pela ação da alfa amilase e amilo-glucosídase. O ataque dos enzimas mostrava padrões diferentes de penetração no grânulo.

Como decorrência do ataque da alfa amilase surgiram depressões delicadas em toda a superfície e perfurações mais profundas em algumas regiões. Estas perfurações tendem a se

aprofundar em direção ao centro do grânulo. NORDIN *et alii*, citados por EVERS *et alii* (1965), sugeriram que a explicação para este padrão de ataque está na localização das extremidades não redutoras das moléculas dos componentes do amido, na superfície do grânulo.

Neste trabalho pretende-se esclarecer como são fornecidos os substratos de açúcares para a fermentação natural da fécula de mandioca.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O material utilizado no presente trabalho constituiu de amostras de polvilho doce comercial e amostras de polvilho doce comercial fermentadas em laboratório.

Amostras de polvilho doce comercial

Utilizou-se produto de boa qualidade, sempre da mesma marca, a fim de evitar, tanto quanto possível, as variações da matéria prima. Esclarecemos que, em se tratando de polvilho doce, isto é perfeitamente possível, pois trata-se de produto apropriado ao mercado de exportação (PACHECO, 1949).

Métodos

Amostras de polvilho doce industrial fermentado em laboratório

O polvilho doce foi utilizado como matéria prima para ensaios de fermentação em laboratório. As fermentações foram realizadas em condições semelhantes às realizadas em indústrias, por método descrito por CEREDA (1973). Foi determinado o teor de açúcares redutores em líquido sobrenadante das onze fermentações: as de número 11 a 16, realizadas sem troca de água, e as de 17 a 21, realizadas com troca de água.

Determinação dos açúcares redutores

Foram feitas pelo método de Bertrand, relatado por WINTON & WINTON (1958).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores encontrados para açúcares redutores, nas fermentações realizadas em laboratório, estão reunidos no quadro I e quadro II, e representados na figura 1 e na figura 2. É interessante notar que as raízes feculentas contém pequeno teor de carboidratos solúveis. Para alguns autores, como HOLLEMAN & ATEN (1956) e WOOD (1965), a raiz de mandioca apresenta teor de açúcares redutores de 3 a 10%, expressos em gramas de glicose, além de frutose e sacarose. Grande parte destes açúcares, senão todos, perdem-se durante o processamento da fécula doce, que consta de sucessivas lavagens com água.

QUADRO I - Teor de açúcares redutores em fermentações de fécula de mandioca, realizadas em laboratório, sem troca de água (mg/100 g).

N.º de Dias	FERMENTAÇÃO					
	11	12	13	14	15	16
0	0,50	0,30	0,70	0,35	0,40	0,35
2	9,50	1,85	0,85	0,45	0,35	0,20
4	22,20	3,50	45,90	18,80	8,90	3,15
6	36,50	5,65	52,50	23,40	12,90	7,15
8	36,25	6,45	48,25	22,20	15,70	10,50
10	36,30	6,10	40,60	22,40	17,00	14,40
12	30,80	5,80	32,85	22,10	14,60	18,95
14	33,50	6,20	26,80	20,50	16,70	21,90
16	35,10	6,10	21,40	17,85	16,30	22,00
18	36,90	5,90	17,10	35,00	16,40	17,50
20	36,90	4,40	12,60	12,90	16,90	11,90
22	30,25	5,30	10,20	10,60	13,40	16,60
24	25,60	5,25	9,30	8,40	12,00	18,30
26	22,80	4,45	9,40	6,20	10,40	16,40
28	17,20	4,20	3,50	6,00	10,10	11,60
30	15,50	4,00	7,40	5,25	10,15	10,10

De início, pode-se notar que o teor de açúcares redutores foi maior nas fermentações conduzidas sem troca de água. Nestas, o maior teor encontrado foi o da fermentação 13 (quadro I, figura 1) com 52,50 mg, enquanto que nas fermentações conduzidas com troca de água, o maior teor encontrado foi

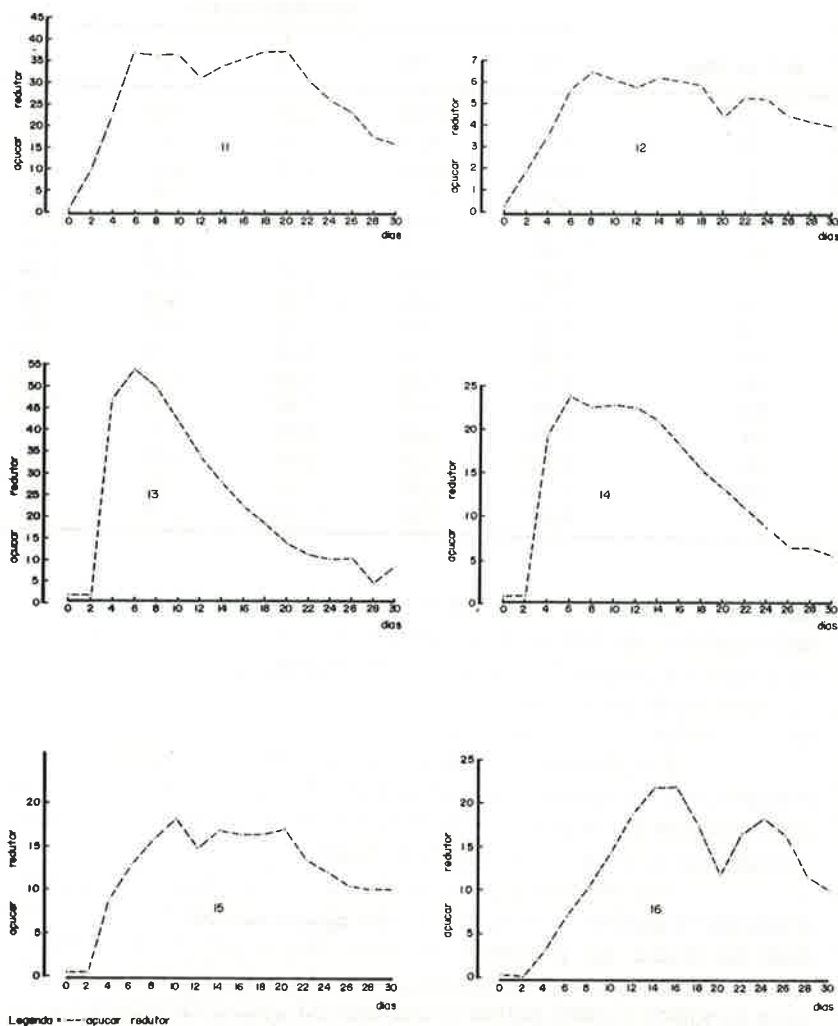
QUADRO II - Teor de açúcares redutores em fermentações de fécula de mandioca, realizadas em laboratório, com troca de água (mg/100g).

N.º de Dias	FERMENTAÇÃO				
	17	18	19	20	21
0	0,30	0,40	0,92	0,52	0,45
2	1,57	3,27	0,79	0,52	0,45
4	0,42	0,65	8,70	5,16	1,36
6	1,61	5,71	1,65	1,75	0,48
8	0,52	0,40	0,56	0,75	0,59
10	1,96	6,17	1,10	3,13	1,15
12	0,80	0,52	2,07	0,57	0,65
14	1,75	4,18	1,80	0,36	0,86
16	1,10	1,10	1,75	0,60	0,80
18	1,68	2,28	2,68	1,62	0,95
20	1,68	1,32	1,48	1,20	0,89
22	0,45	1,47	0,48	1,06	1,30
24	1,55	0,48	0,45	2,20	2,20
26	0,56	1,37	0,48	2,68	3,21
28	1,65	0,90	1,68	1,89	2,09
30	0,66	1,55	1,54	2,09	0,72

de 8,70 mg, na fermentação 19 (quadro II, figura 2). Entretanto, esta conclusão não é válida para todos os processos fermentativos, como é possível observar na fermentação 12 (quadro I, figura 1), conduzida sem troca de água, que apresenta teor menor que o da fermentação 19, com troca de água.

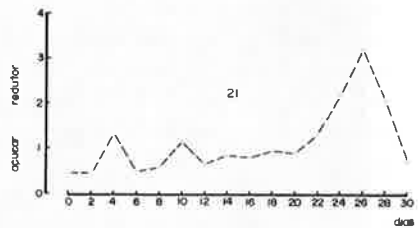
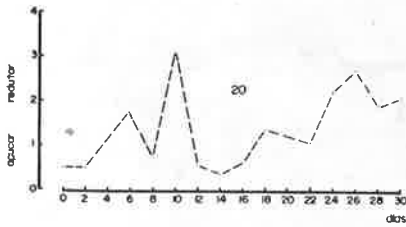
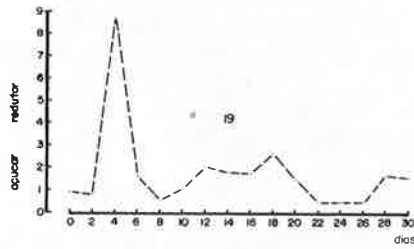
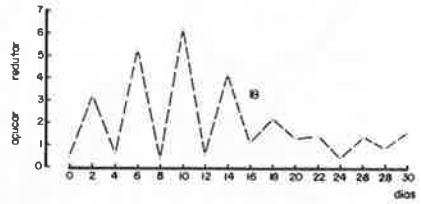
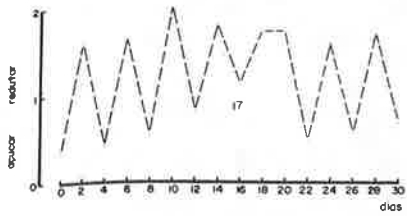
A tentativa de calcular uma curva que representasse o mecanismo da formação e consumo de açúcares redutores, com seus pontos de máximo e de mínimo, foi frustrada em virtude da grande variação encontrada nos dados.

Nas fermentações de fécula de mandioca efetuadas no presente trabalho, o teor médio de açúcares redutores encontrados no início do processo e calculado a partir dos dados do quadro I e do quadro II, foi de 0,47%. A partir deste ponto, houve uma tendência para aumento do teor de açúcares redutores, com alguns pontos de decréscimo à medida que a fermentação se desenvolveu. A presença destes carboidratos, provavelmente, foi devida à hidrólise do amido, com produção, de maltose, principalmente, além de dextrinas e glucose.



Legenda: --- açúcar redutor

FIGURA 1. Teor de açúcares redutores em fermentação de fécula de mandioca realizadas em laboratório, sem troca de água (mg/100g).



Legenda - - - açúcar reductor

FIGURA 2. Teor de açúcares redutores em fermentações de fécula de mandioca, realizadas em laboratório, com troca de água (mg/100g).

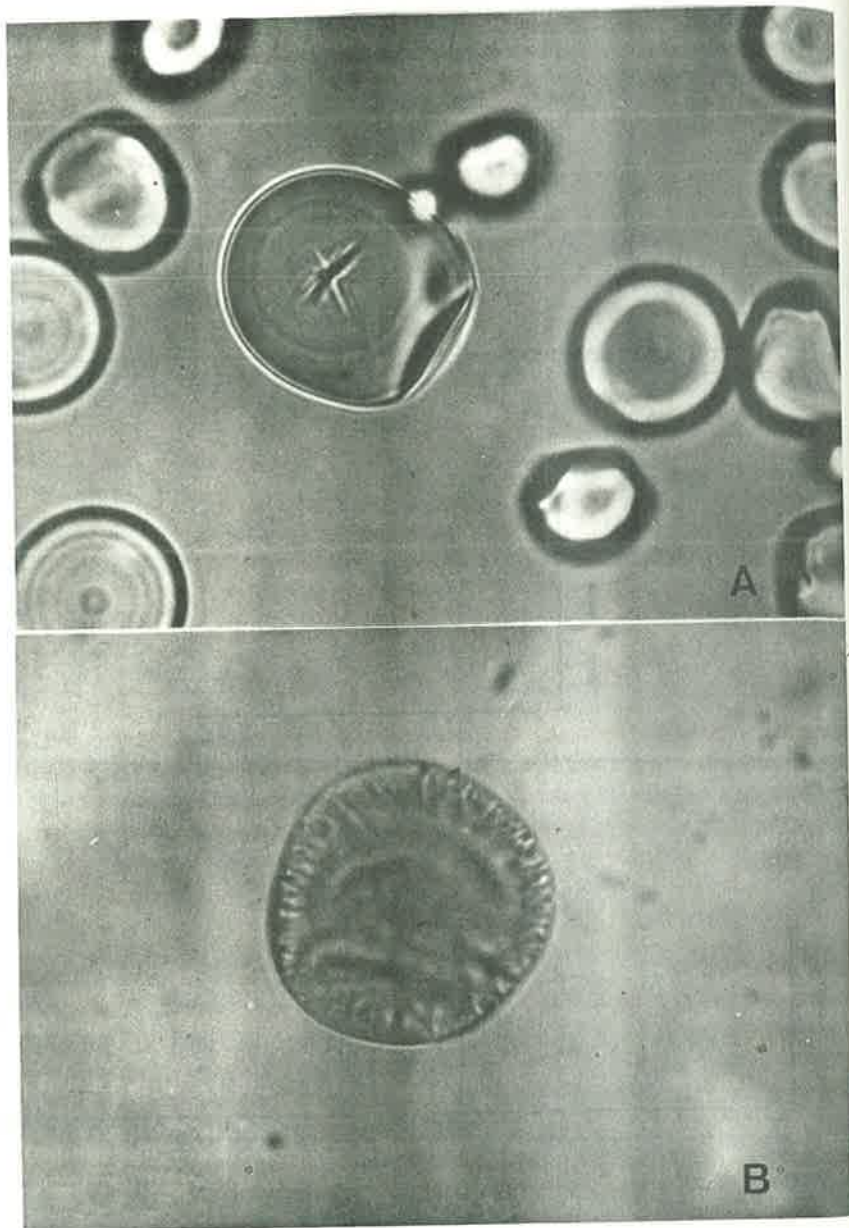



FIGURA 3. Aspecto do grânulo de amido de mandioca, antes (A) e após (B) fermentação realizada em laboratório (aumento 1000 X).

A vertical strip on the left side of the page shows a series of microscopic images of starch granules. The granules are roughly oval-shaped with a distinct outer layer and a lighter, more granular interior. They are arranged in a vertical column, with some overlapping.

Outra fonte possível de carboidratos na mandioca, poderia ser a hidrólise do glucosido tóxico existente nas variedades "amargas". Este produto, segundo COLLARD (1963) e COLLARD & LEVI (1959), decompõem-se pela ação de enzimas e ácidos diluídos produzindo glucose, H_2S e, segundo OKE (1968), uma substância complexa de fórmula $(C_3H_{10}O_6)_n$. Apesar de não ter sido dosado no presente trabalho, acredita-se que dificilmente esta substância tóxica tenha persistido no polvilho doce, já que segundo CORREIA (1954/1955), a secagem ao sol por três dias elimina a maior parte da substância tóxica e a secagem empregada na fabricação da fécula doce é muito mais drástica. A hidrólise do amido pode ter vários agentes, tanto químicos como biológicos, entre os quais os enzimas amilolíticos (EVERS, 1971). A degradação enzimica do amido após sacarificação é bastante estudada. Tem sido utilizada no preparo de vários produtos alimentícios ou industriais. A ação sobre grânulos de amido intactos não é muito bem conhecida. A estrutura dos grânulos do amido é complexa e autores como EVERS (1971) e VALSECHI (1951) sugerem que há certa orientação na disposição dos componentes do amido no seu interior. Assim, segundo VALSECHI (1951), a amilose estaria localizada em maior proporção no centro do grânulo, enquanto que a amilopectina estaria na superfície. Trabalhos de EVERS (1971), demonstram que existe, para cada enzima, um padrão característico de ataque ao grânulo. A alfa amilase ataca somente as extremidades não redutoras dos componentes do amido, e por isso abre sulcos mais ou menos profundos em direção ao centro do grânulo. Estes sulcos abrem-se, geralmente, em certas regiões do grânulo, onde os arranjos moleculares ocorreram com maior frequência. No presente trabalho, fotografias feitas de grânulos de amido antes e após a fermentação, e reunidas na figura 3, mostraram um padrão muito semelhante ao descrito e documentado por EVERS (1971). Este fato vem auxiliar na explicação do mecanismo da formação de açúcares durante a fermentação da fécula de mandioca. O aumento do teor de açúcares redutores que ocorre na fase inicial de todas as fermentações, provavelmente, deve-se à presença de microrganismos produtores de alfa amilase.

As curvas representativas dos teores de açúcares redutores encontrados na fermentação da fécula de mandioca, mostram um padrão pouco comum, diferente do que normalmente ocorre na maioria das fermentações. O teor inicial de açúcares redutores foi baixo e aumentou à medida que a fermentação se desenvolveu, com decréscimos no final. Acredita-se que este decréscimo foi devido ao aumento do número de microrganismos consumidores, e também ao fato de que as condições vão se tornando desfavoráveis à ação do ênzimos amilolíticos com o desenvolver da fermentação (MAZZA & ERTOLA, 1970; NORTJE & VAUGHN, 1953).

Este mecanismo foi observado nas fermentações com e sem troca de água.

CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu concluir que:

O teor de açúcares redutores, em todas as fermentações, foi baixo no início, elevou-se em um dado período, para decrescer no final da mesma.

A origem dos açúcares redutores dosados nas fermentações, provavelmente, foi o amido, mediante a ação enzimática sobre os grânulos intactos.

Devido ao padrão das perfurações encontradas nos grânulos, acredita-se, que o principal ênzimo envolvido no processo seja a alfa amilase.

A alfa amilase provavelmente foi produzida por microrganismos que se desenvolveram no material em fermentação.

AGRADECIMENTOS

À Sra. FÁTIMA HELENA LIMA GOLDONI, Bibliotecaria de Referência, pelo auxílio prestado na elaboração da literatura citada.

À FAPESP, cujo auxílio tornou possível a realização do presente trabalho.

RESUMO

O polvilho azedo, ou fécula fermentada, é um produto alimentício da mandioca, produzido a partir de fermentação natural ou espontânea. A natureza desta fermentação ainda não é bem compreendida e o objetivo deste trabalho é obter informações sobre como são formados os substratos de açúcares para a fermentação. Foram feitas dosagens dos açúcares redutores do líquido sobrenadante, das onze fermentações realizadas em laboratório, com e sem troca do líquido sobrenadante. A análise dos resultados obtidos mostrou um padrão original para as fermentações. O teor de açúcares mostrou-se muito baixo nos primeiros dias, elevando-se gradualmente para diminuir novamente no final. Apesar desta queda acentuada, o teor de açúcares redutores foi maior no final da fermentação do que no início. Fotografias dos grânulos do amido, permitiram notar depressões associadas à atuação da alfa amilase. Conclui-se que este enzimo, de origem microbiana, degrada o grânulo intacto do amido, produzindo os açúcares redutores que foram dosados.

SUMMARY

The fermented starch (polvilho azedo) is a cassava food produced by natural fermentations. The nature of this fermentation has not been understood so far, and the objective of this paper was to obtain more information about how sugar substrates were formed in the fermentation. The reducing sugar content was in the laboratory fermentation floating liquid in both procedures: with and without water substitution. The amounts of sugar resulting from the fermentations showed an original pattern. The reducing sugar amounts were low in the early days, increasing gradually and declining again at the end of the fermentation. In spite of this decline, the reducing sugars rate was bigger at the end than at the beginning of the fermentation. To explain this pattern, starch granules photographs allowed to note holes associated to the alfa amylase action. We concluded that this enzyme, of microbial origin, degraded the intact starch granules, producing the dosed reducing sugars.

LITERATURA CITADA

- ALBUQUERQUE, M. de, 1961. Notas sobre a mandioca. **Bol. Tec. Inst. Agron. Norte** (41):1-92.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1978. Comissão de Estudo de Documentação, Rio de Janeiro. Referências bibliográficas. In: **Normas brasileiras em documentação**, ed. atual, Rio de Janeiro, p.13-31.
- CEREDA, M.P., 1973. **Alguns aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca**, Botucatu, 89f. (Tese - Doutorado - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu).
- CEREDA, M.P., U. de A. LIMA, & M.A.M. BRASIL, 1974. Características do polvilho azedo comercial. **Ciênc. Cult., S. Paulo** (supl.), 26:459-460.
- COLLARD, P., 1963. A species of *Corynebacterium* isolated from fermented cassava roots. **J. appl. Bact.** 26:115-116.
- COLLARD, P. & S. LEVI, 1959. A two-stage fermentation of cassava (*Manihot utilisima*). **Nature, Lond.** 183:620-621.
- CORREIA, F.A., 1954-1955. Ácido cianídrico em algumas variedades de mandioca. **Bragantia** 14:15-22.
- NORTJE, B.K. & R.H. VAUGHN, 1953. The pectinolytic activity of species of the genus *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* in relation to the softning of olives and pickles. **Fd. Res.** 18:57-67.
- OKE, O.L., 1968. Cassava as food in Nigéria. **Wld Rev. Nutr. Diet.** 9:227-250.
- PACHECO, J.A. de C., 1949. A cor e a aparência do polvilho para exportação. **Rev. Agric., Piracicaba**, 24:167-180.
- SILVEIRA, A.H. da, 1956. Polvilho. **Bol. Agric., Belo Horizonte**, 5:55-56.
- VALSECHI, O., 1951. Generalidades sobre o amido. **Rev. Agric., Piracicaba**, 26:303-318.
- WINTON, A.L. & K.B. WINTON, 1958. **Análises de alimentos**, 2. ed., Barcelona, Editorial Hispano-Americana, 1205p.
- WOOD, T., 1965. The toxic and nutritional qualities of cassava. **W. Afri. Pharm.** 7:2-4.
- EVERS, A.D. et alii, 1971. Scanning electron microscopy of wheat starch. IV. Digestion of large granules by glucoamylase of fungal (*Aspergillus niger*) origin. **Die Starke** 23:16-18.
- GRAVATÁ, A.G., 1940. Mandioca "for ever", carimã e polvilho azedo. **Chácaras Quint.** 62:440-441.
- GREENWOOD, C.T., 1964. Struture, properties, and amyolytic degradation of starch. **Fd. Technol.** 18:138-142.
- HOLLEMAN, L.W.J. & A. ATEN, 1956. Elaboracion de la yuca y sus productos en las industrias rurales. **F.A.O., Cuad. Fom. Agrop.** (54):1-123.
- LEME Jr., J., 1967. **Amideria e fecularia**. In: ENCICLOPÉDIA DELTA-LAROUSSE, 2.ed., Rio de Janeiro, Ed. Delta, 14:7652-7656.
- LIMA, O.G. de, 1943. Identificação e estudo dos mofos sacarificantes do amido na elaboração da aguardente tiquira, uma bebida regional do Maranhão. **Anais Soc. Biol. Pernamb.** 4:11-30.
- MAZZA, L.A. & R.J. ERTOLA, 1970. Influence of pH and aeration on bacterial formation of amylase. **Appl. Microbiol.** 19:535.