

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ACÉTICA DA MANIPUEIRA<sup>1</sup>**  
VANESSA CASSONI<sup>2</sup> & MARNEY PASCOLI CEREDA<sup>3</sup>

---

**RESUMO:** A manipueira é um resíduo líquido proveniente do processamento de farinha de mandioca e apresenta grande quantidade de nutrientes em sua composição, como os minerais por exemplo. Na região Norte do Brasil o tucupi é preparado da manipueira como um molho ácido condimentado, obtido por fermentação natural, sobre a qual não há informações na literatura. Com isso, a pesquisa teve por objetivo verificar a viabilidade de fermentação acética da manipueira. As bactérias acéticas isoladas anteriormente foram mantidas e multiplicadas em meio de cultura seletivo adaptado do meio de *Frateur*. O suco de laranja fermentado com leveduras alcoólicas foi selecionado para dar início ao processo de acetificação, em razão da literatura sobre vinagre enfatizar a exigência das bactérias acetogênicas por vitaminas e fatores de crescimento. A manipueira apresentou Brix 6,0, que foi elevado para 8,0 utilizando-se sacarose, para assim se elevar o teor alcoólico e conseqüentemente a quantidade de ácido acético até o mínimo exigido pela legislação. O pH da manipueira foi de 6,56 em média. A análise de AR foi de 21,78g de glicose/L, ART de 43,38g de glicose/L. A umidade foi de 92,89% e o cianeto livre 0,00259mg L<sup>-1</sup>. A fermentação alcoólica foi iniciada com 10g/L de levedura fresca de pão Marca Fleischmann. O teor alcoólico do caldo de laranja foi de 3,7°GL e o de manipueira de 4,8°GL. O fermentado alcoólico de caldo de laranja recebeu inóculo de bactérias acéticas e após a estabilização do mesmo por 48 horas foi iniciada a alimentação com o fermentado alcoólico de manipueira. Alternadamente à alimentação (cada 48 horas durante 12 dias) foi intercalada a retirada de amostras de 100 mL armazenadas em temperatura de geladeira para futuras análises. O experimento durou 12 dias de fermentação acética. No início do processo de acetificação, quando havia apenas caldo de laranja fermentado, houve maior rapidez de acetificação, o que é compatível com as informações da literatura sobre a importância de fatores de crescimento encontrados naturalmente nas frutas. Quando a manipueira fermentada foi adicionada, a acetificação foi praticamente paralisada. O baixo conteúdo de cianeto da cultivar utilizada e o fato do teor permanecer estável nas fases de fermentação alcoólica e acética, mostraram que o cianeto livre (0,00259 mg L<sup>-1</sup>) dificilmente seria fator de impedimento para a conversão de açúcares em etanol e de etanol em ácido acético, restando então para explicar os resultados o fator nutricional das bactérias acéticas ou o impacto de um fermentado alcoólico mais alto sobre bactérias mal adaptadas.

**Palavras-chave:** Manipueira, etanol, cianeto, fermentação acética, *Acetobacter*.

---

<sup>1</sup> Parte da Dissertação de mestrado do 1º autor intitulada: VALORIZAÇÃO DE RESÍDUO DE PROCESSAMENTO DE FARINHA DE MANDIOCA (MANIPUEIRA) POR ACETIFICAÇÃO.

<sup>2</sup> Aluna de PG Energia na Agricultura – FCA/UNESP – Botucatu/SP – Brasil.

<sup>3</sup> Orientadora e Docente Voluntária da FCA, Professora Titular da Universidade Católica Dom Bosco. CeTeAgro, Avenida Tamandaré, 8000. Campo Grande, MS CEP 79 117-900.

## CASSAVA WASTEWATER ACETIC FERMENTATION PROCESS' EVALUATION

**SUMMARY:** *The cassava wastewater is a liquid residue originated from cassava's flour processing which contains a great quantity of nutrients in its composition, such as minerals. In Brazil's north region the "tucupi" is prepared from cassava wastewater as an acid spicy sauce, obtained by natural fermentation, about what there is no further information in literature. The research had as an objective to verify the viability of the cassava wastewater acetic fermentation. The acetic bacteria previously isolated was maintained and multiplied in a selective culture medium adapted from Frateur's medium. The orange juice fermented by alcoholic yeast was selected to start the acidification process, just because in vinegar's literature it is emphasized the acetic acid bacteria exigency for vitamins and growth factors. The cassava wastewater presented a 6,0 Brix, which was elevated to 8,0 using sucrose, with the purpose of elevating the alcoholic tenor and consequently the quantity of acetic acid to the minimum required by the legislation. The cassava wastewater pH was of 6,56 in average, the AR analysis resulted in 21,78g of glucose/L, ART 43,38g of glucose/L, the humidity 92,89% and the free cyanide was 0,00259mg L<sup>-1</sup>. The alcoholic fermentation started with 10g/L of fresh baking powder of the brand Fleischmann. The alcoholic tenor of the orange juice was 3,7°GL and the cassava wastewater was 4,8°GL. The alcoholic fermented from the orange juice received an inoculum of acetic bacteria and after its stabilization for 48 hours started the feeding with the cassava wastewater alcoholic fermented. Alternately to the feeding (each 48 hours during 12 days) it was intercalated the removal of 100 mL samples stored in fridge temperature for further analysis. The experiment lasted 12 days of acetic fermentation. In the beginning of the acidification process, when only fermented orange juice was present, the acidification occurred more quickly, what is compatible to the information in literature about the importance of growing factors found naturally in fruits. When fermented cassava wastewater was added, the acidification almost stopped. The low cyanide content of the used culture and the fact of the tenor remain stable in the alcoholic and acetic phases of fermentation show that the free cyanide (0,00259 mg L<sup>-1</sup>) would hardly be an impediment factor to the conversion of sugar in ethanol and of ethanol in acetic acid, remaining as probable explanation for the results the nutritional facts of the acetic bacteria or the impact of a higher alcoholic fermented over badly adapted bacteria.*

**Keywords:** *Cassava wastewater, ethanol, cyanide, acetic fermentation, Acetobacter.*

## 1 INTRODUÇÃO

A manipueira é gerada no processo de fabricação de farinha, pela prensagem da massa ralada da mandioca. Apresenta composição rica em nutrientes como carboidratos e minerais. Além dos nutrientes, a manipueira apresenta em sua composição glicosídeos cianogênicos, como a linamarina.

Apesar das propostas baseadas em pesquisas realizadas por diversos autores, com o objetivo de agregar valor à manipueira como subproduto e diminuir a poluição ambiental, a manipueira ainda continua sem uso comercial.

No Norte do país a manipueira é fermentada e condimentada para produzir um molho ácido, o tucupi. Por razões culturais, no preparo do tucupi, os produtores locais selecionam apenas plantas de mandioca com elevado teor de cianeto. Apesar de muito utilizado na culinária, e comercializado na região Norte do país, existem poucas informações sobre a fermentação do tucupi. Uma das hipóteses é que ocorra acetificação durante seu processamento. O tucupi é bastante valorizado, mas para que possa ser divulgado como forma de utilização da manipueira, na forma de tecnologia de baixo custo, é primordial que se estabeleçam as bases do processo de produção do tucupi.

A viabilidade de valorização da manipueira para produção de tucupi objetivou a pesquisa da potencialidade do processo de acetificação da manipueira.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida nos laboratórios do CeTeAgro – Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande/MS. Contou com apoio de laboratórios da UNESP em algumas fases e análises específicas.

### 2.1 Manipueira

A manipueira foi extraída da massa ralada da mandioca Fécula Branca cultivada no Instituto São Vicente da Universidade Católica Dom Bosco-MS, altitude 532m, 20°26'34" latitude-sul e 54°38'47" oeste. A manipueira foi analisada em °Brix, pH, açúcar redutor, açúcar redutor total, umidade e cianeto livre. A metodologia de todas as análises foi descrita pelo ministério da Agricultura (Brasil, 2005).

Para a fermentação acética da manipueira foi utilizado inóculo de caldo de laranja. O uso do caldo de laranja foi uma forma de verificar se as necessidades dos microrganismos podiam ser supridas em

vitaminas importantes para o metabolismo das bactérias acéticas (SANTOS, JR. 2004), uma vez que não há muitas informações sobre essas características nutricionais da manipueira.

## 2.2 Caldo de laranja

O caldo de laranja foi extraído de laranjas frescas disponíveis no mercado de Campo Grande, MS. As análises deste caldo foram °Brix, pH, açúcar redutor, açúcar redutor total, umidade, e foi utilizado o método do Ministério da Agricultura (Brasil, 2005).

## 2.3 Fermentação alcoólica

O caldo de laranja e a manipueira com °Brix ajustado a 8,0 com sacarose comercial foram submetidos à fermentação alcoólica. Dois litros de caldo de laranja e a manipueira receberam 10g L<sup>-1</sup> de fermento seco biológico, da marca Fleischmann. Foram adaptados com batoques hidráulicos e deixados em temperatura ambiente para fermentar. O final da fermentação foi estabelecido quando valor do °Brix tornou-se estável por mais de 24 horas (SCHMIDELL, 2001), o que ocorreu em aproximadamente 24 horas.

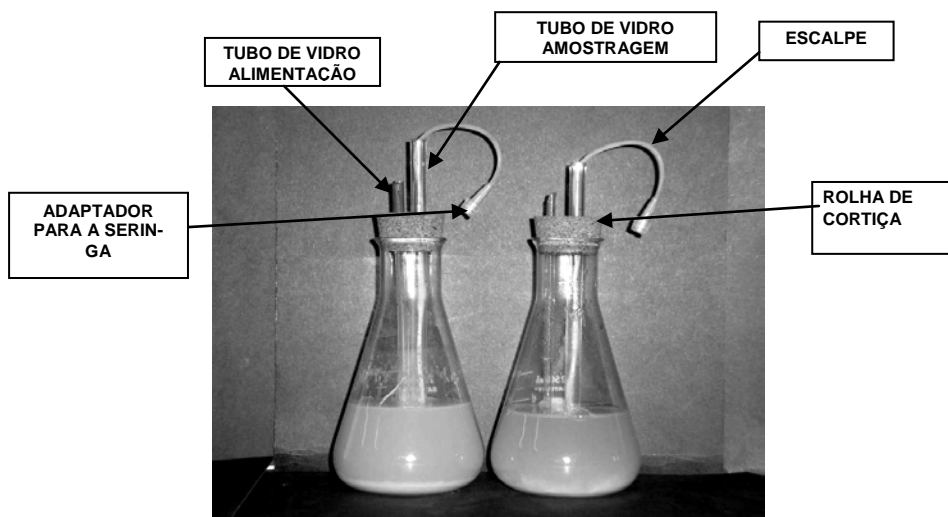
Os fermentados alcoólicos foram analisados para °GL, pH, acidez total, açúcar redutor, açúcar redutor total, conforme metodologias descritas em Ministério da Agricultura (Brasil, 2005) e armazenados em geladeira (4°C) para uso nos ensaios de fermentação acética. Na manipueira foi dosado cianeto livre segundo o método de Baltha e Cereda (2006).

## 2.5 Fermentação acética

Bactérias acéticas isoladas de frutas conforme Cassoni et al. (2006) e conservadas em meios de *Frateur*. O conteúdo de 3 placas de *Petri* foi suspenso em 100 mL de fermentado de caldo de laranja com o auxílio de uma alça de Drigalski, sendo considerado como inóculo.

A fermentação acética foi conduzida em erlenmeyer de 500 mL fechado com uma rolha de cortiça, a qual foi transpassada por dois tubos de vidro de 4mm de diâmetro. Um dos tubos era usado para adição de solução alcoólica, mergulhando até o fundo do vasilhame para evitar o rompimento do véu formado pelas bactérias acéticas no processo de fermentação acética. O outro ia abaixo e próximo à superfície líquida do erlenmeyer, e servia para retirada de amostras. A alimentação e a retirada das amostras eram feita com auxílio de uma seringa adaptada à extremidade externa dos tubos de vidro pelo uso de escalpes estéreis, que são dispositivo endovenoso geralmente utilizado em hospitais para infusão medicamentosa

e/ou retirada de sangue. Este modelo (Figura 1) foi desenvolvido para a fermentação acética da manipueira utilizando um inóculo obtido de caldo de laranja e a metodologia foi baseada no processo lento de fermentação acética.



**Figura 1** – Figura representativa do ensaio de fermentação acética da manipueira com repetição.

Após estabilização do inóculo por 48 horas foi iniciada a alimentação com o fermentado alcoólico de manipueira. Alternadamente a alimentação (cada 48 horas durante 12 dias) foi intercalada a retirada de amostras de 100 mL armazenadas em temperatura de geladeira para futuras análises de acidez (expresso em g de ácido acético por 100mL) e pH segundo Ministério da Agricultura (Brasil, 2005).

Ao fim de 12 dias de fermentação foi feita a ácidos orgânicos produzidos por cromatografia líquida no CERAT – FCA – Unesp - Campus de Botucatu/SP e de cianeto livre nono CeTeAgro – UCDB – Campus de Campo Grande/MS.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Caracterização do substrato manipueira

Os resultados das análises se encontram na Tabela 1.

**Tabela 1** – Valores médios da maniveira estudada comparados com dados de outros autores.

Análises	Experimento em estudo	Maróstica, 2006	Nitschke, 2003
Brix	6,00	.*-	.*-
pH	6,56	5,30	5,80
Umidade (%)	92,89	.*-	.*-
Açúcar redutor g glicose / L	21,78	19,38	18,25
Açúcar redutor total g glicose / L	43,38	39,50	41,45
Cianeto livre mg L <sup>-1</sup>	0,00259	.*-	.*-

Legenda: .\*- sem informações

Comparando-se as características da maniveira utilizada como substrato no experimento em estudo às amostras de maniveira caracterizadas por Maróstica (2006) e Nitschke (2003) observa-se que a amostra caracterizada apresenta semelhanças e discrepâncias notáveis.

As discrepâncias observadas são comuns para esse componente e já foram citados por outros autores. Podem ser atribuídas a diversos fatores, como diferentes variedades de mandioca, processos ou épocas do ano. Por exemplo, nos trabalhos desenvolvidos por Maróstica (2006) e Nitschke (2003) a maniveira foi obtida do processo industrial de fabricação de farinha de mandioca e o resíduo passa por uma fermentação natural que o torna mais ácido que a maniveira em estudo, que foi obtida em laboratório.

Segundo Cereda (2001) a maniveira oriunda de fecularia apresenta 91,53% de umidade enquanto que a de farinha é mais pouco mais concentrada, em torno de 92,77 % de umidade. A porcentagem de umidade encontrada nesta pesquisa foi muito próxima aos valores citados por Cereda (2001) para o mesmo tipo de resíduo com 92,89 % de umidade (Tabela 4). Concordam também com os valores de umidade encontrados por Cabello e Leonel (2001) de 90,60%.

Os valores de AR e ART são semelhantes aos valores encontrados pelos autores, porém mais baixos, o que se justifica pelo fato de que a maniveira extraída em laboratório não teve seus açúcares consumidos no processo de fermentação natural que ocorre na indústria. Ainda assim a proporção entre ART e AR em torno de 2:1 foi semelhante a encontrada por Maróstica (2006), Nitschke (2003) e Damasceno (1999). Pode-se atribuir a diferença das quantidades de ART (43,38) para AR (21,78) à aproximada quantidade de sacarose presente na maniveira em estudo.

O cianeto livre dosado na manipueira usada como matéria-prima foi em média de 0,00259 mg L<sup>-1</sup>. Esse valor é muito inferior ao valor de cianeto livre encontrado por Pantaroto (2001) que foi de 44,34 mg L<sup>-1</sup>. Contudo a comparação dos valores não é adequada por se tratar de cultivares muito diferentes.

O teor de fósforo pode ser considerado da mesma grandeza dos apresentados pelos dois autores, enquanto que o potássio apresentou concentração expressivamente menor que nos estudos de Maróstica (2006) e Nitschke (2003).

### 3.2 Caracterização do suco de laranja

De acordo com Spinosa e Santos Jr. (2002, 2004) entre os fatores que restringem o crescimento das bactérias acéticas cita-se nutrientes essenciais para o seu metabolismo como vitaminas e minerais. Caso não estejam disponíveis no substrato utilizado para a fermentação acética, a complementação do substrato se torna necessária.

As frutas são consideradas excelentes substratos para a produção de vinagre, por conterem nutrientes essenciais para as bactérias acéticas em sua composição, como as vitaminas riboflavina e tiamina.

O suco de laranja apresenta em sua composição vitaminas como ácido ascórbico, tiamina, riboflavina e ácido pantotênico, entre outros, como descreve a literatura e demonstra a Tabela 2 (UNIFESP, 2007). Devido a este fato foi selecionado o suco de laranja como substrato para obtenção do inóculo utilizado na fermentação acética da manipueira.

Os resultados das análises do suco de laranja encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2** – Valores médios de análise do suco de laranja.

Análises	Valores
Brix (%)	8,00
pH	4,26
Umidade (%)	91,16
AR g glicose L <sup>-1</sup>	29,68
ART g glicose L <sup>-1</sup>	61,89

O valor do °Brix para o suco de laranja descrito por Benassi Jr., (2005) foi de 7 a 13,2%, em média para as variedades de laranja estudada pelo autor. O Brix do suco de laranja encontrado neste estudo foi de 8%. Este valor é dado ao período de maturação da fruta, já que o teor de açúcares aumenta à medida que o fruto amadurece.

Segundo Benasse Jr. (2005) sucos de laranja podem ter uma baixa ou alta acidez, e apresentar o mesmo pH, devido às quantidades de sais tampão presentes no suco. O pH médio das variedades de laranja estudada pelo autor ficou entre 3,4 a 4,0, dependendo do período de maturação da fruta. O pH da laranja obtido neste experimento foi de 4,26, valor próximo ao encontrado por Benassi Jr. (2005).

O teor de água presente na laranja segundo a Tabela da UNIFESP (2007) é de 88,3 g 100g, que pode ser considerada como próxima da umidade (91,16%) encontrada no suco de laranja *in natura* estudado.

Assim como na manipueira utilizada neste estudo, o suco de laranja também apresentou a proporção de ART para AR em torno de 2:1. Este fato deve-se à proporção de sacarose em relação aos monossacarídeos presentes no suco de laranja, que também se encontram na proporção de 2:1.

### 3.3 Fermentação alcoólica do suco de laranja e da manipueira

Como o Brix inicial da manipueira foi de 6, adicionou-se à mesma sacarose comercial aumentando-se o valor do Brix de 6,00 para 8,00, equiparando-se então, o Brix da manipueira com o do suco de laranja. Os dois substratos foram então inoculados com a levedura alcoólica.

Após a fermentação alcoólica da manipueira, o pH diminuiu de 6,56 para 4,81. Essa diminuição é explicada pela produção de  $H^+$  oriundos dos ácidos orgânicos formados no processo de fermentação alcoólica pelas leveduras (WOOD, 1998). Foi estabelecido o fim da fermentação alcoólica após 48 horas, quando o valor do °Brix (0,5) do fermentado estabilizou em duas leituras feitas com 24 horas de diferença. O fim da fermentação alcoólica foi confirmado pelas análises de AR e ART que obtiveram valores próximos a zero. O grau alcoólico do fermentado de manipueira foi de 4,8°GL, resultado este maior do que o esperado, já que na conversão de açúcar para álcool, a proporção esperada é geralmente de 2:1 (AQUARONE, 2001). Uma explicação que teria de ser confirmada seria a ação de enzimas autóctones sobre dextrinas e oligossacarídeos remanescentes na manipueira. A percentagem média de umidade (ou substâncias voláteis a 105°C) do fermentado alcoólico de manipueira foi de 98,60%.

A análise de cianeto livre realizada no fermentado alcoólico de manipueira obtida da cultivar Fécula Branca, em 3 repetições com triplicata, apresentou média de 0,00202 mg L<sup>-1</sup>. O valor encontrado é muito baixo. Mas de qualquer forma não seria esperada a inibição da fermentação alcoólica pelo cianeto, uma vez que o processo é anaeróbico e a ação tóxica do CN<sup>-</sup> ocorre sobre as formas aeróbicas do metabolismo.

Pantaroto (2001) descreveu o teor de cianeto livre em manipueira de farinha como sendo de 44,34 mg L<sup>-1</sup>. Os teores de cianeto livre do tucupi citados por CHISTÉ et al (2005) foram de 12,91 a 46,87 mg L<sup>-1</sup>. Os autores encontraram valores superiores aos encontrados neste estudo. Isso poderia ser explica-



do por se tratar de mandioca variedades de mandioca diferentes e selecionadas com diferentes finalidades. Os autores estudaram o tucupi e esse molho é tradicionalmente preparado no Pará a partir de variedades de mandioca obrigatoriamente amarelas, de baixo teor de amido, mas de alta umidade (para obter maior rendimento) e, de variedades de cianeto elevado.

A manipueira em estudo foi obtida de variedade analisada em laboratório (cultivar Fécula Branca) com baixo teor de cianeto livre. A manipueira citada por Pantaroto (2001) foi obtida em indústrias de fabricação de farinha de mandioca, oriunda de mistura de variedades de mandioca, com mais de 100 mg de HCN por Kg<sup>-1</sup> de raízes frescas. O tucupi, assim como nas indústrias de extração de fécula e/ou produção de farinha de mandioca, é elaborado a partir de manipueira obtida de mandioca com teor de cianeto mais alto possível (CHISTÉ et al., 2005).

O substrato alcoólico de manipueira foi armazenado a 4°C para ser utilizado em alíquotas de 100 mL como substrato para a fermentação acética.

A fermentação alcoólica do suco de laranja ocorreu em 48 horas, com estabilização do Brix em 1, como consequência do consumo de AR (0,40 mg100mL<sup>-1</sup>) e ART (0,91 mg 100mL<sup>-1</sup>). O pH baixou de 4,26 para 4,11, o que é normal na fermentação alcoólica. O teor alcoólico foi determinado em 3,7°GL, valor próximo ao esperado se levada em conta a afirmação de Aquarone (2001) de que proporção do grau alcoólico pode ser estimada em 2:1 em relação ao Brix inicial. A umidade (ou substâncias voláteis a 105°C) foi de 97,21 %.

Assim como o substrato fermentado alcoólico de manipueira, o substrato alcoólico de laranja foi armazenado a 4°C para ser utilizado em alíquotas de 100 mL como substrato para a fermentação acética.

As leveduras utilizadas para ambos os substratos foram as mesmas, de mesmo lote, na mesma quantidade (10g L<sup>-1</sup> de fermento seco biológico, da marca Fleischmann), porém apresentaram comportamento diferentes, sendo mais eficientes para a manipueira que para o suco de laranja.

### **3.4 Fermentação acética**

O ensaio de fermentação acética da manipueira foi inicialmente alimentado com fermentado alcoólico de laranja e após o 3º dia com fermentado alcoólico de manipueira.

O fermentado alcoólico de frutas é comumente utilizado como substrato para a fermentação acética, porém o fermentado alcoólico de manipueira nunca foi utilizado para tal propósito. Então, com o objetivo de se obter um inóculo, iniciador da fermentação acética, utilizou-se o fermentado alcoólico de laranja até o 3º dia de fermentação acética, após o que se substituiu a alimentação com 100 mL de fermentado alcoólico de manipueira, obtendo-se os resultados listados na Tabela 3.

**Tabela 3** – Evolução da acetificação da manipueira expressa em g ácido acético/100 mL.

		Dias de amostragem											
		1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º	11º	12º
<b>C1</b>	<b>Acidez</b>	0,40	1,70	<b>1,70</b>	1,00	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,50	0,40	0,40
	<b>pH</b>	4,43	3,94	<b>3,93</b>	4,19	4,39	4,42	4,45	4,55	4,44	4,45	4,45	4,56
<b>C2</b>	<b>Acidez</b>	0,40	1,43	<b>1,42</b>	0,86	0,70	0,60	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
	<b>pH</b>	4,43	3,97	<b>3,97</b>	4,22	4,42	4,48	4,48	4,59	4,41	4,45	4,44	4,44

Como se pode observar na Tabela 3 os valores de acidez aumentaram e os de pH diminuíram até o terceiro dia de fermentação acética em ambas as repetições do ensaio estavam sendo multiplicadas em fermentado alcoólico de laranja. Ao 3º dia iniciou-se a introdução gradual do fermentado alcoólico de manipueira, com 100 mL a cada 48 horas. Com isso a acidez deixou de aumentar durante os dias restantes.

O valor de cianeto livre do fermentado acético de manipueira foi, em média, de 0,00243 mg L<sup>-1</sup>, limite de sensibilidade do método empregado. A análise de cianeto livre do fermentado alcoólico de manipueira apresenta valores semelhantes aos valores de cianeto livre do fermentado acético de manipueira. Em ambas as análises de cianeto livre, os valores estiveram muito abaixo dos descritos por Pantaroto em 2001 (44,34 mg L<sup>-1</sup>), devido ao fato de que a manipueira utilizada nos processos de fermentação alcoólica e acética poder ser classificada como mansa (abaixo de 100 mg de HCN por Kg<sup>-1</sup> de raízes frescas).

O pH do fermentado acético de manipueira ficou entre 3,95 e 4,57 e nesta faixa de pH não ocorre à liberação do cianeto fixo, razão pela qual foi analisado apenas o cianeto livre que poderia intoxicar o processo, por ser a acetificação aeróbia. Segundo Pantaroto (2001) a formação do ácido cianídrico na manipueira só ocorre em pH acima de 5,5. Por isso os valores de cianeto livre obtidos após a fermentação acética da manipueira foram muito próximos aos valores de cianeto livre obtidos após a fermentação alcoólica da manipueira e o pouco cianeto total deve ter ficado fixado como linamarina e nessa forma não poderia ser tóxico às bactérias acéticas.

A análise do vinagre como produto final aos 12 dias de fermentação acética mostrou teor de umidade (ou substâncias voláteis a 105°C) média de três repetições nos 2 ensaios foi de 98,33%. A análise de cromatografia dos ácidos orgânicos foi realizada ao final do processo de fermentação acética para caracterizar o produto final. Considerando-se o volume do recipiente (500mL) e o volume de alimentação (100mL) pode-se considerar que após 5 dias de fermentação todo o fermentado acético de laranja já havia sido substituído pelo fermentado acético da manipueira, como o comprova o fato de não serem detectados ácido ascórbico e cítrico.

**Tabela 4** – Resultados do perfil de ácidos orgânicos no final da fermentação acética da manipueira (12 dias) expressos em % (peso/peso).

Amostra	Etanol	Ácido acético	Ácido cítrico	Ácido ascórbico	Ácido propanóico	Ácido láctico
Amostra1	4,40	0,41	0	0	0,28	0,31
Amostra 2	4,31	0,41	0	0	0,22	0,31

O teor de etanol residual (média de 4,35%.GL) mostra que as bactérias acéticas isoladas em meio de *Frateur* não apresentaram bom desempenho na conversão do etanol para ácido acético, o que explica os baixos valores de ácido acético ao final da fermentação 0,41% valores esses que não alcançam o mínimo estabelecido pela Legislação. A presença do ácido láctico (0,31%) e de propanóico (0,28%) que não são usuais em vinagre pode ter se dado em razão bactérias contaminantes, o que comprova que o inóculo selecionado não estava bem adaptado ao substrato.

Uma vez que a inibição por cianeto livre não se sustenta, restam duas hipóteses para explicar esse baixo rendimento: a ausência de vitaminas na composição do fermentado alcoólico de manipueira, nutriente esse importante para o metabolismo das bactérias acéticas e falta de adaptação do inóculo (não comercial) aos teores de etanol obtidos.

Poderiam ser aventados também problemas nutricionais a serem usados para justificar o comportamento das bactérias acéticas.

Apesar de o substrato manipueira ter apresentado o melhor rendimento na fermentação alcoólica em relação ao substrato suco de laranja, no processo de fermentação acética foi inverso.

#### 4 CONCLUSÕES

O ensaio de fermentação acética da manipueira demonstrou que o fermentado alcoólico de manipueira não possuiu as características ideais para a produção de ácido acético com o inóculo utilizado. Apesar de presente na manipueira, o cianeto fixo não foi liberado, já que o pH do fermentado acético de manipueira manteve-se abaixo do necessário para a liberação do cianeto, portanto não se pode explicar o baixo desempenho das bactérias acéticas pela presença de cianeto.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto Processo 504208/2003-9 *Valorização dos produtos e subprodutos da mandioca em pequenos produtores e indústrias rurais*

## 6 REFERÊNCIAS

AQUARONE, E., BORZANI, W., SCHMIDELL, W., LIMA, V.A.(coord). **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v.4, 523p.

BALTHA, A.D.T.de B.; CEREDA, M.P. **Cassava free cyanide analysis using KCN or acetone-cyanidrin as pattern**. In: INTERNATIONAL MEETING ON CASSAVA BREEDING, BIOTECHNOLOGY AND ECOLOGY,1., Brasília Anais ...p.132, Cassava Improvement to Enhance Livelihoods in Sub Saharan África and Northweast Brasil, Brasília, Federação Universidade de Brasília, Ministério do Meio Ambiente, 2006.

BENASSI JÚNIOR, M. **Avaliação da influência do grau de maturação do fruto cítrico na composição química e sensorial de refrigerantes, refrescos e energéticos à base de suco de laranja**. Campinas, 2005. 215 p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-Químico para Análise de Alimentos** / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília : Ministério da Saúde, 2005.

CABELLO, C.; LEONEL, M.; **Produção de Ácido Cítrico a Partir de Resíduo Líquido da Industrialização da mandioca (Manipueira)**. In: CEREDA, M. P. (Coord). Manejo, Uso e tratamento de subprodutos da Industrialização da mandioca. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v.4, cap.9, p.131-137. (Série Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americanas). São Paulo: Fundação cargill, 2001.

CASSONI, V., CEREDA, M. P., VILPOUX, O., VENTURINI FILHO, W.G. **Meio seletivo para isolamento de *Acetobacter sp.*** In: Congresso Brasileiro de Ciência de Alimentos, 20, 2006, Curitiba. **Anais...** Curitiba, Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2006. p.482.

CEREDA, M.P.; **Caracterização dos subprodutos da Industrialização da Mandioca**.

In: CEREDA.M.P. (coord) Manejo, Uso e tratamento de subprodutos da Industrialização da mandioca. São Paulo: Fundação cargill, 2001. v.4, cap.1, p.13-37. (Série Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americanas). São Paulo: Fundação cargill, 2001.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; OLIVEIRA, S. S. **Quantificação de cianeto total e livre de amostras de tucupi comercializadas na cidade de Belém-PA.** 2005. DISPONÍVEL EM:

[http://www.artigocientifico.com.br/uploads/artc\\_1166153182\\_92.pdf](http://www.artigocientifico.com.br/uploads/artc_1166153182_92.pdf) ACESSO 15/05/2007.

DAMASCENO, S. **Manipueira como substrato para desenvolvimento de *Geotrichum fragans*.** 1999. 117f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

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.

NITSCHKE, M. M.; PASTORE, G.M. **Cassava flour wastewater as a substrate for biosurfactante production.** Applied Biochemistry and Biotechnology, 106, 295-302, 2003.

PANTAROTO, S. **Isolamento, seleção, identificação e avaliação de microrganismos anaeróbios “*in situ*”, com habilidade à biodegradação de linamarina.** 2001. 128P. Dissertação (Mestre em Agronomia/ Energia na Agricultura)- Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

SANTOS JR., V. dos. **Estudo dos fatores nutricionais de bactérias acéticas.** Campinas, 2004. 69 p. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SCHMIDELL, W. et al. **Biotechnologia Industrial.** 1.ed.. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2001. v2. 541p.

SPINOSA, W.A. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre.** 2002. 243 p. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SUCO DE LARANJA. Disponível em:

<<http://www.unifesp.br/dis/servicos/nutri/nutri.php?id=2152>> Acesso em 22/dez/2006.

WOOD, B. J. B. **Microbiology of fermented foods.** Edited by Brian J.B. Wood. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 2v.:il., graf., tabs.