



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

ANANDA LEÃO DE CARVALHO LEHALLE

FOLHAS DE MANDIOCA COZIDAS: AVALIAÇÃO DO PROCESSAMENTO E
ESTUDO DE UMA ETAPA DE DETOXIFICAÇÃO

BELÉM – PARÁ
2019

ANANDA LEÃO DE CARVALHO LEHALLE

FOLHAS DE MANDIOCA COZIDAS: AVALIAÇÃO DO PROCESSAMENTO E
ESTUDO DE UMA ETAPA DE DETOXIFICAÇÃO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr^a Consuelo Lúcia Sousa de Lima

Co-Orientadora: Dr^a Laura Figueiredo Abreu

BELÉM - PA

2019

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

L522f LeHalle, Ananda Leão de Carvalho
Folhas de mandioca cozidas: Avaliação do processamento e estudo de uma etapa de detoxificação / Ananda Leão de Carvalho LeHalle. — 2019.
84 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Consuelo Lucia Sousa
Coorientação: Prof^a. Dra. Laura Figueiredo Abreu
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

1. Subproduto da mandiocultura. 2. Ácido Cianídrico (HCN). 3. Eliminação de compostos cianogênicos. 4. Microbiologia. I. Título.

CDD 664

ANANDA LEÃO DE CARVALHO LEHALLE

FOLHAS DE MANDIOCA COZIDAS: AVALIAÇÃO DO PROCESSAMENTO E
ESTUDO DE UMA ETAPA DE DETOXIFICAÇÃO

Data: ____/____/____

Nota/Conceito: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Consuelo Lucia Sousa de Lima
(PPGCTA/ITEC/UFPA- Orientadora)

Dr^a. Laura Figueiredo Abreu
(EMBRAPA- Co-Orientadora)

Dr. Nelson Rosa Ferreira
(PPGCTA/ITEC/UFPA- Membro Interno)

Dr^a. Rafaella de Andrade Mattietto
(EMBRAPA- Membro Externo)

Dr. Hamilton Mendes Figueiredo
(PPGCTA/ITEC/UFPA- Membro Suplente)

Dr. Renan Campos Chisté
(PPGCTA/ITEC/UFPA-Membro Suplente)

A Deus, aos meus pais Yves LeHalle (*in memorian*) e Ana Maria LeHalle que sempre me ensinaram que o bem mais precioso é a educação e nunca mediram esforços para realizar os meus sonhos.

Ao meu esposo Alexandro e minha filha Ana Luíza, que foram meu alicerce em todos os momentos, por todo amor e força. Sem vocês eu não teria conseguido.

Com amor

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus e pela intercessão de Nossa Senhora de Nazaré que sempre guiaram-me, guardaram-me e abençoaram-me em cada passo dado em minha vida.

À Professora Dr^a Consuelo Sousa, pela confiança, amizade, ensinamentos (e foram muitos), apoio e valiosa orientação que proporcionou não somente ao longo deste trabalho, como nesses quase 6 anos de convivência. A senhora é uma inspiração para mim e levarei para a vida todos os ensinamentos que tive nesse tempo de convivência. Muito obrigada por tudo!

À Dr^a Laura Abreu, pela oportunidade de poder trabalhar juntas, por toda paciência (muita paciência), compreensão, amizade, atenção e carinho na co-orientação desse trabalho. Você é uma profissional inspiradora e sempre terá minha imensa admiração e gratidão!

Aos meus amados pais, Yves (*in memoriam*) e Ana Maria pelo apoio e amor incondicional, por sempre acreditarem em mim, até quando nem eu acreditei e por nunca permitirem que eu desistisse dos meus sonhos.

A minha filha Ana Luíza, que mesmo tão pequena é a minha fonte de fé, esperança, coragem, força e amor, tudo foi por você filha! Ao meu esposo Alexsandro pelo amor paciência, pelas palavras de incentivo e por sempre acreditar em mim. Amo muito vocês!

Ao professor Dr^o. Nelson Rosa e a Dr^a Rafaella Mattietto por aceitaram participar da banca examinadora e por todas as valiosas contribuições para a realização deste trabalho.

À minha tia muito amada Cenira e a minha prima/irmã/comadre Dandara por terem cuidado da minha filha pra que eu pudesse concretizar este trabalho, tem casos na vida que obrigada não é suficiente para transmitir um sentimento e este é um caso.

Aos meus amigos da família micro Rose, Susu, Niara, Maria, Bruno, Carol, Júlio, estagiários do JK pela ajuda mas também pelas risadas e momentos ímpares compartilhados e um agradecimento muito especial a Laila, que foi uma parceira de trabalho incrível, me ajudando durante a execução dos ensaios, não importa a hora que acabassem, você merece o mundo Lailinha! Vou sentir muita falta da convivência diária com todos!

Aos estagiários e funcionários da EMBRAPA Amazônia Oriental: Sandy, Sheine, Dona Conceição, Lorena com um agradecimento especial ao Breno pela amizade, paciência, risos e toda ajuda, muito obrigada amigo!

Ao CNPq pela provisão da bolsa de mestrado; A EMBRAPA Amazônia Oriental, pois através dela foi possível a realização desse trabalho.

A todos que mesmo sem serem mencionados, ajudaram de forma direta ou indireta para a concretização deste trabalho, o meu muito obrigada!

RESUMO

Este estudo avaliou os processos tecnológicos utilizados para produção de folhas de mandioca cozidas (maniva cozida) considerando a inserção de um processo de detoxificação (ensaio de repouso), visando a diminuição do teor de cianeto total. Foram coletadas dez amostras de folhas de mandioca cozidas comercializadas na cidade de Belém-PA sendo cinco de feiras e cinco de supermercado, onde realizou-se análises de teores de compostos cianogênicos (cianeto total, cianeto não glicosídico e cianeto livre), microbiológicas e físico-química. Verificou-se os processos para produção de folhas de mandioca cozidas em feiras e agroindústrias. As Boas Práticas de Fabricação (BPF) foram verificada através da aplicação lista de verificação em duas agroindústrias. Para o estudo do processo de detoxificação (ensaio de repouso) as folhas foram moídas e permaneceram em repouso sem e com adição de água nos tempos: 1,5; 3; 4,5; 6 e 24h, sendo realizadas análises de compostos cianogênicos em todos os ensaios e pH apenas nas folhas *in natura* e repouso de 24h. Foram reproduzidos em escala laboratorial quatro processos de produção de folhas de mandioca cozidas: dois utilizados em feiras e agroindústrias (1 e 2) e dois considerando os ensaios de repouso que apresentaram maior eliminação de compostos cianogênicos (3 e 4). No produto de cada ensaio foram realizadas análises de pH, compostos cianogênicos e microbiológicas. Os teores de composto cianogênicos foram determinados por leitura espectrofotométrica a 605 nm. Realizou-se as análises microbiológicas de: *Salmonella spp*, contagens de *Bacillus cereus*, estafilococos coagulase positiva, coliformes a 45°C, aeróbios mesófilos e bolores e leveduras. Realizou-se as análises físico-químicas de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos, fibras, determinação de pH por leitura direta em potenciômetro e Acidez Total Titulável (ATT). Os resultados dos compostos cianogênicos variaram de 1,25 a 8,22 mg HCN/kg, estando 100% acima do preconizado pela legislação para cianeto livre. Todas as amostras estiveram em conformidade com a legislação para *Salmonella spp*, estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus*. Para coliformes a 45°C, 60% das amostras de feiras e 20% do supermercado estiveram em concordância com a legislação. Os resultados de aeróbios mesófilos e bolores e leveduras variaram de <2,40 a 5,38 e <2,88 a 7,30 log UFC/g, respectivamente. As amostras de feiras, estavam abaixo do mínimo preconizado para umidade, lipídios e pH e as do supermercado, abaixo do estabelecido para cinzas, lipídios e pH. As agroindústrias foram consideradas de risco alto em relação as BPF. Os resultados do estudo de detoxificação mostram diferença significativa entre o pH das folhas *in natura* e o tempo de repouso de 24 h. Os ensaios de repouso de 6h com e sem água, mostraram maior eliminação de compostos cianogênicos, por isso foram utilizados no processamento em escala laboratorial. Em relação aos resultados dos processos em escala laboratorial, Não houve diferença significativa do pH das folhas *in natura* comparado aos produtos dos processos e nem entre os produtos 1, 3 e 4, em relação aos compostos cianogênicos e parâmetros microbiológicos. Alterações no processamento influenciam nos teores de compostos cianogênicos, bem como a escassez das BPF são precedentes a contaminações. Os ensaios de repouso contribuíram na eliminação de parte dos compostos cianogênicos, entretanto grande parte da conversão e eliminação de HCN ocorreu no processo de moagem das folhas, sendo esta etapa primordial para a detoxificação e o cozimento anterior a moagem se mostrou insatisfatório em relação aos parâmetros cianogênicos e microbiológicos.

Palavras-chave: Subproduto da mandiocultura, Ácido cianídrico (HCN), Eliminação de compostos cianogênicos, Microbiologia.

ABSTRACT

This study evaluated the technological processes used to produce cooked cassava leaves (cooked manioc) considering the insertion of a detoxification process (rest test), aiming at reducing the total cyanide content. Ten samples of cooked cassava leaves commercialized in the city of Belém-PA were collected, five from fairs and five from supermarkets, where analyzes of cyanogenic (total cyanide, non-glycosidic cyanide and free cyanide), microbiological and physical contents were performed. -chemistry. The processes for producing cassava leaves cooked at fairs and agro-industries were verified. Good Manufacturing Practices (GMP) were verified by applying a checklist to two agro-industries. To study the detoxification process (rest test) the leaves were ground and remained at rest without and with added water at the times: 1.5; 3; 4.5; 6 and 24h, being performed analysis of cyanogenic compounds in all tests and pH only in fresh leaves and homes of 24h. Four processes of production of cooked cassava leaves were reproduced on a laboratory scale: two used in fairs and agroindustries (1 and 2) and two considering the rest tests that showed greater elimination of cyanogenic compounds (3 and 4). In the product of each assay, pH, cyanogenic and microbiological compounds analyzes were performed. Cyanogenic compound contents were determined by spectrophotometric reading at 605 nm. Microbiological analyzes were performed of: Salmonella spp, Bacillus cereus counts, coagulase positive staphylococci, coliforms at 45 ° C, mesophilic aerobes and mold and yeast. The physicochemical analyzes of moisture, ashes, proteins, lipids, carbohydrates, fibers, pH determination by direct reading in potentiometer and Total Titratable Acidity (TTA) were performed. The results of the cyanogenic compounds will vary from 1.25 to 8.22 mg HCN / kg, being 100% above the free cyanide legislation. All samples complied with legislation for Salmonella spp, coagulase positive staphylococci and Bacillus cereus. For coliforms at 45 ° C, 60% of the fair samples and 20% of the supermarket were in compliance with the legislation. The results of mesophilic and mold aerobic and yeast ranged from <2.40 to 5.38 and <2.88 to 7.30 log CFU / g, respectively. The fair samples were below the minimum recommended for humidity, lipids and pH and the supermarket samples, below the established for ashes, lipids and pH. Agro-industries were considered to be at high risk compared to GMP. The results of the detoxification study show significant difference between the pH of fresh leaves and the resting time of 24 h. The 6h rest tests with and without water showed greater elimination of cyanogenic compounds, so they were used in laboratory scale processing. Regarding the results of the processes on laboratory scale, There was no significant difference in the pH of fresh leaves compared to the products of the processes nor between the products 1, 3 and 4, in relation to the cyanogenic compounds and microbiological parameters. Changes in processing influence the contents of cyanogenic compounds, as well as the scarcity of GMP preceded by contamination. Resting tests contributed to the elimination of part of the cyanogenic compounds, however much of the conversion and elimination of HCN occurred in the leaf milling process, being this primordial step for detoxification and the previous grinding cooking proved unsatisfactory in relation to the parameters. cyanogenic and microbiological.

Key-words: Mandioculture by-product, Hydrocyanic acid (HCN), Elimination of cyanogenic compounds, Microbiology.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Desenhos esquemáticos das estruturas moleculares dos GCs linamarina e lotaustralina presentes na planta da mandioca..... 17
- Figura 2.** Desenho esquemático da biossíntese dos GCs linamarina e lotaustralina na mandioca, a partir dos aminoácidos L-valina e L-isoleucina..... 18
- Figura 3.** Desenho esquemático da cianogênese do GC linamarina..... 19
- Figura 4.** Desenho esquemático da reação de detoxificação de cianeto, em seres humanos e algumas plantas..... 20
- Figura 5.** Reprodução da rama da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) 21
- Figura 6.** Etapas de produção de “maniva cozida” 23
- Figura 7.** Etapas de preparo de maniva cozida (Recepção das folhas *in natura*, lavagem por imersão e moagem)..... 24
- Figura 8.** Etapas de preparo de maniva cozida: cozimento da maniva..... 25
- Figura 9.** Etapas de preparo de maniva cozida: resfriamento, embalagem e armazenamento..... 25

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Percentagens médias da avaliação geral, conformidades (C) e não conformidades obtidas em vistorias realizadas nas agroindústrias A e B processadoras de folhas de mandioca cozidas..... 54

CAPÍTULO 3

- Figura 1.** Fluxograma das etapas dos ensaios de repouso para folhas de mandioca moídas sem e com adição de água..... 65
- Figura 2.** Fluxograma das etapas dos processos de produção de folhas de mandioca cozidas reproduzidos em escala laboratorial..... 66

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.	Remoção de compostos cianogênicos da mandioca durante o processamento.....	26
------------------	--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1.	Teores de compostos cianogênicos (CT, CNG e CL) das amostras de folhas de mandioca cozidas provenientes de feiras e supermercado da cidade de Belém-PA.....	43
------------------	---	----

Tabela 2.	Contagens de coliformes a 45°C, aeróbios mesófilos e bolores e leveduras das amostras de folhas de mandioca cozidas provenientes de feiras e supermercado da cidade de Belém-PA.....	47
------------------	--	----

Tabela 3.	Caracterização físico-químicas das amostras de folhas de mandioca cozidas provenientes de feiras e supermercado da cidade de Belém-PA.....	50
------------------	--	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1.	Valores de pH das folhas de mandioca <i>in natura</i> e ensaios de repouso 24 h.....	70
------------------	--	----

Tabela 2.	Cianeto total (CT), não glicosídico (CNG) e livre (CL) de folhas de mandioca moídas durante ensaios de repouso sem e com adição de água.....	72
------------------	--	----

Tabela 3.	Análises de pH, cianeto total (CT), cianeto não glicosídico (CNG) e cianeto livre (CL) de folhas de mandioca <i>in natura</i> , após moagem e dos produtos provenientes dos processos em escala laboratorial.....	76
------------------	---	----

Tabela 4	Contagens de coliformes a 45°C, aeróbias mesófilas e bolores e leveduras em folhas de mandioca <i>in natura</i> , após moagem e dos produtos provenientes dos processos em escala laboratorial.....	79
-----------------	---	----

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	
1	INTRODUÇÃO GERAL..... 12
2	OBJETIVOS..... 14
2.1	OBJETIVO GERAL..... 14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 14
3	REVISÃO DE LITERATURA..... 15
3.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A MANDIOCA..... 15
3.2	GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS..... 16
3.3	FOLHAS DE MANDIOCA..... 21
3.4	MANIVA COZIDA..... 22
3.5	PROCESSAMENTO DA MANDIOCA E PRODUTOS DERIVADOS..... 25
3.6	BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO EM AGROINDÚSTRIAS..... 28
3.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 29
CAPÍTULO 2	
ARTIGO: FOLHAS DE MANDIOCA COZIDAS: TEORES DE COMPOSTOS CIANOGENICOS, AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E DAS CONDIÇÕES DE PROCESSAMENTO..... 37	
1	Introdução..... 37
2	Material e métodos..... 39
3	Resultados e discussão..... 43
4	Conclusão..... 57
5	Referências..... 58
CAPÍTULO 3	
ARTIGO: ESTUDO DE DETOXIFICAÇÃO DE FOLHAS DE MANDIOCA PARA ALIMENTAÇÃO HUMANA..... 62	
1	Introdução..... 62
2	Material e métodos..... 64
3	Resultados e discussão..... 69
4	Conclusão..... 80
5	Referências..... 80
CAPÍTULO 4	
4	CONCLUSÃO GERAL 84

1 INTRODUÇÃO GERAL

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é a quinta cultura mais importante do mundo, possuindo uma produção mundial em 2017 de aproximadamente 285 milhões de toneladas por ano (FAOSTAT,2017). No Brasil, a estimativa para produção de mandioca em 2019 será de 20 milhões de toneladas, com destaque para a região Norte do país, onde a principal utilização é na produção de farinha de mandioca (IBGE,2019).

De grande versatilidade, a cultura da mandioca é totalmente aproveitada, desde as raízes até parte aérea (folhas e hastes). As raízes são empregadas para alimentação humana, principalmente na forma de farinhas; as hastes são utilizadas na alimentação animal, sob a forma de silagens e fenos e as folhas são usadas na alimentação humana e animal (CONAB,2014)

As folhas de mandioca, um subproduto da colheita da raiz de mandioca é (dependendo da variedade) rica em proteínas (14 - 40% de matéria seca), minerais, vitaminas B1, B2 e C e carotenos. Além do menor teor de metionina, lisina isoleucina, o perfil de aminoácidos da proteína da folha de mandioca se compara favoravelmente aos do leite, queijo, soja, peixe e ovo (SOUZA et al., 2011; SOARES et al., 2016).

As folhas de mandioca formam uma parte importante da dieta em alguns países, mas existem muitos locais onde geralmente não são consumidas, embora a mandioca seja amplamente cultivada e prontamente disponível. Merecem mais atenção como fonte de proteínas e nutrientes para a nutrição humana e devem receber tanta atenção quanto as raízes. Há uma necessidade de estabelecer métodos simples de processamento de folhas de mandioca para seu consumo (LATIF; MÜLLER2015).

Folhas de mandioca são amplamente comercializadas e utilizadas para consumo humano no Norte do Brasil, como um prato típico chamado maniçoba, e na África, onde são consumidos em regiões como fonte de alimento, principalmente devido aos aspectos nutricionais e baixo valor comercial (MODESTO JUNIOR et al., 2019). A maniçoba vem ganhando notoriedade no cenário gastronômico nacional, uma vez que a culinária nortista vem despertando cada vez mais a curiosidade e o interesse de grandes chefes de cozinha. Em virtude disso, a necessidade do gerenciamento da segurança alimentar para os derivados da mandioca se faz necessário, tendo em vista que estes produtos estão sendo cada vez mais exportados para outras regiões, atingindo um público maior, demandando maiores tempos de armazenamento e com isto mais susceptível a fatores que podem causar alterações negativas no produto.

Apesar do elevado consumo de mandioca e derivados, o seu conteúdo de glicosídeos cianogênicos (GCs) (linamarina e lotaustralina;) torna a mandioca fresca e seus derivados potencialmente tóxicos pois as enzimas β -glicosídases endógenas os hidrolisam, liberando o ácido cianídrico (HCN) (SHAMA; WASMA, 2011). Estudos têm sido realizados com folhas de mandioca, objetivando propiciar níveis baixos de substâncias antinutritivas e/ou tóxicas. Sabe-se que a forma de secagem das folhas, a idade da planta e a própria cultivar têm grande influência, por exemplo, nos teores de nutrientes (CORRÊA et al., 2004).

O processamento tem sido reconhecido como a maneira mais eficiente de controlar os teores de cianógenos (linamarina, acetona cianoidrina e HCN) presentes na mandioca a curto prazo. Para as populações que dependem da mandioca como alimento básico, o problema da exposição ao ácido cianídrico (HCN) pode ser resolvido, a partir do consumo de cultivares com baixos teores de glicosídeos cianogênicos ou, ainda, se os cultivares com altos teores de glicosídeos cianogênicos forem processadas adequadamente até atingirem níveis seguros de HCN (NAMBISAM, 2011).

As principais técnicas de processamento industrial utilizadas na diminuição do princípio tóxico da mandioca envolvem processos como maceração, a cocção, a secagem, a torração e a fermentação; ou a combinação desses processos, podendo também serem submetidas a procedimentos de processamento antes de sua cocção. Aparentemente, a maioria destes métodos são eficazes na redução do teor de HCN, porém é comum encontrar teores residuais destes compostos, capazes de produzir sintomas de intoxicação (ROLINDA et al., 2008; NAMBISAN, 2011, BRADBURY; DENTON 2014; MODESTO JUNIOR et al., 2019).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os processos tecnológicos utilizados para produção de folhas de mandioca cozidas (maniva cozida) considerando a inserção de etapa de detoxificação (ensaio de repouso), visando a diminuição do teor de cianeto total.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os teores de compostos cianogênicos e a qualidade microbiológica e físico-química, de amostras comerciais de folhas de mandioca cozidas provenientes das feiras principais capital paraense e agroindústrias;
- Verificar os processos de produção de folhas de mandioca cozidas empregados atualmente em agroindústrias e principais feiras da capital paraense;
- Avaliar as Boas Práticas de Fabricação em duas agroindústrias produtoras de folhas de mandioca cozidas;
- Estudar um processo de detoxificação de folhas de mandioca cozidas (ensaio de repouso);
- Avaliar influência do ensaio de repouso na redução do teor de cianeto total, quando incluída nos processos utilizados na região Norte do Brasil para obtenção de folhas de mandioca cozidas

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A MANDIOCA

A mandioca é uma angiosperma da classe das dicotiledôneas, da família Euphorbiaceae, composta por cerca de 7200 espécies, com característica de apresentar glicosídeos cianogênicos e látex (BURNS et al., 2010; CEBALLOS; LA CRUZ, 2012; GABRIEL et al., 2014). Em sua área nativa, na América do Sul, onde foi domesticada há milhares de anos e na África, onde foi introduzida durante o século XVI, é uma das mais importantes fontes de alimentos básicos para famílias de baixa renda em áreas rurais e uma cultura de renda primária para pequenos agricultores, principalmente devido às suas raízes amiláceas, sendo uma das culturas agrícolas mais antigas (MCKEY et al., 2010; FAO, 2013). Globalmente, a mandioca é a segunda raiz mais importante depois da batata e a quinta cultura mais importante em termos de consumo calórico humano (ROSENTHAL et al., 2012).

Em 2016, os dez países que apresentaram a maior área colhida de mandioca em hectare (ha) foram: Nigéria (6.261.047 ha), República Democrática do Congo (1.801.335 ha), Tailândia (1.461.827 ha), Brasil (1.406.258 ha), República Unida da Tanzânia (1.061.043 ha), Moçambique (1.002.305 ha), Uganda (945.595 há), Gana (938.725 há), Angola (919.779 ha) e Indonésia (867.495 ha). Em relação a produção mundial de mandioca em toneladas (t) ainda no ano de 2016, os dez países que apresentaram maior destaque foram: Nigéria (57.134.478 t), Tailândia (31.161.000 t), Brasil (21.082.867 t), Indonésia (20.744.674 t), Gana (17.798.217 t), República Democrática do Congo (14.677.809 t), Vietnã (11.045.184 t), Cambodia (10.206.514 t), Angola (9.981.245 t) e Moçambique (9.100.000 t) (FAO, 2016).

De acordo com o último levantamento sistemático da produção agrícola (LSPA), realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e estatística (IBGE), em janeiro de 2019 a produção de mandioca foi de aproximadamente 20 milhões de toneladas no Brasil. Houve aumento de 4,2% em relação ao ano de 2018, sendo a região norte responsável por 36,1% da produção nacional. O estado do Pará é considerado o maior produtor de mandioca, responsável por uma produção de aproximadamente 4 milhões de toneladas (IBGE, 2019).

A alta produção no estado do Pará deve-se principalmente à extensa área colhida, que no mês de abril/2018 foi de 286.079 ha (em grande número de pequenas propriedades), muito embora ainda com uma produtividade relativamente baixa, ou seja, da ordem de 7,43 t/ha, enquanto no estado do Paraná, segundo maior produtor, atinge-se, em média, 25,89 t/ha (COSTA et al., 2016; IBGE, 2018). As mesorregiões produtoras da cultura da mandioca no estado do Pará, destacaram-se a região Nordeste, com produção de 2.021.648 t e o Baixo

Amazonas, com 1.217.785 t da produção. Os municípios paraenses com as cinco principais posições de destaque são: Acara (381.000 t), Santarém (304.780 t), Alenquer (220.000 t), Bragança (183.260 t) e Óbidos (180.000 t) (IBGE (2015)).

Além do amido das raízes, a parte aérea da planta também é utilizada, o primeiro constitui uma fonte importante de carboidratos e o segundo de proteínas, minerais e vitaminas, particularmente carotenos e vitamina C (CEBALLOS, 2012). O conteúdo de glicosídeos cianogênicos (linamarina e lotaustralina) nas raízes e folhas torna a mandioca fresca e seus derivados, potencialmente tóxicos, influenciando seus fins de consumo, pois enzimas β -glicosídates endógenas, promovem a hidrólise desses GCs e libera o ácido cianídrico. As mandiocas consideradas “doces” tem níveis baixos destes glicosídeos e podem ser consumidas com segurança após o processo de cozimento normal; as variedades de mandioca denominadas de “amargas”, no entanto, tem níveis tão altos dessas substâncias que um processo mais sofisticado é necessário para torná-las adequadas ao consumo humano (SHAMA; WASMA, 2011; CEBALLOS, 2012).

3.2 GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS

Os glicosídeos cianogênicos (GCs) são relativamente difundidos no reino vegetal e constituem um importante grupo de metabólitos secundários. Nas plantas, a hidrólise dos GCs promove a liberação de ácido cianídrico (HCN). A função mais conhecida dos GCs é a proteção contra, herbívoros, artrópodes e no estoque de nitrogênio e de glicose (KONGSAWADWORAKUL et al., 2009; GLEADOWAND; MØLLER, 2014).

Quimicamente, GCs são definidos como glicosídeos de α -hidroxinitrilas e, são compostos armazenados em vacúolos (GANJEWALA et al., 2010; GLEADOWAND; MØLLER, 2014). Com relação à biossíntese de GCs, eles são derivados a partir de cinco aminoácidos: L-valina, L-leucina, L-iso-leucina, L-fenilalanina e L-tirosina e a partir de um amino ácido não proteico: ciclopentilil-glicina (OWUAMANAM et al., 2010). Os GCs estão presentes em plantas de muitas famílias: rosaceae, leguminoseae, gramíneae, araceae, passifloraceae e euforbiceae, além de fungos, bactérias e algas (VETTER, 2000; TOKARNIA et al., 2012). A mandioca, assim, como a maçã, a aveia, o trigo e a cana-de-açúcar, possuem glicosídeos específicos, potencialmente hidrolisáveis, que liberam HCN. Contudo, a mandioca é uma das poucas plantas cujo conteúdo de HCN pode causar problemas de toxicidade (CEREDA, 2004).

Na mandioca, os GCs presentes são: a linamarina, em maior concentração (95%) e uma pequena concentração de lotaustralina (metil linamarina), cerca de 5% (Figura 1), bem como, a

enzima linamarase. As concentrações dos GCs na mandioca são devidas às diferenças genéticas, fisiológicas e ambientais, além da idade da planta e condições nutricionais (disponibilidade no solo de nutrientes como nitrogênio e fósforo) (ERNESTO et al., 2002; SILVA et al., 2004; VALLE et al., 2004; CARDOSO JÚNIOR et al., 2005; MEZETTE et al., 2009). As concentrações de GCs variam amplamente, entre as cultivares de mandioca, entre plantas da mesma cultivar, entre diferentes tecidos da mesma planta, entre raízes da mesma planta e até dentro do parênquima radicular (ESSERS, 1995). A parte comestível das raízes contém teores mais baixos de GCs do que as folhas, o caule e o córtex das raízes (MCMAHON et al., 1995; BRADBURY; DENTON, 2010). As folhas jovens possuem as concentrações mais altas de GCs, já as folhas maduras e velhas, cerca de 50% e 70% menos, respectivamente, enquanto que as folhas senescentes têm concentrações desprezíveis dessas substâncias (NAMBISAN, 2011).

Quanto ao seu potencial tóxico, as mandiocas podem ser classificadas de acordo com os seus teores de HCN na polpa fresca em: inócuas (teor menor do que 50 mg HCN/kg de polpa fresca), moderadamente venenosas (entre 50-100 mg HCN/kg de polpa fresca), e perigosamente venenosas, popularmente conhecida como mandioca “brava” (teor superior a 100 mg HCN/kg de polpa fresca) (COHEN; OLIVEIRA, CHISTÉ, 2007).

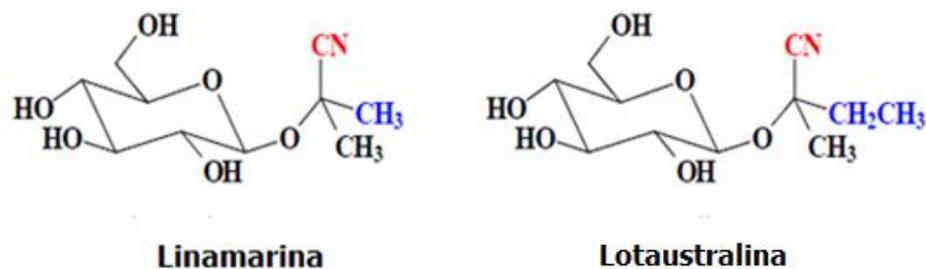


Figura 1. Desenhos esquemáticos das estruturas moleculares dos GCs linamarina e lotaustralina presentes na planta da mandioca.

Fonte: Cereda (2004).

A biossíntese da linamarina e da lotaustralina, presentes na planta da mandioca inicia-se com a conversão dos aminoácidos L-valina e L-isoleucina, respectivamente pelos sistemas enzimáticos microsossomais citocromos P450 CYP79D1 e CYP79D2 (ANDERSEN et al., 2000) (Figura 2). Nesta fase, ocorrem duas N-hidroxilações no grupamento amino do aminoácido, e em seguida, sucedem uma descarboxilação e uma desidratação (SIBBESEN et al., 1994). A aldoxina formada é convertida então, a uma α -hidroxinitrila pelos citocromos P450 CYP71E1 (KAHN et al., 1997; BAK et al., 1998). Esta reação inicia-se com uma reação de desidratação que gera uma nitrila, seguida de uma hidroxilação no carbono α , formando uma

cianoidrina. Finalmente, as cianoidrinas correspondentes são glicosiladas em linamarina e lotaustralina pela enzima solúvel uridina 5' -difosfoglicose-glicosiltransferase (ANDERSEN et al., 2000).

O processo a partir do qual a linamarina e a lotaustralina liberam o HCN é denominado cianogênese (catabolismo de GCs). A cianogênese é um processo de duas etapas que envolve a deglicosilação inicial dos GCs e, posteriormente a clivagem de acetona cianoidrina para formar acetona e HCN. As pesquisas são focadas na cianogênese de linamarina, devido à elevada concentração desse glicosídeo presente na planta da mandioca (MCMAHON et al., 1995).

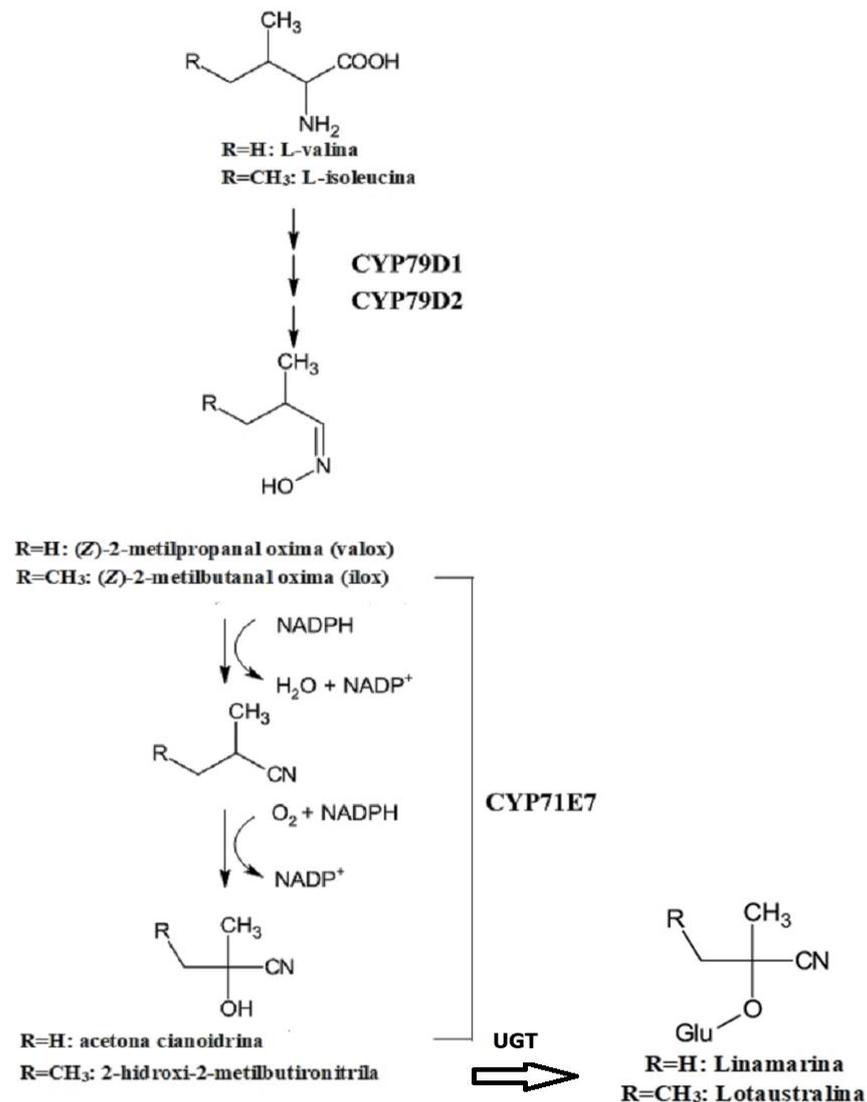


Figura 2. Desenho esquemático da biossíntese dos GCs linamarina e lotaustralina na mandioca, a partir dos aminoácidos L-valina e L-isoleucina.

Fonte: McMahon et al. (1995) (com adaptações).

O primeiro passo na conversão de linamarina à HCN é a deglicosilação ou hidrólise de linamarina pela enzima linamarase à glicose e a α -hidroxinitrilas instáveis, denominadas

acetona cianoidrinas, conforme mostrado na Figura 3. As acetonas cianoidrinas são decompostas em cetonas e HCN por meio de duas rotas: espontaneamente, em $\text{pH} > 4,0$ e temperatura $> 30^\circ\text{C}$, ou ainda, devido à atividade da enzima hidroxinitrila liase (HNL), em valores de pH entre 3,5 - 6,0 e temperatura $\leq 60^\circ\text{C}$ (MKPONG et al., 1990; WHITE et al., 1994; WHITE; SAYRE, 1995; WAJANT; PFIZENMAIER, 1996).

Os GCs e suas enzimas catabólicas específicas estão armazenadas em compartimentos celulares distintos da planta da mandioca, prevenindo assim a autotoxicidade. A linamarina localiza-se nos vacúolos celulares, enquanto que a enzima β -glicosidase (linamarase) encontra-se associada à parede celular. Assim, a ruptura dos tecidos vegetais intactos (traumas mecânicos, entre outros) para que ocorra a exposição do substrato – linamarina – à enzima linamarase representa um papel importante na cianogênese ou catabolismo de GCs (GLEADOW; MOLLER, 2014).

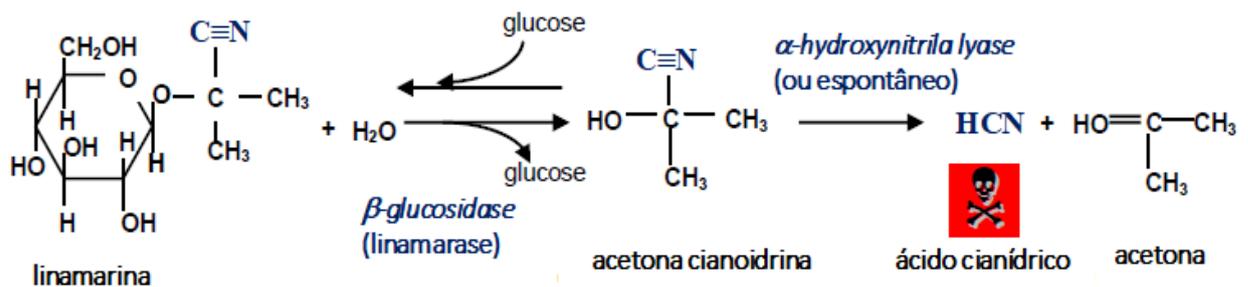


Figura 3. Desenho esquemático da cianogênese do GC linamarina.

Fonte: McMahon et al. (1995) (com adaptações).

O consumo de produtos de mandioca com alta concentração de cianogênicos pode levar a doenças graves ou até a morte. A dose de 1 a 3 mg de HCN/kg de massa corporal pode causar intoxicação aguda e, conseqüentemente pode levar à morte seres humanos e outros animais vertebrados (GLEADOW; MOLLER, 2014). Os sintomas da intoxicação aguda ocorrem quando o HCN ao entrar na célula interrompe a cadeia respiratória, pois este bloqueia a enzima citocromo c oxidase, causando anóxia celular (HODGSON, 2004). Nesta reação, também ocorre o bloqueio da produção de energia com redução nos níveis intracelulares de trifosfato de adenosina (ATP), acidose intracelular, devido à produção de ácido lático em meio à anaerobiose e, finalmente, a morte celular (FORTIN, et al., 2010).

A ingestão contínua de produtos da mandioca, não processados ou inadequadamente processados, contendo altos níveis de cianógenos (linamarina, acetona cianoidrina e HCN), combinado com uma dieta deficiente em aminoácidos, que contenham enxofre (metionina e

cisteína) pode levar à intoxicação crônica, uma vez que esses aminoácidos são necessários para a detoxificação de cianetos dos organismos de seres humanos (JORGENSEN et al., 2011). Os tubérculos de mandioca são uma fonte pobre de proteína, e as folhas, que são comidas como um suplemento proteico não contém as quantidades adequadas de metionina e cisterna (YEOH; CHEW, 1976). Não apenas a proporção total de proteína ingerida é baixa, em populações cuja dieta é baseada em produtos da mandioca, mas a necessidade de S-aminoácidos para a detoxificação restringe a proporção das referidas proteínas, que estão associadas aos fatores de crescimento dos indivíduos, o que pode resultar em baixa estatura de crianças (STEPHENSON et al., 2010).

Assim, onde a mandioca é a principal fonte de alimento nas dietas humanas, é necessário garantir que haja uma nutrição adequada ao enxofre (BURNS, et al., 2010). Os principais problemas de saúde associados a dietas ricas em compostos cianogênicos incluem: o bócio, o hipertireoidismo, resultante do metabolismo do tiocianato no metabolismo do iodo; a neuropatia atáxica tropical, uma desordem neurológica; e o konzo, uma paralisia instantânea e permanente que pode levar ao óbito, muito frequente na África; não há relatos de konzo na América do Sul (OKAFOR; OKOROWKWO; MADUAGWU 2002; SREEJA et al., 2003; ADAMOLEKUN, 2010, BAEA et al., 2013)

A biotransformação do HCN, em seres humanos, ocorre principalmente no fígado onde o mesmo é convertido em tiocianato (SCN) através de uma reação catalisada pela enzima tiosulfato sulfotransferase – “rodanase”, conforme mostrado na Figura 4. A reação consiste na transferência de um átomo de enxofre dos tiosulfatos para o íon CN⁻ sendo a fonte primária de enxofre os aminoácidos metionina e cisteína (AZEVEDO, CHASIN, 2004; BURNS, et al., 2010).

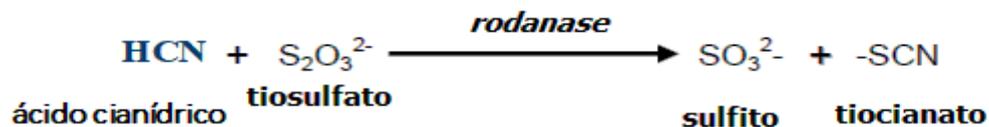


Figura 4. Desenho esquemático da reação de detoxificação de cianeto, em seres humanos e algumas plantas

Fonte: Burns et al. (2010) (com adaptações).

3.3 FOLHAS DE MANDIOCA

A parte aérea da mandioca (Figura 5), ou rama, compreende a porção da planta que fica acima do solo e, esta é considerada um resíduo gerado na colheita das raízes. Esta é constituída por ramos, pecíolos e folhas em proporções variáveis. Além disso, a sua composição bromatológica varia de acordo com a proporção entre hastes e folhas, variedade utilizada, época de colheita, manejo adotado, fertilidade do solo e condições climáticas (PESTANA; CASTRO, 2015). Devido à grande quantidade desse material encontrar-se desprezado no solo, após a colheita da raiz, é necessário a viabilidade do uso deste em indústrias alimentícia, farmacêutica, dentre outras, assim como na alimentação humana ou animal como fonte de alternativa protéica (FERRI, 2006).

As folhas de mandioca formam uma parte importante da dieta em alguns países, mas existem muitos locais onde geralmente não são consumidas, embora a mandioca seja amplamente cultivada e prontamente disponível. Merecem mais atenção como fonte de proteínas e nutrientes para a nutrição humana e devem receber tanta atenção quanto as raízes. Há uma necessidade de estabelecer métodos simples de processamento de folhas de mandioca para seu consumo (LATIF; MÜLLER, 2015).

São consideradas um subproduto da colheita da raiz de mandioca e (dependendo da variedade), são ricas em proteínas (14 - 40% de matéria seca), minerais, vitaminas B1, B2 e C e carotenos. Além do menor teor de metionina, lisina e isoleucina, o perfil de aminoácidos da proteína da folha de mandioca se compara favoravelmente aos do leite, queijo, soja, peixe e ovo. A colheita da mandioca, em uma fase de crescimento precoce, poderia reduzir o teor de tanino condensado e aumentar o teor de proteína, resultando em um valor nutritivo maior (AYODEJI, 2005; SOUZA et al., 2011; SOARES et al., 2016).



Figura 5. Reprodução da rama da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).

Fonte: Lancaster e Brooks (1983).

As folhas de mandioca possuem altos teores de em minerais, como fósforo, magnésio, potássio, ferro, zinco, cálcio, entre outros. Os teores de ferro foram encontrados, entre 61,50 a 225,60 mg/kg, magnésio entre 0,16 a 0,38 g/100 g, manganês variando entre 50,30 a 333,69 mg/kg e de zinco entre 4,05 a 93,38 mg/kg, todos valores em matéria seca (CHAVEZ et al., 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006). Os teores de potássio, magnésio, fósforo, zinco e manganês diminuem, enquanto os de cálcio, sódio e ferro aumento com maturidade foliar (LATIF; MÜLLER, 2015).

Folhas de mandioca apresentam grandes quantidades de GCs, linamarina e uma pequena quantidade de lotaustralina, que são decompostos pela enzima linamarase presente nas folhas produzindo cianidrinas que são ainda decompostas por outra enzima, hidroxinitrila liase também presente, para formar cianeto de hidrogênio (HCN) e uma cetona (CARDOSO et al., 2005; BRADBURY; DENTON, 2011).

Embora as folhas de mandioca sejam uma fonte de nutrientes valiosos, também possuem toxicidade devido a glicosídeos cianogênicos, e fatores antinutricionais como alto teor de fibra, taninos, polifenóis e ácido fítico que reduzem a biodisponibilidade dos nutrientes, absorção de e digestibilidade, podem ter efeitos tóxicos dependendo do método de processamento e quantidade consumida. Dependendo da quantidade ingerida, alguns desses compostos pode atuar como antioxidantes e anticarcinógenos (WOBETO et al., 2007; MONTAGNAC et al., 2009).

3.4 MANIVA COZIDA

No estado do Pará, em especial, a mandioca é amplamente utilizada na culinária regional que é fortemente influenciada pela cultura indígena. A raiz (tubérculo) da mandioca é um dos principais ingredientes da gastronomia paraense e sua farinha é muito apreciada pela população local. O “tucupi” é utilizado no preparo de pratos típicos como “tacacá”, “pato no tucupi”, “arroz paraense”, entre outros. As folhas da mandioca moídas “maniva”, estas são utilizadas como componente principal no preparo da “maniçoba” (COSTA et al., 2016).

A Instrução Normativa Nº 1 DE 06/05/2016 da Agência de Defesa Agropecuária do Pará-ADEPARÁ-que dispõe sobre o Padrão de Identidade e Qualidade da Maniva Cozida para produção e comercialização no estado do Pará, tem por objetivo estabelecer padrões de identidade e características de qualidade as quais devem acatar o produto "maniva cozida", sendo o mesmo definido na presente normativa sendo: Maniva: produto obtido da folha da mandioca do gênero *Manioto*, especificamente da moagem das folhas, através de processo tecnológico adequado; Maniva cozida é o produto obtido através do cozimento da maniva, com

uso predominantemente na culinária paraense e Maniçoba é o prato típico da culinária paraense obtido a partir da maniva cozida acrescida dos ingredientes de origem animal, condimentos e sal (PARÁ, 2016).

A Instrução normativa aborda também aspectos relacionados a classificação composições organolépticas e físico-químicas, métodos de conservação, adição de ingredientes opcionais (sendo para maniva cozida apenas água tratada), aditivos e coadjuvantes de tecnologia/elaboração (sendo para maniva cozida não permitido a adição de corantes ou conservantes), características microscópicas e sensoriais, resíduos e contaminantes, proibições, características microbiológicas, pesos e medidas (que devem obedecer as exigências do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia-INMETRO), rotulagem, juntamente com exigências para a construção e funcionamento de estabelecimentos produtores de maniva cozida (PARÁ, 2016).

As etapas de produção da “maniva cozida”, de acordo com Pará (2016) são mostradas na Figura 6.

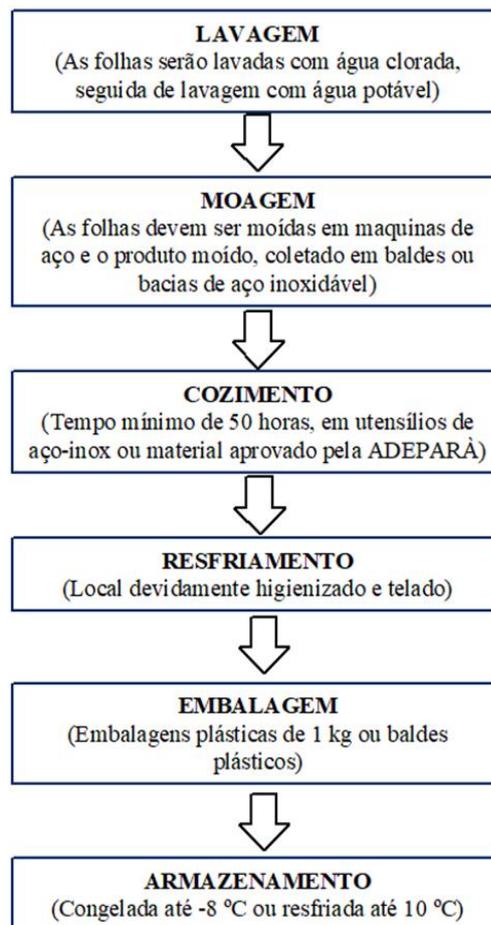


Figura 6. Etapas de produção de “maniva cozida”.

Fonte: Adaptado de Pará (2016).

- Lavagem

Segundo Abreu e Mattietto (2016), nesta etapa recomenda-se o uso de aspersão para evitar desperdício de água e para auxiliar na remoção de sujidades. A utilização de chuveiros e a distribuição dessas folhas em esteiras ou caixas também são recomendados.

- Moagem

Existem dois modos de produção de maniva: moer as folhas antes ou depois do seu cozimento. O modo mais utilizado é a moagem anterior ao cozimento (Figura 7). As folhas lavadas são colocadas em moedores elétricos de carne podendo ou não ter a adição de água. Atualmente, existem moedores confeccionados em aço inoxidável, sendo os mesmos recomendados (ABREU; MATTIETTO, 2016).



Figura 7. Etapas de preparo de maniva cozida (Recepção das folhas *in natura*, lavagem por imersão e moagem).

Fonte: autor

- Cozimento

O tempo de cozimento das folhas da mandioca são convencionados tradicionalmente em 7 dias, o que equivaleria teoricamente a 168 horas. Contudo, em avaliações de campo, observa-se que os tempos de cozimento variam entre 8 a 12 horas por dia, que seriam equivalentes a 56-84 horas de cozimento (Figura 8). Além da questão de segurança alimentar, em eliminar todo o cianeto das folhas, acredita-se que o tempo de cozimento influencie diretamente na questão sensorial e melhoria da palatabilidade (ABREU; MATTIETTO, 2016). Durante o cozimento ocorre à eliminação do ácido cianídrico presente, devido ser altamente volátil, e a inativação da enzima linamarase a altas temperaturas, o que afeta o processo de hidrólise da linamarina,

responsável pela liberação do princípio tóxico da mandioca (COHEN; OLIVEIRA; CHISTÉ, 2007).



Figura 8. Etapa de cozimento da maniva.

Fonte: autor

- Resfriamento, embalagem e armazenamento

Após o cozimento, observa-se que é prática realizar a embalagem da maniva ainda quente em sacos plásticos de 1 kg (Figura 9), o que é válido, desde que o seu resfriamento ocorra da forma mais rápida possível. Contudo, verifica-se a tendência em deixar a maniva resfriando em temperatura ambiente (ABREU; MATTIETTO, 2016).



Figura 9. Etapas de resfriamento da maniva cozida, embalagem e armazenamento.

Fonte: autor

3.5 PROCESSAMENTO DA MANDIOCA E PRODUTOS DERIVADOS

O processamento tem sido reconhecido como a maneira mais eficiente de controlar os cianogênicos da mandioca a curto prazo. Para as populações que dependem da mandioca

como alimento básico, o problema da exposição a compostos cianogênicos na dieta pode ser resolvido apenas usando cultivares com baixo teor de cianogênio (linamarina) ou alternativamente, se forem utilizados cultivares de alto cianogênio, elas devem ser adequadamente processadas para reduzir o teor de cianogênio a níveis seguros. Uma ampla diversidade de métodos de processamento é usada no consumo de mandioca comunidades. Estes incluem descascar e cortar tubérculos frescos, seguidos de cozimento, cozimento a vapor, secagem, fritura profunda, fermentação, ralação / batimento seguido de secagem ou torrefação. A maioria desses métodos de processamento é eficaz na redução do conteúdo de GCs (OKE, 1994; NAMBISAN, 1994; VASCONCELOS et al., 1990; ESSERS, 1994; WESTBY, 1991; MLINGI; BAINBRIDGE, 1994; BRADBURY, 2006). Os níveis seguros de HCN nos produtos alimentares de mandioca estabelecidos pela Comissão do *Codex Alimentarius* da FAO/OMS (1988) são de 10 mg de HCN/kg de massa seca.

Dependendo da natureza do processamento, pode ocorrer a hidrólise do GC, formação de acetona cianidrina até a liberação de HCN, que é volatilizado e, subsequentemente perdido, ou o GC, altamente solúvel e seus produtos hidrolíticos são lixiviados em água (NAMBISAN, 2011). Existem algumas modificações no processamento da folha de mandioca dependendo da variedade e do país. Diversas tecnologias tradicionais foram desenvolvidos para remover GCs, mas cada método possui algumas limitações (LATIF; MÜLLER, 2015).

Tabela 1. Remoção de compostos cianogênicos da mandioca durante o processamento.

Método de processamento	Porcentagem de cianogênicos retido	Mecanismo de remoção
Ebulição	20–50	Lixiviação
Branqueamento e secagem	50	Lixiviação
Cozer, fritar, cozinhar	80	Degradação térmica
Secagem ao sol	20-50	Ação enzimática
Secagem em forno	30-50	Ação enzimática
Trituração e secagem ao sol	<5	Desintegração e ação enzimática
Triturar/fermentação, desidratação, secagem	<2	Desintegração e ação enzimática

Fonte: Nambisan (1994).

O uso de cultivares com baixos teores de GCs e o processamento adequado ajudaria a reduzir a toxicidade associada ao consumo de produtos derivados da mandioca, baseado na elaboração de um sistema de monitoramento dos teores de GCs da mandioca processada, antes do consumo (NAMBISAN, 2011).

Na região Norte do Brasil, durante as etapas de beneficiamento da mandioca e obtenção de seus produtos derivados, observa-se a ocorrência de alguns fatores considerados críticos no processamento dos derivados da mandioca: problemas higiênico-sanitários existentes nas unidades processadoras, presença residual de HCN em níveis acima dos preconizados pela legislação vigente, equipamentos e utensílios confeccionados em materiais de difícil higienização e a presença de micro-organismos patogênicos e deterioradores (ABREU; MATTIETTO, 2016).

A forma de obtenção dos subprodutos da mandioca segue, tradicionalmente, uma sequência de processos artesanais ou semimecanizados que podem apresentar variações pelas características de cada localidade e, devido a isto, há a ausência de processos com parâmetros estabelecidos que garantam o padrão de identidade e qualidade. Não existem normas de qualidade para a fabricação dos produtos derivados da mandioca, entretanto, no estado do Pará, vêm-se fazendo um esforço de regulamentar e padronizar esses produtos, sem perder as suas características regionais e garantindo a segurança alimentar (ABREU; MATTIETTO, 2016).

Foi publicado o decreto que regulamenta a Lei nº 7.565, de 25 de outubro de 2011 que trata das normas para licenciamento, registro e comercialização de produtos artesanais comestíveis de origem animal e vegetal no Estado do Pará e, nesse regulamento, são estabelecidos padrões de identidade/qualidade e recomendações mínimas de cuidados higiênico-sanitários a serem atendidos por produtores artesanais, garantindo a qualidade mínima dos produtos e visando evitar problemas em relação à segurança alimentar (ABREU; MATTIETTO, 2016).

Os derivados da mandioca, normalmente, têm um período de comercialização curto, mas, com a divulgação dos pratos típicos da região Norte e, mais especificamente em eventos gastronômicos, a demanda por seus derivados tem aumentado. Esse fato pode demandar maiores períodos de armazenamento e, nesses casos, problemas de contaminação durante as etapas de processamento serão evidenciados e podem acarretar prejuízos à qualidade desses produtos. Fica propício a proliferação de microrganismos patogênicos, alterações sensoriais e defeitos de embalagem (ABREU; MATTIETTO, 2016).

3.6 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO EM AGROINDÚSTRIAS

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA (1997), as Boas Práticas de Fabricação (BPF) correspondem a: “um conjunto de medidas que devem ser adotadas pelas indústrias de alimentos a fim de garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos alimentícios com os regulamentos técnicos. A legislação sanitária federal regulamenta essas medidas em caráter geral, aplicável a todo o tipo de indústria de alimentos e específico, voltadas às indústrias que processam determinadas categorias de alimentos. ”

A implementação de um Programa de Boas Práticas de Fabricação (BPF) compreende: a alteração dos métodos de produção, a modificação de projetos das instalações, o desenvolvimento de cuidados com o uso e conservação dos equipamentos, a introdução de mudanças comportamentais e a alteração no sistema de gestão, além do estabelecimento de normas de manutenção e limpeza de equipamentos e instalações (LOPES, 2007).

A Boa Prática de Fabricação (BPF) é um requisito para todas as atividades associadas à produção, fabricação e distribuição de alimentos. Os princípios devem ser aplicados em estágios da produção, através da aquisição de matérias-primas, materiais e fabricação de produtos intermediários, para distribuição e venda a retalho de produtos finais. Os consumidores têm o direito de esperar que os alimentos sejam seguros e saudáveis e satisfaçam suas expectativas em termos de qualidade organoléptica e preço. A aplicação da BPF requer adesão filosófica e prática, por parte da administração e dos funcionários, a princípios que foram desenvolvidos ao longo de muitos anos (JARVIS et al., 2014).

As BPF, embora seja um tema já bastante debatido e previsto pela legislação, ainda não estão sendo adotadas de forma satisfatória nas indústrias de alimentos, representando assim risco para os consumidores (SILVA et al., 2009). Entre os fatores que limitam a adoção estão: a falta de conscientização e capacitação de manipuladores, visto que as BPF exigem mudanças comportamentais e de disciplina; ausência de investimentos em instalações; indisponibilidade de recursos financeiros; falta de comprometimento dos proprietários e deficiência de apoio e conhecimento para uma adequada implantação (CRUZ; CENCI; MAIA, 2006; SERAFIM; SACCOL et al., 2009).

Uma das ferramentas utilizadas para o diagnóstico das BPF é a aplicação da Lista de Verificação ou *Check-list* para área de alimentos, que permite levantar os pontos positivos e negativos dos estabelecimentos, proporcionando uma análise detalhada de cada local, o que contribui no planejamento de ações corretivas para adequação de instalações, procedimentos e processos produtivos, buscando eliminar ou reduzir perigos físicos, químicos e biológicos, que

possam comprometer os alimentos e a saúde do consumidor (NASCIMENTO; BARBOSA, 2007). As BPF são importantes para a segurança do alimento produzido, contudo, é algumas vezes de difícil aplicação nas agroindústrias, principalmente pelo fato de esses locais apresentarem uma estruturação debilitada o que dificulta a sua correta adequação (SCARPIN, 2011). Em um estudo Cruz (2007), destaca a dificuldade encontrada para a implantação das BPF nas agroindústrias, pois alguns estabelecimentos apresentavam-se em precárias condições de trabalho colocando em risco a saúde dos manipuladores.

São escassas as Boas Práticas para a produção de derivados de mandioca (tucupi, farinha de mesa, de tapioca, goma e maniva) no estado do Pará, fato constatado em inspeção conjunta feita pelo Ministério Público Estadual (MPE) e Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARÁ) em diversas agroindústrias que produzem de forma artesanal farinha, tucupi e maniva nos municípios de Belém, Icoaraci, Santa Izabel do Pará e Castanhal, cidades localizadas no nordeste paraense. O Pará possui destaque na produção de farinha no Brasil e isso é um fato relevante com reflexos na economia rural familiar. Por conta disto, o MPE deve atuar de forma conjunta para regularizar esta atividade econômica que atua de forma ilegítima, negligenciando a segurança alimentar. O MPE e ADEPARÁ pretendem trabalhar em conjunto para a melhoria das condições higiênico-sanitárias, contando com o apoio de agentes financiadores para se ter garantia jurídica e segurança alimentar na industrialização e comercialização desses produtos essenciais na mesa dos paraenses (MINISTÉRIO PÚBLICO ESTADUAL-JUSBRASIL, 2012).

3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.F; MATTIETTO, R.A. Procedimentos de fabricação dos derivados de mandioca: recomendações para obtenção de produtos seguros e de qualidade. IN: Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistema de cultivo, manejo de pragas, e doenças e agroindústria. **Embrapa Amazônia Oriental**. Belém – PA, p. 165 – 182.2016.

ADAMOLEKUN, B. Etiology of Konzo, epidemic spastic paraparesis associated with cyanogenic glycosides in cassava: role of thiamine deficiency?. **Journal of Neurological Science**, v.296, n1-2, p.30-33.2010.

ANDERSEN, M. D.; BUSK, P. K.; SVENDSEN, I.; MOLLER B. L. Cytochromes P-450 from Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Catalyzing the First Steps in the Biosynthesis of the Cyanogenic Glucosides Linamarin and Lotaustralin. **The Journal of Biological Chemistry**, v.275, p.1966–1975, 2000.

AYODEJI, O. F. Nutrient composition and processing effects on cassava leaf (*Manihot esculenta*, crantz) antinutrients. **Pakistan Journal of Nutrition.**, v.4, n. 1, p.37–42, 2005.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia. 1 ed. São Carlos: **Livraria RiMa**, 2004.

BAK, S.; KAHN; R. A.; NIELSEN, H. L.; MOLLER, B. L.; HALKIER, B. A. Cloning of three A type cytochromes P450, CYP71E1, CYP98, and CYP99 from *Sorghum bicolor* (L.) Moench by a PCR approach and identification by expression in *Escherichia coli* of CYP71E1 as a multifunctional cytochrome P450 in the biosynthesis of the cyanogenic glucoside dhurrin. **Plant Molecular Biology**, v.36, p.393–405, 1998.

BRADBURY, J.H. Simple wetting method to reduce cyanogen content of cassava. **Journal of Food Composition and Analysis**. Anal. 19, 388–393.2006.

BRADBURY, H. J.; DENTON. C. I. Simple method to reduce the cyanogen content of gari made from cassava. **Food Chemistry**, v.123, p.840–845, 2010.

BRADBURY, J. H; DENTON, I. C. Mild methods of processing cassava leaves to remove cyanogens and conserve key nutrients. **Food Chemistry**, 127, 1755–1759.2011.

BANEA, P; BRADYBURY, J.H; MANDOMBI, C; NAHIMANA, D; DENTON, KUWA, N; TSHALA KATUMBAY, D. Control of konzo by detoxification of cassava flour in three villages in the Democratic Republic of Congo. **Food and Chemical Toxicology**, v.6, p. 506-513. 2013.

BURNS, A; GLEADOW, R; CLIFF, J; ZACARIAS, A; CAVAGNARO, T. Cassava: the drought, war and famine crop in a changing world. **Sustainability** 2:3572–3607.2010.

CARDOSO JÚNIOR, N. dos S.; VIANA, A.E.S.; MATSUMOTO, S.N.; SEDIYAMA, T.; AMARAL, C.L.F.; PIRES, A.J.V.; RAMOS, P.A.S. Efeito do nitrogênio sobre o teor de ácido cianídrico em plantas de mandioca. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.27, p.603–610, 2005.

CARDOSO, A. P., MIRIONE, E., ERNESTO, M., MASSAZA, F., Cliff, J., HAQUE, M. R., et al. Processing of cassava roots to remove cyanogens. **Journal of Food Composition Analysis**, 18, 451–460.2005.

CEBALLOS, H. Cassava in Colombia and the world: New Prospects for a Millennial Crop. Cap.1. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H (eds.). Cassava in the third millennium: modern production, processing, use, and marketing systems. **International Center for Tropical Agriculture-CIAT**, p.574, Cali 2012.

CEBALLOS, H.; LA CRUZ, G. Cassava Taxonomy and Morphology, cap.2. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H (eds.). Cassava in the third millennium: modern production, processing, use, and marketing systems. **International Center for Tropical Agriculture-CIAT**, p574, Cali 2012.

CEREDA, M. P. Processamento da mandioca como mecanismo de detoxificação. In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. (Coord.) Tecnologia, uso e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas. **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargill vol. 3 2004.

CHAVEZ, A. L.; BEDOYA, J. M.; SÁNCHEZ, T.; IGLESIAS, C.; CEBALLOS, H.; ROCA, W. Iron, carotene, and ascorbic acid in cassava roots and leaves. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 21, n. 4, p. 410–413, 2000.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Report of 8th Session of the Codex Coordinating Committee for Africa, Cairo. FAO/WHO, Rome, Italy. 1988.

COHEN, K. de O.; OLIVEIRA, S. S.; CHISTÉ, R. C. Documentos 290. Quantificação de Teores de Compostos Cianogênicos Totais em Produtos Elaborados com Raízes de Mandioca. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA ISSN 1517–2201, 2007.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO –CONAB. Perspectivas para a agropecuária, Brasília, v.2, p.1-155.2014. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_10_18_03_00_perspectiva_2014-5.pdf. Acesso em 06/05/2019.

COSTA, J. F.; SANTOS, M. A. S.; REBELLO, F. K; COSTA, A. D; SILVA, J. S. Política de crédito rural e os financiamentos à cultura da mandioca no estado do Pará, 1990-2010. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v.12, n.1, p.1–14, 2016.

CORRÊA, A. D; SANTOS, S. R; ABREU, C. M. P; JOKL, L; SANTOS, C. D. Removal of polyphenols of the flour cassava leaves. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n. 2, p. 159–164, 2004.

CRUZ, A. G., CENCI, S. A., & MAIA, M. C. A. Pré-requisitos para implementação do sistema APPCC em uma linha de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.104–109, 2006.

CRUZ, F. T. Qualidade e Boas Práticas de Fabricação em um contexto de agroindústrias rurais de pequeno porte. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, p1112007.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations -FAO. Dados da produção mundial da mandioca em 2013. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 10/05/2018.

FAOSTAT. Database, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat3.fao.org/home/E/>. Acesso em 04/05/2019.

ERNESTO, M.; CARDOSO, A.P.; NICALA, D.; MIRIONE, E.; MASSAZA, F.; CLIFF, J.; HAQUE, M.R.; BRADBURY, J.H. Persistent konzo and cyanogen toxicity from cassava in northern Mozambique. **Acta Tropical**, v.82, p.357–362, 2002.

ESSERS, A. J. A. Removal de cyanogens from cassava roots: Studies on domestic sun-drying and solid-substrate fermentation in rural Africa. **Ph.D. Thesis**. Wageningen Agricultural University, Wageningen, the Netherlands, 1995, 131 p.

ESSERS, A.J.A. Making safe cassava flour from bitter cassava by indigenous solid substrate fermentation. **Acta Horticulturae**. 375, 217–224.1994.

FERRI, P. Extração de proteínas de folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) para obtenção de concentrado proteico. **Dissertação de mestrado**. Programa de pós-graduação em engenharia agrícola. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel. Paraná. 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS -FAO. Dados da produção mundial da mandioca em 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 10/05/2018.

FORTIN, J.; DESMETTRE, T.; MANZON C.; JUDIC-PEUREUX, V. et al. Cyanide poisoning and cardiac disorders: 161 cases. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 38, n.4, p.467–476, 2010.

HODGSON, E. A textbook of modern toxicology. 3 ed. Stamford, Connecticut: Appleton e Lange, 2004. 496p.

GABRIEL, L.F; STRECK, N.A; ROBERTI, D.R; CHIELLE, Z.G; UHLMANN, L.O; DA SILVA, M.R; DA SILVA, S.D. Simulating cassava growth and yield under potential conditions in Southern Brazil. **Agronomy Journal** 106: 1119.2014.

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

GLEADOW, R; MOLLER, B. Cyanogenic Glycosides: Synthesis, Physiology, and Phenotypic Plasticity. **Annual Review of Plant Biology**, v.65, p.155–185, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. Produção Agrícola Municipal de 2015-Tabelas (banco SIDRA) -Lavouras Temporárias. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2015/default_sidra.shtm>. Acesso em 10/05/2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola- Dados de 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 10/05/2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro. Jan.2019. Disponível em: http://biblioteca.ibge.org.br/vizualizacao/periodicos/2415/epag_2019_jan.pdf. Acesso em 15 fev.2019.

JARVIS, B; FARM, D; BISHOP, U; Good Manufacturing Practice. **Encyclopedia of Food Microbiology**, v.2, p.106–115, 2014.

JORGENSEN, K; MORANT, A; MORANT, M; JENSEN, N; OLSEN, C; KANNANGARA, R; MOTAWIA, M; MOLLER, B; BAK, S. Biosynthesis of the Cyanogenic Glucosides Linamarin and Lotaustralin in Cassava: Isolation, Biochemical Characterization, and Expression Pattern of CYP71E7, the Oxime-Metabolizing Cytochrome P450 Enzyme. **Plant Physiology**, v.155, p.282–292, 2011.

KAHN, R. A.; BAK, S., SVENDSEN, I.; HALKIER, B. A.; MØLLER, B. L. Isolation and reconstitution of cytochrome P450ox and in vitro reconstitution of the entire biosynthetic

pathway of the cyanogenic glucoside dhurrin from sorghum. **Plant Physiology**, v.115, p.1661–1670, 1997.

KONGSAWADWORAKUL, P.; VIBOONJUN U.; ROMRUENSUKHAROM, P.; CHANTUMA, P.; RUDERMAN, S., CHRESTIN, H. The leaf, inner bark and latex cyanide potential of *Hevea brasiliensis*: Evidence for involvement of cyanogenic glucosides in rubber yield. **Phytochemistry**, v.70, p.730–739, 2009.

LANCASTER, P. A; BROOKS, J. E. Cassava leaves as human food. **Economic Botany**, 37, 331–348.1983.

LATIF, S.; MÜLLER, J. Potential of cassava leaves in human nutrition: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.44, n.2, p.147–158., 2015,

LOPES, R.L.T. Dossiê Técnico: Os sete princípios do APPCC. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais – **CETEC**, 2007. Disponível em: <<http://www.cdt.unb.br/telecentros/appcc/hq/appcc.pdf>> Acesso em: 19 de março de 2012.

MADRUGA, M. S.; CÂMARA, F. S. The chemical composition of multimisturas as a food supplement. **Food Chemistry**, v.68, n.1, p.41–44, 2000.

MCKEY, D., CAVAGNARO, T.R., CLIFF, J., GLEADOW, R.M. Chemical ecology in coupled human and natural systems: people, manioc, multitrophic interactions and global change. **Chemoecology**, v.20, p.109–133, 2010.

MCCMAHON, J.; WHITE, W.; SAYRE R.T. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Experimental Botany**, v.46, p.731–741, 1995.

MELO, D. S. Farinha de folhas de mandioca: efeitos sobre a peroxidação e o perfil lipídico plasmático e hepático de ratos. 2005. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2005. 74 f

MEZETTE, T.F.; CARVALHO, C.R.L.; MORGANO, M.A.; SILVA, M.G. da; PARRA, E.S.B.; GALERA, J.M.S.V.; VALLE, T.L. Seleção de clones-elite de mandioca de mesa visando a características agrônômicas, tecnológicas e químicas. **Bragantia**, v.68, p.601–609, 2009.

MINISTÉRIO PÚBLICO DO ESTADO DO PARÁ-JUSBRASIL. Belém, Sta. Izabel e Castanhal: MP quer regularizar produtos derivados da mandioca. Disponível em: <<https://mp-pa.jusbrasil.com.br/noticias/3086514/belem-sta-izabel-e-castanhal-mp-quer-regularizar-produtos-derivados-da-mandioca>>. Acesso em: 15/05/20

MODESTI, C. F. Obtenção e caracterização de concentrado protéico de folhas de mandioca submetido a diferentes tratamentos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2006.

MODESTO JUNIOR, E.N ; CHISTE, R.C ; PENA, R.S. Oven drying and hot water cooking processes decrease HCN contents of cassava leaves. **Food Research International**. 2019

MONTAGNAC, J. A., DAVIS, C. R., & TANUMIHARDJO, S. A. Processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a staple food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 17e27.2009.

MLINGI, N., BAINBRIDGE, Z., 1994. Reduction of cyanogens levels during sundrying of cassava in Tanzania. *Acta Horticult.* 375, 233–239.

MKPONG, O. E.; YAN, H.; CHISM, G.; SAYRE, R. T. Purification, Characterization, and Localization of Linamarase in Cassava. *Plant Physiology*, v.93, p.176–218, 1990.

NAMBISAN, B. Evaluation of the effect of various processing techniques on cyanogens reduction in cassava. *Acta Horticulturae*. 375, 193–202.1994.

NAMBISAN, B. Strategies for elimination of cyanogens from cassava for reducing toxicity and improving food safety. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 690–693. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.035>.

NASCIMENTO, G. A.; BARBOSA J. S. BPF – Boas Práticas de Fabricação: uma revisão. *Higiene Alimentar*. São Paulo. v.21, p.24–30, n.148, 2007.

OKAFOR,P.N; OKOROWKWO,C.O; MADUAWU,E.N. Occupational and dietary exposures of humans to cyanide poisoning from large scale cassava processing and ingestion of cassava fods. *Food and Chemical Toxicology*,v.40, n.7,p.1001-1005, 2002.

OKE, O.L. Eliminating cyanogens from cassava through processing: technology and tradition. *Acta Horticult.* 375, 163–174.1994.

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, 2010.

PARÁ. AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARÁ (ADEPARÁ). Instrução Normativa Nº 1 DE 06/05/2016. Dispõe sobre o regulamento técnico de produção da maniva cozida e dá outras providências. Padrão de Identidade e Qualidade da Maniva Cozida para produção e comercialização no Estado do Pará, 2016. DOE de 09/05/2016.

PESTANA, T. C; CASTRO, G. H. F. Potencial da rama de mandioca para uso na alimentação de ruminantes: Revisão. *Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.9, n.10, p.457–466, 2015.

SACCOL, A. L. F.; STANGARLIN, L.; RICHARDS, N. S.; HECKTHEUER, L. H. (2009). Avaliação das boas práticas em duas visões: técnica e da empresa. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.2, p.19–23, 2009.

SCARPIN, d. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos antes e após a implementação de boas práticas de fabricação em agroindústrias da região extremo oeste catarinense. *Trabalho de conclusão de curso de especialização*. Universidade do oeste de santa catarina- unoesc.campus de são miguel do oeste. 2015.

SERAFIM, L. C.; SILVA, L. O. N. Implementação da ferramenta Boas Práticas de Fabricação na produção de polpas de frutas. *Revista de Ciências Exatas*, v.27, n.1–2, p.4–14, 2008.

SIBBESEN, O.; KOCH, B.; HALKIER, B. A.; MOLLER, B. L. Isolation of the hemethiolate enzyme cytochrome P450^{Tyr}, which catalyzes the committed step in the biosynthesis of the cyanogenic glucoside dhurrin in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.91, p.9740–9744, 1994.

SILVA, G.G.C. da; NUNES, C.G.F.; OLIVEIRA, E.M.M; SANTOS, M.A. dos. Toxicidade cianogênica em partes da planta de cultivares de mandioca cultivados em Mossoró-RN. **Revista Ceres**, v.51, p.56–66, 2004.

SILVA, L. A.; CORREIA, A. F. K. Manual de boas práticas de fabricação para indústria fracionadora de alimentos. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v.16, n.32, p.39–57, 2009.

SIRITUNGA, D.; SAYRE, R. Engineering cyanogen synthesis and turnover in cassava (*Manihot esculenta*). **Plant Molecular Biology**, v.56, p.661–669, 2004.

SHAMA, A.I.Y.; WASMA, A.A.A. Evaluation of the toxicity of *Manihot esculenta* of Wistar rats after traditional Sudanese processing. **J. Pharmacol. Toxicol.**, v.6, p.418–426, 2011.

SOARES, I.A; TÉO, M.S; DEBASTIANE, C; RETUCI, V.S; BARONI, S. Concentrado proteico obtido das folhas de mandioca (*manihot esculenta* crantz) de três variedades comerciais. **Acta Ambiental Catarinense** Vol. 13, No. 1.2016.

SOUZA, A.S.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; MOTA, A.D.S.; PALMA, M.N.N.; FRANCO, M.O.; DUTRA, E.S.; SANTOS, C.C.R.; AGUIAR, A.C.R.; OLIVIERA, C.R.; ROCHA, W.J.B. Valor nutricional de frações da parte aérea de quatro variedades de mandioca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** [online], v.12, n.2, p.441-455, 2011.

SREEJA, V. G.; NAGAHARA, N.; LI, Q.; MINAMI, M. New aspects in pathogenesis of konzo: neural cell damage directly caused by linamarin contained in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **British Journal of Nutrition**, v.90, p.467–472, 2003.

STEPHENSON, K.; AMTHOR, R.; MALLOWA, S.; NUNGO, R.; MAZIYA-DIXON, B.; GICHUKI, S.; MBANASO, A.; MANARY, M. Consuming cassava as a staple food places children 2–5 years old at risk for inadequate protein intake, an observational study in Kenya and Nigeria. **Nutrition Journal**, v.9, p.9, 2010. doi: [10.1186/1475-2891-9-9](https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-9)

PEREIRA, I. G.; VAGULA, J. M.; MARCH, D. F.; BARÃO, C. E.; ALMEIDA, G. R. S.; VISENTAINER, J. V.; MARUYAMA, S. A.; SANTOS JÚNIOR, O. O. Easy method for removal of cyanogens from cassava leaves with retention of vitamins and omega-3 fatty acids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p.1290–1296, 2016.

ROSENTHAL, D; SLATTERY, R; MILLER, R; GRENNAN, A; CAVAGNARO, T; FAUQUET, C; GLEADOW, R; ORT, D. Cassava about-FACE: Greater than expected yield stimulation of cassava (*Manihot esculenta*) by future CO₂ levels. **Global Change Biology**, v.18, p.2661–2675, 2012.

TOKARNIA, C.H. et al. **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. 2.ed. Rio de Janeiro: Helianthus. 2012. 566 p.

VALLE, T. L.; CARVALHO, C. R. L.; RAMOS, M. T. B.; MÜHLEN, G. S.; VILLELA, O. V. Conteúdo cianogênico em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas. **Bragantia**, v.63, p.221–226, 2004

VASCONCELOS, A.T., TWIDDY, D.R., WESTBY, A., REILLY, P.J.A. Detoxification of cyanide during gari preparation. *Int. J. Food Sci. Technol.* 25, 198-203.1990.

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

WAJANT, H.; PFIZENMAIER, K. Identification of potential active site residues in the hydroxynitrile lyase from *Manihot esculenta* by site-directed mutagenesis. *Journal of Biological Chemistry*, v.271, p.25830–25834, 1996.

WESTBY, A., 1991. Strategies for research into the mechanisms of cyanide reduction during the fermentation of cassava. *Food Lab. News* 7, 24–25.

WHITE, W.; McMAHON, J.; SAYRE, R. T. Regulation of cyanogenesis in cassava. *Acta Horticulture*, v.375, p.69–78, 1994.

WHITE, W.; SAYRE, R. T. The characterization of hydroxynitrile lyase for the production of safe food products from cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) In DL Gustine, HE Flores, eds, *Phytochemicals and Health. Current Topics in Plant Physiology*, v.15, p.303–304, 1995.

YEOH, H. H.; CHEW, M. Y. Protein content and amino-acid composition of cassava leaf. *Phytochemistry*, v.15, p.1597–1599, 1976.

WOBETO, C. Nutrientes e antinutrientes da farinha de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* crantz) em três idades da planta. 2003. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2003. 82 f.

WOBETO, C., Corrêa, A. D., Abreu, C. M. P., Santos, C. D., & Pereira, H. V. Antinutrients in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf powder at three ages of the plant. *Food Science and Technology* (Campinas), 27, 108e112.2007.

FOLHAS DE MANDIOCA COZIDAS: TEORES DE COMPOSTOS CIANOGENICOS, AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E DAS CONDIÇÕES DE PROCESSAMENTO

Capítulo em formato de artigo submetido a revista científica

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os teores de compostos cianogênicos e a qualidade microbiológica e físico-química de folhas de mandiocas cozidas, comercializadas na cidade de Belém-PA, assim como, verificar as etapas de processamento executadas em agroindústrias e feiras e realizar um diagnóstico das Boas Práticas de Fabricação (BPF) em duas agroindústrias. Foram coletadas dez amostras, sendo cinco de feiras e cinco de supermercado e realizadas as análises de compostos cianogênicos, *Salmonella spp*, *Bacillus cereus*, estafilococos coagulase positiva, coliformes a 45°C, aeróbios mesófilos, bolores e leveduras, composição centesimal, pH e acidez. Verificou-se os processos para produção de folhas de mandioca cozidas em feiras e agroindústrias. As BPF foram avaliadas através da aplicação de *check-list*. Os resultados dos compostos cianogênicos variaram de 1,25 a 8,22 mg HCN/kg, estando 100% acima do preconizado pela legislação para cianeto livre. Todas as amostras estiveram em conformidade com a legislação para *Salmonella spp*, estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus*. Para coliformes a 45°C, 60% das amostras de feiras e 20% do supermercado estiveram em concordância com a legislação. Os resultados de aeróbios mesófilos e bolores e leveduras variaram de <2,40 a 5,38 e <2,88 a 7,30 log UFC/g, respectivamente. As amostras de feiras, estavam abaixo do mínimo preconizado para umidade, lipídios e pH e as do supermercado, abaixo do estabelecido para cinzas, lipídios e pH. As agroindústrias foram consideradas de risco alto em relação as BPF. Alterações no processamento influenciam nos teores de compostos cianogênicos, bem como a escassez das BPF são precedentes a contaminações.

Palavras-chave Subproduto da cultura da mandioca, Ácido cianídrico (HCN), Físico-químico, Microbiológico.

1 Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma angiosperma da classe das dicotiledôneas, da família Euphorbiaceae, composta por cerca de 7200 espécies, com característica de apresentar glicosídeos cianogênicos e látex. Em sua área nativa, na América do Sul, onde foi domesticada há milhares de anos e no continente africano, onde foi introduzida durante o século XVI, é uma das mais importantes fontes de alimentos básicos, principalmente devido às suas raízes amiláceas (Ceballos e La Cruz, 2012; Gabriel *et al.*, 2014; Faostat, 2013).

A parte aérea da mandioca (ou rama) compreende a porção da planta que fica acima do solo e, esta é considerada um subproduto gerado na colheita das raízes. Dependendo da variedade, as folhas de mandioca são ricas em proteínas, minerais, vitaminas B1, B2 e C e carotenos. Além do menor teor de metionina, lisina e talvez isoleucina, o perfil de aminoácidos da proteína da folha de mandioca se compara favoravelmente aos do leite, queijo, soja, peixe e ovo (Hagglade *et al.*, 2012; Soares *et al.*, 2016).

Folhas de mandioca são amplamente comercializadas e utilizadas para consumo humano no Norte do Brasil, como componente principal no preparo de um prato típico chamado maniçoba (Latif e Müller, 2015; Costa *et al.*, 2016; Modesto Junior *et al.*, 2019). Em virtude disso, a necessidade do gerenciamento da segurança do alimento para os derivados da mandioca se faz necessário, tendo em vista que estes produtos estão sendo cada vez mais exportados para outras regiões, atingindo um público maior.

Embora sejam uma fonte de nutrientes valiosos as folhas de mandioca também possuem toxicidade devido a presença de glicosídeos cianogênicos, e fatores antinutricionais como alto teor de fibra, taninos, polifenóis e ácido fítico, que podem ter efeitos tóxicos dependendo do método de processamento e quantidade consumida (Pestana e Castro, 2015).

A forma de obtenção dos subprodutos da mandioca segue, tradicionalmente, processos artesanais ou semimecanizados que podem apresentar variações pelas características de cada localidade e, devido a isto, há a ausência de parâmetros estabelecidos que garantam o padrão de identidade e qualidade do produto, e por isso há ocorrência de alguns fatores considerados críticos no processamento, como: presença residual de ácido cianídrico (HCN) em níveis acima dos preconizados pela legislação vigente, presença de microrganismos patogênicos e deterioradores, problemas higiênico-sanitários nas unidades processadoras e equipamentos e utensílios confeccionados em materiais de difícil higienização (Abreu e Mattietto, 2016).

Em vista disto, este estudo teve como objetivo avaliar o teor de compostos cianogênicos e a qualidade microbiológica e físico-química de folhas de mandiocas cozidas, comercializadas na cidade de Belém-PA, assim como, verificar as etapas de processamento executadas em agroindústrias e principais feiras da capital paraense e realizar um diagnóstico das Boas Práticas de Fabricação (BPF) em duas agroindústrias no Nordeste paraense.

2 Material e métodos

2.1 Coleta de amostras

Foram coletadas dez amostras comerciais de folhas de mandioca moídas e cozidas (manivas cozidas) na cidade de Belém -PA, sendo: cinco amostras adquiridas em duas feiras livres, provenientes de unidades artesanais (codificadas de I a V) e cinco amostras adquiridas em um supermercado, provenientes de unidades agroindústrias (codificadas de VI a X). Todas as amostras (feiras e supermercado) foram adquiridas nas mesmas condições em que são comercializadas, a temperatura de aproximadamente 25°C e em sacos de polietileno de 1kg. Após coleta, todas as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e encaminhadas aos laboratórios para realização das análises de teores de compostos cianogênicos, análises microbiológicas e físico-químicas.

2.2 Análises de compostos cianogênicos

Os teores de cianeto total (CT), não-glicosídico (CNG) e livre (CL) foram determinados segundo metodologia proposta por Essers et al. (1993), com adaptações, na qual, após a extração dos compostos cianogênicos procedeu-se uma reação colorimétrica utilizando cloramina T, isonicotinato e 1,3- dimetilbarbiturato, seguida de leitura espectrofotométrica à 605 nm. A enzima linamarase foi obtida e purificada de acordo com a metodologia proposta por Cooke (1979).

Para extração dos compostos cianogênicos, 20 g de folhas de mandioca cozidas foram homogeneizadas em processador (Philips Walita Viva Collection RI7762), com 200 mL de

solução alcoólica de ácido ortofosfórico 0,1M (adicionada de cloreto de sódio). Posteriormente, a solução foi centrifugada (centrífuga Excelsa baby Fanem, modelo I 206-BL, USA) a 5000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante armazenado em frascos plásticos a -18°C. Para análise, os extratos das amostras foram dispostos em tubos de ensaio, em triplicata, e preparados de forma distinta, antes da reação colorimétrica, conforme descrito a seguir.

Para análise o CT, 0,1 mL de extrato foi adicionado em tubo de ensaio contendo 0,4 mL de tampão pH 7,0, seguido da adição de 0,1 mL de enzima pré-purificada. Após incubação a $30\pm 1^\circ\text{C}$ em banho de água, por 15 minutos, foi adicionado 0,6 mL de solução de NaOH 0,2 M, e após 5 minutos, foi adicionado 2,8 mL de tampão pH 6, seguindo-se para a reação colorimétrica. Para o CNG, 0,1 mL de extrato foi adicionado em tubo de ensaio contendo 0,6 mL de tampão pH 6,0. Em seguida, foi acrescido 0,6 mL de solução de NaOH 0,2 M, e após 5 minutos foi adicionado 2,9 mL de tampão pH 6,0, seguindo-se para a reação colorimétrica. Enquanto para análise de CL, 0,1 mL de extrato foram diluídos em 3,9 mL de tampão pH 6, antes da reação colorimétrica.

Para a reação colorimétrica, em cada um dos tubos preparados, adicionou-se 0,1 mL de solução de cloramina T 1%, e após cinco minutos, foi adicionado 0,6 mL de solução de isonicotinato/dimetilbarbiturato. Após 10 minutos de reação, o complexo colorido formado foi lido em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Evolution 60, Massachusetts) a 605 nm.

Os conteúdos de CT, CNG e CL foram quantificados através de curva analítica de sete pontos (0,5-20,00 $\mu\text{g HCN/mL}$), com $R^2 > 0,99$, em triplicata e os resultados expresso em mg HCN/kg. Os resultados de CL foram analisados em relação aos parâmetros para compostos cianogênicos estabelecidos pela legislação (Pará, 2016).

2.3 Análises microbiológicas

Todas as amostras de folhas de mandioca cozidas foram analisadas quanto aos parâmetros microbiológicos exigidos pela legislação vigente (Pará, 2016) que foram: pesquisa

de *Salmonella spp* e contagens de estafilococos coagulase positiva, *Bacillus cereus* e coliformes a 45°C. Também foi feita a contagem de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras com o objetivo de avaliar as condições higiênicas das amostras. A metodologia analítica utilizada encontra-se descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (Salfinger e Tortorello, 2015) e todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4 Análises físico-químicas

Foram realizadas as análises de: umidade, cinzas, lipídios, proteínas totais utilizando fator de 5,75 (proteína vegetal), fibras e carboidratos por diferença. Todas as análises foram realizadas de acordo com metodologias descritas no AOAC (2007).

O pH e acidez total titulável (ATT) foram determinados também segundo metodologias descritas no AOAC (2007). O pH foi obtido por leitura direta em potenciômetro (Tecnal, TEC-51, Brasil). O mesmo sistema utilizado para determinação do pH foi utilizado também para determinação da ATT, onde foi adicionado solução de NaOH 0,1 M e verificado simultaneamente o pH até que o mesmo se encontrasse entre 8,1-8,4, sendo verificado o volume de NaOH gasto. Os resultados foram analisados em relação aos parâmetros físico-químicos estabelecidos pela legislação vigente (Pará, 2016).

2.5 Verificação das etapas de processamento de folhas de mandioca cozidas em feiras e agroindústrias

Foram verificadas por meio de visitas *in loco* as etapas de processamento de folhas de mandioca cozidas utilizados atualmente em duas agroindústrias consideradas de grande porte, localizadas na região Nordeste do estado do Pará (Brasil), e em duas das principais feiras da cidade de Belém (PA-Brasil). As visitas em ambos locais foram realizadas pela parte da manhã, sendo as descrições das etapas compostas por relatos dos proprietários sobre cada uma das

etapas executadas juntamente com material fotográfico. Nas agroindústrias e feiras foram verificadas as etapas desde a recepção das folhas de mandioca *in natura* até o produto final.

2.6 Avaliação das Boas Práticas de Fabricação (BPF)

Para a verificação do nível de adequação de duas agroindústrias processadoras de folhas de mandioca cozidas em relação às Boas Práticas de Fabricação (BPF) foi elaborada uma Lista de Verificação de Boas Práticas de Fabricação (LVBPF), adaptada da RDC nº275 de 21 de outubro de 2002 (Brasil, 2002). A LVBPF foi composta por 165 itens de verificação, distribuídos em cinco blocos: Bloco 1 – Edificação e instalações; Bloco 2 - Equipamentos, móveis e utensílios; Bloco 3 – Vestuário; Bloco 4 – Produção e transporte do alimento; Bloco 5 – Documentação, sendo os itens avaliados em: Conforme (C), quando se encontrarem de acordo com a legislação; Não Conforme (NC), quando não se encontrarem de acordo com a legislação e Não se Aplica (NA) para os itens que não possuem relevância/aplicação para as referidas indústrias.

Para cada bloco da lista foi expresso um valor, em porcentagem, baseados nas conformidades ou não conformidades. Todos os itens atendidos foram somados para obter a porcentagem total do estabelecimento, e a classificação das agroindústrias foi realizada de acordo com a RDC nº 275 (Brasil, 2002) em Risco Baixo (76-100% de conformidades); Risco Médio (51-75% de conformidades) e Risco Alto (0-50% de conformidades). A LVBPF foi aplicada em duas vistorias em cada agroindústria. Após a primeira vistoria foi elaborada um Plano de Ações Corretivas e entregue aos proprietários. Os resultados foram expressos por meio da média entre as duas avaliações realizadas.

2.7 Análise estatística

Os resultados dos teores de compostos cianogênicos, análises microbiológicas (expressos na base log) e físico-químicas foram expressos por meio de média±desvio padrão. As médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e teste complementar de

diferença (Teste de Tukey, $p < 0,05$) para comparação de médias, utilizando o software Statistica[®] Kernel Release 7.1.

3 Resultados e discussão

3.1 Análises de compostos cianogênicos

Os valores referentes aos teores de cianeto total (CT), cianeto não-glicosídico (CNG) e cianeto livre (CL) nas amostras de folhas de mandioca cozidas são mostrados na Tabela 1. Todas as amostras analisadas ($n=10$) apresentaram valores superiores do preconizado pela legislação para CL, que é de 0,5 mg HCN/kg, fato que merece particular atenção, uma vez que o consumo de produtos de mandioca com alta concentração de cianogênicos pode levar a doenças graves ou até a morte (Gleadow e Moller, 2014).

Tabela 1. Teores de compostos cianogênicos (CT, CNG e CL) das amostras de folhas de mandioca cozidas provenientes de feiras e supermercado da cidade de Belém-PA

Amostras	Codificação	CT (mg HCN/kg)	CNG (mg HCN/kg)	CL (mg HCN/kg)
Unidades artesanais (feiras)	I	2,75±0,66 ^{cd}	8,22±0,00 ^a	2,33±0,07 ^{cdef}
	II	7,55±0,07 ^a	5,20±0,29 ^c	2,96±0,07 ^{bc}
	III	7,84±0,88 ^a	3,66±0,07 ^d	3,29±0,15 ^{ab}
	IV	3,32±0,00 ^c	3,95±0,15 ^d	3,27±0,22 ^{ab}
	V	2,13±0,07 ^{cd}	1,45±0,44 ^e	1,77±0,30 ^{ef}
Unidades agroindustriais (supermercado)	VI	1,83±0,07 ^d	1,62±0,07 ^e	1,72±0,07 ^f
	VII	2,13±0,07 ^{cd}	2,13±0,07 ^e	2,44±0,07 ^{cde}
	VIII	5,67±0,00 ^b	6,98±0,52 ^b	3,78±0,15 ^a
	IX	5,33±0,00 ^b	5,01±0,00 ^c	2,50±0,30 ^{cd}
	X	1,41±0,07 ^d	1,25±0,00 ^e	1,94±0,07 ^{def}
PARÁ, 2016		-	-	0,5

Resultados expressos por meio de média ± desvio padrão ($n = 3$). As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$); CT= cianeto total; CNG= cianeto não glicosídico; CL= cianeto livre; -= sem parâmetros estabelecidos na legislação.

A ingestão contínua de produtos da mandioca, não processados ou processados inadequadamente, contendo altos níveis de cianógenos (linamarina, cianidrina e HCN),

combinado com uma dieta deficiente em aminoácidos, que contenham enxofre (metionina e cisteína) pode levar à intoxicação crônica, uma vez que esses aminoácidos são necessários para a detoxificação de cianetos dos organismos de seres humanos (Jorgensen *et al.*, 2011).

Os valores de CT obtidos estiveram abaixo dos dados obtidos por Modesto Junior *et al.* (2019) em folhas de mandioca cozidas com adição de água por 3 horas a 100°C (23 a 82 mg HCN/kg). As folhas de mandioca na região Norte do Brasil são cozidas com adição de água por períodos que variam de 48 a 72h (agroindústrias) e de cinco a sete dias (feiras) desta forma, segundo Nambisan (2011) a diminuição dos valores pode ocorrer devido a degradação da linamarina pela linamarase, uma vez que as folhas da mandioca foram moídas e adicionadas de água, facilitando a hidrólise da linamarina em acetona cianidrina, que é hidrolisada em HCN.

As acetonas cianidrinás são decompostas em cetonas e HCN por meio de duas rotas: espontaneamente, em pH > 4,0 e temperatura > 30°C, ou ainda, devido à atividade da enzima hidroxinitrila liase (HNL), em valores de pH entre 3,5 - 6,0 e temperaturas ≤ 60°C (Kalenga Saka e Nyrenda, 2012; Câmara e Soto-Blanco, 2013).

Para os resultados de CNG, de modo geral, existem poucas informações na literatura sobre dosagens de CNG em mandioca e seus derivados, no entanto, o CNG é importante tanto quanto o CT e CL, uma vez que é a forma de cianeto que se apresenta em maiores quantidades residuais nos produtos de modo geral. As cianidrinás quando ingeridas se decompõem no nível de pH alcalino no intestino delgado para produzir uma quantidade molar equivalente à de cianeto. Assim sendo, a ingestão de altas concentrações de cianidrinás pode ser tão prejudicial ao metabolismo humano quanto a de cianeto (Kalenga Saka e Nyrenda, 2012).

Os resultados de CL se encontraram abaixo dos valores de Modesto Junior *et al.* (2019) (3,6 a 25 mg HCN/kg), em seu estudo com folhas de mandiocas cozidas por 3h a 100°C. Uma justificativa seria pelo fato de, em geral, as amostras comerciais de folhas mandiocas na região Norte do Brasil serem fervidas com adição de água por períodos superiores a 48 horas, o que

ocasiona a maior remoção de compostos cianogênicos. O tratamento de ebulição em água é um método amplamente utilizado na África para remover compostos cianogênicos de folhas de mandioca, geralmente em períodos variando de 10 a 120 minutos. Esse processo também é muito comum no Brasil durante o preparo da maniçoba (Modesto Junior *et al.*, 2019).

As diferenças significativas observadas nos valores de CT, CNG e CL encontrados para amostras de folhas de mandioca cozidas podem estar relacionadas com a quantidade de compostos cianogênicos da matéria-prima e com as condições de processamento (Chisté *et al.*, 2007). É válido ressaltar que variações de processamento podem influenciar diretamente no conteúdo de cianeto, podendo-se citar no processamento de folhas de mandioca cozidas a realização do cozimento anterior a etapa de moagem, prática comum em algumas agroindústrias. Durante o processo de moagem, ocorre a ruptura do tecido vegetal e a linamarina é exposta a linamarase, dando início a formação de HCN, que será posteriormente volatilizado (Gleadow e Moller, 2014).

Realizando-se a etapa de cozimento anterior a moagem, há a inativação enzimática (linamarase) antes que ocorra a hidrólise dos glicosídeos cianogênicos para formação cianidrinás e posteriormente de cianeto livre, fazendo com que o produto final ainda possua alto teor de glicosídeos cianogênicos (Cohen *et al.*, 2007).

Outra variável que impacta diretamente no conteúdo de cianógenos seria o tempo de cozimento, que varia dependendo de cada estabelecimento processador. A literatura sugere períodos superiores a 72 horas (Abreu e Mattietto, 2016), entretanto, esse tempo médio de cozimento pode ser menor ou maior dependendo do local de processamento. Em feiras podem ser de cinco a sete dias enquanto que em agroindústrias de 48-72 h. O tempo de cozimento pode afetar significativamente o teor de cianeto no produto, devido a elevada volatilização do cianeto em condições de aquecimento (Campos *et al.*, 2016).

3.2 Análises microbiológicas

Todas as amostras analisadas (n=10) apresentaram ausência de *Salmonella spp* e as contagens de estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus* foram $< 2 \log$ UFC/g, estando de acordo com a legislação vigente (Pará, 2016).

Em um estudo com um produto derivado de folhas de mandioca oriundos de Madagascar e Tanzânia, Abass *et al.* (2019) também não encontraram *Salmonella spp* em nenhuma das amostras analisadas (n=90), isto deve-se ao fato desta bactéria ser sensível ao calor, não sobrevivendo à temperatura superior a 70°C. Os vegetais normalmente não são considerados hospedeiros naturais de *Salmonella spp*. Entretanto, produtos vegetais verdes são considerados veículos importantes ou mesmo reservatórios adicionais para patógenos de origem alimentar, incluindo *Salmonella spp*, que pode contaminar os vegetais durante qualquer um dos muitos estágios de produção, pois este patógeno está presente no meio ambiente e na cadeia alimentar através do estrume, insetos, água e solo (Park *et al.*, 2012; Hou *et al.*, 2013).

O gênero *Staphylococcus*, com destaque para o *Staphylococcus aureus* constituem um importante grupo de patógenos. A contaminação pode ocorrer diretamente de animais, manipuladores infectados ou pode resultar de falta de higiene durante o processamento ou no armazenamento de alimentos (Kotzekidou, 2013).

B. cereus é um bastonete aeróbio formador de esporo e está comumente presente no solo, ar, poeira, água, alimentos secos e processados, especialmente de origem vegetal (Tewari e Abdullah, 2015). A presença de *B. cereus* nos alimentos em concentrações $> 4 \log$ UFC/g é conhecida por causar intoxicação alimentar (síndrome emética e síndrome diarreica). Os esporos sobrevivem a cocção em altas temperaturas; portanto, o controle e a prevenção da contaminação de alimentos são necessários (Glasset *et al.*, 2016).

Na Tabela 2 encontram-se os resultados de coliformes a 45°C, bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras nas amostras de folhas de mandioca cozidas.

Tabela 2. Contagens de coliformes a 45°C, aeróbios mesófilos e bolores e leveduras das amostras de folhas de mandioca cozidas provenientes de feiras e supermercado da cidade de Belém-PA

Amostras	Codificação	Coliformes a 45°C (log NMP/g)	Bactérias aeróbias mesófilas (log UFC/g)	Bolores e leveduras (log UFC/g)
Unidades	I	<0,48 ^e	5,05 ^b	7,30 ^a
Artesanais (feiras)	II	2,18 ^a	3,24 ^g	4,05 ^g
	III	1,56 ^c	2,73 ⁱ	4,91 ^d
	IV	<0,48 ^e	4,31 ^d	<2,88 ^h
	V	<0,48 ^e	<2,40 ^j	4,76 ^e
	Unidades	VI	<0,48 ^e	3,39 ^e
Agroindustriais (supermercado)	VII	1,56 ^c	4,70 ^c	5,47 ^c
	VIII	1,56 ^c	5,38 ^a	4,54 ^f
	IX	1,87 ^b	2,98 ^h	<2,88 ^h
	X	1,04 ^d	3,31 ^f	5,47 ^c
PARÁ, 2016		<0,48	-	-

Resultados expressos por meio de média. As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$). - = sem parâmetros estabelecidos no padrão.

Os valores para coliformes a 45°C das amostras oriundas de feiras variaram de <0,48 a 2,18 log NMP/g, estando 60% (n=3) em conformidade com a legislação, que estabelece valores de <0,48 log NMP/g (Pará, 2016). Para as amostras de supermercado, a variação foi de <0,48 a 1,87 log NMP/g, somente com 20% (n=1) encontrando-se dentro do previsto pela legislação (Pará, 2016). As amostras provenientes de feiras em geral são embaladas ainda quentes, pouco tempo após o cozimento, e as amostras de supermercado (provenientes de agroindústrias) após cozimento seguem ainda para uma etapa de resfriamento, sendo este considerado lento, onde o alimento fica em contato com o manipulador, superfícies e utensílios, que podem vir a carrear contaminações ao produto. Deste modo, torna-se evidente a ocorrência de recontaminação do

alimento após o cozimento, apontando escassas condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos processadores.

As bactérias do grupo coliformes são indicadores comuns da qualidade sanitária dos alimentos e da água, podendo ser encontrados em ambientes aquáticos, no solo e na vegetação. Foram implicados em alguns casos de infecções com risco de vida e sua presença é usada para indicar a presença de outros organismos patogênicos de origem fecal. Altos níveis de contaminação por microrganismos desse grupo em vegetais é considerado um indicativo de problemas de higiene, apontando para a falta de boas práticas durante o cultivo e processamento (Machado *et al.*, 2018).

Não há parâmetros estabelecidos na legislação vigente para contagem de bactérias aeróbias mesófilas e de bolores e leveduras. O monitoramento de aeróbios mesófilos pode ser utilizado com sucesso como indicativo da qualidade sanitária, aceitabilidade organoléptica, aplicação de Boas Práticas de Fabricação e, em menor extensão, como indicador de segurança alimentar (Kregiel, 2015). A presença de bolores e leveduras também pode ser considerada um indicativo da qualidade higiênica, pois segundo Kregiel (2015), esporos fúngicos ou fragmentos de conídios e micélio podem contaminar alimentos em qualquer estágio do processamento. Assim como as leveduras, os bolores podem se estabelecer nas indústrias processadoras devido à má higiene do processo ou à propagação de embalagens contaminadas.

As contagens de bactérias mesófilas variaram de $<2,40$ a $5,05$ log UFC/g e $2,98$ a $5,38$ log UFC/g para amostras de feiras e supermercados, respectivamente. As agroindústrias processadoras de folhas de mandioca cozidas possuem deficiências em relação as Boas Práticas de Fabricação. Este fato pode ser um precedente a contaminações, que podem ocorrer de várias formas, podendo ser uma justificativa as altas contagens de bactérias aeróbias mesófilas, sendo esta hipótese corroborada por Tresseler *et al.* (2009) que enfatizam que bactérias mesófilas podem ser introduzidas na área de processamento por vários vetores e podem se estabelecer e

multiplicar, particularmente em locais da área de processamento que são de difícil limpeza e sanitização, tornando-se focos de contaminação.

Na contagem de bolores e leveduras, os resultados variaram de <2,88 a 7,30 UFC/g e <2,88 a 6,68 UFC/g para amostras de feiras e supermercado, respectivamente. Abass *et al.* (2019) encontraram valores acima de 3 log UFC/g em 90% das amostras de produtos derivados da mandioca analisados em seu estudo. A alta carga de fungos associada a presença de coliformes sugere falta de higiene durante o processamento, possivelmente devido ao uso de água com características insatisfatórias e utilização de utensílios de processamento mal higienizados. (Abass *et al.*, 2019).

3.3 Análises físico-químicas

Os resultados referentes a caracterização físico-química das folhas de mandiocas cozidas oriundas de feiras e supermercado estão apresentados na Tabela 3. Verifica-se que nas amostras oriundas de feiras, 100% encontraram-se abaixo do mínimo preconizado na legislação (Pará, 2016) para umidade, lipídios e pH. Em relação a cinzas, 80% estão abaixo do mínimo exigido e para proteínas, 80% encontraram-se acima do máximo permitido.

Em relação as amostras de supermercado, 100% encontrou-se dentro da faixa estabelecida na legislação para umidade (Pará, 2016). Entretanto, todas as amostras estiveram abaixo do mínimo exigido para cinzas, lipídios e pH. Para proteínas, 60% se encontrou acima do máximo preconizado para este parâmetro.

Os valores de umidade encontrados estão acima dos relatados por diversos autores quando analisaram folhas de mandioca *in natura* (Oni, 2010; Souza *et al.*, 2011; Modesto *et al.*, 2019), que pode ser fundamentado pelo fato de na região Norte do Brasil, as folhas de mandioca serem cozidas com adição de água e, embora parte da água seja eliminada por evaporação durante o processo de cocção, no produto final ainda é presente boa parte da água utilizada no cozimento.

Tabela 3. Caracterização físico-química das amostras de folhas de mandioca cozidas provenientes de feiras e supermercado da cidade de Belém-PA

Amostras	Codificação	Umidade*	Cinzas**	Proteínas**	Lipídios**	Carboidratos**	Fibras**	ATT***	pH
Unidades	I	87,67±0,41 ^d	5,21±0,12 ^c	28,63±0,52 ^b	9,55±0,24 ^a	51,06±0,66 ^{de}	16,72±0,18 ^d	3,88±0,01 ^{cd}	4,46±0,01 ^d
Artesanais (feiras)	II	84,72±0,15 ^f	4,30±0,12 ^e	30,31±0,31 ^a	8,64±0,45 ^b	51,52±1,24 ^{cde}	15,63±0,25 ^d	3,85±0,27 ^{cd}	5,08±0,05 ^b
	III	86,09±0,12 ^e	5,85±0,11 ^b	27,12±0,04 ^c	9,21±0,58 ^{ab}	50,74±1,12 ^{de}	15,96±0,44 ^d	7,98±1,93 ^a	4,21±0,02 ^g
	IV	87,67±0,50 ^d	3,11±0,04 ^g	28,69±0,27 ^b	5,90±0,12 ^e	56,06±0,44 ^b	16,10±0,16 ^d	6,48±0,20 ^{ab}	4,25±0,01 ^{fg}
	V	87,09±0,63 ^{de}	7,20±0,15 ^a	30,56±0,39 ^a	6,69±0,10 ^d	49,37±1,04 ^e	36,75±1,67 ^b	3,07±0,01 ^{de}	4,55±0,01 ^c
Unidades	VI	89,62±0,30 ^{bc}	4,59±0,06 ^d	23,52±0,77 ^d	9,48±0,15 ^a	56,62±0,99 ^b	19,32±0,49 ^d	1,78±0,20 ^e	5,24±0,02 ^a
Agroindustriais (supermercado)	VII	90,36±0,45 ^b	3,70±0,02 ^f	31,41±0,34 ^a	7,56±0,03 ^c	51,17±0,42 ^{de}	39,55±0,79 ^{ab}	3,12±0,27 ^{de}	4,35±0,01 ^e
	VIII	90,34±0,9 ^b	1,81±0,02 ⁱ	27,95±0,28 ^{bc}	3,38±0,08 ^f	60,71±0,25 ^a	40,89±2,43 ^a	4,81±0,23 ^{bcd}	4,22±0,01 ^g
	IX	88,90±0,20 ^c	2,72±0,02 ^h	30,59±0,31 ^a	7,12±0,21 ^{cd}	53,52±0,37 ^c	30,98±1,41 ^c	7,97±0,45 ^a	4,29±0,01 ^f
	X	91,49±0,30 ^a	5,03±0,09 ^c	27,57±0,31 ^{bc}	8,62±0,05 ^b	52,66±0,33 ^{cd}	40,55±2,32 ^a	5,30±0,28 ^{bc}	4,28±0,01 ^f
PARÁ, 2016		88 (min)*	6 (min)**	20,47(min)**	18(min)**				5,5 (min)
		92 (máx)*	8 (máx)**	27,75(máx)**	22(máx)**	-	-	-	7,0 (máx)

Resultados expressos por meio da média ± desvio padrão (n = 3). As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (teste de Tukey, p ≤ 0,05); * = resultados expressos em g/100 gbu (base úmida); ** = resultados expressos em g/100 gbs (base seca); *** = resultado expresso em mEq NaOH /g; - = sem parâmetros estabelecidos no padrão.

Os resultados de cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos e fibras corroboram com dados de Achidi *et al.* (2008) quando avaliaram folhas de mandioca cozidas com adição de água que encontraram valores médios de 5,83; 35,42; 6,57, 32,31 e 18,77 g/100g, respectivamente.

Durante o processo de fervura das folhas de mandioca em água podem ocorrer alterações nos teores de cinzas associadas à lixiviação de alguns minerais na água, especialmente quando o processamento envolve o descarte de água, como o branqueamento em água ou imersão de um material alimentício antes de um processamento adicional. O branqueamento em água pode aumentar o teor de proteína das folhas de mandioca, podendo também reduzir o conteúdo de cinzas (Achidi *et al.*, 2008). Folhas de mandioca são quantitativamente ricas em proteína, porém são deficientes em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) necessários para a desintoxicação de cianogênicos no corpo humano (Bradbury e Denton, 2014).

É importante ressaltar que os resultados de lipídeos obtidos estão bem abaixo do mínimo requerido pela legislação vigente, embora concordem com a literatura. Tal fato pode sinalizar uma possível revisão dos limites exigidos pela legislação atual.

O teor de fibras tem uma correlação inversa com o teor de proteínas. No período em que as folhas apresentam maiores concentrações de proteínas, o teor de fibra se apresenta na faixa de 21,86 a 26,66 g/100 (matéria seca) nas folhas, assim sendo, a maior quantidade de proteínas em relação às fibras totais indica um alto potencial nutricional e tecnológico (Trombine e Leonel, 2014).

Em relação a ATT, os valores obtidos foram semelhantes aos resultados de Modesto Junior *et al.* (2019) (2,22 a 4,90 mEq NaOH 0,1 N/g). A importância da diminuição da ATT pode estar relacionada ao controle do crescimento de microrganismos, uma vez que este parâmetro é acompanhado por um aumento do pH. A diminuição na ATT pode ser explicada pelas contínuas alterações metabólicas dos ácidos orgânicos presentes nos vegetais em dióxido

de carbono e água. Além disso, a presença de altos níveis de substâncias redutoras, como taninos e polifenóis podem influenciar neste parâmetro (Ayala-Zavala et al., 2010).

Os valores de pH obtidos estiveram abaixo dos observados por Modesto Junior *et al.* (2019) em folhas de mandioca *in natura* (5,11 a 4,89), atentando para o fato de, segundo o mesmo autor, altos valores de pH associado a altos valores de umidade, permitem classificar as folhas de mandioca como mais suscetíveis à deterioração se não forem armazenados ou processados adequadamente.

3.4 Verificação das etapas de processamento de folhas de mandioca cozidas em feiras e agroindústrias

Em relação a verificação das etapas de processamento de folhas de mandioca cozidas utilizados atualmente em agroindústrias e feiras, observou-se que nas feiras, o processo inicia-se com a recepção das folhas, que são adquiridas de duas a três vezes por semana, armazenadas em sacos de rafia com capacidade para 30 kg. Posteriormente são lavadas por imersão em tanque com água e secas por agitação manual, seguindo para etapa de moagem (moedor de carne industrial).

Em períodos de grande demanda, o cozimento ocorre nas casas dos permissionários e em baixa demanda, nas próprias dependências das feiras, embora esta última opção seja uma prática proibida pela Prefeitura Municipal de Belém-PA. Na etapa de cozimento, o período varia de acordo com cada local de venda, sendo relatados períodos de cinco a sete dias. Após esta etapa, as folhas de mandioca cozidas são embaladas ainda quente, porém não há o controle da temperatura. Segundo Abreu e Mattietto (2016), após o cozimento, observa-se que é prática comum realizar a embalagem da maniva ainda quente em sacos plásticos de 1 kg, o que é válido, desde que o seu resfriamento ocorra da forma mais rápida possível.

Nas agroindústrias o processamento inicia com a recepção das folhas *in natura*, que são acondicionadas em saco de rafia (30 kg), ficando armazenadas na área de recepção da matéria-

prima por até cinco dias. Na área de processamento, as folhas são lavadas por imersão em tanques com água e posteriormente secas por agitação manual, sendo em seguida moídas (moedor de carne industrial, semelhantes aos utilizados na mesma etapa em feiras) e acondicionadas em panelas de alumínio industrial.

Foi verificado a prática da seguinte sequência de etapas: as folhas, após etapa de retirada da água excedente, seguem para etapa de cozimento e depois moagem. Este fato já havia sido relatado por Abreu e Mattietto (2016), que há dois modos de produção de folhas de mandioca cozidas na região Norte do Brasil: moagem das folhas antes ou depois do cozimento, sendo a moagem anterior ao cozimento o modo mais utilizado.

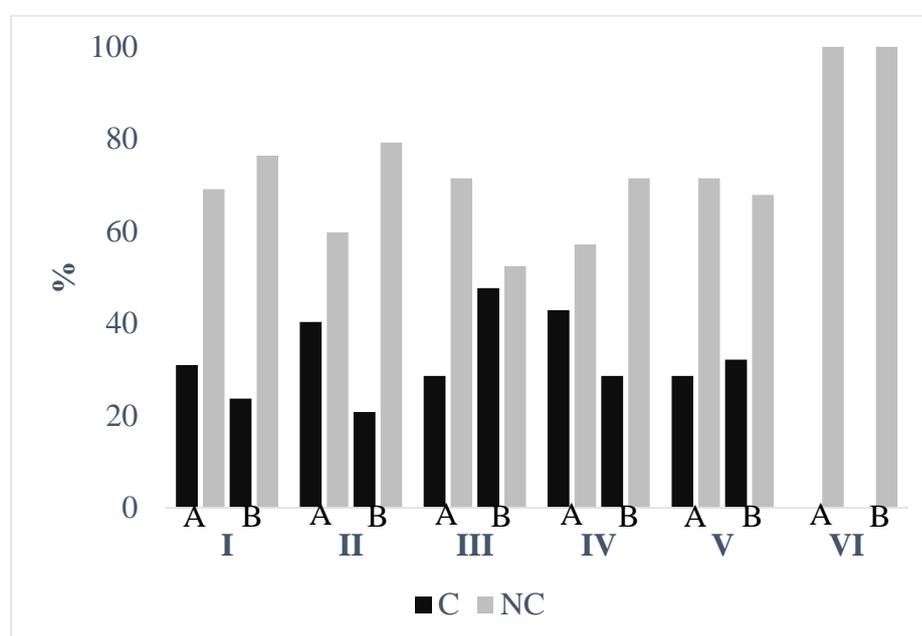
Na etapa de cozimento, as folhas são cozidas com adição de água, permanecendo em fervura por um período de 48-72 hs, em panelas de alumínio industrial. De acordo com Abreu e Mattietto (2016), além da questão de segurança alimentar, em eliminar todo o cianeto das folhas, o tempo de cozimento pode ter influência também na melhoria dos atributos sensoriais do produto. Durante o cozimento ocorre à eliminação do ácido cianídrico presente, devido ser altamente volátil, e a inativação da enzima linamarase a altas temperaturas, o que afeta o processo de hidrólise da linamarina, responsável pela liberação do princípio tóxico da mandioca (Cohen *et al.*, 2007).

Após o cozimento, o material segue para a etapa de resfriamento, onde o alimento pode permanecer no recipiente de cocção até alcançar temperatura ambiente, ou ser fracionado em recipientes menores, onde podem permanecer por um período de até 48 h. De acordo com Abreu e Mattietto (2016), há a tendência em deixar as folhas de mandioca cozidas resfriando em temperatura ambiente. O resfriamento lento possibilita a germinação de esporos de microorganismos que não foram inativados durante o cozimento, podendo causar alterações neste produto.

Após alcançar temperatura ambiente, o produto segue para embalagem, que são de material plástico com capacidade para 1kg, sendo em seguida acondicionadas em embalagens maiores, com capacidade para 30 kg e acondicionadas a temperatura ambiente até que os mesmos sejam transportados aos locais de comercialização.

3.5 Avaliação das Boas Práticas de Fabricação (BPF)

As percentagens de conformidades (C) e não conformidades (NC) referentes à aplicação da LVBPF nas agroindústrias processadoras de folhas de mandioca cozidas A e B está apresentado na Figura 1. Ambas foram classificadas como de risco alto, apresentando percentual geral de 30,91% (agroindústria A) e 23,64%, (agroindústria B). São escassas as BPF para a produção de mandioca e derivados no estado do Pará-Brasil, fato constatado em inspeção conjunta feita pelo Ministério Público Estadual (MPE) e Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARÁ) em diversas agroindústrias (Jusbrasil, 2012).



I: Avaliação geral; II: Edificação e instalações; III: Equipamentos, móveis e utensílios; IV: Vestuário; V: Produção e transporte do alimento; VI: Documentação.

Figura 1. Percentagens médias da avaliação geral, conformidades (C) e não conformidades obtidas em vistorias realizadas nas agroindústrias A e B processadoras de folhas de mandioca cozidas.

Em relação a agroindústria A, para o bloco 1 (edificação e instalações), dentre as conformidades avaliadas destacam-se a presença de vias de acesso interno pavimentadas, pisos, paredes e teto em bom estado de conservação e de material de fácil higienização e presença de proteção contra insetos e pragas nas janelas e para agroindústria B observou-se a presença de teto de fácil higienização e em bom estado de conservação. O percentual de NC no bloco 1 para a agroindústria A deveu-se entre outros fatores a inexistência de cantos abaulados nas paredes e teto e para agroindústria B em grande parte foram atribuídas às condições insatisfatórias no subitem de instalações sanitárias.

Os derivados da mandioca em sua grande maioria são fabricados por agroindústrias familiares e devido a isso deixa-se a desejar em relação a infraestrutura das instalações, o que pode vir a comprometer a qualidade do alimento produzido, já que tais condições dificultam a implantação das BPF (Scarpin, 2011).

Para o bloco 2 (equipamentos, móveis e utensílios) o percentual de C na agroindústria A foi atribuído a fatores como a existência de local apropriado para acondicionamento dos utensílios. Para a agroindústria B, o bloco 2 foi o de maior percentual de conformidades dentre os blocos avaliados neste local, ressaltando-se a presença de móveis e utensílios em número e em estado adequado que permitem fácil higienização. O percentual de NC do bloco 2 para a agroindústria A foi atribuído aos itens relacionados aos utensílios utilizados (material inapropriado, superfícies danificadas, inadequado estado de conservação e desenhos que dificultam a higienização adequada). Tanto a indústria A como B se mostraram deficientes no que diz respeito ao controle padronizado na frequência de higienização de equipamentos, móveis e utensílios.

Segundo dados estatísticos da Organização Mundial de Saúde (OMS), mais de 65% dos casos relatados de doenças de origem alimentar transcorrem do descuido higiênico-sanitário de

manipuladores, das práticas inadequadas de processamento e da falta de higiene da estrutura física, utensílios e equipamentos (Who, 2015).

O bloco 3 (vestuário) foi o que obteve o maior percentual de C na agroindústria A, onde verificou-se a utilização de uniformes de cor clara, em estado adequado de conservação e a existência de capacitação em Boas Práticas de Manipulação por parte dos manipuladores, com registros das capacitações. Na agroindústria B também foi verificado o uso de uniformes de cor clara e em bom estado de conservação. O percentual de NC neste bloco tanto para a agroindústria A como B ocorreu devido a observação do uso de brincos e anéis pelos manipuladores e ausência de cartazes na área de produção orientando-os sobre a correta higienização das mãos. Os manipuladores podem apresentar atitude inadequada durante a manipulação de alimentos, como conversar durante a realização das tarefas e não realizar uma limpeza cuidadosa das mãos o que pode ser considerada uma medida de simples execução e que pode minimizar o risco de contaminação (Leite *et al.*, 2013).

Para o bloco 4 (produção e transporte do alimento), para o percentual de C foi verificado em ambas a presença de local isolado da área de processamento para a recepção da matéria-prima e de rótulo do produto de acordo com a legislação vigente. O percentual de NC, tanto para agroindústria A como B foi atribuído em grande parte pela falta de controle do armazenamento na recepção da matéria-prima, ausência de controle de temperatura na área que exige controle térmico (área de cozimento) e ausência de isolamento da “área suja” na área de processamento. Este fato já havia sido relatado por Dias *et al.*, (2012) ao observar que no item de controle de matéria-prima as indústrias diagnosticadas produziam além da sua capacidade, o que ocasiona problemas principalmente no subitem de armazenamento da matéria-prima, na organização da área de recepção e no fluxo de produção.

O bloco 5 (documentação) foi considerado o bloco de avaliação mais insatisfatória em para as duas agroindústrias, em que as mesmas apresentaram 100% de NC. Isso deve-se ao fato

das mesmas não possuem Manual de Boas Práticas de Manipulação (MBPF), Procedimentos Operacionais Padronizados (POP's) ou quaisquer registros da realização das atividades realizadas. A ausência de documentação é uma das irregularidades mais comuns relatadas em auditorias de BPF, entre as diversas indústrias de alimentos (Costa *et al.*, 2010; Guido *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2012).

4 Conclusão

As amostras analisadas apresentaram teores de cianeto livre acima do preconizado pela legislação vigente, entretanto não oferecem riscos aos consumidores em relação a qualidade microbiológica, visto que não foi detectada a presença de microrganismos patogênicos. A presença de coliformes, altas contagens de bactérias e bolores e leveduras evidenciam recontaminação do produto. Foram obtidas diferenças significativas em relação a qualidade físico-química que podem estar relacionadas a variações decorrentes de fatores como variedades e idade da planta. Em relação às BPF, as agroindústrias foram avaliadas como de alto risco segundo a legislação vigente. Existe atualmente um trabalho conjunto entre os órgãos de fiscalização estaduais e as agroindústrias processadoras de subprodutos de mandioca para adequação dos locais de processamento, em especial ao que tange às BPF.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA). Agradecem também a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Amazônia Oriental) pela parceria e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo provimento do suporte financeiro para o desenvolvimento da pesquisa (Processos CNPq n. 408055/2013-8 e 407764/2013-5). A Rede Bragantina de Economia Solidária pelo fornecimento das folhas de mandioca.

Referências

- Abass, A.B., Adegok, O., Awoyale, W., Gaspar, A., Mling, N., Andrianavalona, V., Randrianarivelo., Sulyok, M., Mneney, A. e Ranaivoson, L.R.(2019), “Enumeration of the microbiota and microbial metabolites in processed cassava products from Madagascar and Tanzania”, *Food Control*, Vol.99, pp.164-170.
- Abreu, L. F. e Mattietto, R. A. (2016), “Procedimentos de fabricação dos derivados de mandioca: recomendações para obtenção de produtos seguros e de qualidade. IN: Embrapa Amazônia Oriental. Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistema de cultivo, manejo de pragas, e doenças e agroindústria”, *Embrapa Amazônia Oriental Documentos*), pp.223-230.
- Achidi, A.U., Ajayi, O.A., Bokanga, M. e Maziya-Dixon,B. (2008), “The use of cassava leaves as food in Africa”, *Ecology of Food and Nutrition*, Vol.44, pp.423–435.
- Association of Official Analytical Chemists- AOAC (2007), “Official methods of analysis”, Edition; Gaithersburg.
- Ayala-Zavala, J.F., Rosas-Domínguez, C., Vega-Vega, V. e González-Aguilar, G.A.(2010), “Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh-cut fruits using their own by-products: Looking for integral exploitation”, *Journal of Food Science*, Vol.75, pp. 175–181.
- Bradbury, J.H e Denton, I.C. (2014), “Mild method for removal of cyanogens from cassava leaves with retention of vitamins and protein”, *Food Chemistry* Vol. 158, pp.417–420.
- Brasil. Agencia Nacional de vigilância sanitária (2002), “Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos” Diário Oficial Federal do Brasil. DOU 23/10/2003, Brasília, DF.
- Campos, A.P.R., Carvalho, A.V. e Mattietto, R.A. (2016), “Efeito da fermentação e cocção nas características físico-químicas e teor de cianeto durante o processamento de tucupi”, *Embrapa Amazônia Oriental Documentos*, 107.
- Câmara, A. C. L. e Soto-Blanco, B. (2013), “Cyanide poisoning in animals and humans. In: Soto-Blanco, B. Cyanide: occurrence, characteristics and applications”, *New Science Publishers*, pp. 23-46.
- Ceballos, H. e La Cruz, G. (2012), “Cassava Taxonomy and Morphology. In: Ospina, B.; Ceballos, H. Cassava in the third millennium: modern production, processing, use, and marketing systems”, *Centro Interamericano de Administrações Tributárias-CIAT*, pp.574.
- Chisté, R.C., Cohen, K.O. e Oliveira, S.S. (2007), “Study of tucupi physicochemical properties”, *Food Science and Technology*, Vol. 3, n.27, pp. 437-440.

Cohen, K. de O., Oliveira, S. S. e Chisté, R. C. (2007), “Quantificação de Teores de Compostos Cianogênicos Totais em Produtos Elaborados com Raízes de Mandioca. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa Documentos 290*).

Cooke, R. D. (1979), “Enzymatic assay for determining the cyanide content of cassava and cassava products”, *Centro Interamericano de Administrações Tributárias-CIAT*, pp.14.

Costa, F. S., Silva, R. A., Brandão, T. M. e Soares, F. M. (2010), “Avaliação higiênico-sanitária de indústrias beneficiadoras de mel”, *Revista Higiene Alimentar*, Vol.24(184-185), pp.47-51.

Dias, M. A. C., Sant’ana, A. S., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., Oliveira, C. A. F. e Bona, E (2012), “On the implementation of good manufacturing practices in a small processing unity of mozzarella cheese in Brazil”, *Food Control*, Vol.24(1), pp. 199-205.

Essers, A. J. A., Bosveld, M., Van der Grift. R. M. e Voragen, A. G. J. (1993), “Studies on the quantification of specific cyanogenes in cassava products and introduction of a new chromogen”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 63, pp. 287-296.

Faostat. Food and Agriculture Organization of the United Nations -FAO. (2018), “Dados da produção mundial da mandioca em 2013”. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acessado em: 10 de Maio de 2018.

Gabriel, L.F., Streck, N.A., Roberti, D.R., Chielle, Z.G., Uhlmann, L.O; DA SILVA, M.R. e DA SILVA, S.D. (2014), “Simulating cassava growth and yield under potential conditions in Southern Brazil”, *Agronomy Journal*, Vol.106, pp. 1119.

Glasset, B., Herbin, S., Guillier, L., Cadel-Six, S., Vignaud, M.L., Grout, J., Pairaud, S., Michel, V., Hennekinne, J.A., Ramarao, N. e Brisabois, A. (2016), “Bacillus cereus-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterization”. *Eurosurveillance*, Vol.21, pp. 304-313.

Gleadow, R. e Moller, B. (2014), “Cyanogenic Glycosides: Synthesis, Physiology, and Phenotypic Plasticity”. *Annual Review of Plant Biology*, Vol. 65, pp.155–185.

Guido, E. S., Silva, E. D. P., Silva, M. C., Takeuchi, K. P. e Danesi, E. D. G. (2010), “Uma abordagem da extensão universitária na melhoria da qualidade do leite na cadeia produtiva do município de Barbosa Ferraz (Paraná)”, *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Vol.28(2), pp.303-312.

Haggblade, S., Andersson Djurfeldt, A., Banda Nyirenda, D., et al. (2012), “Cassava commercialization in Southeastern Africa”, *Journal of Agribusiness in Developing and Emerging Economies*, Vol.2, pp.4-40.

IJørgensen, K., Morant, A.V., Morant, M., Jensen, N.B., Olsen, C.E., Kannangara, R., Motawia, M.S., Moller, B.L. e Bak, S. (2011), “Biosynthesis of the Cyanogenic Glucosides Linamarin and Lotaustralin in Cassava: Isolation, Biochemical Characterization, and Expression Pattern of CYP71E7, the Oxime-Metabolizing Cytochrome P450 Enzyme”, *Plant Physiology*, Vol.155, pp.282–292.

Kalenga Saka, J.D e Nyrenda, K.K. (2012), “Effect of two ethnic processing technologies on reduction and composition of total and non-glucosidic cyanogens in cassava”. *Food Chemistry*, Vol. 130, pp.605–609.

Kotzekidou, P. (2013), “Microbiological examination of ready-to-eat foods and ready-to-bake frozen pastries from university canteens”, *Food Microbiology*, Vol. 34(2), pp.337-343.

Kregiel, D. (2015), “Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers and Microorganisms”, *BioMed Research International*. Vol.1(2015), pp.1-15.

Leite, M. A. G., Rezende, H. M., THÉ, P. M. P. e MOREIRA, L. I. M. (2013), “Condições higiênicas sanitárias nos setores de manipulados em supermercados do município de Barra do Garças-MT”, *Alimentos e Nutrição*, Vol. 24, n. 1, pp. 37-44.

Machado, E.R., Maldonade, I.R., Riquette, R.F.R., Mendes, V.S., Gurgel-Gonçalves, R. e Ginani, V.C. (2018), “Frequency of Enteroparasites and Bacteria in the Leafy Vegetables Sold in Brazilian Public Wholesale Markets”, *Journal of Food Protection*, Vol. 81, n. 4, pp.542–548.

Jusbrasil. (2018), “Belém, Sta. Izabel e Castanhal: MP quer regularizar produtos derivados da mandioca”. Disponível em: < <https://mp-pa.jusbrasil.com.br/noticias/3086514/belem-sta-izabel-e-castanhal-mp-quer-regularizar-produtos-derivados-da-mandioca>>. Acessado em 15 de Maio de 2018.

Modesto Junior, E.N., Chisté, R.C. e Pena, R.S. (2019), “Oven drying and hot water cooking processes decrease HCN contents of cassava leaves”. *Food Research International*, Vol.119, pp. 517-523.

Nambisan, B. (2011), “Strategies for elimination of cyanogens from cassava for reducing toxicity and improving food safety”, *Food and Chemical Toxicology*, Vol.49, pp. 690–693.

Oni, A.O., Onwuka, C.F., Arigbede, O.M., Anele U.Y., Oduguwa, O.O., Onifade, O.S. e Tan, Z.L. (2011), “Chemical composition and nutritive value of four varieties of cassava leaves grown in South-Western Nigeria”, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Vol. 95, pp. 583–590.

Pará. (2016), “Dispõe sobre o regulamento técnico de produção da maniva cozida e dá outras providências”. Padrão de Identidade e Qualidade da Maniva Cozida para produção e comercialização no Estado do Pará, 2016. Diário Oficial do Estado.

Pestana, T. C e Castro, G. H. F. (2015), “Potencial da rama de mandioca para uso na alimentação de ruminantes: Revisão”, *Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*, Vol.9, n.10, pp.457–466.

Salfinger, Y. e Tortorello, M. L. (2015), “Compendium of methods for the microbiological examinations of foods”. 5th ed. Washington (DC): APHA.

Scarpin, D. (2015), “Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos antes e após a implementação de boas práticas de fabricação em agroindústrias da região extremo oeste catarinense”, *Revista Higiene Alimentar*, Vol.24(184-185), pp.52-56.

Soares, I.A., Téo, M.S., Debastiane, C., Retuci, V.S e Baroni, S. (2016), “Concentrado proteico obtido das folhas de mandioca (*Manihot esculenta crantz*) de três variedades comerciais”, *Acta Ambiental Catarinense*, Vol. 13, n.2016.

Souza, A.S., Rocha Júnior, V.R., Mota, A.D.S., Palma, M.N.N., Franco, M.O., Dutra, E.S., Santos, C.C.R., Aguiar, A.C.R., Oliveira, C.R. e ROCHA, W.J.B. (2011), “Valor nutricional de frações da parte aérea de quatro variedades de mandioca”, *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Vol.12, n.2, pp.441-455.

Tewari, A. e Abdullah, S. (2015), “*Bacillus cereus* food poisoning: international and Indian perspective”, *Journal of Food Sciences and Technology*, Vol.52, pp.2500-2511.

Tresseler, J. F. M., Figueiredo, E.A.T., Figueiredo, R.W., Machado, T.F., Delfino, C.M. e Sousa, P.H.M.(2009), “Avaliação da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas”, *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Vol. 33, pp.1722-1727.

Trombine, F.R.M. e Leonel, M. (2014), “Composição físico-química e propriedades tecnológicas da farinha de folhas de mandioca”, *Energia na Agricultura*, Vol.29, pp.76-81.

Who. World Health Organization. (2015), “Foodborne diseases”. Disponível em: <http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/en/>. Acesso em 19 de maio de 2017.

ESTUDO DE DETOXIFICAÇÃO DE FOLHAS DE MANDIOCA PARA ALIMENTAÇÃO HUMANA

Capítulo em formato de artigo submetido a revista científica

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estudar um processo de detoxificação de folhas de mandioca (ensaio de repouso), avaliando sua influência na redução do teor de cianeto total, quando incluída nos processos utilizados na região Norte do Brasil. Realizou-se quatro coletas de folhas de mandioca, duas para realização do ensaio de repouso e duas para reprodução dos processos em escala laboratorial. Para o ensaio de repouso, as folhas moídas foram deixadas em repouso sem e com adição de água nos tempos de 1,5; 3; 4,5; 6 e 24h. Foram reproduzidos em escala laboratorial dois processos utilizados em feiras e agroindústrias (1 e 2) e dois considerando os ensaios de repouso que apresentaram maior eliminação de compostos cianogênicos (3 e 4). Na matéria prima *in natura*, após moagem e nos produtos de cada ensaio, foram realizadas análises de umidade, pH, compostos cianogênicos e microbiológicas. Houve diferença significativa entre o pH das folhas *in natura* e o tempo de repouso de 24 h. Os ensaios de repouso de 6h com e sem água, mostraram maior eliminação de compostos cianogênicos, por isso foram utilizados no processamento em escala laboratorial. Não houve diferença significativa do pH das folhas *in natura* comparado aos produtos dos processos e nem entre os produtos 1, 3 e 4, em relação aos compostos cianogênicos e parâmetros microbiológicos. O produto 2 apresentou maiores teores de compostos cianogênicos e contagem microbiológica, diferindo, significativamente, dos outros produtos. Os ensaios de repouso contribuíram na eliminação de parte dos compostos cianogênicos e o cozimento anterior a moagem se mostrou insatisfatório em relação aos parâmetros cianogênicos e microbiológicos.

Palavras-chave: subproduto de mandioca, eliminação de compostos cianogênicos, redução de toxicidade.

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é a quinta cultura mais importante do mundo, alcançando produção mundial de, aproximadamente, 285 milhões de toneladas por ano (FAOSTAT, 2017). No Brasil, a estimativa para produção de mandioca, em 2019, será de 20 milhões de toneladas, com destaque para a região Norte do país, onde a principal utilização é na produção de farinha de mandioca (IBGE, 2019).

As folhas de mandioca formam uma parte importante da dieta em alguns países, como por exemplo na África, onde são consumidas como fonte de alimento, principalmente devido

aos aspectos nutricionais e baixo valor comercial. No Brasil, o consumo, humano, se dá principalmente na região Norte, onde são amplamente comercializadas e utilizadas como componente principal no preparo de um prato típico chamado ‘maniçoba’ (Costa et al., 2016; Modesto Junior, Chisté e Pena, 2019).

Embora sejam fontes de nutrientes, as folhas de mandioca apresentam grandes quantidades de glicosídeos cianogênicos (GCs) como a linamarina e uma pequena quantidade de lotaustralina, que são decompostos pela enzima linamarase presente nas folhas produzindo cianidrinas que são ainda decompostas por outra enzima, hidroxinitrila liase, para formar cianeto de hidrogênio (HCN) e uma cetona (Bradbury e Denton, 2011).

A presença destes compostos tóxicos na mandioca e em seus derivados tem sido motivo de preocupação devido aos seus possíveis efeitos na saúde. As principais doenças associadas a dietas ricas em compostos cianogênicos incluem: o bócio, o hipertireoidismo, resultante do tiocianato no metabolismo do iodo; a neuropatia atáxica tropical, uma desordem neurológica; e o konzo, uma paralisia instantânea e permanente que pode levar ao óbito, muito frequente na África (Adamolekun, 2010; Banea et al., 2013).

O processamento tem sido reconhecido como a maneira mais eficiente de controlar os teores de cianógenos (linamarina, acetona cianidrina e HCN) presentes em cultivares de mandioca, até o alcance de níveis seguros para consumo (Nambisan, 2011). As principais técnicas de processamento industrial utilizadas na diminuição do princípio tóxico da mandioca envolvem processos como maceração, cocção, secagem, torração e fermentação; ou a combinação desses processos. Aparentemente, a maioria destes métodos são eficazes na redução do teor de HCN, porém é comum encontrar teores residuais destes compostos, capazes de produzir sintomas de intoxicação (Nambisan, 2011; Bradbury e Denton 2014; Modesto Junior, Chisté e Pena, 2019).

O tempo de cocção adotado por beneficiadores das folhas na região Norte do Brasil é normalmente superior a 50 h (Pará, 2016), com elevado consumo energético. Alterações de processo que possibilitem a redução destes tempos de forma segura trariam ganhos, tanto econômicos como ambientais, para esta cadeia produtiva. Em vista disto, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo de um processo de detoxificação de folhas de mandioca moídas, por meio de um ensaio de repouso, avaliando sua influência na redução do teor de cianeto total, quando incluída nos processos utilizados na região Norte do Brasil, para obtenção de folhas de mandioca cozidas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 Coleta de amostras

Foram realizadas quatro coletas de folhas de mandioca na Colônia Montenegro localizada no município de Santa Luzia do Pará-PA-BR (Cadastro CISGEN nº A0A7494). Por coleta, foram adquiridos 5 kg de folha de mandioca sem pecíolo, das variedades denominadas de “Bujaru” e “Seis meses”, ambas com cerca de 12 meses de plantio. A coleta ocorreu pela parte da tarde, e as folhas foram acondicionadas em dois sacos de polietileno com perfurações, com capacidade de 2,5 kg, pernoitando ao sereno e ao amanhecer foram encaminhadas ao laboratório para realização dos ensaios.

2.2 Métodos

Foram realizados experimentos de detoxificação das folhas de mandioca moídas (ensaio de repouso) e de reprodução dos processos de produção de folhas de mandioca cozidas em escala laboratorial. Nas folhas de mandioca *in natura*, folhas moídas e produtos de cada processo, foram realizadas as análises de pH, teor de compostos cianogênicos e análises microbiológicas.

2.2.1 Estudo do processo de detoxificação de folhas de mandioca - ensaio de repouso a $30\pm 1^\circ\text{C}$

Foram realizados quatro ensaios de repouso a $30\pm 1^\circ\text{C}$ de folhas de mandioca moídas, onde dois foram sem adição de água e dois com água (Figura 1).



Figura 1. Fluxograma das etapas dos ensaios de repouso para folhas de mandioca moídas sem e com adição de água.

Inicialmente nas folhas de mandioca *in natura* foram realizadas análises de pH de acordo com AOAC (2007) e teor de compostos cianogênicos (cianeto total, cianeto não glicosídico e cianeto livre) segundo Essers (1993). Aproximadamente 2 kg de folhas de mandioca foram lavadas por imersão em tanque com água filtrada, em seguida, por agitação manual, foi retirado o excesso de água, e posteriormente moídas (moedor industrial modelo PB10TI - Beccaro).

Os ensaios de repouso a 30°C sem e com adição de água foram realizados nos intervalos de tempo de: 1,5; 3,0; 4,5; 6,0 e 24 h. Os tempos selecionados foram escolhidos através de testes preliminares (dados não mostrados). Alíquotas de 200g de folhas moídas foram distribuídas em beakers de vidro de 1000 mL mantidos em banho de água, à temperatura de $30\pm 1^\circ\text{C}$, temperatura ótima de ação da enzima linamarase (Nambisan, 2011). Para o ensaio com

água, as folhas moídas foram acrescidas de água destilada a temperatura ambiente na proporção (1:1).

2.2.2 Reprodução em escala laboratorial dos processos de produção de folhas de mandioca cozidas

Foram reproduzidos, em escala laboratorial, quatro processos de produção de folhas de mandioca cozidas (Figura 2).

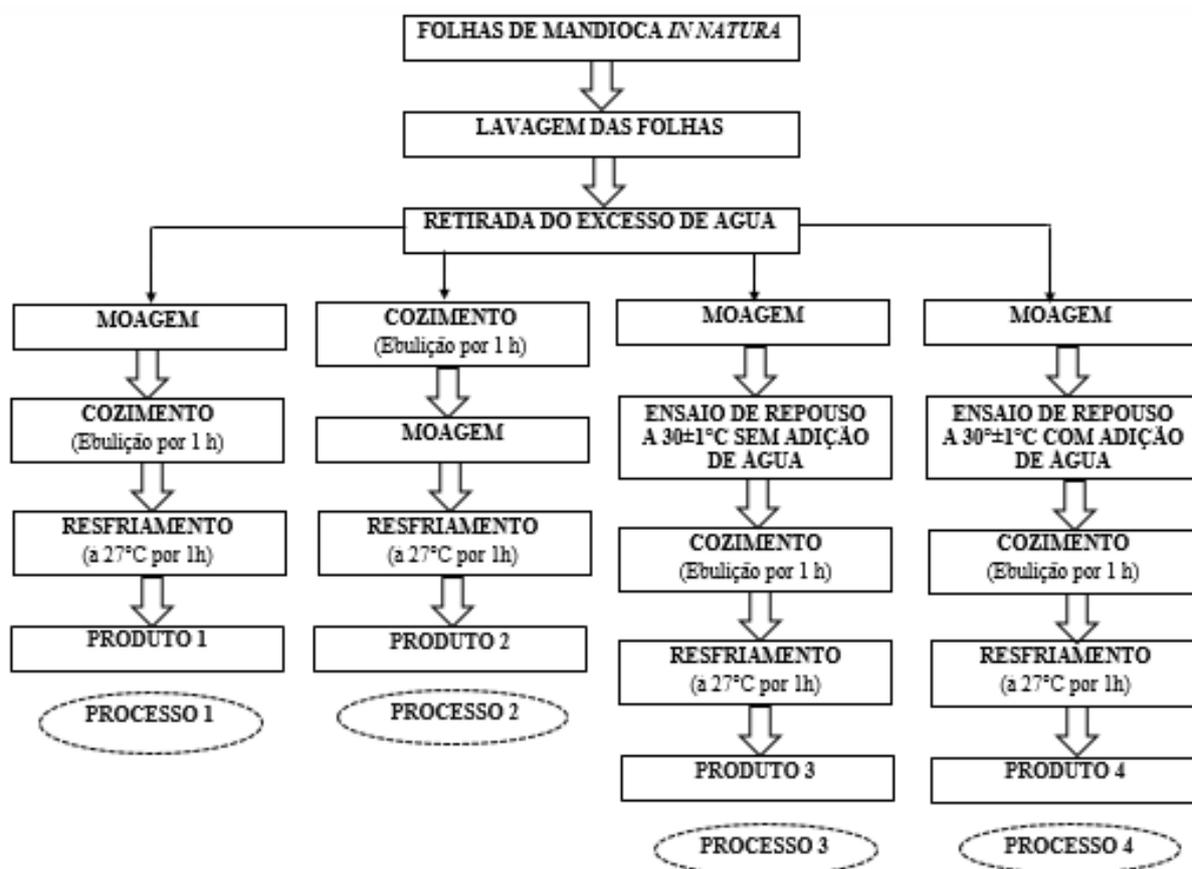


Figura 2. Fluxograma das etapas dos processos de produção de folhas de mandioca cozidas reproduzidos em escala laboratorial

Com base na literatura (Abreu e Mattietto, 2016; Pará, 2016), foram executados, em escala laboratorial, os principais processos de produção de folhas de mandioca cozidas utilizados na região Norte do Brasil (processos 1 e 2). Os processos 3 e 4 foram realizados considerando a inserção dos ensaios de repouso sem e com água que apresentaram maiores

percentuais de eliminação de compostos cianogênicos (6 h de repouso). Os ensaios foram realizados em duplicata.

As folhas *in natura* foram lavadas por imersão em tanque com água, em seguida, por meio de agitação manual, foi retirado o excesso de água. Em panelas de aço inoxidável, de iguais dimensões e capacidade de 3 L, foram adicionadas alíquotas de: 200 g de folhas *in natura* moídas (processo 1); 200 g de folhas *in natura* inteiras (processo 2); 200 g de folhas *in natura* moídas após ensaio de repouso sem adição de água (processo 3) e 200 g de folhas *in natura* moídas acrescidas de 200 mL de água destilada após ensaio de repouso com adição de água (processo 4). Posteriormente, em todos os processos, foi adicionada água destilada a temperatura ambiente na proporção 1:5 e encaminhados à etapa de cozimento (ebulição em fogão doméstico por 1h).

Após a realização da moagem das folhas para os processos 1, 3 e 4, o moedor industrial foi desmontado e suas peças lavadas de forma manual, seguindo as mesmas etapas de lavagem realizadas nas agroindústrias, com água corrente e detergente neutro e, após a retirada do excesso de água, foi montado novamente para continuidade do processo 2.

Para o processo 2, após fervura, as folhas inteiras cozidas foram moídas (moedor industrial modelo PB10TI - Beccaro) e em seguida resfriadas a, aproximadamente, 27°C por 1h. Os demais processos (1, 3 e 4) foram resfriados logo após a etapa de cozimento para realização de análises.

2.2.3 pH

Por leitura direta em potenciômetro (Tecnal, TEC-51, Brasil) segundo AOAC (2007).

2.2.4 Teores de compostos cianogênicos

Os teores de cianeto total (CT), não glicosídico (CNG) e livre (CL) foram determinados segundo metodologia proposta por Essers et al. (1993), com adaptações, na qual, após a

extração dos compostos cianogênicos procede-se uma reação colorimétrica utilizando cloramina T, isonicotinato e 1,3- dimetilbarbiturato, seguida de leitura espectrofotométrica à 605 nm. A enzima linamarase foi obtida e purificada de acordo com a metodologia proposta por Cooke (1979).

Para extração dos compostos cianogênicos, 20 g de folhas de mandioca cozidas foram homogeneizadas em processador (Philips Walita Viva Collection RI7762), com 200 mL de solução alcoólica de ácido ortofosfórico 0,1M (adicionada de cloreto de sódio). Posteriormente, a solução foi centrifugada (centrífuga Excelsa baby Fanem, modelo I 206-BL, USA) a 5000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante armazenado em frascos plásticos a -18°C. Para análise, os extratos das amostras foram dispostos em tubos de ensaio, em triplicata, e preparados de forma distinta, antes da reação colorimétrica, conforme descrito a seguir.

Para determinação de CT, 0,1 mL de extrato foi adicionado em tubo de ensaio contendo 0,4 mL de tampão pH 7,0, seguido da adição de 0,1 mL de enzima pré-purificada. Após incubação a $30\pm 1^\circ\text{C}$ em banho de água, por 15 minutos, foi adicionado 0,6 mL de solução de NaOH 0,2 M, e após 5 minutos, foi adicionado 2,8 mL de tampão pH 6, seguindo-se para a reação colorimétrica. Para o CNG, 0,1 mL de extrato foi adicionado em tubo de ensaio contendo 0,6 mL de tampão pH 6,0. Em seguida, foi acrescido 0,6 mL de solução de NaOH 0,2 M, e após 5 minutos foi adicionado 2,9 mL de tampão pH 6,0, seguindo-se para a reação colorimétrica. Enquanto para análise de CL, 0,1 mL de extrato foram diluídos em 3,9 mL de tampão pH 6, antes da reação colorimétrica.

Para a reação colorimétrica, em cada um dos tubos preparados, adicionou-se 0,1 mL de solução de cloramina T 1%, e após cinco minutos, foi adicionado 0,6 mL de solução de isonicotinato/dimetilbarbiturato. Após 10 minutos de reação, o complexo colorido formado foi lido em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Evolution 60, Massachusetts) a 605 nm.

Os conteúdos de CT, CNG e CL foram quantificados através de curva analítica de sete pontos (0,5-20,00 µg HCN/mL), com $R^2 > 0,99$, em triplicata e os resultados expresso em mg HCN/kg.

2.2.5 Análises microbiológicas

Foram realizadas a pesquisa de *Salmonella spp* e contagens de estafilococos coagulase positiva, *Bacillus cereus* e coliformes a 45°C, conforme preconiza a Instrução Normativa da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará – ADEPARÁ, N° 1 de 06/05/2016, que estabelece Padrão de Identidade e Qualidade da folha de mandioca cozida para produção e comercialização no Estado do Pará (Pará, 2016). Também foi realizada a contagem de bactérias aeróbias mesófilos e bolores e leveduras. A metodologia analítica utilizada encontra-se descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (Salfinger & Tortorello, 2015) e todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.3 Análise estatística

Os resultados das análises de pH, teores de compostos cianogênicos e microbiológicas (expressos na base log) foram expressos por meio de média±desvio padrão. As médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e teste complementar de diferença (Teste de Tukey, $p < 0,05$) para comparação de médias, utilizando o aplicativo Statistica® Kernel Release 7.1.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudo do processo de detoxificação de folhas de mandioca - ensaio de repouso a 30±1°C

3.1.1. pH

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados de pH referentes as folhas de mandioca *in natura*, após moagem e produtos dos ensaios de repouso a 30±1°C das folhas moídas sem e com adição de água.

Tabela 1. Valores de pH de folhas de mandioca *in natura*, após moagem e durante ensaios de repouso a $30\pm 1^\circ\text{C}$ sem e com adição de água.

Ensaio de repouso	Sem água	Com água
Folha <i>in natura</i>	6,00 \pm 0,13 ^{Aa}	5,73 \pm 0,42 ^{Ba}
Após moagem (0h)	5,90 \pm 0,17 ^{Ab}	5,71 \pm 0,44 ^{Ba}
1,5h	5,88 \pm 0,16 ^{Abc}	5,66 \pm 0,47 ^{Bb}
3,0h	5,86 \pm 0,18 ^{Ac}	5,66 \pm 0,48 ^{Bb}
4,5h	5,82 \pm 0,20 ^{Ad}	5,64 \pm 0,52 ^{Bb}
6,0h	5,81 \pm 0,22 ^{Ad}	5,59 \pm 0,58 ^{Bc}
24h	4,93 \pm 0,34 ^{Ae}	4,69 \pm 0,21 ^{Bd}

Resultados expressos por meio de média \pm desvio padrão ($n = 2$). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$); Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha possuem diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Os valores de pH para folha *in natura* referentes aos ensaios sem e com adição estão próximos aos valores reportados por Modesto Junior, Chisté e Pena (2019) para folhas de mandioca de diferentes variedades (5,11-5,89). Pestana e Castro (2015) atribuem as diferentes características físico-químicas de folhas de mandioca a fatores como a proporção entre hastes e folhas, variedade utilizada, época de colheita, manejo adotado, fertilidade do solo e condições climáticas.

Para os ensaios sem adição de água, houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os valores de pH da folha *in natura* e após a moagem, havendo diferença também entre os tempos 3,0 e 4,5 h. Em relação aos ensaios com adição de água, não houve diferença significativa entre os resultados referente a folha *in natura* em relação a após a moagem, não havendo diferença também do tempo 1,5 até o tempo 4,5h.

Tanto para os ensaios sem e com adição de água, observou-se decréscimo significativo ($p \leq 0,05$) do pH do tempo 6,0 h em relação a 24 h de repouso, indicando um provável estado de fermentação das folhas. A fermentação reduz o pH e, assim, protege os produtos contra o desenvolvimento de microrganismos (Nicolau, 2016). A diminuição do pH nos ensaios de repouso após 24 h é considerada prejudicial ao processo de detoxificação, isto porque a

conversão de cianidrina em cianeto livre é dificultada em valores de pH entre 4-5 devido à estabilidade da cianidrina em baixo pH (Kalenga Saka e Nyrenda, 2012).

3.1.2 Teores de compostos cianogênicos

Os resultados de compostos cianogênicos CT, CNG e CL referentes aos ensaios de repouso sem e com adição de água estão apresentados na Tabela 2. A folha *in natura* apresentou valor médio de CT de 490 mg HCN/ kg. Este valor está acima dos encontrados por Wobeto et al. (2004) (107,53 mg HCN/ kg) e Modesto Junior, Chisté e Pena (2019) (220,78 mg HCN/ kg), para diferentes variedades de folhas de mandioca.

Diferentes conteúdos de GCs nas folhas de mandioca *in natura* são atribuídas às diferentes concentrações dos mesmos, que ocorre devido às diferenças genéticas, fisiológicas e ambientais, além da idade da planta e condições nutricionais (disponibilidade no solo de nutrientes como nitrogênio e fosfato) (Silva et al., 2004; Valle et al., 2004; Cardoso Júnior et al., 2005; Mezette et al., 2009).

Foi observado em todos os ensaios redução significativa ($p \leq 0,05$) nos teores de CT das folhas *in natura*, após moagem e ao longo dos tempos de repouso. Tanto para os ensaios sem e com adição de água, é possível verificar alta redução de CT da folha *in natura*, após a moagem e com 1,5 h de repouso, indicando que nestes períodos ocorreu intensa hidrólise dos GCs e formação de HCN.

De acordo com Gleadow & Moller (2014), os GCs e suas enzimas catabólicas específicas estão armazenadas em compartimentos celulares distintos da planta da mandioca. A linamarina localiza-se nos vacúolos celulares, enquanto que a enzima β -glicosidase (linamarase) encontra-se associada à parede celular. Assim, no tempo zero (etapa de moagem, onde ocorreu ruptura dos tecidos vegetais) ocorre a exposição do substrato – linamarina – à enzima linamarase, representando um papel importante na cianogênese. A retenção do material por um determinado tempo também pode estar promovendo positivamente a reação.

Tabela 2. Cianeto total (CT), não glicosídico (CNG) e livre (CL) de folhas de mandioca moídas durante ensaios de repouso a $30\pm 1^\circ\text{C}$ sem e com adição de água.

Ensaio de repouso	CT (mg HCN/kg)		CNG (mg HCN/kg)		CL (mg HCN/kg)	
	Sem água	Com água	Sem água	Com água	Sem água	Com água
Folha <i>in natura</i>	489,49 \pm 94,15 ^{Aa}	489,49 \pm 94,15 ^{Aa}	2,04 \pm 0,50 ^{Ag}	2,04 \pm 0,50 ^{Ag}	12,78 \pm 4,23 ^{Ag}	12,78 \pm 4,23 ^{Ag}
Após a moagem (0h)	242,85 \pm 13,87 ^{Ab}	210,45 \pm 35,45 ^{Bb}	322,72 \pm 8,77 ^{Aa}	248,27 \pm 27,73 ^{Ba}	233,27 \pm 30,38 ^{Aa}	124,96 \pm 37,02 ^{Ba}
1,5h	151,51 \pm 23,45 ^{Bc}	186,18 \pm 7,93 ^{Ac}	169,25 \pm 26,70 ^{Bb}	229,06 \pm 7,26 ^{Ab}	95,02 \pm 30,96 ^{Ab}	91,76 \pm 8,02 ^{Bb}
3,0h	133,05 \pm 11,14 ^{Bd}	149,96 \pm 31,69 ^{Ad}	156,59 \pm 15,78 ^{Bc}	225,22 \pm 14,21 ^{Ac}	72,38 \pm 0,74 ^{Bc}	80,04 \pm 1,23 ^{Ac}
4,5h	130,98 \pm 8,95 ^{Be}	144,33 \pm 27,87 ^{Ae}	152,85 \pm 16,04 ^{Bd}	208,71 \pm 8,89 ^{Ad}	60,69 \pm 11,43 ^{Bd}	71,42 \pm 0,79 ^{Ad}
6h	122,87 \pm 10,03 ^{Af}	120,06 \pm 42,51 ^{Bf}	146,25 \pm 9,15 ^{Be}	205,29 \pm 9,99 ^{Ae}	55,69 \pm 11,48 ^{Be}	68,35 \pm 0,22 ^{Ae}
24h	114,57 \pm 7,31 ^{Ag}	86,71 \pm 2,58 ^{Bg}	140,43 \pm 11,54 ^{Bf}	176,88 \pm 22,88 ^{Af}	14,92 \pm 6,20 ^{Bf}	39,97 \pm 1,00 ^{Af}

Resultados expressos por meio de média \pm desvio padrão (n=2). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$); médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha, entre sem e com água para o mesmo composto cianogênico, possuem diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$); CT= cianeto total; CNG= cianeto não glicosídico; CL= cianeto livre.

Modesto Junior, Chisté & Pena (2019) encontraram em folha de mandioca moída, aquecida à 40°C por 3h, 366 mg HCN/kg de CT, estando acima do resultado obtido neste estudo, para o mesmo tempo, de 133 mg HCN/ kg, que pode estar relacionado à temperatura ótima da enzima linamarase, que é $\geq 30^{\circ}\text{C}$, ou ao tipo de moagem, sendo esta considerada também como um fator diferencial a diminuição dos teor de compostos cianogênicos nos ensaios, uma vez que a forma de cominuição pode justificar resultados menores que os da literatura. Uma vez favorecida sua atividade, haverá um aumento da hidrólise dos GCs e, conseqüentemente maior volatilização do cianeto livre, ocasionando menores valores CT.

Em ambos ensaios, é possível verificar um decréscimo nos teores de CT ao longo dos tempos de repouso, sendo essa redução mais acentuada no repouso com adição de água (diminuição média de 82,29%) em relação ao repouso sem adição (diminuição média de 74,89%). Tal fato pode ser devido a conversão de linamarina a HCN, uma vez que as folhas de mandioca foram moídas e adicionadas em meio aquoso, facilitando a clivagem da linamarina em cianidrina, que posteriormente é hidrolisada em HCN (Nambisan, 2011).

Em relação à dosagem de CNG, foi observada uma variação significativa ($p \leq 0,05$) nos teores de CNG das folhas in natura, após a moagem e ao longo dos tempos de repouso entre ensaios com e sem adição de água, com valores ligeiramente maiores que os de CT. Essers et al., (1993) relataram que este fato pode ser causado pela combinação de uma boa parte da concentração de glicosídeos não cianogênicos estar na forma de HCN e sua subsequente fuga durante a homogeneização no ensaio enzimático (CT), já que o sistema não é totalmente isolado. Por isso outra denominação para CT também é cianeto potencial.

Ocorreu maior hidrólise de GCs e formação de CNG após a moagem e 1,5 h para o experimento sem adição de água. Tal comportamento é observado devido a conversão da linamarina em cianidrina (Nambisan, 1994). Para o ensaio com adição de água, houve decréscimo após a moagem, com maior conversão no período até 1,5 h, demonstrando que esse

é o período de maior conversão de cianidrinas em ácido cianídrico. O expressivo aumento nos níveis de cianidrina no tempo zero indica que a hidrólise de linamarina a cianidrina ocorreu de forma rápida e constante devido ao processo de moagem (Nambisan, 1994; Kalenga Saka & Nyrenda, 2012).

Houve uma maior redução no teor de CNG nos ensaios com água (56,49%) em relação ao repouso sem adição de água (28,75%), entretanto, para ambos ensaios, de modo geral, foi possível verificar um alto teor final de CNG, sendo maior no repouso com água. De acordo com Kalenga Saka & Nyrenda (2012), a conversão de cianidrina em cianeto livre é dificultada em valores de pH próximos de 4-5 devido à estabilidade da cianidrina em baixo pH. Esse fenômeno pode justificar o acúmulo de cianidrinas observadas nos tempos de 24 h para ambos ensaios, que obtiveram pH médio de 4,93 e 4,69 sem e com adição de água, respectivamente. Tais resultados corroboram com relatos de Cooke (1978), que demonstrou que em pH entre 4 e 5, à temperatura de 30°C por 2h, menos de 10% de cianidrina é convertida em HCN. Desse modo, torna-se inadequada a utilização do tempo de 24 h para detoxificação das folhas moídas.

Em geral, existem poucas informações na literatura sobre dosagens de CNG em mandioca e seus derivados, porém o CNG é tão relevante quanto o CT e CL, pois é a forma de cianeto que se apresenta em maiores quantidades residuais nos produtos de modo geral. Amorim et al., (2006) salienta que as cianidrinas quando ingeridas se decompõem no nível de pH alcalino no intestino delgado para produzir uma quantidade molar equivalente à de cianeto.

Em relação ao CL, assim como ocorreu para o CNG, observou-se a formação de HCN livre durante a moagem das folhas in natura nos ensaios sem e com água. E após a moagem, para ambos os ensaios, os teores de CL reduziram significativamente durante os tempos de repouso, destacando-se as maiores reduções no tempo de 1,5h.

A rápida formação de HCN está relacionada a atividade de linamarase e hidroxinitrila liase em folhas de mandioca, causando uma acelerada conversão de linamarina para liberar o

HCN, que é eliminado rapidamente, uma vez que é volátil. Baixos níveis de linamarase e atividade insignificante de hidroxinitrila liase em tubérculos resulta na eliminação mais lenta da linamarina e no acúmulo de HCN (Nambisan, 2011).

Modesto Junior, Chisté & Pena (2019) encontraram valor médio de CL em folhas de mandioca *in natura* de 6,71 mg HCN/ kg estando abaixo do valor médio encontrado neste estudo (12 mg HCN/ kg). O CL é produto final da hidrólise da linamarina e seus teores, assim como dos demais compostos cianogênicos (GCS e cianidrinhas) estão relacionados à quantidade de compostos cianogênicos na matéria-prima, modo de colheita, condições de processamento e armazenamento das folhas e atividade da enzimática (linamarase) (Chisté, Cohen; Oliveira, 2007).

Os conteúdos finais de CL após 24 horas de repouso foram de 14 e 39 mg HCN/ kg para os ensaios sem e com água, respectivamente. Contudo, em estudo com folhas de mandioca moídas e aquecidas a 40°C, em água, por 3 h foi encontrado valor de CL de 11,97 mg HCN/kg (Modesto Junior, Chisté e Pena, 2019), abaixo dos valores encontrados neste estudo para o mesmo tempo (72 mg HCN/kg). A elevação na temperatura afeta significativamente o teor de cianeto livre, justificado pela sua maior volatilização.

A maior eliminação de CL no experimento sem adição de água (93,60%) em relação ao repouso com adição de água (68,01%), pode ser atribuída à solubilização do HCN no meio aquoso, diminuindo a sua perda por volatilização. Nambisan (2011) ressalta que pode ocorrer a presença de GCs altamente solúveis e seus produtos hidrolíticos lixiviados em água ou hidrólise do GCs, formação de cianidrina até a liberação de HCN, que é volatilizado e, subsequentemente perdido.

De uma maneira geral, observou-se que a etapa de moagem catalisa a hidrólise da linamarina à CNG e CL, reduzindo em mais de 50% o conteúdo de CT das folhas *in natura*. O repouso das folhas moídas promoveu uma redução significativa dos teores de CT a partir de 1,5

h apresentando comportamento quase constante até seis horas de repouso, que pode ser considerado um tempo limite desta etapa de processo, tendo em vista a evidência de fermentação com redução do pH após 24 h. Ambos os ensaios, com ou sem adição de água, demonstraram redução significativa dos teores de cianeto total (Tabela 2), podendo ser adotados de acordo com a praticidade e característica de cada unidade de processamento.

3.2. Reprodução em escala laboratorial dos processos de produção de folhas de mandioca cozidas

3.2.1 pH e teores de compostos cianogênicos

Com base nos resultados de ensaio de repouso foram escolhidos para reprodução em escala laboratorial, os ensaios de repouso de 6 h sem e com adição de água (processos 3 e 4, respectivamente).

Os resultados da análise de pH e os teores de CT, CNG e CL nas folhas *in natura*, após moagem e dos produtos provenientes de cada processo estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Análises de pH, cianeto total (CT), cianeto não glicosídico (CNG) e cianeto livre (CL) de folhas de mandioca *in natura*, após moagem e dos produtos provenientes dos processos em escala laboratorial.

Ensaios	pH	CT (mg HCN/kg)	CNG (mg HCN/kg)	CL (mg HCN/kg)
Folha <i>in natura</i>	5,95±0,04 ^a	558,13±184,22 ^{Aa}	2,43±0,24 ^{Be}	6,56±3,13 ^{Ce}
Após moagem	6,36±0,35 ^a	214,11±72,79 ^{Cb}	310,64±44,82 ^{Aa}	245,52±78,64 ^{Ba}
Produto 1	6,12±0,25 ^a	3,42±2,66 ^{Af}	1,65±0,45 ^{Bf}	2,04±0,12 ^{Bf}
Produto 2	5,90±0,25 ^a	160,07±52,49 ^{Ac}	21,12±12,52 ^{Bd}	21,55±10,59 ^{Bd}
Produto 3	5,82±0,33 ^a	4,01±1,65 ^{Af}	2,83±0,86 ^{Be}	2,86±0,02 ^{Bf}
Produto 4	5,88±0,28 ^a	3,25±1,45 ^{Af}	2,30±1,06 ^{Bef}	2,79±0,80 ^{Bf}

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=2). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$); médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$) produto 1: moagem/cozimento; produto 2: cozimento/moagem; produto 3: moagem/repouso sem água/cozimento; produto 4: moagem/repouso com água/cozimento

Não houve diferença significativa entre o pH da amostra *in natura* e os produtos, indicando que não houve fermentação da mesma durante os ensaios. Houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os conteúdos de CT, CNG e CL das folhas *in natura* e após a moagem, decorrentes da hidrólise dos GCs para formação de cianidrinas e, posteriormente, de cianeto livre.

Avaliando a influência dos ensaios de repouso quando inseridos nos processos, não houve diferença significativa dos teores de CT, CNG e CL entre os processos 1, 3 e 4. O processo 2 diferiu significativamente em relação ao teor de CT, CNG e CL dos processos 1, 3 e 4. Variações de processamento podem influenciar diretamente no conteúdo de cianeto, podendo-se citar no processamento de folhas de mandioca cozidas a realização do cozimento anterior a etapa de moagem, prática comum em algumas agroindústrias na região Norte do Brasil. Este comportamento foi observado por Alves, Modesto Júnior e Abreu (2019), avaliando a produção de uma agroindústria, onde o valor de CT foi sete vezes maior para folhas cozidas antes da moagem.

Realizando-se a etapa de cozimento anterior a moagem (processo 2) pode haver a inativação da enzima linamarase antes que ocorra a hidrólise dos GCs para formação cianidrinas e posteriormente de cianeto livre, fazendo com que o produto final ainda possua alto teor de compostos cianogênicos (Cohen et al. 2007).

A proporção de água adicionada também possui influência na remoção de compostos cianogênicos durante o cozimento. Nambisan e Sudaresan (1985) estudaram o efeito de diferentes volumes de água na retenção de compostos cianogênicos em cubos de raiz de mandioca, na qual a proporção 1:5 (m/v) reteve apenas 24% do conteúdo. Para o presente estudo, a mesma proporção de água obteve uma retenção média de CT, CNG e CL de 0,64; 0,73 e 1,04%, respectivamente.

Nambisan e Sudaresan (1985) destacam ainda que um aumento adicional para 1:10 não causou diminuição significativa no conteúdo de compostos cianogênicos, sugerindo que uma quantidade suficiente de água era necessária para solubilizar a quantidade máxima de compostos cianogênicos no processo de ebulição.

3.2.2 Análises microbiológicas

Em termos microbiológicos, todas as amostras analisadas apresentaram ausência de *Salmonella spp* e as contagens de estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus* foram < 2 log UFC/g. Abass et al. (2019) também não encontraram *Salmonella spp* em nenhuma das amostras analisadas em um estudo com um produto derivado de folhas de mandioca oriundos de Madagascar e Tanzânia e isto deve-se ao fato desta bactéria ser sensível ao calor, não sobrevivendo à temperatura superior a 70°C (Hou et al. 2013).

O gênero *Staphylococcus*, com destaque para o *Staphylococcus aureus* constituem um importante grupo de patógenos. A contaminação pode ocorrer diretamente de animais, manipuladores infectados ou pode resultar de falta de higiene durante o processamento ou no armazenamento de alimentos (Kadariya, Smith e Thapaliya, 2014; Zhao et al. 2013).

B. cereus é um bastonete aeróbio formador de esporos, e está comumente presente no solo, ar, poeira, água, alimentos secos e processados, especialmente de origem vegetal e seus esporos sobrevivem à cocção em altas temperaturas (Glasset et al. 2016).

Na Tabela 4 encontram-se os resultados de coliformes a 45°C, bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras nas amostras de folhas in natura, após moagem e dos produtos provenientes de cada processo.

Os processos 1, 3 e 4 não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) em relação às contagens de coliformes a 45°C, aeróbias mesófilas e bolores e leveduras. A legislação vigente (Pará, 2016) para folhas de mandioca cozidas estabelece contagem de $<0,48$ log NMP/g para coliformes a 45°C e desta forma, os produtos 1, 3 e 4 atendem ao limite preconizado pela

legislação. A mesma legislação não estabelece referências para bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras, entretanto, Abass et al., (2019) enfatiza que alta carga de fungos associada a presença de coliformes sugere falta de higiene durante o processamento, possivelmente devido ao uso de água com características insatisfatórias e utilização de equipamentos e utensílios de processamento mal higienizados.

Tabela 4. Contagens de coliformes a 45°C, aeróbias mesófilas e bolores e leveduras em folhas de mandioca *in natura*, após moagem e dos produtos provenientes dos processos em escala laboratorial.

Ensaio	Coliformes a 45°C (log NMP/g)	Bactérias aeróbias mesófilas (log UFC/g)	Bolores e leveduras (log UFC/g)
Folha <i>in natura</i>	$>3,54 \pm 0,71^a$	$5,74 \pm 0,52^a$	$5,40 \pm 0,06^a$
Após moagem	$3,61 \pm 0,61^b$	$5,02 \pm 0,13^a$	$3,60 \pm 0,07^b$
Produto 1	$<0,48 \pm 0,00^d$	$<2,40 \pm 0,00^c$	$<2,88 \pm 0,00^d$
Produto 2	$2,57 \pm 0,85^c$	$3,35 \pm 0,04^b$	$3,19 \pm 0,08^c$
Produto 3	$<0,48 \pm 0,00^d$	$<2,40 \pm 0,00^c$	$<2,88 \pm 0,00^d$
Produto 4	$<0,48 \pm 0,00^d$	$<2,40 \pm 0,00^c$	$<2,88 \pm 0,00^d$

Resultados expressos por meio de média \pm desvio padrão (n=2). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna possuem diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$); produto 1: moagem/cozimento; produto 2: cozimento/moagem; produto 3: moagem/repouso sem água/cozimento; produto 4: moagem/repouso com água/cozimento

O processo 2 apresentou valores de contagens de coliformes a 45°C, aeróbias mesófilas e bolores e leveduras significativamente maior que os demais processos analisados (1, 3 e 4). Tais resultados evidenciam que neste processo, ocorreu recontaminação do produto final após o tratamento térmico (cozimento), provavelmente devido à realização da moagem das folhas cozidas após o cozimento, ficando o produto em contato com equipamentos e utensílios, que apesar de terem sido limpos ainda podem propiciar contaminações. De acordo com Marriott, Wes Schilling e Gravani (2018) e Farahat, El-Shafie e Waly (2015) os alimentos devem ser manuseados com equipamentos e utensílios que tenham sido cuidadosamente limpos e sanitizados. Estes procedimentos reduzem a carga microbiana, mas não eliminam totalmente,

exigindo que o produto de contato seja submetido a etapa subsequente de conservação, o que não ocorre na prática com as folhas de mandioca produzidas conforme o processo 2.

Portanto, em termos microbiológicos, a moagem após o cozimento também não é recomendada para este produto, a menos que ele passe por uma etapa posterior de cozimento complementar.

4 CONCLUSÃO

O ensaio de repouso contribuiu para redução significativa nos teores de cianeto total, com intensa formação de cianeto não glicosídico e livre, entretanto é válido ressaltar que grande parte da conversão e eliminação de HCN ocorreu no processo de moagem, sendo esta etapa fundamental para a detoxificação. A adição de água demonstrou maiores percentuais de remoção de cianeto total durante o repouso. Neste estudo, os repousos sem e com adição de água quando inseridos como etapas no processamento não demonstraram diferença significativa nos teores de compostos cianogênicos em relação ao processo já utilizado nas agroindústrias. O cozimento anterior a moagem se mostrou insatisfatório tanto em relação ao teor residual de compostos cianogênicos como também em relação ao aspecto microbiológico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Agradecem também a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Amazônia Oriental) pela parceria e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo provimento do suporte financeiro para o desenvolvimento da pesquisa (Processos CNPq n. 408055/2013-8 e 407764/2013-5). A Rede Bragantina de Economia Solidária pelo fornecimento das folhas de mandioca.

REFERÊNCIAS

Abass, A., Adegoke, G.O., Awoyale, W., Gaspar, A., Mlingi, N., Andrianavalona, V., Ranaivoson, L.R., 2019. Enumeration of the microbiota and microbial metabolites in processed

cassava products from Madagascar and Tanzania. *Food Control*. 99, 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.025>.

Adamolekun, B., 2010. Etiology of Konzo, epidemic spastic paraparesis associated with cyanogenic glycosides in cassava: role of thiamine deficiency? *J. Neurol. Sci.* 296, 30-33. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2010.06.016>

Amorim, S.L., Medeiros, R.M.T., Riet-Correa, F., 2006. Intoxication by cyanogenic plants in Brazil. *Ci. Anim.* 16, 17-26.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2007. Official methods of analysis of the 18th international. Published by AOAC International edition. Gaithersburg.

Aydin, A., Sudagidan, M., Muratoglu, K., 2011. Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *Int. J. Food Microbiol.* 148, 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.007>.

Banea, P., Bradybury, J.H., Mandombi, C., Nahimana, D., Denton, K.N., Tshala Katumbay, D., 2013. Control of konzo by detoxification of cassava flour in three villages in the Democratic Republic of Congo. *Food Chem. Toxicol.* 6, 506-513. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.012>.

Bradbury, J.H., Denton, I.C., 2014. Mild methods for removal of cyanogens from cassava leaves with retention of vitamins and proteins. *Food. Chem.* 158, 417-420. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.132>.

Bradbury, J. H., Denton, I.C., 2011. Mild methods of processing cassava leaves to remove cyanogens and conserve key nutrients. *Food. Chem.* 127, 1755-1759. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.053>.

Cardoso, A. P., Mirione, E., Ernesto, M., Massaza, F., Cliff, J., Haque, M. R., 2005. Processing of cassava roots to remove cyanogens. *J. Food. Compos. Anal.* 18, 451-460. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.04.002>.

Chisté, R.C., Cohen, K.O., Oliveira, S.S., 2007. Study of tucupi physicochemical properties. *Food. Sci. Technol.* 27, 437-440. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000300002>.

Cohen, K. de O., Oliveira, S.S., Chisté, R.C., 2007. Quantificação de Teores de Compostos Cianogênicos Totais em Produtos Elaborados com Raízes de Mandioca. (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa Documentos 290). ISSN 1517-2201.

Companhia Nacional de Abastecimento –CONAB, 2014. Perspectivas para a agropecuária. Brasília. 2, 1-155. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_10_18_03_00_perspectiva_2014-5.pdf. Acesso em 06/05/2019.

Cooke, R.D., 1978. An enzymatic assay for the total cyanide content of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J.Sci.Food.Agric.* 29, 345-352. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740290408>.

Cooke, R. D., 1979. Enzymatic assay for determining the cyanide content of cassava and cassava products. *Centro Int. Agric. Trop-CIAT.05EC* 6, 14.

Costa, J. F., Santos, M. A. S., Rebello, F. K., Costa, A. D., Silva, J. S., 2016. Política de crédito rural e os financiamentos à cultura da mandioca no estado do Pará, 1990-2012. *Rev. Raízes Amidos Trop.* 12, 1–14. <https://doi.org/10.17766/1808-981X.2016v12n1p1-14>.

Essers, A. J. A., Bosveld, M., Van der Grift. R. M., Voragen, A. G. J., 1993. Studies on the quantification of specific cyanogenes in cassava products and introduction of a new chromogen. *J. Sci. Food Agric.* 63, 287-296. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740630305>.

Farahat, M.F., El-Shafie, M.M., Waly, M.I., 2015. Food safety knowledge and practices among Saudi women. *Food control.* 47, 427-435. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.045>.

Faostat. Database, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. <http://faostat3.fao.org/home/E/>. Acesso em 04/05/2019.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. 2019. Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro. Jan.2019. Disponível em: http://biblioteca.ibge.org.br/vizualizacao/periodicos/2415/epag_2019_jan.pdf. Acesso em: 15/02/2019.

Glasset, B., Herbin, S., Guillier, L., Cadel-Six, S., Vignaud, M.L., Grout, J., Pairaud, S., Michel, V., Hennekinne, J.A., Ramarao, N., Brisabois, A., 2016. *Bacillus cereus*-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation. *Eurosurveillance.* 21, 304-313. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.48.30413>.

Gleadow, R., Moller, B., 2014. Cyanogenic Glycosides: Synthesis, Physiology, and Phenotypic Plasticity. *Annu Rev Plant Biol.* 65, 155-185. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040027>.

Kadariya, J., Smith, T.C., Thapaliya, D., 2014. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *Biomed Res. Int.* 1, 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/827965>.

Kalenga Saka, J.D., Nyrenda, K.K., 2012. Effect of two ethnic processing technologies on reduction and composition of total and non-glucosidic cyanogens in cassava. *Food Chem.* 130, 605–609. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.082>.

Marriott, N.G., Wes Schilling, M., Gravani, R.B., 2018. Principles of food sanitation, sixth ed. Springer Scientific, New York, pp. 422.

Modesto Junior, E.N., Chiste, R.C., Pena, R.S., 2019. Oven drying and hot water cooking processes decrease HCN contents of cassava leaves. *Food Res. Int.* 119, 517-523. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.029>.

Mezette, T.F., Carvalho, C.R.L., Morgano, M.A., Silva, M.G., Parra, E.S.B., Galera, J.M.S.V., Valle, T.L., 2009. Seleção de clones-elite de mandioca de mesa visando a características

agronômicas, tecnológicas e químicas. *Bragantia*, 68, 601-609. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052009000300006>.

Nambisan, B., Sundaresan, S., 1985. Effect of Processing on the Cyanoglucoside Content of Cassava. *J. Sci. Food Agric.* 36, 1197-1203. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740361126>.

Nambisan, B., 1994. Evaluation of the effect of various processing techniques on cyanogen content reduction in cassava. *Acta Hortic.* 357, 193-201. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.375.17>.

Nambisan, B., 2011. Strategies for elimination of cyanogens from cassava for reducing toxicity and improving food safety. *Food Chem. Toxicol.* 49, 690-693. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.035>.

Nicolau, A.I. 2016. Safety of Fermented Cassava Products. In: Prakash, V., Martín-Belloso, O., Kenner, L., Astley, S., Braun, S., McMahon, H., Lelievre, H. (Eds.), *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods*, Academic press, Waltham, MA, pp. 319-335.

Pará. Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará – ADEPARÁ, 2016. Instrução Normativa nº 1 de 06/05/2016. Dispõe sobre o regulamento técnico de produção da maniva cozida e dá outras providências. https://www.normasbrasil.com.br/instrucao-normativa-1-2016-pa_320241.html. (Acessado em 10 fev. 2019).

Pestana, T.C., Castro, G.H.F., 2015. Potencial da rama de mandioca para uso na alimentação de ruminantes: Revisão. *PubVet.* 9, 457-466.

Salfinger, Y.; Tortorello, M.L., 2015. *Compendium of methods for the microbiological examinations of foods*, fifth ed. APHA, Washington (DC).

Silva, G.G.C., Nunes, C.G.F., Oliveira, E.M.M., Santos, M.A., 2004. Toxicidade cianogênica em partes da planta de cultivares de mandioca cultivados em Mossoró-RN. *Rev. Ceres*, 51, 56-66.

Valle, T.L., Carvalho, C.R.L., Ramos, M.T.B., Mühlen, G.S., Villela, O.V., 2004. Conteúdo cianogênico em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas. *Bragantia*, 63, 221-226. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052004000200007>.

Wobeto, C., Corrêa, A.D., Abreu, C.M.P., Santos, C.D., 2004. Cyanide in flour and cassava leaves (*Manihot esculenta* crantz). *Food Sci. Technol.* 28, 1115-1118. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542004000500020>.

Zhao, X., Li, Y., Parque, M., Wang, J., Zhang, Y., He, X., Forghani, F., Wang, L., Yu, G., Oh, D.H., 2013. Loop-mediated isothermal amplification assay targeting the femA gene for rapid detection of *Staphylococcus aureus* from clinical and food samples. *J. Microbiol Biotechnol.* 23, 246-250. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1207.07022>.

4 CONCLUSÃO GERAL

- As amostras de maniva cozidas apresentaram teores de cianeto livre acima do preconizado pela legislação vigente, que pode estar relacionada as variações que ocorrem no processamento. Não oferecem riscos em relação a qualidade microbiológica, não sendo detectada a presença de microrganismos patogênicos, entretanto verificou-se contagens de coliformes, aeróbios mesófilos e bolores e leveduras, evidenciando uma provável recontaminação do produto. Alguns parâmetros físico-químicos estiveram aquém do requerido, o que pode sinalizar uma possível revisão dos valores estipulados;

- Agroindústrias foram avaliadas como de alto risco em relação as BPF segundo a legislação vigente. Existe atualmente um trabalho conjunto entre os órgãos de fiscalização estaduais e as agroindústrias processadoras de subprodutos de mandioca para adequação dos locais de processamento, em especial ao que tange às BPF;

- O ensaio de repouso da maniva promoveu redução significativa nos teores compostos cianogênicos, entretanto, é valido ressaltar que grande parte da conversão e eliminação de HCN ocorreu no processo de moagem, sendo esta etapa primordial para a detoxificação;

- Os ensaios de repouso sem e com água quando inseridos como etapas no processamento de maniva cozida não demonstraram diferença significativa nos teores de compostos cianogênicos e em relação aos aspectos microbiológicos, comparando com o processo já utilizado para produção de maniva cozida. O cozimento anterior a moagem das folhas se mostrou insatisfatório para produção maniva cozida, tanto em relação ao teor de compostos cianogênicos, tendo altos teores residuais como também em relação ao aspeto microbiológico, onde verificou-se contagens de coliformes a 45°C, aeróbios mesófilos e bolores e leveduras indicando recontaminação após o cozimento.

AGRADECIMENTOS GERAIS

A discente agradece a Universidade Federal do Pará (UFPA) e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA). Agradece também a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Amazônia Oriental) pela parceria e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo provimento do suporte financeiro para o desenvolvimento da pesquisa (Processos CNPq n. 408055/2013-8 e 407764/2013-5). A Rede Bragantina de Economia Solidária pelo fornecimento das folhas de mandioca.