

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO – CAMPUS VII
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

RAYSSA LIMA NASCIMENTO

**BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS FERMENTADORES DA
MANIPUEIRA**

Senhor do Bonfim – BA

2012

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO – CAMPUS VII
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

RAYSSA LIMA NASCIMENTO

**BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS FERMENTADORES DA
MANIPUEIRA**

Monografia apresentada ao Departamento de Educação – Campus VII como requisito parcial à conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Estado da Bahia, sob a orientação da Prof. Dr. Gervásio Paulo da Silva.

Senhor do Bonfim – BA

2012

TERMO DE APROVAÇÃO

Bioprospecção de microrganismos Fermentadores da Manipueira

Por:

Rayssa Lima Nascimento

Monografia apresentada ao Departamento de Educação – Campus VII como requisito parcial à conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Estado da Bahia e aprovada pela banca examinadora:

Prof. M.Sc. Samuel de Carvalho Silva

Prof Esp. Edemir Barbosa dos Santos

Prof. Dr Gervásio Paulo da Silva

Senhor do Bonfim, 18 de dezembro de 2012.

*Dedico as Mulheres mais importantes da Minha
vida Minha Mãe Josilma, Minha Ós Maria e Minha Dinda
Darte.*

AGRADECIMENTOS

Deus o Senhor já conhece o tamanho da minha gratidão pelos teus ensinamentos e as oportunidades que tu me proporciona a cada amanhecer. A Maria por sua proteção e amor. Ao meu amigo de Luz por está me ajudando a enfrentar os desafios da vida.

Para minha família :

“Amo como ama o amor. Não conheço nenhuma outra razão para amar senão amar. Que queres que te diga, além de que te amo, se o que quero dizer-te é que te amo”.

Fernando Pessoa

Sempre achei a gente tão diferente e ao mesmo tempo tão normal, como uma mãe pode ser mãe e pai ao mesmo tempo e uma vó pode ser vó e mãe, exercer dois papéis ao mesmo tempo e serem tão brilhantes, só vocês duas. É uma honra ter vocês como exemplo de amor, força, gratidão, perseverança e respeito. Mainha você foi minha cozinheira oficial no período acadêmico eu nunca vou esquecer. Mamãe falou pra eu “ir ser gente”, tô tentando. Amo muito e infinitamente vocês!

Meu irmão você é meu parceiro, Deus colocou você pra minha vida não ser um monólogo sem emoção, brigamos, rimos, choramos, nos perdoamos, somos irmãos!! Você mora no meu coração e não paga aluguel!

Dinda e dindo meus pais nº 2 como não amar e agradecer vocês sempre? Obrigada por tudo que tens feito pela minha vida! Amo muitíssimo.

Tia Zange e tio Vivaldo minha eterna gratidão e amor por me acolher quando sair de casa para “ir ser gente”.

Aos meus primos Nana, Guinho, Theu, Kinha, Dessa, Ninha, Gui, Kaíque e Lolô vocês são meus amigos, irmãos, confidentes, meus fofuxos, meu amor é grandão pra caber todos vocês.

As minhas best friends Aline, Davi, Manu e a mais nova integrante do grupo Juju, e a minha grande amiga Mininha que mesmo longe está sempre tão perto “não há memórias onde não aparecem e nem lembranças em que elas não estejam”. Amo vocês mais que cavaco com tubaína.

As garotas da república “o puleiro” que me acolheram no início da minha jornada acadêmica e que por muitas vezes seguraram a barra mais pesada que passei. Lai com seus cuidados e carinho (desenvolveu grande parte do seu estágio comigo), Tia Iza por quantos países já não viajamos?! Você é extraordinária, Rafinha minha co orientadora, pequenininha e tão grande! Évelin pelos bons momentos compartilhados. E as mais novas tripulantes Luly prima, amiga e minha servente oficial e Bruninha pequena bula ambulante, vocês tornaram os meus dias mais coloridos!

Aos meus amigos Hello Kitty, Rane, Carlinha e nosso Pretinho, quanta coisa junta, tantos momentos maravilhosos. Ao lado de vocês os dias se tornaram mais leve e as dificuldades amenas.

Ao pessoal do laboratório Brito, Edemir, Nai, Tati, Alan e Samuel. Me guiaram quando eu não distinguia uma piceta de uma proveta, me mostraram fórmulas, experimentos, me proporcionaram muitos momentos de alegria.

A meu orientador, o professor Gervásio Paulo da Silva, pela paciência e pelos ensinamentos prestados.

A minha turma 2009.1 em especial a Lu, Juli, Fabiana, Noêmia e Rone. Quantas brigas, festinhas, aulas intermináveis, momentos de pura adrenalina e emoção vivi ao lado de todos vocês!

Aos professores do Campus VII e aqueles que marcaram a minha vida com suas aulas performáticas e o seu amor pelo ensino Rodrigo, Juli, Marileide, Hilder, Funguinho, Cris e Marta. Vocês são inesquecíveis!

Aos amigos que já tem um lugar especial no meu coração Nikássio, Alano e toda a turma do almoço na copa.

Meus amigos que mesmo longe se preocuparam em manter contato e fazer das nossas pequenas reuniões grandes momentos Lis, Rafa, Radamés, João, Lukinhas, Jamilly, Andrêssa e Bia.

Aos meus amores que se tornaram LUZ e hoje tornam nossas noites mais iluminadas, minha saudade é imensa por Lipe, tio, vó e vô.

Aos funcionários do Campus VII que sempre foram gentis e simpáticos em especial a Evinha e Jane.

E aos meus conhecidos e amigos que souberam em um momento oportuno arrancar o meu melhor sorriso e minha mais sincera gargalhada.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

O cultivo da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) representa a base econômica e alimentar de boa parte da população do nordeste, podendo ser utilizada para produção de farinha, fécula e tapioca. Durante a fabricação desses produtos alguns resíduos agroindustriais (sólidos e líquidos) são produzidos sendo potencialmente poluidores. Estes resíduos podem ser aproveitados na alimentação animal, fertirrigação, como inseticida e herbicida. O líquido leitoso, amarelado e altamente tóxico, oriundo do processo de fabricação de farinha, é denominado manipueira, com pouca aplicação na maioria das vezes sendo despejada no solo ou em rios, pela grande maioria das indústrias de farinha. Porém a alta concentração de nutrientes faz a manipueira uma forte candidata como fonte de carbono e nutrientes em processos fermentativos industriais, empregando microrganismos para a obtenção de moléculas de valor comercial. Esta utilização da manipueira contribuiria para a redução da poluição ambiental ao mesmo tempo em que serviria como fonte de carbono e de nutrientes de baixo custo para a microbiologia industrial. O objetivo deste trabalho é bioprospectar microrganismos para avaliar a fermentação da manipueira. A manipueira coletada na casa de farinha do distrito da Igara e levada ao laboratório de biotecnologia de microrganismos da Uneb - Campus VII, será submetida a fermentação natural, onde amostras serão retiradas periodicamente e microrganismos também serão isolados e caracterizados. Os microrganismos passarão por processo fermentativo, tendo como substrato a manipueira. As amostras das fermentações quantificadas e analisadas em Cromatografia em líquido de alta eficiência (CLAE), mostrou o ácido láctico como principal produto. Gerando assim maiores informações sobre a fermentação natural da manipueira, evidenciando a capacidade de crescimento microbiano e a possibilidade de aproveitamento desta como fonte de carbono e nutriente em processos fermentativos industriais.

Palavras chave: Manipueira. Fermentação. Bioprospecção. Microrganismos.

ABSTRACT

The cultivation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is the economic foundation of food and much of the population of the northeast and may be used for production of flour, starch and tapioca. During the manufacture of these products some agroindustrial waste (solid and liquid) are being produced potentially polluting. These wastes can be utilized in animal feed, fertigation, as insecticide and herbicide. The liquid milky, yellow and highly toxic, arising from the manufacturing process of flour, cassava is called with little application mostly being discharged into the soil or in rivers, the vast majority of industrial flour. However, the high concentration of nutrients makes the manipueira a strong candidate as a source of carbon and nutrients in industrial fermentation processes, using microorganisms to obtain molecules of commercial value. This use of manipueira contribute to reduction of environmental pollution at the same time serve as a source of carbon and nutrients low cost for industrial microbiology. The objective of this study is to evaluate bioprospect microorganisms fermentation of cassava. Manipueira collected in flour mill district of Igara and taken to the biotechnology laboratory of microorganisms Uneb - Campus VII, will undergo natural fermentation, where samples will be collected periodically and microorganisms are also isolated and characterized. The microorganisms will undergo fermentation as substrate manipueira. Samples of fermentation quantified and analyzed in liquid chromatography high efficiency, showed lactic acid as the main product. Thus generating more information about the natural fermentation of cassava, demonstrating the ability of microbial growth and the possibility of using this as a source of carbon and nutrients in industrial fermentation processes.

Keywords: Cassava water. Fermentation. Bioprospecting. Microorganisms

Lista de Figura

Figura 1: A) Shaker rotacional de piso. B) Erlenmayeres contendo manipueira com isolados para fermentação.....	28
Figura 2 : HPLC (Dionex, Ultimate 2000) Utilizado para análises dos produtos da fermentação da manipueira.	29
Figura 3: Man 04. Bacilo, Gram-negativa.....	31
Figura 4: MIG 4A Isolado, Gram-negativa.....	32
Figura 5: Fermentação da Manipueira pura em shaker, não esterilizada e sob as condições de 100 rpm e 30 °C.	34
Figura 6: Fermentação em shaker da Manipueira pura, não esterilizada a 100 rpm e 30 °C.	35
Figura 7: Fermentação da Manipueira pura, esterilizada em shaker com o isolado MIG 4A, a 100 rpm e 30 °C.	36
Figura 8: Fermentação da Manipueira pura, esterilizada e congelada em shaker com o microrganismo Man 04, sob as condições de 100 rpm e 30 °C.....	37
Figura 9: Fermentação da Manipueira pura, sem esterilização em fermentador sob as condições de 150 rpm, 35 °C e pH 6,0.	39
Figura 10: Fermentação utilizando microrganismo MIG 4A sob as condições de 150 rpm, 35 °C e pH 6,0.	39
Figura 11: Fermentação utilizando microrganismo Man 04 sob as condições de 150 rpm, 35 °C e pH 6,0.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição nutricional da raiz e folha de mandioca (Fonte: SEBRAE, 2008).....	21
Tabela 2- Teores de minerais da manipueira (Barana, 2000).....	26
Tabela 3- Resultados dos testes API 20 E para os microrganismos MIG 4A e Man 04.....	37

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1 Origem, importância e produtos da mandioca.....	18
3.2 Farinha de mandioca.....	21
3.3 Manipueira.....	22
3.3.1 Formas de utilização e tratamento da manipueira.....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Coleta da manipueira.....	27
4.2 Fermentação natural da manipueira e Bioprospecção de microrganismos	27
4.4 Fermentação da manipueira pelos isolados microbianos.....	28
4.5 Análise dos produtos da fermentação.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1 Isolamento de microrganismos	31
5.2 Fermentação da manipueira pura sem esterilização.....	34
5.3 Fermentação da manipueira esterilizada.	36
5.4 Fermentação da manipueira em fermentador.....	39
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento social e econômico implantado por diversos países vêm trazendo consequências drásticas ao meio ambiente. Devido a constante busca por processos industriais que prejudiquem menos o meio ambiente, a utilização de resíduos agroindustriais aparece como uma das alternativas. O nordeste brasileiro é um dos grandes produtores e consumidores dos derivados da mandioca (*Manihot esculenta*). Um dos produtos mais consumidos é a farinha, que para sua produção, requer que a mandioca seja descascada, moída e prensada para a remoção da água, gerando resíduos sólidos e líquidos. O resíduo líquido da mandioca é leitoso e amarelado, denominado manipueira, rico em nutrientes como potássio, nitrogênio e fósforo, além de apresentar alta concentração de matéria orgânica.

A fermentação da manipueira ainda é um assunto pouco pesquisado, porém sabe-se que a manipueira pode apresentar uma grande diversidade de microrganismos. E a variedade microbiana representa uma fonte importante de recursos genéticos para o avanço da biologia e biotecnologia, os microrganismos já vem sendo utilizados há anos, visando adquirir produtos biotecnológicos como a produção de antibióticos, alimentos, bebidas alcoólicas, ácidos orgânicos, tratamentos ou remediação de resíduos.

O objetivo deste trabalho é isolar microrganismos a partir da fermentação da manipueira, e avaliar o potencial desses microrganismos para fins industriais. Para que isso pudesse acontecer a manipueira foi cedida pela casa de farinha do distrito de Igara, onde levada através de garrafas pets para o laboratório de biotecnologia de microrganismos passou por processo de fermentação natural. Onde além de amostras, microrganismos foram isolados.

Os microrganismos isolados passaram por processo de fermentação em shaker a 30°C e 100 rpm, o substrato utilizado foi a manipueira pura autoclavada a 121°C/ 15 min. Em seguida os isolados mais promissores e também a manipueira pura sem esterilização passaram por fermentação em fermentador, onde foi controlada além da temperatura e rotação o pH. As análises dos produtos em CLAE demonstrou que o produto obtido em todas as fermentações e que teve o maior destaque foi o ácido láctico, este vem demonstrando uma maior evidência na indústria devido a suas aplicações, tanto na indústria alimentar, couro, têxteis, farmacêutica para a produção de produtos químicos de base e agora aparece na

indústria com o polímero biodegradável o ácido polilático (PLA) que vem sendo utilizado na fabricação de produtos biorreabsorvíveis e na indústria de embalagens.

Este trabalho demonstra a importância da utilização da manipueira para que ela não venha ser despejada em locais inadequados contaminando o meio ambiente e evidenciando a possibilidade de aproveitamento desta como fonte de carbono e nutrientes em processos fermentativos industriais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Isolar microrganismos da manipueira e avaliar o potencial desses na fabricação de produtos de interesse industrial a partir deste resíduo agroindustrial.

2.2 Objetivos específicos

- a) Isolar, caracterizar e selecionar microrganismos fermentadores da manipueira;
- b) Determinar os produtos finais na produção da fermentação natural da manipueira;
- c) Avaliar o potencial dos isolados obtidos quanto a fermentação da manipueira.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Origem, importância e produtos da mandioca

Segundo a mitologia indígena, uma jovem, filha de um chefe de uma tribo pariu uma criança a partir de uma gravidez misteriosa, que seu pai não aprovara. Porém, quando a pequena menina nasceu branca, todos os aborrecimentos sumiram, seu nome era Mani. Era uma menina precoce, falou e andou muito rápido, por isso se tornou motivo de admiração naquela e em outras tribos. Mani morreu subitamente com um ano de idade, deixando todos muito tristes. Ela foi enterrada no interior de sua oca, sua sepultura foi regada e cuidada todos os dias como costume de seu povo. No local de sua sepultura brotou uma planta. Os índios, impressionados com a novidade, cavaram para encontrar o que seria o corpo de Mani, devido a sua coloração muito branca. Com isso os índios aprenderam a usar a raiz e atribuíram o nome Maní oca, a casa de Mani (PEREIRA, 2001). Esta lenda ameríndia sobre o surgimento da mandioca mostra a importância dessa planta para a cultura indígena.

A mandioca pertence a família Euphorbiaceae, gênero *Manihot* e espécie *Manihot esculenta*. É originária do continente Sul americano sendo produzida em mais de 80 países. Cerca de 5 a 10 mil anos, os índios americanos transformaram algumas espécies selvagens em algumas das espécies domesticadas mais consumidas pelo mundo. Quando os portugueses chegaram ao Brasil, os ameríndios já praticavam o cultivo e utilizavam a mandioca como fonte de alimento (SILVA et al., 2004; FERREIRA et al., 2001; GALERA, 2008; VALLE, 2002).

Por ser uma planta cujo principal produto de interesse são as raízes, o solo apropriado para produzir a mandioca deve possuir textura franco-arenosa a argilo-arenosa, facilitando o crescimento das raízes, capacitando uma boa drenagem e possibilitando uma excelente colheita. Seu cultivo é favorável em climas tropicais e subtropicais, possuindo uma temperatura média ideal para o plantio entre 24°C a 25°C. Para a mandioca se desenvolver, o solo não pode sofrer alagamentos e nem congelamento e sua produção é mais rápida sob a exposição direta do solo (EMBRAPA, 2006).

A mandioca conseguiu se difundir por vários lugares, pois a adaptação da planta aos aspectos ambientais é muito eficiente, não precisa de solos muito férteis

e nem técnicas sofisticadas em seu cultivo, devido a grande variedade genética, resistência a pragas e pode ser cultivada em consórcio com outras culturas (SILVA et al., 2010; SEBRAE, 2009).

Dias et al. (1998) realizou uma pesquisa mostrando que cerca de 600 a 700 milhões de pessoas pelo mundo tem suas reservas nutricionais habituais por meio da mandioca. Nassar (2006) descreve a mandioca como sendo a cultura de subsistência tropical mais importante do mundo. De acordo com a FAO (Organização para Agricultura e Alimentos) entre os anos 60 e 90, o cultivo reduziu na América do Sul ao mesmo tempo em que foi crescendo na Nigéria, hoje o principal produtor da África e do mundo. A queda na produtividade do Brasil ocorreu devido ao abandono ou diminuição em algumas áreas onde a produtividade era grande, pois a cultura de mandioca foi trocada por outras de subsistência, como em São Paulo, que na década de 60 era o principal produtor no país.

O Brasil é o segundo país no ranking na produção de mandioca, cultivada em todas as regiões do país (SOUZA e FIALHO, 2003). De acordo com o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), em 1996 o Brasil possuía 1.617.053 hectares plantados com mandioca. O consumo médio de mandioca é de aproximadamente 01 kg/pessoa/ano e de 3,7 kg/pessoa/ano de farinha de mandioca (INTERLICHE, 2002). No Nordeste, 70% das calorias consumidas diariamente provem da mandioca.

FUKUDA (2007) realizou um estudo onde pode comprovar que além de carboidratos, a mandioca é uma excelente fonte de betacaroteno, precursores de vitamina A nas raízes amareladas e licopeno, nas raízes mais rosas. As culturas com raízes amarelas são mais comum no Brasil, possuindo mais diversidade genética nas Regiões Norte e Nordeste. No Norte as principais raízes são amareladas, as chamadas mandiocas bravas, para a produção de farinha, enquanto nas demais regiões as variedades de mandioca amarela são preferíveis para o consumo de mesa. Na figura 1 a tabela mostra a composição nutricional em média da raiz e folha de mandioca.

Tabela 1-Composição nutricional da raiz e folha de mandioca (Fonte: SEBRAE, 2008).

Componentes	Partes da planta	
	Raízes	Folhas
Umidade (g/100g)	60-65	70-75
Carboidratos(g/100g)	30-35	14- 18
Proteínas (g/100g)	0,5-2,5	7,0
Lipídios (g/100g)	0,2-0,4	1,0
Vitaminas		
A (µg/100g)	50	960- 3.000
B1 (µg/100g)	-	120- 250
B2 (µg/100g)	-	270-600
C (mg/100g)	25	29- 31
Niacina (mg/100g)	-	2,4
Minerais		
Cálcio (mg/100g)	50	300
Ferro (mg/100g)	0,9	7,6
Fósforo (mg/100g)	40	11

A principal diferença entre a mandioca brava e mansa está no sabor e no modo de consumo. A brava é amarga e as variedades da mandioca possuem por quilo de produto fresco, entre 15 a 400 g de ácido cianídrico (HCN) e são altamente tóxicas, pois liberam o radical cianeto. A toxidade acontece devido a dois glicosídeos cianogênicos, a lotaustrina (β Glicosídeo de etil-metil-cetona-cianidrina) e a linamarina (β Glicosídeo de acetonacianidrina), que se localizam na parte aérea e subterrânea da planta em concentrações diferentes. A alta toxidade da mandioca brava se torna um verdadeiro veneno para pessoas e animais se consumida sem algum processo de desintoxicação. Já a mansa é adocicada e pode ser encontrada com maior frequência na Amazônia, possui alto teor de água e açúcares em suas raízes. A mandioca mansa é conhecida como a variedade de mesa (GALERA, 2008; CARDOSO, 2005; FAUSTO, 2006; FUKUDA, 2007).

A mandioca tem diversas utilidades; pode ser consumida frita, assada, cozida. Tem utilização na indústria têxtil, alimentícia e farmacêutica (INTERLICHE, 2007). A partir da mandioca mansa ou aipim podem ser obtidos os produtos processados como exemplo pode ser citada a mandioca pré cozida como o chips. Já os principais produtos da mandioca brava são a farinha e o amido, também chamado de tapioca, fécula, goma ou polvilho doce e polvilho azedo (SOUZA e FIALHO, 2003).

3.2 Farinha de mandioca

O principal produto obtido da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é a farinha, produzida em quase todas as regiões do Brasil, sendo a região nordeste uma grande produtora e consumidora da farinha (CARVALHO, 2005; CAMPOS et al., 2006). A farinha de mandioca possui alto teor energético, grande quantidade de amido, além de conter fibras e minerais como o cálcio, potássio, sódio, ferro e fósforo (DIAS et al., 1998; SEBRAE, 2006).

As casas de farinhas são os locais onde a farinha é produzida, normalmente são famílias que se dividem em grupos e cada um, fica responsável em produzir durante um dia na semana (RIO DE JANEIRO, 2005). A farinha de mandioca está dividida em três grupos: a seca (ralada), d' água (fermentada) e mista. Cada tipo de farinha pode ser apresentado nas formas fina ou grossa sendo classificada de acordo com sua coloração amarela, branca ou intermediária (PINTO, 2003).

Para a produção de farinha, são necessárias as seguintes etapas: O primeiro passo é a recepção e armazenamento da mandioca em local sem umidade, evitando assim perda por apodrecimento. Nesse mesmo local a mandioca também é pesada. Já a lavagem vai variar de acordo a forma de descascamento. No descascamento manual as raízes são lavadas em tanque com água potável e para descascar são usadas facas de aço inoxidável e após serem descascadas as mandiocas são novamente lavadas. No processamento mecânico, as raízes são lavadas e descascadas simultaneamente (PINTO, 2003; SILVA, 2008).

A mandioca descascada é triturada, podendo se utilizar diferentes tipos e tamanhos de raladores, geralmente um cilindro de madeira com lâminas de aço serrilhado, paralelo em seu eixo. As raízes são movidas através de braços de madeira com movimentos alternados, sendo transformadas em massa que é despejada em um tanque azulejado e limpo até a próxima etapa (NETO et al., 2003).

A massa apresenta alta umidade, devendo ser prensada, evitando também que a massa fique com gomos. Nessa etapa, a massa é colocada em prensas manuais ou hidráulicas, ambas com cestos abertos, onde a massa será ensacada e colocada sobreposta dentro dos cestos até o final da prensa. A água que escoar nesse processo é rica em amido, conhecida como leite de amido ou manipueira (SILVA, 2008).

A massa prensada fica compacta em formato de blocos, que deve ser dividido e esfarelado, manualmente ou em peneira vibratória com motor elétrico. O material retido na peneira é chamado de cueira e tem como destino a ração animal. Após ser peneirada, a massa é levada ao forno. Nesse processo é eliminada a fração remanescente de manipueira, que deixa a farinha amarga. É na torração que a massa vai ficar mais clara. Os fornos são tachos semiesféricos com um agitador de pás central, ou pode ser utilizado o forno elétrico circular rotativo equipado com pás que fazem movimentos circulares. Na torração a massa perde completamente a umidade (RIO DE JANEIRO, 2005).

Na peneiração final o principal objetivo é obter uniformidade na granulação da farinha. Nessa etapa a malha da peneira vai depender do tipo de grão que deve ser obtido, variando entre 0,17 mm até mais de 1,0 mm. Essa classificação vai depender do mercado consumidor (PINTO, 2003; NETO et al., 2003).

Quando estiver na temperatura ambiente a farinha é embalada em sacos de rafia ou de algodão de 50 kg para evitar deterioração e perda da crocância. Geralmente esse tipo de farinha é vendida em feiras livres e mercados municipais onde a venda é feita por litro, a granel ou em quilo. O empacotamento pode ser feito manual ou através de máquinas embaladoras automáticas. A farinha deve ser armazenada em um local ventilado e seco (SEBRAE, 2006).

3.3 Manipueira

A manipueira é um nome indígena, adotado pelos portugueses, para designar o composto líquido leitoso e de cor amarela das raízes de mandioca, extraído durante a fabricação de farinha (CEREDA e MATTOS, 1996; PONTE e ARAGÃO, 1995; EFING e WOSIAKCI, 1998). As fábricas de farinha produzem grandes quantidades de resíduos. A cada tonelada de raízes de mandioca prensada é produzido cerca de 300 L de manipueira, quando soluções de baixo custo não estão

disponíveis, os efluentes são despejados em solos ou rios, causando impacto ambiental, devido ao seu grande potencial tóxico (CEREDA e MATTOS, 1996; RIBAS e BARANA, 2003; LEONEL e CEREDA, 1995; RIBAS et al., 2010). A manipueira possui diversidade quanto aos teores de carbono, nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, zinco, manganês, cobre, ferro e sódio. A composição da manipueira, principalmente o teor de cianeto, varia dependendo do tipo de cultivo da mandioca, teor de matéria orgânica do solo e do processamento industrial (Tabela 2). É um efluente composto pela água da raiz da mandioca, portanto os glicosídeos cianogênicos que compõe a massa da raiz, também estão presentes no resíduo (CEREDA e MATOS, 1996; BARANA, 2000; CARDOSO, 2005).

A Demanda Química de Oxigênio (D.Q.O) é também utilizado para medir o índice de matéria orgânica de águas residuárias, ou seja é a quantidade necessária de oxigênio para oxidação de matéria orgânica através de um agente químico (SILVA et al., 2004). Na tabela 2 a quantidade de D.Q.O. também variou.

Por possuir um grande potencial poluidor, maior inclusive que o esgoto doméstico, e deixar no meio ambiente grandes concentrações de carboidratos, vários trabalhos vem sendo realizado para incentivar o aproveitamento da manipueira como subproduto para diversas aplicações (PINTO e CABELLO, 2007).

Tabela 2-Teores de minerais da manipueira (Barana, 2000)

Minerais (mg/L)	Cereda (1994)	Fernandes (1995)	Jr. Sampaio (1996)	Barana (1996)	Barana (1996)
Nitrogênio	4 900	2 000	1 700	3 000	1 570
Carbono	37 000	35 000	32 100	35 000	23 188
Fósforo	160	250	170	300	352
Potássio	1 863	2 810	n.a	3 800	3 426
Cálcio	227	200	60	400	424
Magnésio	405	290	n.a	600	235
Enxofre	195	78	21	200	103
Zinco	5	3	5	5	8
Manganês	3,7	3,3	n.a	3,5	2,4
Cobre	1,1	1,2	n.a	1,4	1,1
Ferro	15,3	7	106	6,2	6,4
Cianeto	444,0	206,83	n.a	140,0	n.a
D.Q.O (g/L)	63	69,3	92	60	54,2

3.3.1 Formas de utilização e tratamento da manipueira

Através dos estudos de Ponte (2006) e Silva (2008), o Sebrae (Serviço Brasileiro de Apoio a Micro e Pequenas Empresas) lançou uma cartilha, mostrando possíveis formas de aproveitamento da manipueira, como:

Fertilizante natural: em função da composição química da manipueira (Tabela 2), esta pode ser transformada em um insumo orgânico para o cultivo de vegetais, tornando o solo mais rico em nutrientes e microrganismos, corroborando o estudo de Cardoso (2005), onde a manipueira foi utilizada como biofertilizante no cultivo de milho. Como pesticida – devido a presença de ácido cianídrico na sua composição a manipueira serve como um pesticida, que prejudica menos o meio ambiente do que venenos normalmente empregados. Ela pode ser utilizada nas 24 horas que segue a sua produção. O ideal é que o agricultor faça um teste em uma pequena área de sua plantação para saber a dosagem ideal. É recomendado utilizar 3 vezes com o descanso de uma semana entre cada aplicação.

Estudos também já comprovaram a eficiência da manipueira na produção de vinagre. É necessário coar duas vezes em um pano limpo, depois colocar em um vaso e deixar no sol por quinze dias, depois coar e não agitar para não misturar o material sólido que fica no fundo. Colocar a parte pura em outro vaso e tampar para evitar evaporação. A manipueira também pode ser utilizada para produzir sabão.

Segundo Santos (2008) a manipueira vem sendo testada como forma de alimentação animal. Ela é deixada durante quatro dias em repouso para o ácido cianídrico volatilizar-se, uma camada sofre sedimentação e a manipueira é retirada com um regador e colocada no cocho. A dosagem vai depender do animal, começando por até cinco litros por animal, depois a dosagem é dobrada.

Lamaison et al. (2009) pesquisou a utilização da manipueira fermentada em um biorreator para a produção de biocombustível. E percebeu que a produção do biocombustível se relacionava com a DQO, quando essa era consumida e convertida em metano e ácidos orgânicos era gerado o hidrogênio. A manipueira também pode ser utilizada na produção de hidrogênio, um combustível limpo. Já os estudos de Barana (2000) apontaram para que um biodigestor com manipueira produza gás é necessário a ausência de oxigênio, convertendo o substrato a metano, a matéria orgânica um composto que pode ser usado como adubo. Depois

é preciso de dois compartimentos um metanogênico e outro acidogênico para que o gás seja produzido.

Apesar da maior parte das casas de farinha despejarem seus resíduos diretamente no solo ou dentre outros, fica visível que existem inúmeras maneiras de reutilização da manipueira e viabilizar a recuperação desse resíduo torna se necessário e importante (PRADO e PAWLOWSKY,2003).

A fermentação da manipueira é um processo ainda pouco estudado. Segundo Schimidell; Facciotti (2001) os reatores bioquímicos, biológicos ou biorreatores são utilizados para realizar reações químicas catalisadas por biocatalisadores. Esses podem ser microrganismos ou enzimas. Desde meados da década de 40 vem sendo empregado reatores com microrganismos na síntese de antibióticos, enzimas, solventes, vitaminas, ácidos orgânicos e no tratamento de resíduos orgânicos industriais ou domésticos.

Para realizar um processo fermentativo descontínuo simples ou tradicional é necessário preparar um meio de cultura adequado à nutrição e desenvolvimento do microrganismo, colocar este meio de cultura em um fermentador e adicionar o microrganismo responsável pelo processo biológico e espera se que o processo ocorra em média 48 h ou quando o pH se eleva (SCHIMIDELL;FACCIOTTI, 2001).

O processo descontínuo tradicional ou aquele efetuado com um inóculo por tanque é um processo mais seguro em relação a manutenção de assepsia, após cada fermentação o reator é esterilizado com um novo meio de cultura recebendo um novo inóculo, assegurando a presença única do microrganismo que realizará o processo (SCHIMIDELL; FACCIOTTI, 2001).

Com o avanço da engenharia genética e de todo um conjunto de novas tecnologias de processamento de dados e de informação e comunicação, o interesse pela descoberta e conhecimento das inúmeras possibilidades disponíveis na natureza, para uso na obtenção de novos produtos e processos para a comercialização em larga escala, vem crescendo acentuadamente (GRANJA et al.,1999; ARTUSO, 2002; MORALES, 2010). Entendida como pesquisa de material biológico que tem como finalidade explorar os recursos genéticos e garantir o uso sustentável, a utilização de estratégias de conservação, a garantia de distribuição justa dos benefícios advindos de sua utilização e a promoção e regulamentação de novas tecnologias, a bioprospecção é considerada cada vez mais importante na sociedade atual (AZEVEDO, 2003, MORALES, 2010, VELHO et al.,2006). Sua

importância se deve por envolver a aplicação de tecnologias avançadas para desenvolver novos fármacos, agro-químicos, cosméticos, aromas, fragrâncias, enzimas industriais, e outros produtos da biodiversidade (SANT'ANA e ASSAD, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta da manipueira

A manipueira foi coletada em uma casa de farinha comunitária construída em 1982, localizada no distrito da Igara, Senhor do Bonfim, BA. A manipueira foi coletada em garrafas PET de refrigerante de 2 L, lavadas e secas previamente e em 2 erlenmeyers de 500 mL esterilizados. A manipueira coletada foi levada para o laboratório de Biotecnologia de Microrganismos da Uneb Campus VII as garrafas pets foram congeladas e os erlenmeyers foram submetidos a fermentação em shaker.

4.2 Fermentação natural da manipueira e Bioprospecção de microrganismos

Microrganismos foram isolados a partir da manipueira em fermentação natural de duas formas: A manipueira que já tinha um tempo congelada no Laboratório de Biotecnologia de Microrganismos foi descongelada e distribuída 300 mL em erlenmeyers de 500 mL e incubados em shaker de piso rotacional a 30°C e 100 rpm.

A manipueira coletada em erlenmeyers estéreis e incubada em shaker nas mesmas condições para a fermentação natural. 1,5 mL de amostra foi tirada periodicamente, durante uma semana. Em ambos os procedimentos foi utilizada a pipeta para retirar amostras e colocar em eppendof. Depois a amostra foi centrifugada e o sobrenadante foi passado para outro microtubo e congelados para análise dos produtos da fermentação em CLAE. Em ambos os procedimentos, após 24 h do início da fermentação, foram feitos repiques com alça de platina para placas de Petri contendo meio mínimo (composição em g L⁻¹: sulfato de amônio (NH₄SO₄²⁻) 1 g, fosfato dibásico de potássio (KH₂PO₄) 1 g, sulfato de magnésio (MgSO₄²⁻) 0,2 g, glicose 10 g, amido 10 g, água destilada 1000 mL) e em meio LB (Luria Bertani Agar). As placas foram incubadas a 30°C até a observação de crescimento microbiano. Os microrganismos foram repicados para novas placas, até se obter cultura pura. As bactérias foram caracterizadas por coloração de Gram utilizando microrganismos controles como *Escherichia coli* (Gram-negativo) e *Staphylococcus auerus* (Gram-positivo). Os isolados foram microfotografados e as fotografias foram salvas em um banco de dados.

As culturas puras dos isolados estão mantidas e preservadas em placas de Petri com meio LB sob refrigeração. Para preservação por períodos longos, suspensões celulares foram congeladas a -80°C em criotubos contendo glicerol 40% como agente crioprotetor. Os isolados que obtiveram maior produção nas fermentações foram caracterizados e submetidos a testes bioquímicos (API 20E, Biomeriéux, protocolo disponível em <http://www.biomerieux.com.br/servlet/srt/bio/brazil/home>). Este teste foi escolhido apenas para ter maiores informações a cerca dos microrganismos.

4.4 Fermentação da manipueira pelos isolados microbianos

Os microrganismos isolados da manipueira naturalmente fermentada foram avaliados quanto ao potencial para a fermentação em incubadora rotacional de piso (shaker).

Para a fermentação em shaker o inóculo foi preparado a partir das culturas mantidas em placas de Petri na geladeira. Uma alçada contendo a cultura foi transferida para Erlenmeyers de 50 mL contendo 15 mL de meio LB esterilizado a $121^{\circ}\text{C}/15$ min. em autoclave. Os frascos foram incubados a 30°C a 100 rpm em shaker durante aproximadamente 24 horas. O inóculo foi transferido para Erlenmeyers contendo 285 mL de manipueira estéril. Os frascos foram incubados em shaker a 30°C e 100 rpm. Amostras foram retiradas no primeiro dia da fermentação nos tempos 0 e 6 e posteriormente de 12 em 12 horas, durante uma semana, totalizando 11 amostras. As amostras foram retiradas através de pipetas e transferidas para tubos eppendorf e centrifugadas. O sobrenadante foi transferido para em microtubos de 1,5 mL e congelados. Posteriormente as amostras foram analisadas através de Cromatografia em Líquido de Alta Eficiência.

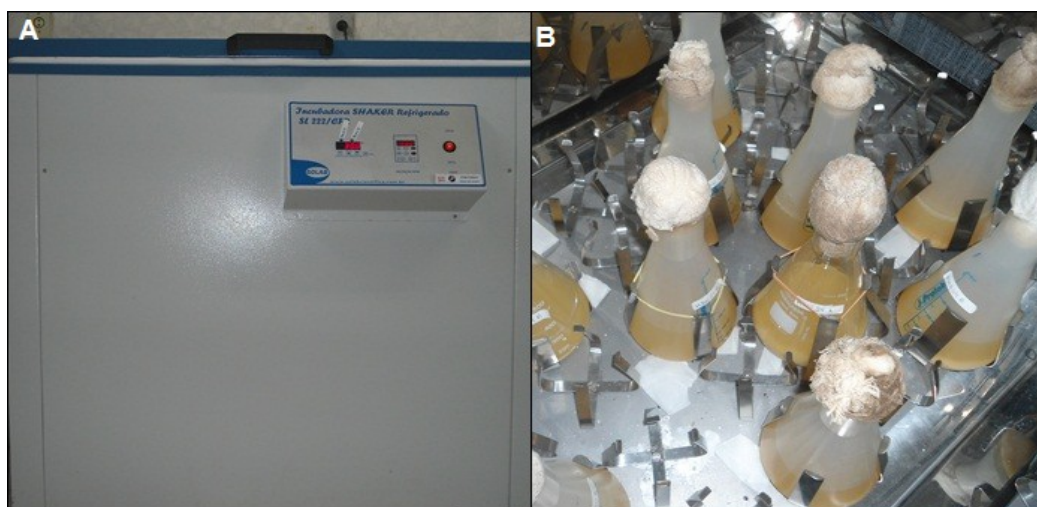


Figura 1: A) Shaker rotacional de piso. B) Erlenmeyeres contendo manipueira com isolados para fermentação.

Para as análises em fermentador, foi utilizado um fermentador de seis reatores, equipado com controle automático de pH, temperatura e agitação (Biothec, Piracicaba). Em cada reator de 2 L foi adicionado 500 mL de manipueira esterilizada. O pH foi controlado pela adição automática de NaOH 5 M. O inóculo para os reatores foi preparado em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio, incubados durante a noite a 30°C, com agitação de 100 rpm. Para a fermentação, 25 mL do inóculo foi transferido para 475 mL do meio de fermentação, correspondendo o inóculo a 5% (v/v) do volume final (500 mL). Amostras foram retiradas através de seringa de vidro de 5 mL, no tempo 0, 3 e 6 em seguida de 12 em 12 horas durante uma semana, totalizando 12 amostras. Os produtos da fermentação foram determinados por CLAE.

4.5 Análise dos produtos da fermentação

Os produtos da fermentação foram determinados através de cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE Ultimate 3000, Dionex), equipado com injetor

automático. Como fase estacionária foi utilizada a coluna de troca iônica Rezex ROA Organic Acids (Phenomenex), a 50°C e como fase móvel foi empregado solução com ácido sulfúrico 0,005 M, com fluxo de 0,6 ml/minuto preparado com água ultrapura desgaseificada por 25 min. em banho ultrassônico. As amostras foram diluídas para cada 100 µL de amostra e 900 µL de eluente em eppendorfs e filtradas em filtros de membrana de acetato celulose (0,22 µm, Millipore) em tubos de vidro transparente de 2 mL (*vials*), e então foram transferidas para a bandeja do amostrador automático e mantidas a temperatura de 18°C.

Os ácidos orgânicos foram quantificados através de detector ultravioleta (Ultimate 3000, Dionex) em comprimento de onda de 210 nm e álcoois foram detectados e quantificados através de detector de índice de refração (ShodexRI 101). Os cromatogramas foram analisados no programa Chromeleon (Dionex, Alemanha).



Figura 2: HPLC (Dionex, Ultimate 2000) Utilizado para análises dos produtos da fermentação da manipueira.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Isolamento de microrganismos

Foram utilizadas duas fermentações diferentes para o isolamento de microrganismos a partir da fermentação natural da manipueira. Na primeira fermentação a manipueira estava congelada no freezer do Laboratório de Biotecnologia da Uneb. Já na segunda a manipueira foi coletada na casa de farinha e em seguida submetida a processo fermentativo, ambas foram fermentadas em shaker a 100 rpm e 30°C e após 24 h os microrganismos foram isolados. A partir destas fermentações foram isolados 38 microrganismos entre bactérias e leveduras. A partir da manipueira que não foi congelada foram isolados 4 leveduras e 26 bactérias nomeadas como Man 01 (microrganismo da manipueira 01) a Man 30, ao passo que, com a manipueira congelada foram isolados 8 bactérias e designadas como MIG 2A (Manipueira da Igara) até MIG 4D. Após a classificação por coloração de Gram (Figuras 3 e 4) e as análises das fotografias feitas no Laboratório de Biologia Molecular e Fungos, pode ser observado que 34 bactérias são Gram negativas e apenas duas são Gram positivas. Os microrganismos Man 01 a Man 30 foram agrupados de acordo a forma, tamanho e cor das colônias, totalizando 7 grupos. A maioria dos grupos apresentaram cores e formas parecidas, sendo diferenciado apenas no microscópio devido as formas das células que apareceram em dois grupos principais bacilos e cocos. E para a fermentação, 15 microrganismos foram selecionados aleatoriamente dentro o grupo a qual pertencia, enquanto que todos os MIG foram testados. Depois da análise em CLAE as bactérias MIG 4A e Man 04 foram os mais promissores, logo foram caracterizados utilizando o teste API 20E que é um teste utilizado para identificação de bactérias entéricas (Tabela 3) neste trabalho o teste foi utilizado apenas para obter maiores informações a cerca das bactérias. No teste da catalase MIG 4A e Man 04 demonstraram resultado negativo. O teste do amido foi realizado em todos os 38 microrganismos, apenas Man 20 e Man 25 apresentou uma zona clara em torno da bactéria, mostrando que apenas os dois são positivos.

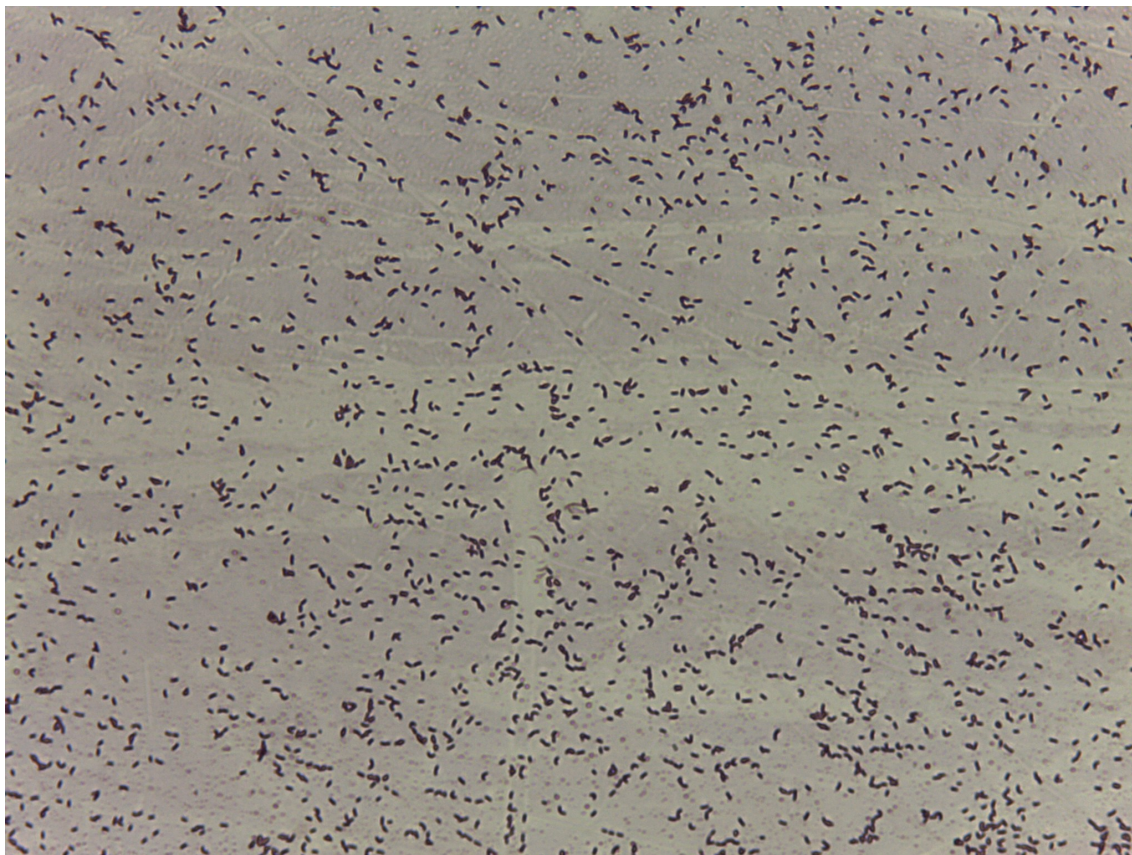


Figura 3:Man 04. Bacilo, Gram-negativa

5.2 Fermentação da manipueira pura sem esterilização

Foi realizada a fermentação natural da manipueira pura, mantida congelada no laboratório por três meses. O principal produto obtido a partir dessa fermentação foi o ácido láctico, alcançando 53 g L^{-1} . À medida que a glicose foi sendo consumida, a produção de ácido láctico foi aumentando (Figura 5). Além do ácido láctico, foi observado baixas concentrações de ácido acético ($5,95 \text{ g L}^{-1}$).

Nas fermentações com a manipueira trazida diretamente da casa de farinha e fermentada em shaker, a concentração de ácido láctico atingiu $18,5 \text{ g L}^{-1}$, além de pequenas concentrações de etanol ($2,9 \text{ g L}^{-1}$) (Figura 6). Nesta fermentação não houve valores de glicose quantificadas nas análises por HPLC. Porém, as diferenças nos valores podem ser devido aos lotes diferentes de manipueira. De acordo com Barana (2000), as características da raiz podem interferir nas características da manipueira, pois esta é parte da constituição da raiz.

O ácido láctico é um ácido orgânico não volátil, sem odor e de sabor suave. De alto valor comercial, devido as suas aplicações, ele vem sendo utilizado como sabor acidulante e conservante na indústria alimentar, farmacêutica, couro, têxteis, para a produção de produtos químicos de base e agora aparece na indústria em forma de polímero biodegradável o ácido polilático (PLA) (OLIVEIRA et al., 2005; WEE et al., 2006; COELHO et al., 2010). Das 80 000 toneladas de ácido láctico produzidas no mundo a cada ano, cerca de 90% são realizadas através da fermentação por bactérias e o restante é produzido sinteticamente pela hidrólise da lactonitrila. A produção de ácido láctico por fermentação leva uma vantagem pois ao escolher uma espécie de bactéria, apenas um dos isômeros é opticamente produzido. Pois o ácido láctico possui duas formas isoméricas, ou seja, o ácido L(+)-láctico e ácido D(-)-láctico, as duas formas podem ser utilizadas para a síntese de polímeros com diferentes propriedades. Porém, a formação de ácido D (-) láctico a partir da fermentação para a produção de bebidas e alimentos não é desejada, pois os mamíferos, principalmente os humanos não conseguem metabolizar facilmente, esse isômero, podendo resultar em acidose e descalcificação. O consumo excessivo desse pode levar a distúrbios médicos. Ainda a pureza óptica do ácido láctico é crucial para as propriedades físicas do PLA. Enquanto que a produção sintética sempre resulta em uma mistura racêmica (HOFVENDAHL E HAN - HAGERDAL, 2000; LIU, 2003; ZHOU et al., 2003; WEE et al., 2006).

O ácido polilático vem recebendo interesse especial por ser um polímero biodegradável e oferece uma alternativa contra poluição ambiental causada pelas indústrias petroquímicas. O PLA é utilizado na indústria de embalagens e na confecção de artigos biorreabsorvíveis (WEE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2009).

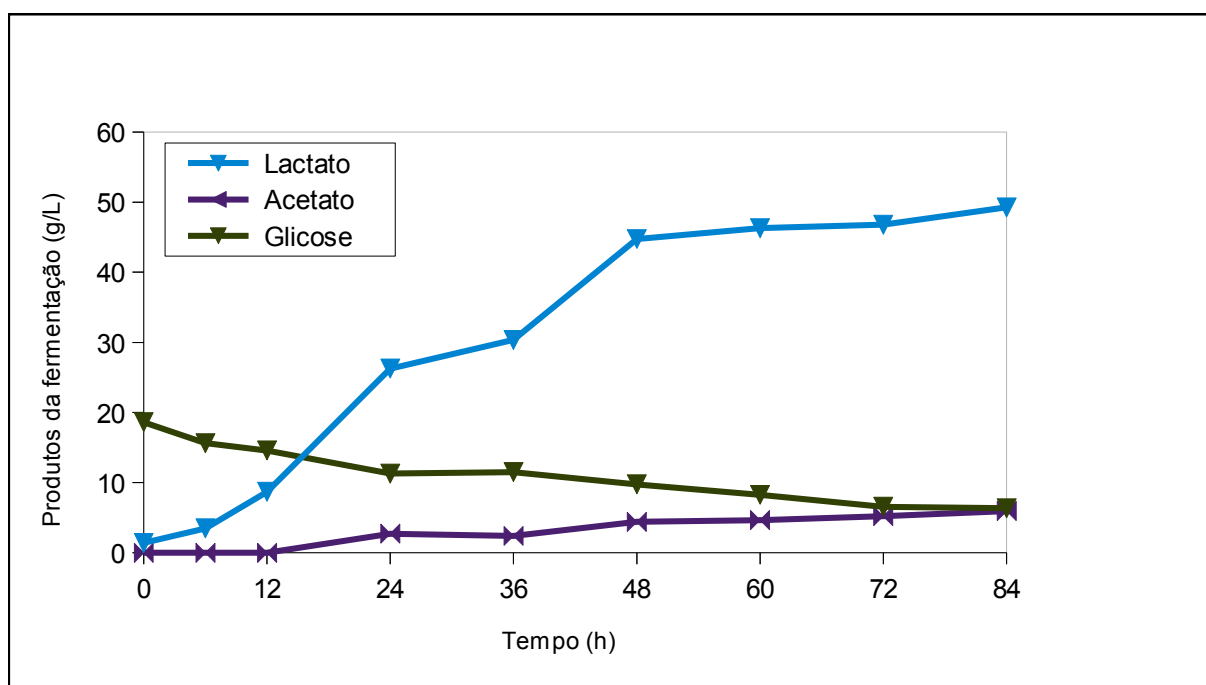


Figura 5: Fermentação da Manipueira pura em shaker, não esterilizada e sob as condições de 100 rpm e 30 °C.

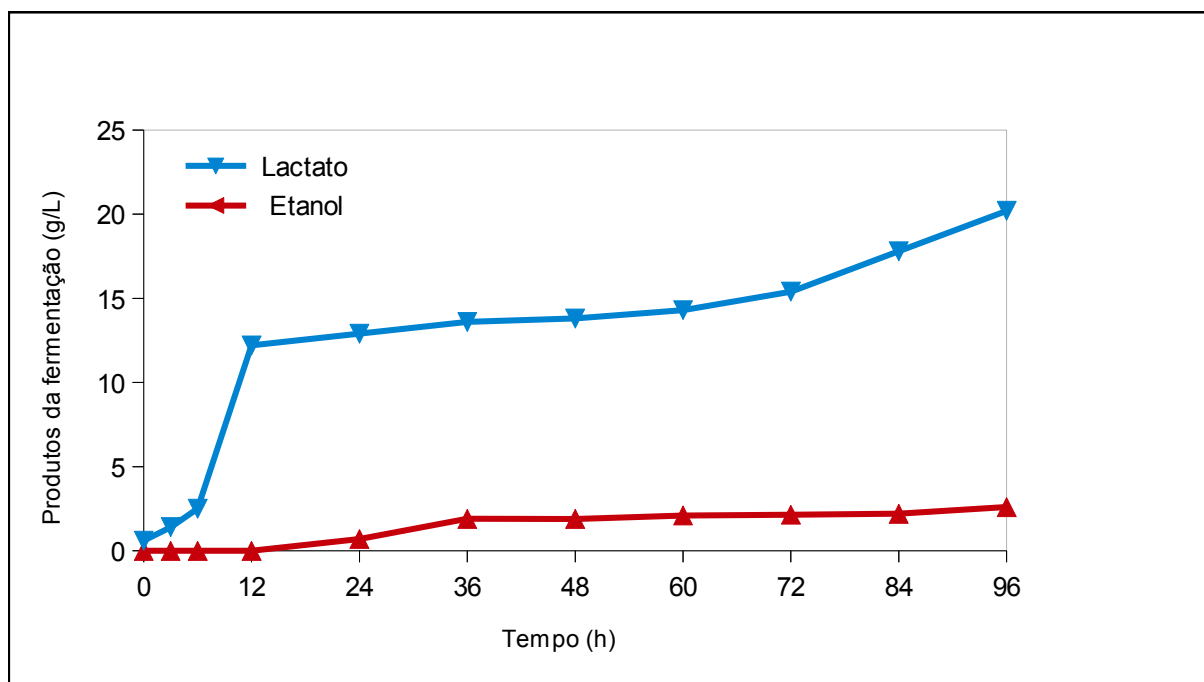


Figura 6: Fermentação em shaker da Manipueira pura, não esterilizada a 100 rpm e 30 °C.

5.3 Fermentação da manipueira esterilizada.

De todos os microrganismos MIG, o isolado MIG 4A produziu 30,52 g L⁻¹ de ácido láctico (Figura 7). Além do lactato, ácido acético atingiu 2,68 g L⁻¹. De acordo com Barana (2000) a presença de ácidos orgânicos é explicada pelo tempo em que a manipueira foi coletada e armazenamento sobre refrigeração, pois a manipueira possui açúcares de fácil fermentação que sobre temperaturas baixas se degradam rapidamente a ácidos orgânicos.

As bactérias lácticas são os catalisadores preferidos para a produção de ácido láctico. E desde tempos antigos as bactérias lácticas são utilizadas para a fermentação de alimentos para humanos e animais. Atualmente, as suas aplicações ainda continuam na indústria alimentícia para humanos e animais como na produção de produtos lácteos, conservas e vinhos (HOFVENDAHL e HAN – HAGERDAL, 2000; ANDRADE et al., 2009).

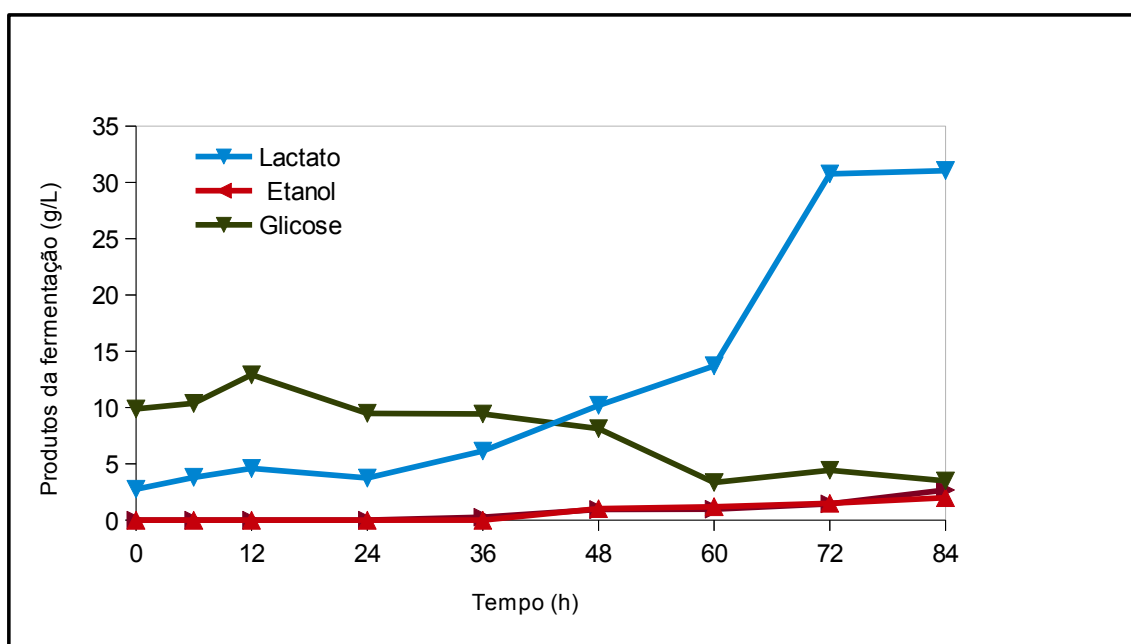


Figura 7: Fermentação da Manipueira pura, esterilizada em shaker com o isolado MIG 4A, a 100 rpm e 30 °C.

Coelho (2011) isolou microrganismos de diversos lugares dentre eles a manipueira e encontrou isolados produtores de ácido láctico e concluiu que quando a fonte de carbono era glicose em relação ao glicerol, por exemplo, a produção de ácido láctico era maior. Como mencionado, neste experimento foi notado que ao passo que a glicose era consumida a produção de ácido láctico aumentava (Figura 7). Yun et al. (2003) analisaram a produção de ácido láctico por *Enterococcus faecalis* RKY1 e para isso, testaram diversas fontes de carbono como frutose, glicose, maltose, glicerol, amido entre outros e a maior produção de ácido láctico foi notada com a glicose como fonte de carbono. Wee et al. (2006) apresentaram uma tabela em que os microrganismos eram utilizados na produção biotecnológica do ácido láctico e a maior produção foi de *E. faecalis* RKY1 chegou a 144 g L⁻¹.

De acordo com Hofvendahl e Han – Hagerdal (2000), açúcares são fermentados através de diferentes caminhos como a homofermentação, heterofermentação ou fermentação mista. Na heterofermentação quantidades diferentes de ácido láctico, dióxido de carbono, etanol e acetato são formados a partir

da glicose. Durante as fermentações realizadas neste trabalho outros subprodutos foram formados como ácido acético e etanol. A capacidade fermentativa vai variar de acordo com a espécie. No presente experimento foi observado essa capacidade heterofermentativa através das fermentações do MIG 2A a MIG 4D e dos Man 01 a Man 07, Man 14, Man 16, Man 19, Man 21, Man 24, Man 27, Man 29 e Man 30. Porém, destes microrganismos Man 04 destacou-se com maior produção de etanol ($2,96 \text{ g L}^{-1}$) e lactato ($7,17 \text{ g L}^{-1}$) (Figura 8).

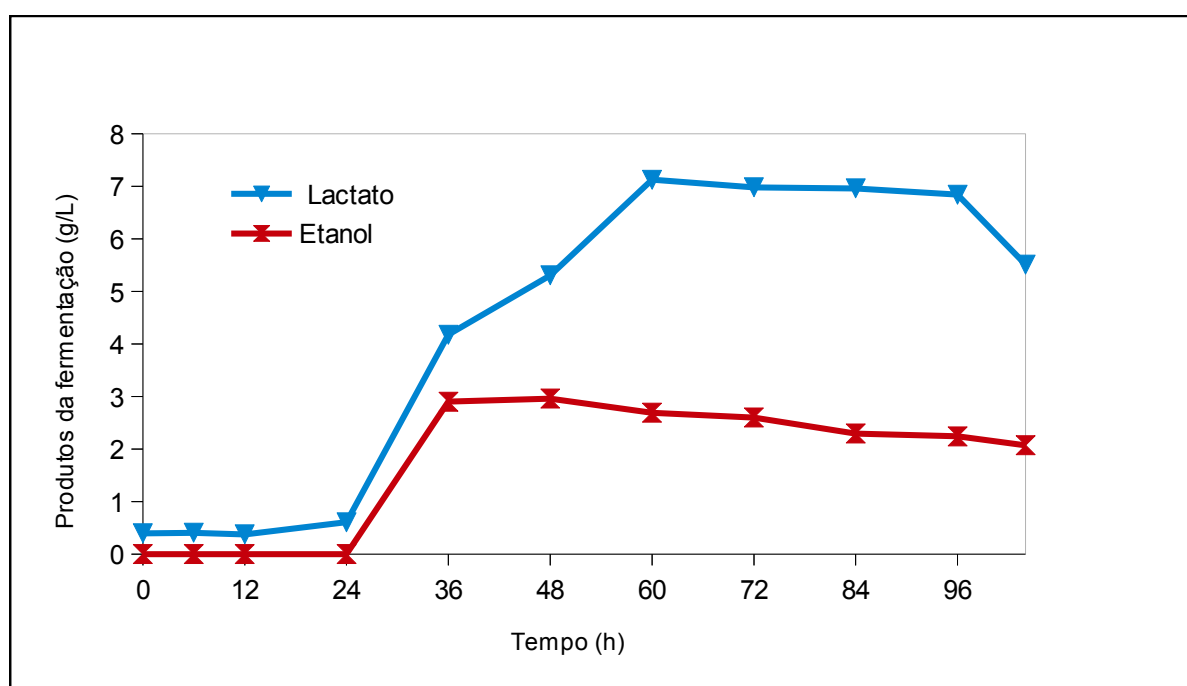


Figura 8: Fermentação da Manipueira pura e esterilizada em shaker com o microrganismo Man 04, sob as condições de 100 rpm e 30 °C.

Suman et al. (2011) analisaram a fermentação da manipueira para a produção de etanol, encontraram $4,08 \text{ g L}^{-1}$ e mostraram também que quanto maior a produção de glicerol, menor a produção de etanol e menor rendimento no processo. Concluíram que a concentração de glicerol é afetada pela temperatura, ou seja, quando esta abaixa a concentração também diminui.

Este trabalho apresentou valores de etanol inferiores comparados ao de Camilli e Cabello (2007) em que utilizaram a manipueira para produzir etanol através

do processo de flotação e encontraram 31,37 g L⁻¹ e 32,74 g L⁻¹ de etanol em manipueira com e sem tratamento de flotação, respectivamente. Porém os autores utilizaram a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, ao passo que, no presente experimento a produção de etanol aconteceu pelo isolado Man 04, cuja a espécie bacteriana não foi identificada e mostrou ser pouco eficiente comparado a outros microrganismos presentes na literatura. Do grupo dos Man a bactéria que obteve melhor resultado foi o Man 04, porém de todo o trabalho o MIG 4A foi o microrganismo que maior produziu.

5.4 Fermentação da manipueira em fermentador

Foi avaliada a fermentação da manipueira em fermentador com os isolados MIG 4A e Man 04 e também dois reatores com manipueira pura. Os valores foram semelhantes a fermentação em shaker na produção de ácido acético e etanol por Man 04 e MIG 4A. Embora, a produção de ácido láctico diferiu significativamente entre as fermentações natural da manipueira pura, sendo 27, 42 g L⁻¹ (Figura 9) em fermentador e 53 g L⁻¹ em shaker. Os resultados deste trabalho se aproximam aos de Miranda (2011) que avaliou a manipueira juntamente com o glicerol bruto para a produção de 1,3-propanodiol e encontrou 36 g L⁻¹ de ácido láctico. No trabalho de Miranda foi utilizado o mesmo lote de manipueira testado neste trabalho, por isso os valores de ácido láctico foram semelhantes.

Nas figuras 10 e 11 estão apresentados os valores da fermentação da manipueira por MIG 4A e Man 04 respectivamente, onde foram produzidos 10,5 g L⁻¹/ 6,24 g L⁻¹ de ácido láctico, 6,8 g L⁻¹/ 4,5 g L⁻¹ de etanol e 2,3g L⁻¹ de ácido acético para somente MIG 4A.

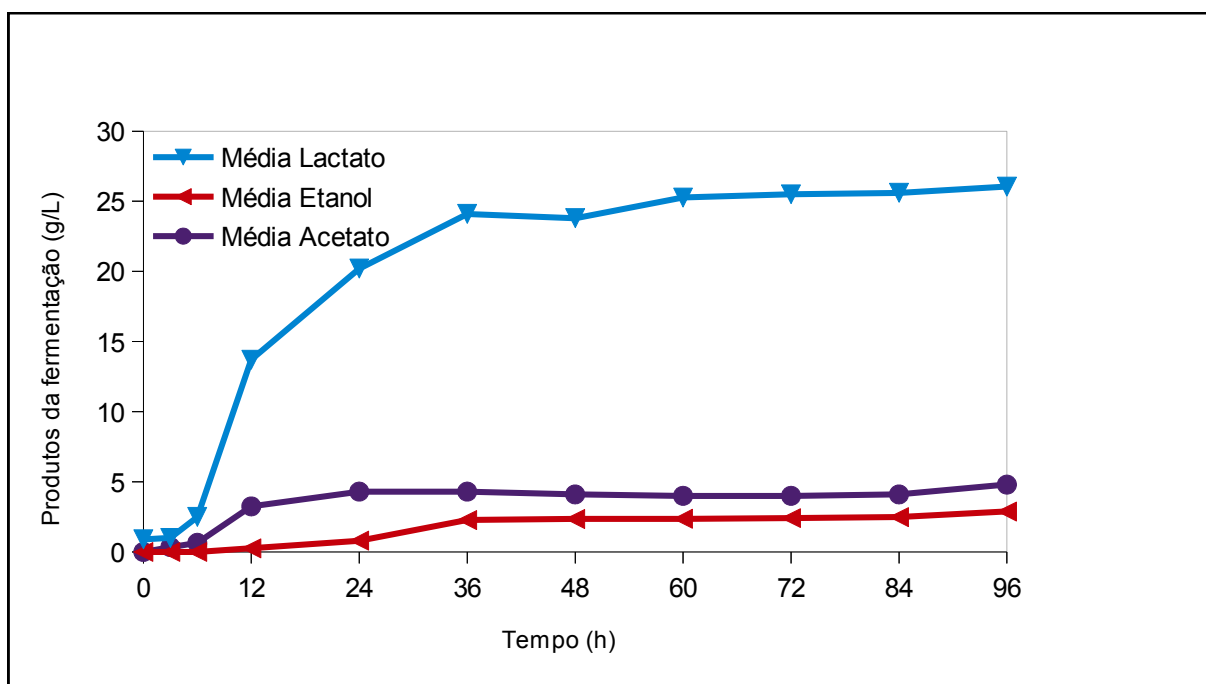


Figura 9: Fermentação da Manipueira pura, sem esterilização em fermentador sob as condições de 150 rpm, 35 °C e pH 6,0.

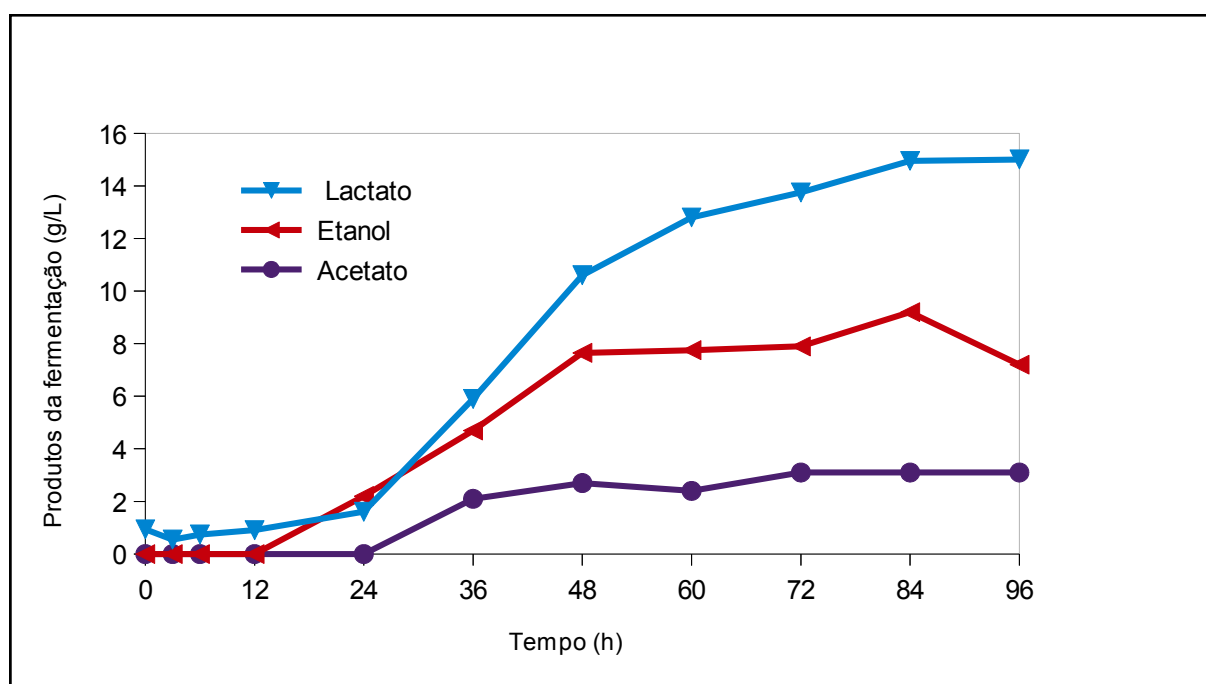


Figura 10: Fermentação utilizando microrganismo MIG 4A sob as condições de 150 rpm, 35 °C e pH 6,0.

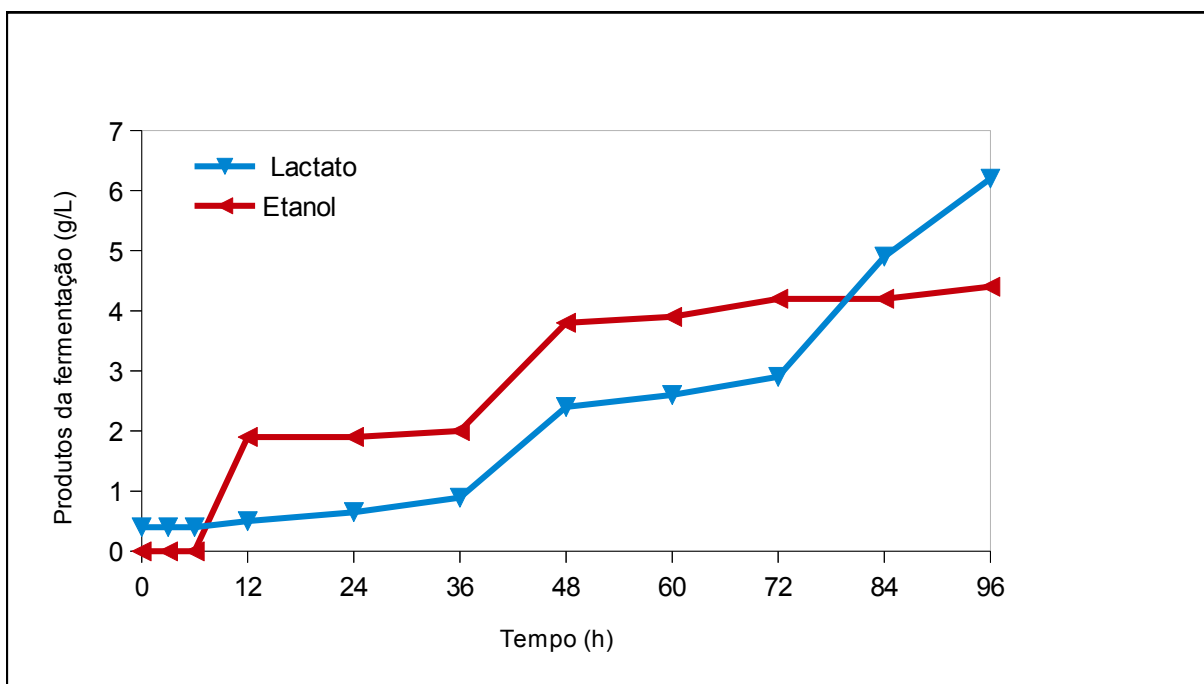


Figura 11: Fermentação utilizando microrganismo Man 04 sob as condições de 150 rpm, 35 °C e pH 6,0.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da fermentação natural da manipueira, foram obtidos 38 isolados bacterianos. Os microrganismos que obtiveram maior destaque em suas produções foram MIG 4A e Man 04. O principal produto obtido foi o ácido láctico, um composto com diversas e crescentes aplicações industriais. Em seguida, o etanol e o ácido acético, que também é bastante utilizado pela indústria.

Novos estudos devem ser realizados visando determinar as condições ótimas de fermentação para maximizar a formação de ácido láctico pelos microrganismos promissores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBAGLI, S. Da biodiversidade à biotecnologia: a nova fronteira de informação. **Ciência da Informação**. Brasília. v.27, p. 7-10, 1998.

ANDRADE, V.; COSTA, M.; COSTA, M.; LIMA, T.; CRUZ, F. Ácidos orgânicos: Ácido cítrico, ácido acético e ácido láctico sua importância na biotecnologia. **IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica**. Belém, 2009.

ARTUSO, A. Bioprospecting, benefit sharing, and biotechnological capacity building. **Word Development**.v.30, p.1355-1368, 2002.

AZEVEDO, C.M.A. Bioprospecção: coleta de material biológico com a finalidade de explorar recursos genéticos. **Ciência e Pesquisa** v.17, p.7-35, 2003.

BARANA, A. C. **Avaliação de tratamento de manipueira em biodigestores fase acidogênica e metanogênica**. 2000. 95p. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Botucatu, 2000.

CAMILI, E. A.; CABELLO, C. Produção de etanol de manipueira tratada com processo de flotação. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**. v.3. 2007.

CAMPOS, A. T.; et.al. Tratamentos de águas residuárias de fecularia por meio de lagoas de estabilização. **Engenharia Agrícola**. Jaboticabal. v.26, p.235-242, 2006.

CANHOS, P.V., MANFIOS, G.P. Recursos microbiológicos para biotecnologia. **Recursos Microbiológicos para Biotecnologia**. p.2-25, 2001.

CARDOSO, E. **Uso de manipueira como biofertilizante no cultivo do milho: avaliação do efeito no solo, nas águas subterrâneas e na produtividade do milho**. Criciúma, 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Coordenadoria de Pós Graduação, Universidade do Extremo Sul Catarinense.

CASSONI, V. **Valorização de resíduo de processamento de farinha de mandioca (manipueira) por acetificação**. 2008. 70f. Tese(Mestrado) Programa de Pós Graduação em Ciências Agrônomicas, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2008.

CEREDA, M.P.; MATTOS, M.C.Y. Linamarin the toxic compound of cassava. **Journal of venomous animals and toxins**. p. 6- 12, 1996.

CEREDA, M. P.; LIMA, U.A. Fermentação da fécula de mandioca. II Controle das fermentações realizadas em laboratório. Bol. SBTCA, Campinas, v.15, p.197-22, 1981. IN: . In: Schimidell, Willibaldo et al., (coordenador). **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo: Edgar Bulcher, p. 179-192 (Biotecnologia Industrial; v. 3), 2001.

COELHO, L. F. **Isolamento e seleção de micro-organismos e desenvolvimento de tecnologia para produção de ácido láctico**. 2011. 134f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2011.

COELHO, L.F. et.al. Improvement of L(+) - lactic acid production from cassava wastewater by *Lactobacillus rhamnosus* B 103. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. p. 1944- 1950. 2010.

DIAS, M. P.; XAVIER, J. J. B.; BARRETO, J. F. Cadeia produtiva de mandioca na Amazônia. **Embrapa**. Manaus. p. 5- 27, 1998.

EFING,L.M.A., WOSIACKI,G.Estabelecimento de condições de cultivos de uma cepa de *Trichosporon sp* isolada de manipueira. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.16, p.23-36,1998.

EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL. **Perguntas e respostas: Mandioca**.1ed, 2006. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br>. Acesso em: 10/08/2012.

FAUSTO, C. Uma plantinha venenosa. **Ciência Hoje**. v.39, p. 36- 39, 2006.

FERREIRA, W.A.; BOTELHO, S.M.; CARDOSO,E.M.R. Uso da Manipueira (Tucupi) como Fonte de Nutrientes para o Cultivo da Mandioca. **Embrapa**. p.1-4, 2001.

FUKUDA, Wania. **Variedades de mandioca para a produção de fécula**. Disponível em: <http://www.abam.com.br/mat_tecnicos>. Acesso em: 15/08/2012.

GALERA, J.M.S.V. **Estruturação Genética do Germoplasma de Mandioca através de informações comparativas entre estudos biológicos e antropológicos**. 2008.73p.Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico, Campinas, São Paulo, 2008.

GRANJA, A.F., PLATIAU.B.,VARELA.M.D.Acesso aos recursos genéticos, transferência de tecnologia e bioprospecção. **Revista Brasileira Polít.**v.42, p. 81-98, 1999.

HOFVENAHL, K.; HAHN-HAGERDAL, B. Factors affecting the fermentative lactic acidproduction from renewable resources. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, p. 87-107,2000.

INTERLICHE, P. H. Mandioca: a raiz do sucesso. **Associação Brasileira dos produtores de Amido de Mandioca – ABAM**. São Paulo: Coordenadoria da Assistência Técnica Integral – CATI, 2002, p. 1-18.

JOHN, R.P., K., Nampoothiri, M., Pandey. A. Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. **Applied Microbiology Biotechnology**. v.74, p.524–534, 2007.

JUANG, D. F., MORGAN, J. M. The applicability of the API 20E and API Rapid NFT systems for the identification of bacteria from activated sludge. **Electronic Journal of Biotechnology**. v.4, p. 18-24. 2001.

LAMAISON, F.; REGINATTO, V.; AMARANTE, E. R; ANTÔNIO, R.V. Produção de Biocombustíveis a Partir da Água Residuária do Processamento da Mandioca. **2 International Workshop/ Advances in Cleaner Production**. São Paulo. 2009.

LEONEL, M., CEREDA, M.P. **Manipueira como substrato na biossíntese de ácido cítrico por Aspergillus niger**. Scientia agrícola. Piracicaba. v.52, p.299-304, 1995.

LIU, S.Q. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, p.115–131, 2003.

MIRANDA, R.T. **Fermentação do glicerol em 1,3- propanodiol pela bactéria *Klebsiella pneumoniae* GLC 29**. 2012. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Educação, Campus VII, Universidade do Estado da Bahia, Senhor do Bonfim, 2012.

MORALES, A.P. Bioprospecção: Burocracia ainda emperra acesso ao patrimônio genético nacional. **Ciência e cultura**. São Paulo, v.62, 2010.

NASSAR, N. M. A. Mandioca: opção contra fome. **Ciência Hoje**.v.39, p.30-35, 2006.

NETO, C. J. F.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Avaliação Físico Química de Farinhas de Mandioca Durante o Armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande. v.5, p. 25-31, 2003.

OLIVEIRA, A.R.; BUZATO, J. B.; HAULY, M. C. O. produção contínua de ácido láctico por *Lactobacillus curvatus* a partir de melaço de cana de açúcar suplementado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, p. 53-60. 2005.

OLIVEIRA, R.F. et al. Produção fermentativa de ácido láctico a partir do melaço de cana de açúcar por *Lactobacillus casei*. **Brazilian Journal of Food Technology**. p. 34- 40, 2009.

PEREIRA, F.K. **Painel de Lendas e Mitos da Amazônia**. Pará: Belém. p.69, 2001.

PINTO, M. N. Mandioca e Farinha: subsistência cultural, 2003. Disponível em http://www.mao.org.br/educativo/edu_biblioteca.asp Acesso em: 10/08/2012.

PINTO, P. H. M.; CABELLO, C. Tratamento de Efluentes Líquidos de Fecularia em Biodigestores Anaeróbicos de Fluxo Ascendente. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**. v.3, 2007.

PRADO, M.R.; PAWLOWSKY, U. Estudo de Alternativas para o Tratamento de Resíduos Líquidos em fecularias. **Associação Brasileira dos produtores de Amido de Mandioca – ABAM**. São Paulo. n. 4, 2003.

PONTE, J. J.; ARAGÃO, M. L. O uso da manipueira extrato líquido das raízes de mandioca como adubo foliar. **Ciência Agrônoma**. v. 26, p.45- 48, 1995.

RIBAS, M.M.F.; CEREDA, M.P.; BÔAS, R.L.V. Use of cassava wastewater treated anaerobically with alkaline agents as fertilizer for maize (*Zea mays* L). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.53, n.1, p.55-62, 2010.

RIBAS, M. M. F.; BARANA, A.C. Start Up Adjustment of a Plug Flow Digester for Cassava Wastewater (Manipueira) Tratament. **Scientia Agricola**. v. 60, p. 223- 229, 2003.

RIO DE JANEIRO. Casa de Farinha. Projeto de Digitalização do Acervo da Divisão de Folclore. **Rio de Janeiro**. 2005.

SANT'ANA, P.J, ASSAD, A.N. O contexto brasileiro para a bioprospecção. **Biotechnologia Ciência Desenvolvimento** v.29, p.32-37, 2002.

SANTOS, A. Usos e Impactos Ambientais Causados pela Manipueira na Microregião do Sudoeste da Bahia Brasil. 2008. Disponível em:
<http://www.ub.edu/medame/PSSantos.pdf> Acesso em 05/09/2012.

SCHIMIDELL, W.; FACCIOTTI, M.C.R., Biorreatores e processos fermentativos. In: Schimidell, Willibaldo et al., (coordenador). **Biotechnologia Industrial: EngenhariaBioquímica**. São Paulo: Edgar Bulcher, p. 179-192 (Biotechnologia Industrial; v. 2), 2001.

SEBRAE. Manual de referências para casas de farinha. **Sebrae**. Alagoas. 2006.

SEBRAE. Mandiocultura derivados da mandioca. **Sebrae**. Salvador. p. 9-36, 2009.

SEBRAE. O aproveitamento sustentável da manipueira. Disponível em: <http://www.rts.org.br/noticias/destaque-2/arquivos/cartilha.pdf> Acesso em 05/ 09/ 2012.

SILVA, A. P. Emater. XIII Congresso Brasileiro de Mandioca. Técnico em Agropecuária, Extensionista Rural do Emater-PI e Consultor do Sebrae na Agroindústria do Beneficiamento da Mandioca. 2008.

SILVA, F.F.; FREITAS, P.S.L.; BERTONHA, A.; et.al. Variação da Carga Orgânica do efluente de Farinha da Mandioca. **Acta Scientiarum: Agronomy**. Maringá. v.25, p. 161-165, 2004.

SILVA, L. M.; SOUZA, M. L.; CRUZ, P. D.; FERREIRA, T. Eficiência da manipueira como quelatizante de zinco e seu efeito na nutrição mineral do feijoeiro. **XI Simpósio de Microbiologia do solo**. Guarapiri. 2010.

SOUZA, L. S.; FIALHO, J. S. A cultura da mandioca. **Embrapa mandioca e fruticultura**. v.8, 2003.

SUMAN, P.A.; URBANO, L. H.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M. Efeitos de parâmetros de fermentação na produção de etanol a partir de resíduo líquido da industrialização da mandioca (manipueira). **Acta Scientiarum Technology**. Maringá, v. 33, p. 379-384, 2011.

VALLE, T. L. Mandioca: dos índios aos agronegócios. **Associação Brasileira dos produtores de Amido de Mandioca – ABAM**. São Paulo. 2002.

VASCONCELOS, S.P.; CEREDA, M.P.; CAGNON, J.R. In vitro degradation of linamarin by microorganisms isolated from cassava wastewater treatment lagoons. **Brazilian Journal Microbiology**. v.40, p.879-883, 2009.

WEE, Y. J.; KIM, J. N.; RYU, H. W. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. **Food Technology and Biotechnology**, v.44, p.163-172, 2006.

YUN, J.S.; WEE, Y.J; RYU, H.W. Production of optically pure L-(+)-lactic acid from various carbohydrates by batch fermentation of *Enterococcus faecalis* RKY1.

Enzyme and Microbial Technology, v. 33, p.416-423, 2003.

ZHOU, S. et.al. Fermentation of 12% (w/v) glucose to 1.2 M lactate by *Escherichia coli* strain SZ194 using mineral salts medium. **Biotechnology Letters**, v. 28, p. 663–670, 2006.