



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL**

**EFEITO DE ENZIMAS COMERCIAIS E NATURAIS UTILIZADAS NA
HIDRÓLISE DA MANDIOCA SOBRE A QUALIDADE SENSORIAL DA
TIQUIRA**

ERICK ZURITA

**ARARAS - SP
(2010)**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL**

**EFEITO DE ENZIMAS COMERCIAIS E NATURAIS UTILIZADAS NA
HIDRÓLISE DA MANDIOCA SOBRE A QUALIDADE SENSORIAL DA
TIQUIRA**

ERICK ZURITA

**ORIENTADOR: PROFa. Dra. SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ ANTONIO CORREA MARGARIDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE EM AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL.

Araras – SP
(2010)

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

Z96ee

Zurita, Erick.

Efeito de enzimas comerciais e naturais utilizadas na hidrólise da mandioca sobre a qualidade sensorial da tiquira / Erick Zurita. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
52 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Mandioca. 2. Enzimas. 3. Batata - doce. 4. Hidrólise. I.
Título.

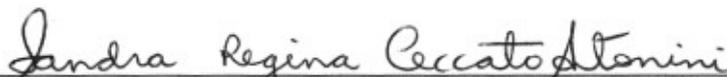
CDD: 633.682 (20ª)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DE

ERICK ZURITA

APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL, DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SÃO CARLOS, **EM 26 DE NOVEMBRO DE 2010.**

BANCA EXAMINADORA:



Profa. Dra. SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI

ORIENTADORA

PPGADR/UFSCar



Profa. Dra. MARTA REGINA VERRUMA BERNARDI

PPGADR/UFSCar



Prof. Dr. ANDRÉ RICARDO ALCARDE

USP/ESALQ

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Luiza Apezatto e Elpidio Zurita pelo suporte e incentivo para a realização deste trabalho;

Ao programa de pós-graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural da UFSCAR e todos seus professores, pelo suporte material e intelectual e principalmente, pela oportunidade de conhecer e estudar a agroecologia;

À EMBRAPA Meio Ambiente, pelo suporte intelectual para a realização deste trabalho;

À orientadora Profa. Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini, pelos ensinamentos, orientações, confiança e dedicação à realização deste trabalho;

Aos amigos e colegas de turma do curso de Pós-graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural pela ajuda, companheirismo e sugestões valiosas;

Aos funcionários e colegas do Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (UFSCar), na pessoa da técnica Lúcia T. Picollo Silva, os quais ajudaram nos testes de hidrólise;

Aos funcionários e colegas do Laboratório de Alimentos Orgânicos (UFSCar), na pessoa do Prof. Dr. Luiz Antonio Correa Margarido, pelo auxílio na execução prática do presente trabalho;

Aos funcionários e colegas do Laboratório de Análises e Simulação Tecnológica (UFSCar), na pessoa da Profa. Dra. Maria Teresa Mendes Ribeiro Borges, pela cordialidade e atenção durante a realização das análises físico-químicas;

Aos funcionários e colegas do Laboratório de Análise Sensorial (UFSCar), na pessoa da Profa. Dra. Marta Regina Verruma-Bernardi, pela colaboração e sugestões na elaboração das análises sensoriais;

Ao Prof. Dr. Norberto Antonio Lavorenti, pelo auxílio nas análises estatísticas;

À empresa Prozyn Biosolutions, pelo fornecimento das enzimas utilizadas neste trabalho;

À Fecularia Consoni, na pessoa de Alexandre Consoni, pelo fornecimento da matéria-prima para a realização dos experimentos;

Por fim, a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a conclusão deste trabalho, meu cordial muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	vi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 A cultura da mandioca	4
2.2 A tiquira	6
2.3 Hidrólise ou sacarificação da fécula da mandioca	7
2.3.1 Hidrólise por via enzimática	10
2.3.2 A batata doce como fonte de enzimas	12
2.4 Produção da tiquira	13
2.4.1 Produção tradicional	13
2.4.2 Produção com enzimas purificadas	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Materiais	16
3.1.1. Mandioca	16
3.1.2 Batata doce rosada	16
3.1.3 Enzimas Comerciais	17
3.2 Otimização da hidrólise da fécula de mandioca por enzimas comerciais e de batata doce rosada	18
3.2.1 Hidrólise da fécula da mandioca com enzimas comerciais	18
3.2.2 Hidrólise da fécula da mandioca com batata doce rosada	19
3.2.3 Determinação de açúcares redutores nos hidrolisados de mandioca	21
3.2.4 Cálculo dos rendimentos em açúcar redutor e açúcar redutor total	22
3.2.5 Análise estatística	22
3.3 Produção de tiquira em escala semi-industrial	23
3.3.1 Hidrólise	23
3.3.2 Hidrólise da fécula da mandioca com enzimas comerciais	23
3.3.3 Hidrólise da fécula de mandioca com batata doce rosada	23
3.3.4 Fermentação	24
3.3.5 Destilação e envelhecimento	24

3.4 Análises físico-químicas da tiquira	24
3.5 Análise sensorial da tiquira	24
3.5.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ)	25
3.5.1.1 Desenvolvimento da terminologia descritiva	25
3.5.1.2 Treinamento da equipe	26
3.5.1.3 Avaliação sensorial	26
3.5.2 Avaliação da aceitabilidade	26
3.6 Análise estatística	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Otimização da hidrólise da mandioca por enzimas comerciais e de batata doce rosada	29
4.2 Produção de tiquira em escala semi-industrial	35
4.2.1 Fermentação	35
4.2.2 Análises físico-químicas	38
4.3 Análise sensorial	40
4.3.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ)	40
4.3.2 Avaliação de aceitabilidade	43
4.4 Considerações finais	44
5. CONCLUSÕES	46
6. LITERATURA CITADA	48

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Tratamentos realizados para hidrólise de mandioca com enzimas comerciais	18
Tabela 2. Tratamentos realizados para hidrólise de mandioca com enzimas da batata doce rosada (volume final variável)	20
Tabela 3. Tratamentos realizados para hidrólise de mandioca com enzimas da batata doce rosada (volume final fixo em 200 ml)	21
Tabela 4. Tratamentos testemunhas realizados com mandioca e batata doce rosada	21
Tabela 5. Amostras de tiquira e cachaça utilizadas nas análises sensoriais ...	25
Tabela 6. Definição dos termos descritivos para os atributos de aparência, aroma, sabor e textura das aguardentes de cana-de-açúcar e mandioca	27
Tabela 7. Análise de variância dos resultados de rendimento (g açúcar redutor/ g mandioca)	32
Tabela 8. Desdobramento da Soma dos Quadrados de tratamentos em Contrastes, para os resultados de rendimento (g açúcar redutor/ g mandioca)	33
Tabela 9. Comparação das médias do rendimento (g açúcar redutor/ g mandioca) dos tratamentos com mandioca (40g) e batata doce rosada, utilizando-se vol. final fixo e variável (n=3)	36
Tabela 10. Comparação das médias do rendimento (g açúcar redutor/ g mandioca) dos tratamentos com mandioca e enzimas comerciais	36
Tabela 11. Resultados do rendimento em açúcar redutor e açúcar redutor total (g/ g mandioca) da hidrólise da mandioca (20% m/v) com enzimas comerciais (800ppm liquefação/ 1 kg/ton sacarificação) em escala semi-industrial	37
Tabela 12. Resultados do rendimento em Açúcar Redutor e Açúcar Redutor Total (g/g mandioca) da hidrólise da mandioca (20% m/v) com batata doce rosada (7,5% m/v para liquefação/ 7,5% m/v para sacarificação) em escala semi-industrial	37
Tabela 13. Resultados da fermentação dos mostos de mandioca hidrolisados com enzimas comerciais e batata doce rosada	37

Tabela 14. Valores dos parâmetros físico-químicos e componentes secundários das aguardentes de cana-de-açúcar e mandioca, após envelhecimento	38
Tabela 15. Valores dos componentes secundários do álcool de cereais	40
Tabela 16. Médias dos atributos sensoriais de aparência e aroma das seis amostras de aguardentes (A a F) avaliadas	40
Tabela 17. Médias dos atributos sensoriais de sabor e textura das seis amostras de aguardentes (A a F) avaliadas	42
Tabela 18. Médias dos atributos sensoriais de aceitabilidade e interesse de compra das seis amostras de aguardentes (A a F) avaliadas	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado da sacarificação de substâncias amiláceas...	09
Figura 2. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/ g mandioca) após hidrólise da mandioca com enzima comercial	31
Figura 3. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/ g mandioca) após hidrólise da mandioca com enzimas de batata doce (volume final variável)	31
Figura 4. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/ g mandioca) após hidrólise da mandioca com enzimas de batata doce (volume final fixo)	32
Figura 5. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/ g mandioca) nos tratamentos testemunhas (somente mandioca ou somente batata doce)	34

EFEITO DE ENZIMAS COMERCIAIS E NATURAIS UTILIZADAS NA HIDRÓLISE DA MANDIOCA SOBRE A QUALIDADE SENSORIAL DA TIQUIRA

Autor: ERICK ZURITA

Orientador: Profa. Dra. SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI

Co-orientador: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO CORREA MARGARIDO

RESUMO

Os materiais amiláceos precisam ser hidrolisados para a liberação de açúcares fermentescíveis e a hidrólise pode ser feita por via química ou por via enzimática. Esta última é sem dúvida a forma mais eficiente de conversão do amido, porém um fator limitante ao uso de enzimas é o elevado custo comercial das mesmas. Neste contexto, deve-se procurar um substituto à enzima comercial para a sacarificação do amido. O presente trabalho teve como objetivo avaliar parâmetros físico-químicos e sensoriais de tiquiras (aguardentes de mandioca) envelhecidas produzidas a partir da hidrólise da mandioca com enzimas comerciais e com batata doce rosada, comparando-a com a tradicional cachaça (aguardente de cana-de-açúcar), em duas versões de teor alcoólico (33 e 38% v/v). Inicialmente realizou-se a otimização do processo de hidrólise da fécula da mandioca, verificando-se as melhores concentrações de mandioca, batata doce para liquefação e sacarificação, quantidade de água e de enzimas comerciais, em escala de laboratório, com base nos resultados de rendimento em açúcar redutor/g mandioca. Foram realizadas análises físico-químicas nas tiquiras produzidas de acordo com os parâmetros exigidos pela legislação. Para a análise sensorial, utilizou-se o método da análise descritiva quantitativa e análise de aceitabilidade e interesse de compra. A utilização de batata doce rosada para a hidrólise da mandioca (liquefação e sacarificação) apresentou rendimentos em açúcar redutor significativamente superiores àqueles obtidos com enzimas comerciais. A proporção entre mandioca/batata doce/água utilizada na escala semi-industrial para a produção de tiquira, estabelecida na etapa de otimização, foi 20% de mandioca (m/v); 7,5% (m/v) de batata doce para liquefação; 7,5% (m/v) de

batata doce para sacarificação; e 65% (v/v) de água destilada. As tiquiras apresentaram características físico-químicas dentro das especificações brasileiras, com exceção da tiquira produzida com batata doce para o teor alcoólico, que ficou um pouco abaixo do mínimo exigido. Os atributos sensoriais que descreveram as aguardentes para análise descritiva quantitativa foram baseados na aparência, aroma, sabor e textura, com a utilização de catorze termos descritivos. De acordo com os resultados obtidos verificou-se que não ocorreram diferenças estatísticas ($p \geq 0,05$) entre as aguardentes para a maioria dos atributos, com exceção da coloração amarelada, aroma de madeira e sabor de madeira, cujos valores foram maiores para a cachaça. Houve uma maior aceitação e interesse de compra pela cachaça e pela tiquira produzida com enzimas comerciais, mostrando que a substituição das enzimas comerciais pelas enzimas da batata doce não resultou em melhoria na qualidade sensorial da bebida, embora os tratamentos de hidrólise da mandioca por batata doce tenham apresentado melhores rendimentos em açúcar redutor.

EFFECT OF THE COMMERCIAL AND NATURAL ENZYMES UTILIZED FOR THE CASSAVA HIDROLYSIS ON THE SENSORIAL QUALITY OF TIQUIRA

Author: ERICK ZURITA

Adviser: Dr SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI

Co-adviser: Dr LUIZ ANTONIO CORREA MARGARIDO

ABSTRACT

The amilaceous materials need to be hydrolyzed for the release of fermentable sugars and this process may be carried out by chemical or enzymatic way. The latter is the most efficient way for the starch conversion, however a limiting factor to the usage of commercial enzymes is the high cost. In this context, a substitute for the enzymes aiming the saccharification of starch should be searched for. This study evaluated the physico-chemical and sensory characteristics of aged tiquiras (cassava spirits) produced from the hydrolysis of cassava with commercial enzymes and with sweet potato, comparing to the traditional cachaça (sugar cane spirit), in two alcoholic strengths (33 and 38% v/v). Initially, an optimization of the hydrolysis process of the cassava was carried out, in order to verify the best concentrations of cassava, sweet potato for liquefaction and saccharification, water volume and commercial enzymes, in the laboratory scale, based on the results of yield in reducing sugar/g cassava. Physico-chemical analysis of the tiquiras produced was taken according to the parameters required by legislation. For the sensory analysis, the quantitative descriptive method and the acceptability and purchase interest tests were used. The utilization of sweet potato for the cassava hydrolysis (liquefaction and saccharification) has showed yields in reducing sugars significantly higher than those obtained with commercial enzymes. The proportion among cassava/sweet potato/water utilized in the semi-industrial scale for the tiquira production, established in the optimization step, was 20% cassava (m/v); 7.5% sweet potato (m/v) for liquefaction; 7.5% sweet potato (m/v) for saccharification; and 65% distilled water. The tiquiras presented physico-chemical characteristics in accordance with the Brazilian specifications, exception for the tiquira produced with sweet potato for the alcoholic strength, which was slightly below

the minimum required. The sensory attributes which described the spirits by the quantitative descriptive analysis were based on appearance, aroma, flavor and texture, utilizing fourteen descriptive terms. According to the results, there were no significant differences ($p \geq 0,05$) for the majority of the attributes, but for yellowish coloration, wood aroma and flavor, whose values were higher for the cachaça. There was a greater acceptance and purchase interest for the cachaça and for the tiquira produced with commercial enzymes, showing that that the replacement of the commercial enzymes by the sweet potato enzymes did not result in a better sensory quality of the beverage, although better yields in reducing sugars were obtained with the hydrolysis treatments with sweet potato.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) tem um papel importante no Brasil, tanto como fonte de alimentação quanto como geradora de emprego e renda. A mandioca é produzida principalmente por pequenos produtores, em sistemas de produção complexos e diversificados, sem ou com pouco uso de tecnologia moderna, principalmente agroquímica (CARDOSO; SOUZA, 2002).

São inúmeros os tubérculos e raízes que apresentam alto teor de carboidratos, na forma de açúcares, amido e outros polissacarídeos que poderiam ser fermentados para a produção de bebidas alcoólicas e etanol. Quanto à mandioca, há relatos sobre o seu uso na produção de diversos tipos de bebidas e alimentos tradicionais, e um dos aspectos positivos que tornam atraente o uso desta em processos de fermentação alcoólica é a possibilidade das raízes serem colhidas o ano todo, já que podem ser armazenadas no próprio solo (VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

Hoje os produtos oriundos da mandioca são consagrados na alimentação dos brasileiros de todas as regiões, porém, a tiquira é o menos conhecido desses produtos. A tiquira é a aguardente obtida através da sacarificação e fermentação da fécula de mandioca, podendo ser produzida de forma orgânica, ou seja, envolvendo a aplicação de técnicas sustentáveis desde o cultivo até a produção e pode ser mais uma maneira de agregar valor à bebida, proteger o meio ambiente e criar mais uma oportunidade de renda para as comunidades rurais. Atualmente, segundo

VENTURINI FILHO; MENDES (2003) há um crescente interesse do público consumidor pelos produtos artesanais, com destaque para aqueles produzidos de forma sustentável, ou seja, sem a utilização de insumos químicos, tais como agrotóxicos, adubos minerais, etc. Pelas características de sua produção, os fabricantes de tiquira orgânica podem perfeitamente explorar esse segmento de mercado.

O estado do Maranhão parece ser o único produtor desta bebida, com uma produção em torno de 640 mil litros. Apesar de a produção ser modesta se comparada à da cachaça, fatores como larga aceitação regional, condições inadequadas dos alambiques, leveduras selvagens atuando nas etapas de sacarificação e fermentação implicando em instabilidade na composição e qualidade do destilado, tempo e rendimento da produção e presença de íons cobre e cianídrico, justificam o seu estudo (SANTOS et al., 2005).

Os materiais amiláceos, no entanto, precisam ser hidrolisados para a liberação de açúcares fermentescíveis e a hidrólise pode ser feita por via química ou por via enzimática. Esta última é sem dúvida a forma mais eficiente de conversão do amido, porém um fator limitante ao uso de enzimas é o elevado custo comercial das mesmas (SURMELY et al., 2003).

Neste contexto, deve-se procurar um substituto à enzima comercial para a sacarificação da mandioca. A literatura relata a presença de α e β -amilases na batata-doce, com resistência a temperaturas altas, sendo um processo alternativo de menor custo (SURMELY et al., 2003). Esses autores caracterizaram as atividades enzimáticas da batata doce comercial para a hidrólise direta da raiz de mandioca ralada. O hidrolisado obtido mostrou uma dominância de maltose, seguido de glicose. No material decantado na centrifugação foi constatada a presença de amido residual. O mesmo ensaio foi feito com inhame (*Dioscorea sp*), mas não foi possível obter a hidrólise da fécula da mandioca como ocorreu com a batata doce. Ainda segundo esses autores, devido à alta produção de maltose, as atividades enzimáticas da batata doce são interessantes e estudos complementares devem ser realizados.

AGUSTINI et al. (2008) produziram um hidrolisado a partir do amido de mandioca por enzimas presentes na batata doce a uma taxa de conversão de 26% em açúcares redutores. Os autores ressaltaram a importância da otimização dos parâmetros de hidrólise para obtenção de maior taxa de conversão.

Para que a tiquira tenha grande aceitação pelo público, e com isso, seja viável sua produção, é necessário também que testes sensoriais sejam realizados e assim consiga-se produzir uma bebida de melhor qualidade.

Devido à escassez de informações referentes à tiquira e a crescente exigência do consumidor por produtos que conciliem qualidade com sustentabilidade, o presente trabalho teve por objetivo avaliar parâmetros físico-químicos e sensoriais de tiquiras envelhecidas produzidas a partir da hidrólise da fécula de mandioca com enzimas comerciais e com batata doce. Após etapa de otimização do processo de hidrólise em escala de laboratório foram feitas a fermentação e destilação da mesma, e em seguida as análises físico-químicas, para verificar seu enquadramento nas normas pertinentes. A análise sensorial foi realizada através do método da análise descritiva quantitativa e análise de aceitabilidade e interesse de compra, comparando-a com a tradicional cachaça (aguardente de cana-de-açúcar), a fim de se conhecer as reais condições de competitividade da tiquira.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da mandioca

A mandioca é uma planta originária da América do Sul, tendo provavelmente surgido no Brasil na região amazônica, mas é cultivada nas mais diversas regiões do mundo por apresentar tolerância às condições adversas de clima e solo (PEIXOTO, 1999; SILVA, 2003). No Brasil, a cultura da mandioca abrange todo o território nacional, ocupando áreas situadas desde a região amazônica até o sul do país, tanto na faixa litorânea como nas regiões interioranas (PEIXOTO, 1999).

Segundo Silva (2003) a cultura da mandioca tem elevada importância social, pois é a principal fonte de carboidratos para mais de 400 milhões de pessoas, principalmente nos países em desenvolvimento. No Brasil, as regiões Norte e Nordeste se destacam como principais consumidoras.

A mandioca é uma planta dicotiledônea pertencente à família *Euphorbiceae*, a qual pertencem cerca de 290 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies distribuídas em todas as regiões tropicais e subtropicais do globo, principalmente na América e na África (BARROSO et al., 1984 citado por DALLAQUA; CORAL, 2002; SILVA, 2003).

Segundo Lorenzi et al. (1997), este grupo de culturas caracteriza-se pela elevada extração de nitrogênio e potássio do solo, exportando-os para as partes

colhidas como raízes e tubérculos. Entretanto, o excesso de nitrogênio é prejudicial, levando ao desenvolvimento vegetativo exagerado, reduzindo assim as colheitas e a qualidade dos produtos e aumentando a predisposição das plantas às doenças.

O solo constitui importante fator de sucesso econômico da cultura. Embora o conceito de que a mandioca “é planta de terra fraca” talvez tenha contribuído para a falta de interesse pela sua nutrição, o agricultor a planta onde ele não está certo de conseguir um bom milho ou arrozal, por exemplo, na certeza de aproveitar as suas terras de fertilidade inferior. Mesmo podendo ser cultivada praticamente em todos os tipos de solo, os melhores rendimentos são obtidos naqueles que apresentam boa fertilidade e equilíbrio nutricional. Os solos devem ser leves, profundos e facilmente drenáveis (TERNES, 2002; SILVA, 2003).

Silva (2003) destaca que a conservação do solo seria um importante aspecto a considerar. A planta de mandioca não seria boa protetora do solo, favorecendo a erosão por ação das chuvas, aspecto que se agrava com o revolvimento profundo do solo por ocasião da colheita. Os solos arenosos mais favoráveis à cultura são bastante sujeitos à erosão. Práticas conservacionistas de natureza mecânica como plantio em nível e confecção de terraços devem ser adotados. Ternes (2002) concluiu que embora a mandioca consiga produzir em locais onde a produtividade de outras culturas é muito baixa, ela é tida como uma planta esgotante do solo.

Todas as plantas de mandioca possuem um princípio tóxico devido à presença de glicosídeos cianogênicos conhecidos como linamarina e lotaustralina, os quais sob a ação de ácidos ou enzimas sofrem hidrólise e liberam acetona, açúcar e ácido cianídrico (HCN). A variação da concentração destes compostos nas raízes é que possibilita a classificação prática em mandiocas doces ou mansas e amargas ou bravas (SILVA, 2003).

Devido à toxicidade da planta, seu emprego na alimentação humana e animal é limitado. As técnicas de processamento industrial para diminuição do princípio tóxico se baseiam na dissolução em água ou na volatilização, envolvendo processos como maceração, embebição em água, fervura, torrefação ou fermentação das raízes de mandioca ou, ainda, a combinação desses processos (SILVA, 2003). Segundo Ternes (2002), o ácido cianídrico é volátil e durante o processo de fabricação da farinha e fécula ou durante a cocção da mandioca é quase que totalmente eliminado.

Segundo Cardoso; Souza (2002), outra característica agrônômica importante da cultura é a possibilidade de suas raízes serem armazenadas no próprio solo por um período razoável sem perdas consideráveis de qualidade e rendimento. Segundo os mesmos autores, a relativa versatilidade de ser colhida com diferentes idades permite aos produtores melhor aproveitar as oportunidades de mercado e, em função da demanda, fazer ajustes alternativos dentro das unidades de produção.

Para as famílias com faixa de renda de menos de um salário mínimo, o consumo de mandioca e seus derivados representa cerca de 10% da despesa anual com alimentação. Ela só perde para o feijão, que aparece com um consumo equivalente a 13% dessa despesa. Esses dados mostram a importância da cultura para as classes de renda mais baixa (CARDOSO et al., 2001 citado por CARDOSO; SOUZA, 2002).

Apesar da queda na produção quando se compara o início da década de setenta e os anos recentes, a cultura não perdeu sua importância como geradora de mão-de-obra, principalmente nas regiões de agricultura tradicional. Considerando-se a fase de produção primária e o processamento de farinha e fécula, estima-se que são gerados no Brasil, um milhão de empregos diretos (CARDOSO; LEAL, 1999 citado por CARDOSO; SOUZA, 2002).

2.2 A tiquira

Segundo Venturini Filho; Mendes (2003), são inúmeros os tubérculos e raízes que apresentam alto teor de carboidratos, na forma de açúcares, amido e outros polissacarídeos que poderiam ser fermentados para a produção de bebidas alcoólicas e etanol. Essas raízes poderiam ser usadas como matéria-prima para processos que envolvam a fermentação alcoólica, para a qual encontram-se relatos sobre o uso de mandioca na produção de diversos tipos de bebidas e alimentos tradicionais.

O estado do Maranhão é o principal produtor da tiquira, com a fabricação concentrada nas cidades de Santa Quitéria, Barreirinhas e Humberto de Campos (CEREDA; VILPOUX, 2006). Das bebidas destiladas da mandioca, a tiquira é a única que possui legislação específica, muito parecida com a legislação da cachaça, aguardente de cana-de-açúcar. A tiquira é assim definida:

“bebida alcoólica com graduação alcoólica de 36 a 54% v/v, obtida do destilado alcoólico simples da mandioca, ou pela destilação de seu mosto

fermentado, podendo ser adicionada de açúcar até 30g/litro; quando a quantidade adicionada de açúcar for superior a 6g/litro deve ser considerado como adoçada. O coeficiente de congêneres não pode ser inferior a 200 e nem superior a 650 mg por 100 ml de álcool anidro” (BRASIL, 2008).

Segundo Maior (1970), durante a Segunda Guerra Mundial os norte-americanos estiveram baseados na Ilha de São Luiz, capital do Maranhão, onde descobriram a tiquira, considerando-a melhor do que o uísque. De tão procurada e consumida, a aguardente de mandioca teve seu preço muito inflacionado. A paixão dos americanos pela bebida chegou a tanto que eles iam até São Jose do Ribamar, no outro extremo da ilha, lá esperando os barcos que vinham do continente, e compravam todo o estoque de tiquira à venda. Além de beber muito, eles ainda davam a bebida típica de presente para familiares e amigos.

Embora seja bem difundida a tecnologia para produção de álcool a partir da mandioca, não se utiliza um processo comercial moderno para a produção de tiquira. No estado do Maranhão usa-se o método tradicional de fabricação, mas não há o controle técnico da produção, o que impede estes produtores de legalizarem seu negócio nos órgãos competentes.

2.3 Hidrólise ou sacarificação da fécula da mandioca

Segundo Leonel; Cabello (2001), a denominação amido refere-se ao polissacarídeo de reserva de partes aéreas vegetais, e fécula ao polissacarídeo proveniente das partes subterrâneas dos vegetais. A fécula é a substância de reserva das raízes de mandioca nas quais se acumula com teores médios de 20-30%, com variações entre os limites de 13% a 35%. Considerando-se que as raízes colhidas apresentam teores de umidade de 60 a 75%, a fécula na matéria seca pode se concentrar a teores em torno de 90%.

A fécula de mandioca é constituída por duas frações, amilose e amilopectina. A amilose consiste de cadeias longas, não-ramificadas, de unidades de D-glicose unidas por ligações α -1,4, tais cadeias, variando em massa molecular de uns poucos milhares até mais de um milhão. A amilopectina também tem uma alta massa molecular (até 100 milhões), porém, é muito ramificada. As ligações glicosídicas encontradas entre as unidades sucessivas de glicose nas cadeias da amilopectina são α -1,4, mas os pontos de ramificação (uma a cada 24 a 30 unidades) são α -1,6 (LEHNINGER et al., 2006).

Em valores médios, a fécula de mandioca apresenta 17% de amilose e cerca de 83% de amilopectina, teores estes diferentes do milho, que apresenta 24% de amilose e 76% de amilopectina, e da batata, com 20% de amilose e 80% de amilopectina. No processo de hidrólise ou sacarificação de matérias-primas amiláceas, ocorre a transformação do amido em açúcar, através de processo descontínuo ou contínuo, com hidrólise ácida ou enzimática (LEONEL; CABELLO, 2001; VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

Para o processo de hidrólise, após a preparação da matéria-prima, segue-se o cozimento e em seguida, a sacarificação. Essas operações têm por objetivo transformar o amido em açúcares fermentescíveis. A primeira operação consiste na transformação do amido em goma, por meio da hidratação e cozimento. Os grãos de amido se encontram no interior das células e pelo cozimento, as paredes de natureza celulósica que contém os grãos de amido são rompidas, assim, este absorve a água e se gelatiniza. A temperatura em que ocorre a gelificação depende da origem botânica do amido. Para fécula de mandioca, a temperatura é menor que para cereais, o que implica em menor consumo energético e maior facilidade de transformação nessa fase (ARAÚJO FILHO, 1976; VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

Segundo Araújo Filho (1976), o amido gelatinizado obtido na etapa anterior, ainda não é diretamente assimilável pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, responsáveis pela fermentação alcoólica. Torna-se necessário, portanto, proceder à uma hidrólise ou sacarificação do amido em açúcares, os quais apresentam constituição molecular mais simples. Esta fase é realizada em sacarificadores, onde a massa cozida vinda do cozinhador é resfriada à temperatura desejada. Esta varia de acordo com o agente de hidrólise empregado, seguindo-se então a adição do referido agente, que pode ser ácido, malte, farelo enzimático e enzimas purificadas. O meio permanece no sacarificador até a completa sacarificação.

Durante a hidrólise do amido eliminam-se gradualmente as unidades de glicose da extremidade não-redutora da molécula do substrato. A velocidade de hidrólise depende do tipo (linear ou ramificada) e da extensão da cadeia, sendo que as ligações α -1,4 hidrolisam mais facilmente que as ligações α -1,6 (NOVO, 1995 citado por LEONEL; CABELLO, 2001).

Araújo Filho (1976) indicou que a fase da hidrólise requer uma especial atenção, tendo em vista que esta etapa poderia ser um fator de aumento do custo de

produção do álcool de mandioca em comparação com o produto oriundo da cana-de-açúcar. Para a produção de álcool a partir de cana-de-açúcar, é necessária apenas uma diluição para tornar o caldo de cana um meio adequado para as leveduras.

Os processos utilizados para sacarificação do amido envolvem o uso de ácidos diluídos ou de preparação enzimática (Figura 1). Pelo processo dos ácidos, utiliza-se o ácido sulfúrico ou ácido clorídrico diluído. A hidrólise ácida apresenta como vantagem básica o pequeno tempo de sacarificação, porém tem como desvantagens evidentes os problemas de corrosão dos equipamentos e a necessidade de neutralização da solução açucarada após a hidrólise, além de provocar certa destruição dos açúcares. Acrescenta-se a essas desvantagens o fato de que esse processo gera açúcares não fermentescíveis, o que contribui para a queda do rendimento do processo de fabricação. (ARAÚJO FILHO, 1976; VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

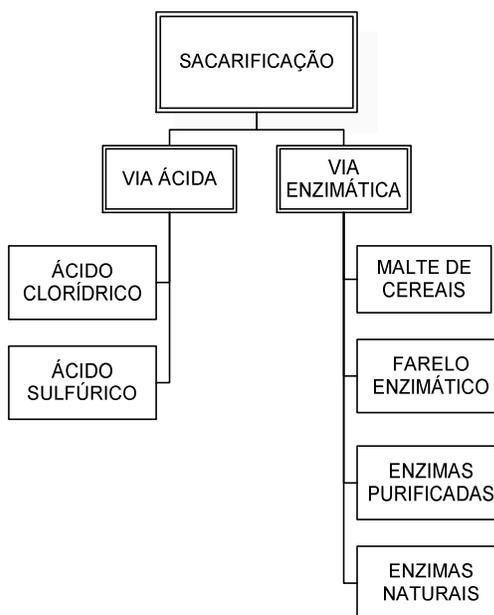


Figura 1. Esquema simplificado da sacarificação de substâncias amiláceas (Adaptado de ARAÚJO FILHO, 1976).

Segundo Venturini Filho; Mendes (2003), a hidrólise enzimática ocorre em reatores de conversão, mas diferentemente da hidrólise ácida, há utilização de enzimas que podem ser de origem vegetal ou microbiana. Entre as enzimas destaca-se o malte, farelo enzimático e enzimas comerciais.

Araújo Filho (1976) indica que as enzimas amilolíticas poderiam ser obtidas pela germinação de grãos de cereais, principalmente cevada, constituindo o malte. Estas enzimas poderiam também ser obtidas pela multiplicação de determinados microrganismos em substratos, como é o caso do farelo de cereal embolorado ou das culturas submersas de fungos. Finalmente, as enzimas poderiam ser obtidas como preparados enzimáticos de empresas especializadas. Essas colocam no mercado as enzimas necessárias ao processo de sacarificação, no caso a alfa amilase e a amiloglicosidase, também conhecida como beta-amilase.

Vale ressaltar que o Brasil, como um país tipicamente tropical, não oferece as condições ideais de clima para produção em massa e a baixo custo, de malte de cevada, que é o agente tradicional de hidrólise na Europa e Estados Unidos. Desta forma, sem a possibilidade de obter o malte, restam as opções dos ácidos e dos agentes enzimáticos como o malte de milho, farelo enzimático ou as enzimas purificadas (ARAÚJO FILHO, 1976).

2.3.1 Hidrólise por via enzimática

A hidrólise ou sacarificação da fécula da mandioca por via enzimática pode ser conseguida com o uso de enzimas amilolíticas, obtidas através de vários agentes enzimáticos como o malte (principalmente o malte de milho), farelo enzimático, enzimas purificadas comerciais e utilizando-se batata-doce (ARAÚJO FILHO, 1976).

Como malte é conhecido o cereal com poucos dias de germinação. Para se obter o malte de cereais, o grão é posto a germinar em condições apropriadas e após a germinação, surgem as enzimas que são responsáveis pela reação do amido contido no grão, com a água, resultando daí a formação de açúcares, principalmente a maltose. Os grãos mais utilizados para formação do malte são cevada, milho, centeio e trigo. A produção do malte requer um rigoroso controle de umidade e temperatura, atentando-se ainda para os cuidados exigidos no sentido de evitar contaminações (ARAÚJO FILHO, 1976).

Depois de pronto, o malte é triturado e lançado no “mingau” da mandioca. As enzimas do malte, funcionando como catalisadores, provocam a sacarificação da fécula, já cozida e solubilizada com a água, produzindo açúcares fermentescíveis (ARAÚJO FILHO, 1976). Segundo Venturini Filho e Mendes (2003), a cevada é o cereal mais utilizado na produção de malte, o qual servirá como fonte de enzimas α -amilase (endo-amilase) e β -amilase (exo-amilase).

De acordo com Araújo Filho (1976), a sacarificação com malte não seria aconselhável em nossas condições, porque dos cereais utilizados, somente o milho é encontrado na região e os cuidados necessários no desenvolvimento do método são suficientes para desanimar a iniciativa. Segundo o mesmo autor, para a obtenção de 100 litros de álcool, são empregados aproximadamente 44 Kg de milho na produção do malte necessário à sacarificação da mandioca. Seria, portanto, um processo bastante trabalhoso e de custo elevado.

O farelo enzimático ou farelo embolorado provém da cultura de microrganismos que possuem enzimas capazes de realizar a hidrólise do amido, como o *Aspergillus oryzae*, cujo crescimento se dá sobre farelos de milho, trigo, arroz ou cevada, previamente gelificados. O farelo enzimático, além de ser facilmente produzido, apresenta geralmente alto rendimento em glicose, equivalente ao obtido com malte (VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

Araújo Filho (1976) cita as principais vantagens do uso do farelo enzimático, em relação ao malte, como maior rendimento alcoólico, custo de operação de sacarificação menor, utilização de substratos simples como meio de cultura para multiplicação dos microrganismos e hidrólise mais rápida.

As enzimas purificadas são adquiridas de fornecedores especializados em condições de pronta utilização. Sua obtenção exige tecnologia mais avançada, aparelhagem para a recuperação de insolubilizantes, processos de liofilização, etc. As enzimas comerciais normalmente advêm do cultivo de *Bacillus subtilis* no caso de α -amilase e *Aspergillus niger* ou *Aspergillus awamori* no caso da amiloglicosidase. A maior parte das enzimas purificadas é produzida em indústria de grande porte, em forma de pó, granuladas ou líquidas. É um método bastante eficiente, apresentando uma grande vantagem, a de permitir que se trabalhe com quantidades reduzidas de material hidrolisante devido à sua alta potência, conduzindo à formação de mostos extremamente fluídos e manejáveis. A hidrólise por enzimas comerciais apresenta

maiores rendimentos quando comparada a outros sistemas de hidrólise enzimática (ARAÚJO FILHO, 1976; VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

Segundo Araújo Filho (1976), os processos de utilização de farelo enzimático e de enzimas purificadas, *a priori*, seriam os mais indicados na sacarificação do amido da mandioca, visando a produção de álcool.

Há relatos também da presença de α e β -amilases na batata-doce, com resistência à temperaturas altas (WALTER; PURCELL, 1973 citado por SURMELY et al., 2003). Surmely et al. (2003) realizaram um experimento que teve como objetivo caracterizar as atividades enzimáticas da batata doce comercial. Foi efetuada hidrólise direta da raiz de mandioca ralada com batata doce. O perfil do hidrolisado obtido mostrou uma dominância de maltose, seguido de glicose. A diferença em relação a um xarope de maltose para uso cervejeiro está na ausência de oligossacarídeos de grau de polimerização de 4 a 7 e na proporção maior de dextrinas. No material decantado na centrifugação foi constatada a presença de amido residual. O mesmo ensaio foi feito com inhame (*Dioscorea sp*), mas não foi possível obter a hidrólise da fécula da mandioca, como ocorreu com a batata doce

Agustini et al. (2008) produziram um hidrolisado a partir do amido de mandioca por enzimas presentes na batata doce a uma taxa de conversão de 26% em açúcares redutores. Os autores ressaltaram a importância da otimização dos parâmetros de hidrólise para obtenção de maior taxa de conversão.

Segundo Surmely et al. (2003), devido à alta produção de maltose, as atividades enzimáticas da batata doce são interessantes e estudos complementares deverão ser realizados.

2.3.2 A batata-doce como fonte de enzimas

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) é originária das Américas Central e do Sul, sendo encontrada desde a Península de Yucatam, no México, até a Colômbia. Seu uso remonta há mais de dez mil anos, com base em análise de batatas secas encontradas em cavernas localizadas no Peru e em evidências contidas em escritos arqueológicos encontrados na região ocupada pelos maias, na América Central (SILVA; LOPES; MAGALHÃES, 2004).

Segundo Silva; Lopes; Magalhães (2004), a batata-doce é uma espécie de dicotiledônea pertencente à família *Convolvulaceae*, que agrupa aproximadamente 50 gêneros e mais de 1000 espécies. Possui dois tipos de raiz, a de reserva ou

tuberosa, que é a parte de interesse comercial; e a raiz absorvente, responsável pela absorção de água e nutrientes do solo. As raízes apresentam formato redondo, oblongo, fusiforme ou alongado. Podem conter veias e dobras e possuir pele lisa ou rugosa.

Tanto a pele quanto a casca e a polpa podem apresentar coloração variável de roxo, salmão, amarelo, creme ou branco. As variedades de polpa roxa e salmão são geralmente utilizadas como ingredientes para mistura com as de cor clara na produção de doces e balas (SILVA; LOPES; MAGALHÃES, 2004).

Silva; Lopes; Magalhães (2004) citam as principais características da cultura da batata-doce, a seguir, fácil cultivo, baixo custo de produção; permite colheita prolongada; resistência a pragas e doenças; mecanizável; e protetora de solo.

No Brasil, a batata-doce é cultivada em todas as regiões. Embora bem disseminada no país, está mais presente nas regiões Sul e Nordeste, notadamente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Pernambuco e Paraíba (SILVA; LOPES; MAGALHÃES, 2004).

A possibilidade de sacarificação da mandioca por enzimas naturais como aquelas encontradas na batata-doce pode tornar a produção de tiquira mais atrativa para o pequeno produtor. Sendo um dos produtos característicos da cultura brasileira, a tiquira está em processo de valorização e para conquistar novos mercados e superar a concorrência da cachaça, deve-se agregar valor à bebida, e uma forma de fazê-lo, é o processo orgânico de produção, ou seja, aquele em que não há contato de qualquer produto tóxico ou químico, e conduzido de forma sustentável durante todo o processo de produção.

Segundo a Instrução Normativa nº 07, de 17 de maio de 1999 (BRASIL, 1999), que estabelece as normas de produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e certificação da qualidade para os produtos orgânicos de origem vegetal e animal, não há o impedimento do uso de enzimas no processamento de produtos orgânicos, desde que não sejam originadas de organismos geneticamente modificados e/ou transgênicos.

2.4 A produção da tiquira

2.4.1. Produção tradicional

A mandioca usada na fabricação da tiquira é a mesma utilizada na produção de farinha. Segundo Venturini Filho; Mendes (2003), no processo de fabricação artesanal tradicional do Maranhão, as raízes após serem lavadas e descascadas, são raladas em raladores próprios e prensadas para eliminação de parte de sua umidade. A massa prensada, contendo aproximadamente 50% de umidade, é esfarelada e distribuída sobre a superfície de uma chapa quente aquecida a lenha para formar bolos (beijus) de 30 cm de diâmetro e 3 a 4 cm de espessura. Pelo aquecimento uniforme de ambos os lados do bolo, haverá a gelificação do amido próximo às superfícies externas, resultando na formação do beiju, que apresenta uma estrutura coesa. Os beijus são colocados em local sombreado, mas suficientemente quente para permitir o crescimento dos bolores, cujos esporos são naturais daquela região. Os fungos que crescem de forma predominante nos beijus são as espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* e *Neurospora sitophila*. No início, os bolores crescem apenas superficialmente e depois de alguns dias, o micélio penetra no interior do beiju, hidrolisando o amido através da atividade de enzimas amilolíticas exógenas. Nesse processo, o amido do beiju é transformado em açúcar

Os beijus contendo amido sacarificado são colocados em fermentadores rústicos, normalmente cochos de madeira e em seguida são cobertos com água. A fermentação é natural e utiliza os microorganismos que ocorrem naturalmente no beiju, na água e na parede interna dos cochos. O tempo de fermentação é de 48 a 72 horas (VENTURINI FILHO; MENDES, 2003).

Terminada a fermentação, o meio fermentado é coado para a separação dos sólidos insolúveis. Estes, quando presentes na destilação, sofrem pirólise na caldeira do destilador, afetando negativamente a qualidade do destilado. A destilação da tiquira é feita em alambique simples, portanto, através de processo descontínuo. Independentemente do modo de aquecimento da caldeira do alambique, a destilação deve ser conduzida de forma branda, sem pressa, devendo-se identificar e separar as frações de cabeça, coração e cauda (VENTURINI FILHO; MENDES, 2003)

2.4.2 Produção com enzimas purificadas

Existem vários métodos para a produção de tiquira com enzimas purificadas, sendo que as diferenças variam conforme a origem e especificações das enzimas empregadas. Mas todos os métodos seguem basicamente o mesmo roteiro de

produção. A mandioca é lavada e ralada com ralador próprio, o mesmo usado em fecularias, não havendo a necessidade de descascar. Após ser ralada a massa resultante é pesada e vai para o cozimento em um tacho a vapor ou fogo direto e acrescenta-se água à massa, a mistura recebendo inicialmente a enzima para liquefação. Após a liquefação, segue-se para o processo de sacarificação, onde o líquido é mantido no tacho. A enzima hidrolisa o amido liquefeito, eliminando gradualmente as unidades de glicose da extremidade não redutora do sacarídeo (VENTURINI; MENDES, 2003).

A partir deste ponto, o mosto está pronto para fermentar e o Brix deve ser ajustado com adição de água. O processo de fermentação é o mesmo para a produção de cachaça, ou seja, utiliza-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, na forma de fermento biológico prensado, ou leveduras selvagens. (VENTURINI; MENDES, 2003).

Segundo Venturini; Mendes (2003), deve-se também separar as frações cabeça, coração e cauda durante o processo de destilação, o que é feito geralmente em destiladores descontínuos. Na fração da cabeça, a primeira a sair do destilador, estão presentes os componentes mais voláteis que o etanol, dentre eles os ésteres e os aldeídos. Na fração cauda, a última a deixar o alambique, há os componentes menos voláteis que o álcool etílico, como os alcoóis superiores (álcool fúsel). Tanto a cabeça como a cauda devem ser separadas e destiladas na partida seguinte. A parte nobre da destilação é constituída pelo coração, que é pobre em impurezas de cabeça e de cauda. Essa é a fração que deve ser aproveitada para a produção da tiquira.

Terminada a destilação, a tiquira está pronta para o consumo, sendo costumeira a adição de corantes artificiais para que fique com a cor azulada. Essa tradição de “azular” a bebida vem dos primeiros alambiques de cobre, mal lavados, no quais o destilado arrastava sais de cobre, dando cor azulada ao produto, durante a destilação do mosto da mandioca (CEREDA; VILPOUX, 2006).

Segundo Cereda; Vilpoux (2006) tradicionalmente são adicionadas folhas de lima á tiquira recém-destilada, o que proporciona uma fraca coloração azul à bebida. Recentemente este corante natural foi substituído por forte corante de cor arroxeadada, cujo principio químico não foi identificado. A coloração azulada pode ser também devida à acidez do líquido fermentado que reage com o óxido de cobre de destiladores mal lavados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Mandioca

Para realização dos experimentos de hidrólise da mandioca em escala laboratorial, foram adquiridos 15 kg de mandioca de um mesmo lote, variedade IAC15, de um produtor rural no bairro de Mata Negra, no município de Rio Claro/SP. As amostras foram coletadas em Julho de 2009. Inicialmente as raízes de mandioca foram lavadas com água, a seguir raladas com casca em ralador comum de cozinha e armazenadas em congelador à -18°C, em porções de 20 g embrulhadas em papel alumínio comum.

Para realização dos experimentos de fermentação, foram adquiridos 160 kg de mandioca descascada e ralada na própria indústria, de lotes variados, variedade IAC15, de uma fecularia na região de Araras/SP. As raízes de mandioca foram lavadas com água e raladas sem casca na própria indústria, tendo sido utilizadas no mesmo dia em que foram adquiridas, em Dezembro de 2009.

3.1.2 Batata doce rosada

Para os experimentos de hidrólise da mandioca, foram adquiridos 10 kg de batata doce rosada de um mercado local na cidade de Araras/SP. As amostras

foram coletadas em Julho de 2009. Inicialmente a batata doce foi lavada com água, a seguir raladas com casca em ralador comum de cozinha e armazenadas em congelador à -18°C , em porções de 15 g embrulhadas em papel alumínio comum.

Para os experimentos de fermentação, foram adquiridos 60 kg de batata doce rosada, de lotes variados, de um mercado local na cidade de Araras/SP. A batata doce foi lavada com água e picada com casca em uma picadeira para plantas forrageiras, tendo sido usadas no mesmo dia em que foram adquiridas, em Dezembro de 2009.

3.1.3 Enzimas comerciais

Foram utilizadas as enzimas Starmax TG120 para liquefação e Starmax GA 400 para sacarificação, ambas cedidas pela Prozyn Biosolutions®.

A enzima Starmax TG120 é um produto à base de alfa-amilases capazes de hidrolisar o amido a altas temperaturas e baixo pH, ou seja, é uma endo-amilase que hidrolisa, ao acaso, ligações α -1,4-glicosídicas, reduzindo a viscosidade do amido gelatinizado, produzindo dextrinas solúveis e oligossacarídeos. Para o seu uso recomenda-se uma faixa de 5,5 a 5,8 para o pH e cerca de 32-35% de substância seca. Na liquefação com Starmax TG120 recomenda-se primeiramente uma temperatura ao redor de 105 - 110°C por 5-7 minutos. Em seguida, deve-se diminuir esta temperatura para 95°C durante 90-120 minutos. Recomenda-se inicialmente dosagens entre 400 a 800 ppm sobre a quantidade de amido em base seca, mas a dosagem ótima no processo de liquefação depende de parâmetros, como o tipo de matéria prima, tempo de processamento, pH, temperatura e quantidade de substância seca (PROZYN BIOSOLUTIONS, 2009).

A enzima Starmax GA400 é um produto constituído de amiloglucosidase (ou glucoamilase) de origem fúngica. Esta enzima é uma exo-amilase que se caracteriza pela produção de unidades de glicose a partir da extremidade não redutora das cadeias de dextrina e oligossacarídeos, através do rompimento das ligações α -1,4-D-glicosídicas e α -1,6-D-glicosídicas. A dosagem típica para sacarificação a 60°C , pH 4,3, e com um tempo de permanência de 24 a 72 horas, é de 0,36 a 1 kg de enzima por tonelada de substância seca (PROZYN BIOSOLUTIONS, 2009).

3.2 Otimização da hidrólise da mandioca por enzimas comerciais e de batata doce

Os hidrolisados de mandioca obtidos com o uso de enzimas comerciais e de batata doce foram obtidos no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, *campus* de Araras. Os ensaios foram realizados em Erlenmeyers de 250 mL, em triplicata. Após a hidrólise, as amostras foram filtradas em papel de filtro e congelados a -18°C para posterior análise de açúcar redutor (AR) pelo método de Somogyi & Nelson (NELSON, 1944).

3.2.1 Hidrólise da mandioca com enzimas comerciais

Foram realizados os tratamentos listados na Tabela 1. Inicialmente foi adicionada a massa de mandioca ao erlenmeyer, a seguir a água destilada e a enzima de liquefação. As amostras foram colocadas em banho termostatizado a 95°C para liquefação por uma hora, adicionando-se a seguir a enzima de sacarificação, mantendo-se a 65°C por 2 horas. O uso das enzimas comerciais seguiu a recomendação do fabricante, conforme Prozyn Biosolutions (2009), com adaptação.

O cálculo da quantidade de enzima foi feito com base na quantidade de amido da mandioca, utilizando-se a base de 30% de amido em peso úmido da mandioca.

Tabela 1. Tratamentos realizados para hidrólise de mandioca com enzimas comerciais.

Mandioca (g)	Água (mL)	Enzima liquefação (ppm) / sacarificação (Kg/ton)
40	160	400 / 0,36
40	160	800 / 1
60	140	400 / 0,36
60	140	800 / 1
80	120	400 / 0,36
80	120	800 / 1

3.2.2 Hidrólise da mandioca com batata doce rosada

Foram realizados os tratamentos (Tabela 2) com volume final variável, considerando-se a massa de mandioca, batata doce e água. Inicialmente foi adicionada a massa de mandioca ao erlenmeyer, a seguir a água destilada e a massa de batata doce para liquefação. As amostras foram colocadas em banho termostático a 80°C por uma hora, adicionando-se a seguir a massa de batata doce para sacarificação, mantendo-se a 50°C por 2 horas. Utilizou-se a metodologia de Surmely et al. (2003) com adaptação.

Foi também testado o efeito do volume final fixo, em 200 mL, considerando-se a massa de mandioca, batata doce e água (Tabela 3). As condições de hidrólise foram as mesmas indicadas anteriormente. Os tratamentos testemunha estão descritos na Tabela 4.

Todas as amostras dos tratamentos foram filtradas em papel de filtro e armazenadas em tubos falcon a -18°C, para determinação de açúcares redutores.

3.2.3 Determinação de açúcares redutores nos hidrolisados de mandioca

Foi determinada a concentração de açúcares redutores (AR) nas amostras dos hidrolisados, no Laboratório de Análise e Simulação Tecnológica do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, *campus* de Araras. Utilizou-se a metodologia de Somogyi & Nelson (NELSON, 1944).

As amostras obtidas na etapa descrita anteriormente foram diluídas na proporção de 1:200 com água destilada em balões volumétricos. Para determinação de AR, 1 mL das amostras e dos padrões foi adicionado em tubos de ensaios, adicionando-se 1 mL do reativo de Somogyi e colocado em banho em ebulição por 15 minutos. A seguir, foi adicionado 1 mL do reativo de Nelson e acrescentado 7 mL de água destilada.

Para determinação de ART, as amostras (1 mL) foram pipetadas com 25 mL de ácido clorídrico 2,5 N e colocadas em banho a 65°C por 15 minutos, sendo neutralizadas com hidróxido de sódio a 20% usando como indicador 3 gotas de fenolftaleína 1% e 4 mL da solução de EDTA 4%. A seguir, as amostras hidrolisadas foram diluídas na proporção de 1:400 com água destilada em balões volumétricos. Em seguida, 1 mL das amostras foi adicionado em tubos de ensaios juntamente com 1 mL do reativo de Somogyi e colocados em banho em ebulição por 15 minutos. Em

Tabela 2. Tratamentos realizados para hidrólise de mandioca com enzimas de batata doce rosada (volume final variável).

Mandioca (g)	Água (mL)	Batata doce para liquefação (g) / sacarificação (g)
40	160	15/15
40	160	10/15
40	160	5/15
40	160	15/10
40	160	10/10
40	160	5/10
40	160	15/5
40	160	10/5
40	160	5/5
60	140	15/15
60	140	10/15
60	140	5/15
60	140	15/10
60	140	10/10
60	140	5/10
60	140	15/5
60	140	10/5
60	140	5/5
80	120	15/15
80	120	10/15
80	120	5/15
80	120	15/10
80	120	10/10
80	120	5/10
80	120	15/5
80	120	10/5
80	120	5/5

Tabela 3. Tratamentos realizados para hidrólise de mandioca com enzimas de batata doce rosada (volume final fixo em 200 mL).

Mandioca (g)	Água (mL)	Batata doce para liquefação (g) / sacarificação (g)
40	130	15/15
40	135	15/10
40	140	10/10
40	145	10/5
40	150	5/5
60	110	15/15
60	115	15/10
60	120	10/10
60	125	10/5
60	130	5/5
80	90	15/15
80	95	15/10
80	100	10/10
80	105	10/5
80	110	5/5

Tabela 4. Tratamentos testemunha realizados com mandioca e batata doce rosada.

Mandioca (g)	Água (mL)	Batata doce para liquefação (g) / sacarificação (g)
40	160	-
60	140	-
80	120	-
-	140	15/15
-	140	15/10
-	140	10/10
-	140	10/5
-	140	5/5

seguida, adicionou-se 1 mL do reativo de Nelson e acrescentados 7 mL de água destilada.

A leitura dos resultados foi realizada em espectrofotômetro a 535 nm, juntamente com os padrões de glicose a 0,010%, 0,020%, 0,030% (m/v), preparados da mesma forma que para AR, e branco (sem glicose). Os resultados de açúcar redutor foram calculados a partir da curva padrão preparada com os padrões de glicose e expressos em g/100 mL.

3.2.4 Cálculo dos rendimentos em AR e ART

Foram calculados os rendimentos em AR e ART conforme as fórmulas abaixo:

Rendimento em AR (g AR/g mandioca) = [AR X (volume total/100)] / massa mandioca

Rendimento em ART (g AR/g mandioca) = [ART X (volume total/100)] / massa mandioca

onde:

AR = quantidade de açúcar redutor em g/100 mL

ART = quantidade de açúcar redutor total em g/100 mL

Volume total = (massa mandioca em g + massa batata doce em g + volume de água em mL)

Massa mandioca = massa da mandioca em g

Para o cálculo de rendimento no tratamento testemunha somente com batata doce, o rendimento foi expresso em g AR/g batata doce, substituindo-se o denominador por massa de batata doce (em g) na fórmula de rendimento.

3.2.5 Análise estatística

Foi realizada a análise de variância dos dados de rendimento, considerando-se os tratamentos e as testemunhas. Em seguida realizou-se o desdobramento da Soma dos Quadrados de Tratamentos em Contrastes, comparando-se assim grupos de tratamentos que tinham características em comum. As médias foram comparadas através do teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.3 Produção de tiquira em escala semi-industrial

Para a produção de tiquira, foi utilizado o alambique semi-industrial do Laboratório de Alimentos Orgânicos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos – *Campus* de Araras. Foram produzidos dois tipos de tiquiras: tiquira cujo processo de hidrólise da fécula de mandioca foi realizado com enzimas comerciais (Prozyn Biosolutions®); e tiquira cujo processo de hidrólise da fécula de mandioca foi realizado com enzimas provenientes de batata doce, em condições de hidrólise estabelecidas na etapa anterior de otimização.

Para efeito de comparação, foi também utilizada uma amostra de cachaça (aguardente de cana) orgânica envelhecida, cuja fermentação foi realizada com fermento biológico (panificação), em trabalho desenvolvido por Gabriel (2010), no mesmo alambique e nas mesmas condições e período de envelhecimento (45 dias).

3.3.1 Hidrólise

3.3.2 Hidrólise da mandioca com enzimas comerciais

Para a hidrólise da mandioca com enzimas comerciais utilizou-se 25 kg de mandioca, 6 mL da enzima StarmaxTG120 para liquefação, 7,5 mL da enzima StarmaxGA400 para sacarificação e 100 litros de água. Colocou-se a mandioca, a enzima para liquefação e a água por 1 hora a 95°C para gelatinização e liquefação do substrato. Em seguida, adicionou-se a enzima para sacarificação por 2 horas a 65°C. Esta metodologia foi adaptada do método recomendado pelo fabricante das enzimas.

3.3.3 Hidrólise da mandioca com batata doce rosada

Utilizou-se para a hidrólise da fécula de mandioca com batata doce, 31 kg de mandioca, 23 kg de batata-doce rosada (divididas em 11,5 kg para liquefação e 11,5 kg para sacarificação) e 100 litros de água. Deixou-se a mandioca e a água com 10 kg de batata doce por 1 hora a 80°C para sacarificação e depois acrescentou-se 10 kg de batata doce por 2 horas a 50°C para sacarificar, segundo metodologia adaptada de Surmely et al. (2003). A proporção de mandioca:batata doce foi estabelecida anteriormente, em ensaio de otimização.

3.3.4 Fermentação

Com o fim do processo de hidrólise da mandioca por enzimas comerciais e enzimas da batata doce, o mosto resultante (cerca de 110 litros) para cada tratamento foi peneirado e resfriado a 30°C, sem adição de água, e colocado para fermentar com fermento biológico fresco da marca Fleishmann®, na proporção de 20 g/L, por 24 horas, em dornas de aço inox de 1000 litros.

3.3.5 Destilação e envelhecimento

Após o processo de fermentação, seguiu-se o processo de destilação em um destilador de cobre de 300 litros, estilo “cebola”, de três corpos, onde foram separados os componentes “cabeça” (cerca dos primeiros 10% do destilado) e “cauda” (cerca de 10% finais do destilado) e aproveitado o componente “coração” (cerca de 80% do destilado). Depois da destilação, as amostras de tiquira foram armazenadas em barris de carvalho (*Quercus alba* L.) de 5 litros, por 45 dias.

3.4 Análises físico-químicas da tiquira

As amostras de tiquira envelhecida foram analisadas quanto ao: teor alcoólico (% v/v) em densímetro digital a 20°C; pH em pH-metro digital; teor de acidez total (mg ácido acético/100 mL de álcool anidro) por titulometria, usando fenolftaleína como indicador; teor de ácido cianídrico (mg/100mL de álcool anidro) pelo método titulométrico com nitrato de prata como indicador; e teor de cobre (mg/L de álcool anidro) por espectrofotometria de absorção atômica. Foram analisados também acetaldeído, metanol, acetato de etila, n-propanol, isobutanol e álcool isoamílico por cromatografia gasosa, com sensor de chama ionizadora. Todas as análises físico-químicas seguiram a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (M.A.P.A.) (BRASIL, 2005b)

Para ajuste do teor alcoólico, utilizou-se álcool de cereais (marca Emfal®), indicado para padronização ou fabricação de bebidas alcoólicas, tendo sido analisados o teor alcoólico (% v/v) em densímetro digital a 20°C; aldeídos, ésteres e metanol por cromatografia gasosa.

3.5 Análise sensorial da tiquira

Este estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Seres Humanos da UFSCar nº de protocolo CAAE - 0006.0.135.000-10.

Foram utilizadas seis amostras para a análise sensorial, distribuídas em dois grupos quanto ao teor alcoólico (33% e 38% v/v), conforme Tabela 5. A diminuição do teor alcoólico foi realizada com água destilada enquanto o aumento foi obtido com a adição de álcool de cereais.

Amostras de 10 mL das aguardentes foram servidas em cálices transparentes formato tulipa, codificados e cobertos com vidros de relógio, os quais eram retirados no momento do teste e foram servidas acompanhadas de água mineral à temperatura ambiente. Os participantes eram maiores de 21 anos e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sendo informados sobre os objetivos, benefícios e riscos do projeto.

Tabela 5. Amostras de tiquira e cachaça utilizadas nas análises sensoriais.

Amostras	Código	Teor alcoólico (% v/v)
Tiquira produzida com enzimas comerciais	A	33
Tiquira produzida com enzimas de batata doce	B	33
Cachaça	C	33
Tiquira produzida com enzimas comerciais	D	38
Tiquira produzida com enzimas de batata doce	E	38
Cachaça	F	38

3.5.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ)

Para a análise sensorial das amostras foi utilizado o Método de Análise Descritiva Quantitativa, adaptado segundo Stone; Sidel (1985). Os testes foram realizados pela manhã no horário de 9 às 12 h.

3.5.1.1 Desenvolvimento da terminologia descritiva

Participaram deste estudo 13 provadores pré-selecionados levando-se em consideração o interesse e disponibilidade no período de realização da análise. O levantamento de atributos foi feito através do método Rede - “Kelly’s Repertory Grid Method” (MOSKOWITZ, 1983). Foram realizadas três sessões, nas quais foi apresentado um par de amostras por vez, solicitando-se ao provador que anotasse os atributos, as similaridades e as diferenças entre elas, utilizando ficha adequada para o levantamento de atributos.

3.5.1.2 Treinamento da equipe

Após cada provador realizar o levantamento de termos descritivos para os pares de amostras, a equipe se reuniu e discutiu os termos levantados. Nesta etapa, os termos que expressaram o mesmo significado foram agrupados em um só atributo. Os termos poucos utilizados pelos provadores foram retirados. No final das sessões foi gerada uma lista de termos descritivos com os respectivos extremos da cada escala utilizada. Durante o treinamento, os provadores foram solicitados a avaliar a intensidade de cada atributo sensorial das amostras. Para a avaliação foi utilizada escala não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos com termos definidos pela equipe. A lista dos atributos com as respectivas definições está mostrada na Tabela 6.

3.5.1.3 Avaliação sensorial

As amostras foram avaliadas em relação à aparência, aroma, sabor e textura em escala não estruturada de 9 cm, apresentadas monadicamente e a ordem de apresentação foi balanceada. Os testes foram realizados em triplicata e em cabines individuais, visando manter o isolamento de cada provador.

3.5.2 Avaliação da aceitabilidade

Foram convidados a participar deste estudo, 50 consumidores apreciadores de aguardentes. A ordem de apresentação das amostras foi balanceada e seguiu-se o delineamento de blocos completos segundo MacFie et al. (1989). As amostras foram apresentadas monadicamente e utilizou-se uma escala hedônica de sete pontos, variando de “gostei extremamente” a “desgostei extremamente”. A frequência de compra das aguardentes foi também questionada, em escala hedônica de 5 pontos, variando de “certamente não compraria” a “certamente compraria”. Os testes foram realizados em triplicata e em cabines individuais, visando manter o isolamento de cada provador.

Tabela 6. Definição dos termos descritivos para os atributos de aparência, aroma, sabor e textura das aguardentes de cana-de-açúcar e mandioca.

Atributos	Definição	Referências
Aparência		
Coloração amarelada	Coloração amarelada translúcida, característica de aguardentes envelhecidas.	"Nenhuma": água (transparente). "Forte": cerveja tipo "Pilsen" sem gás e sem espuma, em um cálice transparente.
Transparência	Transparência característica de aguardentes isenta de turbidez e/ou material em suspensão.	"Transparente": água. "Turva": leite.
Aroma		
Aroma de mandioca	Aroma característico de mandioca.	"Fraco": etanol (sem aroma). "Forte": mandioca crua.
Aroma de álcool	Aroma característico de etanol.	"Fraco": água (sem aroma). "Forte": álcool de uso doméstico (96%vol).
Aroma de madeira	Aroma característico da madeira do carvalho utilizado no tonel para envelhecimento das aguardentes.	"Fraco": etanol (sem aroma). "Forte": Raspas de madeira de carvalho e/ou madeiras diversas.
Aroma de frutas	Aroma associado a frutas	"Fraco": etanol (sem aroma). "Forte": Frutas frescas.
Aroma ácido	Aroma associado a frutas cítricas	"Fraco": etanol (sem aroma). "Forte": Suco de limão Tahiti diluído em água (Limonada)
Sabor		
Sabor de álcool	Sabor característico de bebida alcoólica, que causa ardor na boca e garganta.	"Fraco": água (sem álcool, sem sabor) "Forte": Associado ao sabor aguardente de cana industrial
Gosto doce	Gosto doce percebido no instante em que a aguardente é ingerida	"Fraco": etanol (sem sabor) "Forte": Açúcar refinado comum "Fraco": etanol (sem sabor)
Sabor de madeira	Sabor característico promovido pela madeira de carvalho utilizado no tonel para envelhecimento das aguardentes	"Forte": Associado ao sabor amadeirado do uísque envelhecido por 8 anos
Adstringência	Sensação na boca de "secura" e "amarração"	"Fraco": etanol (sem adstringência) "Forte": adstringência causada por frutas verdes como caqui e banana
Gosto ácido	Gosto ácido, característico de frutas cítricas	"Fraco": água (sem sabor) "Forte": Suco de limão Tahiti diluído em água (Limonada)
Agressividade	Impacto agressivo de sabor no momento da ingestão	"Fraco": água (sem agressividade) "Forte": Associado à agressividade da aguardente de cana industrial
Textura		
Corpo	Característica de viscosidade da aguardente sentida na boca (Sinônimos: leve e denso, fino e aveludado, líquido e licoroso)	"Pouco": água (sem corpo) "Muito": licor

3.6 Análise estatística

Os dados obtidos nos testes de hidrólise da fécula de mandioca com enzimas comerciais e com enzimas de batata doce, em escala laboratorial e os dados obtidos nos testes sensoriais, foram analisados através da análise de variância (ANOVA) utilizando-se o programa estatístico SAS (2003), e teste de Tukey ($p < 0,05$) após detecção de diferenças significativas entre as médias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Otimização da hidrólise da mandioca por enzimas comerciais e de batata doce

Inicialmente foi realizada uma otimização visando estabelecer as concentrações de mandioca e batata doce que resultassem em maior rendimento em açúcar redutor, para posteriormente proceder à fermentação em escala semi-industrial para produção de tiquira.

Para fins de comparação, foram realizados experimentos de hidrólise da mandioca com duas enzimas comerciais (uma para liquefação e outra para sacarificação), testando-se duas concentrações para cada uma. Para a enzima de liquefação, utilizou-se Starmax TG120, procedendo-se a algumas adaptações nas instruções do fabricante. Nos experimentos realizados, utilizou-se a temperatura de 95°C por 1 hora, sem ajuste do pH, avaliando-se as concentrações de 400 ppm e 800 ppm. Para sacarificação, utilizou-se a enzima Starmax GA400, nos experimentos realizados, utilizou-se a temperatura de 65°C por 2 horas, sem ajuste do pH, avaliando-se as concentrações de 0,36 e 1 kg de enzima por tonelada de mandioca.

As modificações realizadas visaram a adequação à uma situação que permitisse duas rodadas de sacarificação da mandioca por dia para o pequeno produtor, pois um tempo de permanência de 1 a 2 dias para a sacarificação demandaria equipamento para agitação da massa, além do tempo.

Com relação à batata doce, foram realizados dois conjuntos de experimentos. Foram testadas três concentrações de mandioca (40, 60 e 80g) e em decorrência da adição de batata doce para liquefação e sacarificação em dosagens variadas, o volume de água adicionado para completar o volume de 200 mL (em termos de massa do soluto – solvente) também variou. A variação na quantidade de água adicionada poderia interferir no processo de hidrólise e assim mascarar o efeito da batata doce. Assim, realizou-se também um experimento em que o volume final (massa do soluto – solvente) não se manteve em 200 mL após a adição das diferentes dosagens de batata doce. O que foi mantido fixo foi o volume de 200 mL considerando-se a massa de mandioca e água. Nesta situação, houve uma variação de 210 a 230 mL de volume final, considerando-se a menor dosagem de batata doce (5 g + 5 g) e a maior dosagem de batata doce (15 g + 15 g), respectivamente.

Os resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/g mandioca) estão demonstrados nas Figuras 2, 3 e 4.

De acordo com os resultados obtidos para rendimento verificou-se diferença significativa entre os tratamentos utilizados (Tabela 7). No entanto, em decorrência do grande número de tratamentos (56), considerando-se os tratamentos e as testemunhas, realizou-se o desdobramento da Soma dos Quadrados de Tratamentos em Contrastes, comparando-se assim grupos de tratamentos que tinham características em comum. Foram estruturados quatro contrastes, cujos resultados estatísticos estão dispostos na Tabela 8.

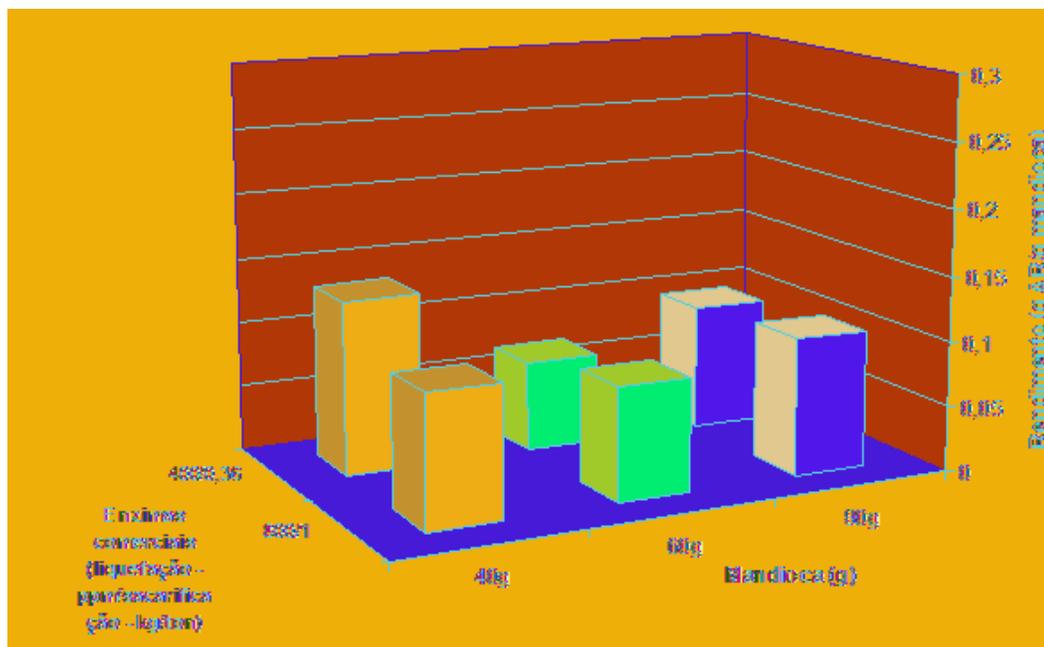


Figura 2. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/g mandioca) após hidrólise da mandioca com enzimas comerciais.

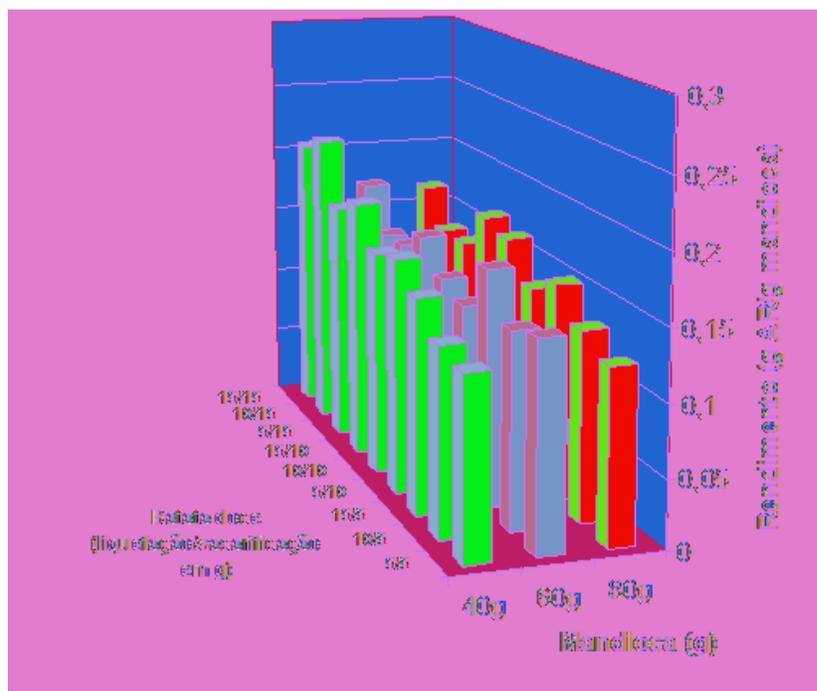


Figura 3. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/g mandioca) após hidrólise da mandioca com enzimas de batata doce (volume final variável).

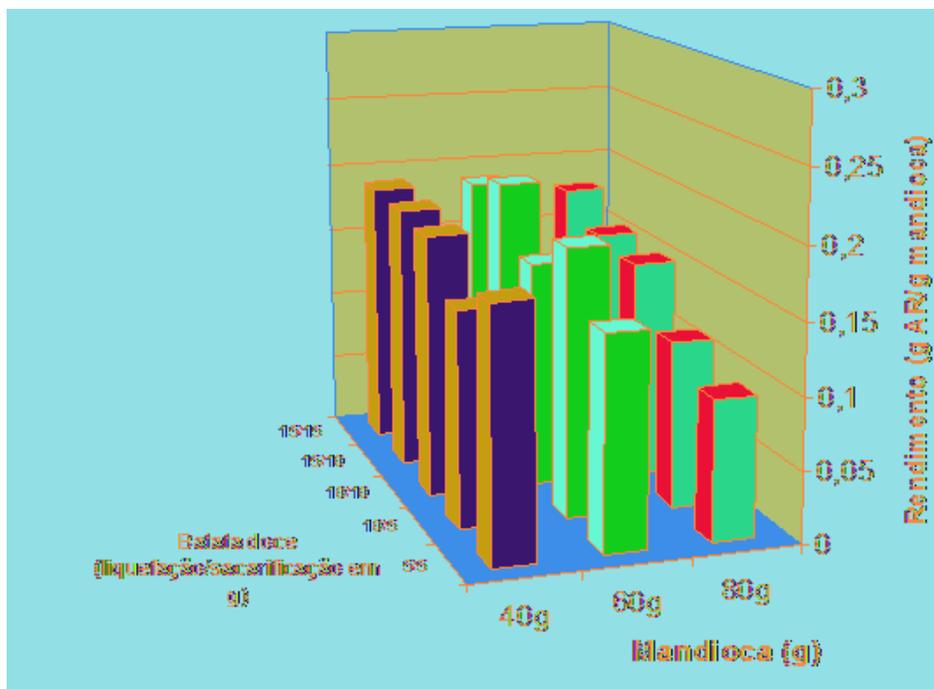


Figura 4. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/g mandioca) após hidrólise da mandioca com enzimas de batata doce (volume final fixo).

Tabela 7. Análise de variância dos resultados de rendimento (g açúcar redutor/g mandioca).

Causas Variação	GL	SQ	QM	F	Probabilidade
Tratamentos	55	0,32344	0,00588	13,1	0,000
Resíduo	112	0,05026	0,00045		
Total	167	0,3737			

Coeficiente de variação= 15,1%

Tabela 8. Desdobramento da Soma dos Quadrados de Tratamentos em Contrastes, para os resultados de rendimento (g açúcar redutor/g mandioca)

Contrastes	Valor	SE	SSQ	F	Probabilidade
Testemunhas X Tratamentos	3,6566	0,2242	0,11938	266,02	0,0000
Entre testemunhas	-1,4718	0,13398	0,05415	120,67	0,0000
Enzimas comerciais X Batata doce	-2,5661	0,2242	0,05879	131,01	0,0000
Batata doce (volume fixo) X Batata doce (volume variável)	-1,141	0,53173	0,00207	4,60	0,0340

Avaliando-se a Tabela 8, verificou-se a necessidade de hidrólise da mandioca para obtenção de maiores rendimentos em AR, pois houve diferença significativa a 1% entre testemunhas e tratamentos.

Houve diferença significativa entre as testemunhas, mostrando que houve maior rendimento em açúcar redutor a partir de batata doce do que de mandioca, ambas submetidas às condições de hidrólise (Figura 5), indicando que a batata doce possui enzimas amilolíticas capazes de hidrolisar sua própria fécula e a mandioca não. Por isso a necessidade de se utilizar agentes enzimáticos para a hidrólise da fécula de mandioca.

Verificou-se também maior rendimento em açúcar redutor com a utilização de batata doce para hidrólise da mandioca em comparação com as enzimas comerciais (Tabela 8, Figuras 2, 3 e 4). Os dois conjuntos de experimentos onde foi avaliado o efeito do volume final fixo ou variável na hidrólise com batata doce, apresentaram diferença significativa somente a 5% (Tabela 8, Figuras 3 e 4).

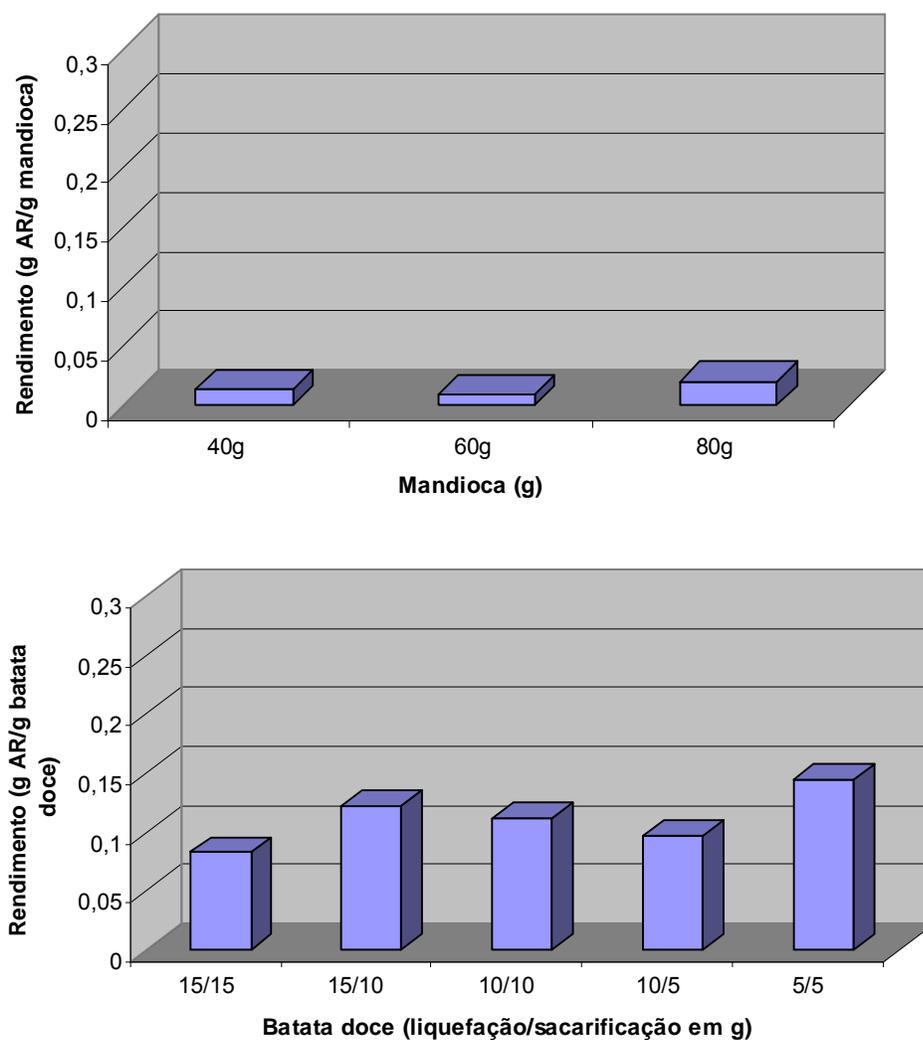


Figura 5. Resultados obtidos de rendimento em açúcar redutor (g/g mandioca) nos tratamentos testemunhas (somente mandioca ou somente batata doce).

Utilizando-se 40 g de mandioca, os resultados de rendimento foram superiores ou semelhantes àqueles com maior concentração de mandioca (Figuras 2, 3 e 4). Em face de economia do processo, optou-se por utilizar esta quantidade de mandioca para os testes fermentativos, porém a definição da melhor concentração de batata doce para liquefação e sacarificação e quantidade de água para hidratação foi realizada após análise comparativa entre as médias dos tratamentos com volume final fixo e variável, para a concentração de 40 g de mandioca.

Os tratamentos que apresentaram melhores rendimentos em açúcar redutor foram aqueles em que se utilizou 40 g de mandioca, 15 g de batata doce para liquefação e 15 g de batata doce para sacarificação, num volume final de 200 mL (130 mL de água destilada) e de 230 mL (160 mL de água destilada), ver Tabela 9. Desta forma, como não houve diferença estatística entre eles, optou-se pelo tratamento onde o volume final é fixo, de forma que as proporções ficassem assim estabelecidas: 20% de mandioca (m/v); 7,5% de batata doce para liquefação (m/v); 7,5% de batata doce para sacarificação (m/v); e 65% de água destilada (v/v).

Quanto ao tratamento com enzimas comerciais, não houve diferença significativa nos valores de rendimento em açúcar redutor entre as duas concentrações de enzimas para a concentração de 40 g de mandioca (Tabela 10), optando-se pela concentração de 800 ppm para a enzima de liquefação e 1 kg/ton para a enzima de sacarificação (20% de mandioca m/v). A escolha pela maior concentração foi feita para que obtenha-se o maior rendimento possível, partindo-se da premissa básica de que quanto maior volume de enzima utilizada maior rendimento. Para hidrólise com a batata doce também foi escolhida a maior concentração, embora não tenha havido diferenças em relação a alguns tratamentos com menor concentração de batata doce para liquefação e/ou sacarificação.

4.2 Produção de tiquira em escala semi-industrial

4.2.1 Fermentação

Os resultados da hidrólise da mandioca realizada em escala semi-industrial visando a produção de tiquira estão demonstrados nas Tabelas 11 e 12. A hidrólise com enzimas comerciais rendeu cerca de 110 litros de mosto hidrolisado e 17 Kg de resíduos sólidos e atingiu-se rendimento em AR ligeiramente superior ao obtido em escala de laboratório (0,10). Com batata doce, foram obtidos 110 litros de mosto hidrolisado e 25 kg de resíduos sólidos, atingindo-se rendimento abaixo do obtido em escala de laboratório (0,19).

Os resultados de rendimento em açúcar redutor total mostraram que a hidrólise por enzimas comerciais ou batata doce não foi completamente realizada, restando unidades maiores não-redutoras.

Tabela 9. Comparação das médias do rendimento (g açúcar redutor/g mandioca) dos tratamentos com mandioca (40 g) e batata doce rosada, utilizando-se volume final fixo e variável (n=3).

Batata doce (liquefação/sacarificação em g)	Volume final (mL)	Média
15/15	200	0,1890 eg
15/10	200	0,1875 eg
10/10	200	0,1837 egi
10/5	200	0,1500 abcfi
5/5	200	0,1730 efh
15/15	230	0,2057 gh
10/15	225	0,2171 g
5/15	220	0,1745 efh
15/10	225	0,1877 eg
10/10	220	0,1617 cde
5/10	215	0,1688 bce
15/5	220	0,1531 abcfi
10/5	215	0,1331 ad
5/5	210	0,1284 ad

Diferença mínima significativa a 5%: 0,0339

Tabela 10. Comparação das médias do rendimento (g açúcar redutor/g mandioca) dos tratamentos com mandioca e enzimas comerciais.

Mandioca (g)	Enzimas comerciais (liquefação - ppm/sacarificação – kg/ton)	Volume final (mL)	Média
40	400/0,36	200	0,1328 b
40	800/1	200	0,1002 ab
60	400/0,36	200	0,0689 a
60	800/1	200	0,0857 a
80	400/0,36	200	0,0970 a
80	800/1	200	0,1043 b

Diferença mínima significativa a 5%: 0,0339

Tabela 11. Resultados do rendimento em açúcar redutor e açúcar redutor total (g/g mandioca) da hidrólise da mandioca (20% m/v) com enzimas comerciais (800 ppm liquefação/1 kg/ton sacarificação) em escala semi-industrial.

Mandioca (kg)	Água (L)	Enzimas (mL/mL)	Rendimento em AR (g/g mandioca)	Rendimento em ART (g/g mandioca)
25	100	6/7,5	0,13	0,18

Tabela 12. Resultados do rendimento em açúcar redutor e açúcar redutor total (g/g mandioca) da hidrólise da mandioca (20% m/v) com batata doce rosada (7,5% m/v para liquefação/7,5% m/v para sacarificação) em escala semi-industrial.

Mandioca (kg)	Água (L)	Batata doce (kg/kg)	Rendimento em AR (g/g mandioca)	Rendimento em ART (g/g mandioca)
31	100	11,5/11,5	0,12	0,15

A Tabela 13 mostra os resultados de teor alcoólico dos mostos fermentados com *Saccharomyces cerevisiae* bem como o volume dos destilados e respectivos teor alcoólico.

Tabela 13. Resultados da fermentação dos mostos de mandioca hidrolisados com enzimas comerciais e batata doce rosada.

Amostra	Volume de mosto hidrolisado (L)	Teor alcoólico do mosto fermentado (% v/v)	Volume do destilado (L)	Teor alcoólico do destilado (% v/v)
Hidrólise com enzimas comerciais	110	1,5	3,9	38
Hidrólise com batata doce	110	2	4,2	38

4.2.2 Análises físico-químicas da tiquira

A Tabela 14 apresenta os resultados obtidos nas análises físico-químicas de teor alcoólico, pH, acidez total, ácido cianídrico, cobre e compostos secundários obtidos para as aguardentes envelhecidas. Como para os testes sensoriais foi incluída a aguardente de cana (cachaça) envelhecida produzida no mesmo alambique com fermento prensado, foram também incluídas na presente Tabela as características físico-químicas da cachaça, conforme Gabriel (2010).

Tabela 14. Valores dos parâmetros físico-químicos e componentes secundários das aguardentes de cana-de-açúcar e mandioca, após envelhecimento.

Parâmetros	Tiquira (enzima comercial)	Tiquira (batata doce)	Cachaça ¹	Especificação para tiquira ²
Teor alcoólico (% v/v)	38,7	33,4	38,2	36-54
pH	5,0	4,7	4,7	-
Acidez total (mg ácido acético/100mL álcool anidro)	17,9	21,2	11,6	-
Ácido cianídrico (mg/100mL álcool anidro)	0,73	0,57	n.d.	-
Cobre (ppm)	1,78	3,02	0,31	5
Acetaldeído (mg/100mL de álcool anidro)	0,19	0,18	10,02	20
Metanol (mg/100mL de álcool anidro)	4,25	3,82	10,70	20
Acetato de etila (mg/100mL de álcool anidro)	0,14	0,13	10,63	200
N-propanol (mg/100mL de álcool anidro)	4,22	2,02	50,99	-
Isobutanol (mg/100mL de álcool anidro)	5,71	3,61	50,52	-
Alcool isoamílico (mg/100mL de álcool anidro)	93,32	106,17	145,60	-
Álcoois superiores (mg/100mL de álcool anidro)	103,25	111,80	247,11	300

Fontes: ¹Gabriel (2010). ²Brasil (2008) n.d.= não determinado.

As amostras de tiquira apresentaram-se dentro das especificações brasileiras para cobre, porém para teor alcoólico a legislação estabelece os limites de 36 a 54% v/v, de forma que a tiquira produzida a partir da hidrólise da mandioca com batata doce encontrou-se fora da especificação (BRASIL, 2005a, 2008). Não há limites estabelecidos para acidez total, somente para acidez volátil (até 100 mg/100 mL a.a.), porém o valor de acidez total foi bem abaixo do limite da acidez volátil, de forma que as bebidas produzidas encontram-se dentro das especificações.

Em trabalho de Ferreira et al. (2005), a tiquira produzida com enzimas comerciais apresentou os valores de acidez, pH e teor alcoólico dentro das especificações, porém diferentes dos valores aqui encontrados (46; 4,25; 40° GL, respectivamente).

Quanto ao ácido cianídrico, em bebidas alcoólicas não existe ainda um limite de referência permitido, mas para águas potáveis o limite de tolerância para cianeto é de 0,1 mg/L no Brasil (FURTADO et al., 2007). Esses autores encontraram teores em tiquira 150 vezes superior ao permitido para água potável, sendo que neste presente trabalho foram encontrados teores de 50 a 70 vezes superiores ao limite para água. De qualquer forma, embora a comparação seja válida, há de se considerar que uma pessoa ingere comparativamente quantidades muito menores de tiquira por dia.

As amostras de tiquira apresentaram-se dentro das especificações brasileiras para acetaldeído, metanol, acetato de etila e alcoóis superiores (BRASIL, 2008). Embora as características físico-químicas atendam ao disposto na legislação brasileira, os componentes secundários das tiquiras apresentaram concentrações muito baixas, o que pode prejudicar a qualidade sensorial da bebida. São os componentes secundários que contribuem para as características singulares da aguardente, tais como aroma e sabor peculiares, principalmente causados pela presença dos ésteres e aldeídos (BOSCOLO et al., 2000).

Há poucos trabalhos relatando as características físico-químicas da tiquira, como o de Andrade Sobrinho (1999), e outros visando a determinação de compostos nitrogenados (POLASTRO et al., 2001), a identificação e quantificação do cristal violeta (SANTOS et al., 2005) e a presença de carbamato de etila (ANDRADE SOBRINHO et al., 2002, 2009) na bebida.

Como a amostra de tiquira produzida com enzima de batata doce apresentou teor alcoólico baixo (33% v/v), utilizou-se o álcool de cereais para correção a 38% v/v de teor alcoólico, para que as comparações na análise sensorial com a cachaça e com a tiquira produzida com enzimas comerciais pudessem ser realizadas. A Tabela 15 apresenta os resultados das análises dos compostos secundários no álcool de cereais, mostrando a baixa concentração destes componentes, os quais contribuem para a formação de aroma e sabor. Desta forma, o uso do álcool de cereais não causaria interferência na análise sensorial das aguardentes produzidas, não mascarando os atributos sensoriais próprios das bebidas em análise.

Tabela 15. Valores dos componentes secundários do álcool de cereais.

Componentes	Álcool de cereais
Acetaldeído (mg/100mL de álcool anidro)	0,20
Metanol (mg/100mL de álcool anidro)	0,90
Acetato de etila (mg/100mL de álcool anidro)	5,17
N-propanol (mg/100mL de álcool anidro)	8,92
Isobutanol (mg/100mL de álcool anidro)	0,49
Alcool isoamílico (mg/100mL de álcool anidro)	0,00
Álcoois superiores (mg/100mL de álcool anidro)	9,41

4.3 Análise sensorial

4.3.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ)

A Tabela 16 mostra os resultados obtidos para os termos descritivos dos atributos aparência e aroma das aguardentes de cana-de-açúcar e mandioca.

Tabela 16. Médias dos atributos sensoriais de aparência e aroma das seis amostras de aguardentes (A a F)¹ avaliadas.

Atributos	A	B	C	D	E	F	DMS ²
Coloração Amarelada	2,94 b	2,82 b	7,22 a	3,21 b	2,64 b	7,48 a	1,35
Transparência	2,47 a	3,01 a	3,01 a	2,22 a	2,02 a	3,22 a	2,01
Aroma de mandioca	4,05 a	4,38 a	2,57 a	4,45 a	4,45 a	3,13 a	2,91
Aroma de álcool	4,78 a	3,99 a	4,74 a	4,55 a	2,95 a	5,21 a	2,63
Aroma de madeira	2,52 b	3,32 b	6,36 a	3,45 b	4,44 ab	4,98 ab	2,47
Aroma de frutas	3,06 a	3,85 a	3,91 a	4,38 a	2,76 a	4,13 a	2,95
Aroma ácido	2,57 a	4,28 a	2,97 a	2,85 a	2,85 a	3,29 a	2,54

Letras diferentes nas linhas indicam médias significativamente diferentes pelo teste de Tukey

¹ A:tiquira produzida com enzimas comerciais (33%vol) ;B:tiquira produzida com enzimas de batata doce

(33%vol); C:cachaça (33%vol); D:tiquira produzida com enzimas comerciais (38%vol); E:tiquira produzida com enzimas de batata doce (38%vol); F:cachaça (38%vol)

² DMS=Diferença mínima significativa ao nível de 5%

As amostras de cachaça (C e F) se destacaram das demais em relação ao atributo coloração amarelada, pois embora todas as amostras tenham ficado pelo mesmo período de envelhecimento, as amostras de cachaça podem ter ficado mais amareladas. Isso devido, possivelmente, a diferenças na absorção dos componentes da madeira pelas cachaças.

No atributo transparência, não houve diferença significativa entre as amostras, seja para aquelas de teor alcoólico baixo (33% v/v) ou mais alto (38% v/v). Este resultado é importante, pois transparência é um atributo que se espera de uma bebida destilada de qualidade. Segundo Maia; Campelo (2005), a limpidez e ausência de partículas indicariam um processamento higiênico e correto, enquanto a transparência e brilho indicariam a perfeita solubilização dos componentes secundários e oleosos.

Quanto ao atributo aroma de mandioca, também não houve diferença significativa entre as amostras ($p \geq 0,05$), embora as amostras de tiquira tenham apresentado valores cerca de 40-60% superiores àquelas de cachaça, independentemente do teor alcoólico. O resultado demonstrou uma tendência de percepção das características peculiares da matéria-prima na avaliação das aguardentes.

Em relação ao atributo aroma de álcool, não houve diferença significativa entre as amostras ($p \geq 0,05$). Esta análise demonstrou que não há uma relação direta entre o tipo de aguardente (tiquira ou cachaça) e o aroma de álcool, o que poderia influenciar negativamente na aceitação da bebida. A amostra de tiquira que teve seu teor alcoólico aumentado com álcool de cereais (amostra E) foi a amostra menos intensa neste atributo.

No atributo aroma de madeira, entre as amostras de teor alcoólico baixo (A, B e C – 33% v/v), a amostra de cachaça C se destacou (6,36), diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) das outras amostras; entre as amostras de tiquira não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$). Nas amostras de grau alcoólico mais alto (D, E e F – 38% v/v), as amostras de intensidade máxima foram a cachaça F (4,98) e a amostra de tiquira E (4,44) ($p \geq 0,05$) da outra amostra de tiquira D (3,45). No entanto, a amostra de tiquira E foi a única que não foi diferente significativamente da cachaça. A diferença significativa no atributo sabor de madeira para as amostras de cachaça pode ser devido à maior absorção pela cachaça dos componentes responsáveis pelo sabor, da madeira do barril usado para envelhecimento.

Na avaliação do atributo aroma de frutas, verificou-se que as amostras não diferiram significativamente entre si, porém a tiquira feita com enzimas comerciais (D) se destacou com a maior avaliação em relação ao aroma de frutas entre todas as amostras.

Em relação ao atributo aroma ácido, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras, demonstrando que não há diferença na percepção da intensidade deste atributo em amostras de aguardentes de teor alcoólico diferente ou provenientes de matérias-primas diferentes.

A Tabela 17 mostra os resultados obtidos para os termos descritivos dos atributos sabor e textura das aguardentes de cana-de-açúcar e mandioca.

Tabela 17. Médias dos atributos sensoriais de sabor e textura das seis amostras de aguardentes (A a F)¹ avaliadas.

Atributos	A	B	C	D	E	F	DMS ²
Sabor de álcool	5,98 a	5,01 a	5,88 a	6,05 a	5,66 a	5,27 a	2,97
Gosto doce	4,36 a	5,61 a	3,75 a	3,32 a	4,65 a	4,92 a	2,99
Sabor de madeira	3,65 b	3,77 b	6,48 a	3,53 b	4,92 ab	6,09 ab	2,57
Adstringência	5,07 a	3,57 a	4,68 a	5,52 a	4,45 a	4,29 a	2,84
Gosto ácido	4,46 a	4,08 a	3,91 a	4,34 a	4,38 a	4,49 a	3,20
Agressividade	4,66 a	4,47 a	5,91 a	6,20 a	5,46 a	5,98 a	2,81
Corpo	3,30 a	3,37 a	4,00 a	3,82 a	3,39 a	3,85 a	2,34

Letras diferentes nas linhas indicam médias significativamente diferentes pelo teste de Tukey

¹ A- Tiquira com enzimas comerciais (33%vol) ;B- Tiquira com batata doce (33%vol); C- Cachaça (33%vol); D- Tiquira com enzimas comerciais (38%vol); E- Tiquira com batata doce (38%vol); F- Cachaça (38%vol)

² DMS=Diferença mínima significativa ao nível de 5%

Em relação ao atributo sabor de álcool, não houve diferença significativa entre as amostras ($p \geq 0,05$), porém as amostras de tiquira feitas com enzimas comerciais (A e D) se destacaram pela maior intensidade para este atributo, independentemente do teor alcoólico. Não houve um destaque para a tiquira E, que teve seu teor alcoólico aumentado com álcool de cereais, apresentando uma intensidade mediana.

O atributo gosto doce não mostrou diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre as amostras, mas mostrou uma tendência da amostra de tiquira feita com batata doce (B) apresentar maior intensidade neste atributo, em teor alcoólico mais baixo.

Os resultados para o atributo sabor de madeira seguiram o mesmo comportamento observado para o atributo aroma de madeira, com destaque significativo para a cachaça com teor alcoólico mais baixo (33% v/v). Entre as tiquiras, aquela produzida com mandioca hidrolisada com batata doce (a 38% v/v) foi a única que não diferiu significativamente da amostra de cachaça.

Nos atributos adstringência, corpo, agressividade e gosto ácido não houve diferença significativa entre as amostras.

Para o atributo agressividade, apesar de as amostras não diferirem significativamente entre si, as tiquiras produzidas com enzimas comerciais apresentaram maior intensidade neste atributo. Além disso, verificou-se que os valores foram maiores para as amostras com teor alcoólico mais alto (38% v/v), embora não significativamente diferente.

Ferreira et al. (2005) obtiveram valores médios para os atributos aparência, aroma e sabor superiores a 7,0, em uma escala hedônica de 1 a 9, sendo portanto, superiores aos valores médios aqui encontrados, tanto para a cachaça quanto para a tiquira.

4.3.2 Avaliação de aceitabilidade

De acordo com os dados obtidos no teste de aceitabilidade verificou-se maior aceitabilidade da cachaça com teor alcoólico mais baixo (33% v/v) com nota 4,6, porém este valor não diferiu da cachaça com teor alcoólico mais alto (38% v/v) e das tiquiras produzidas com enzimas comerciais, independentemente do teor alcoólico (Tabela 18).

A maior aceitação pelas amostras de cachaça (C e F) pode ser devido ao fato dos consumidores estarem mais habituados com o aroma e sabor da cachaça. Entre as tiquiras, as amostras produzidas com enzimas da batata doce tiveram menor aceitação (Tabela 18).

Quanto ao interesse de compra (Tabela 18), verificou-se diferença significativa somente entre a amostra de cachaça de teor alcoólico mais baixo e a tiquira produzida com enzima de batata doce de teor alcoólico mais alto, sendo que as outras amostras não apresentaram diferença significativa entre si. Verificou-se o maior interesse de compra pelas amostras de cachaça (C e F), e entre as tiquiras, pelas amostras produzidas com enzimas comerciais.

No entanto, Ferreira et al. (2005) verificaram que não houve diferença significativa entre a tiquira produzida utilizando-se a hidrólise do amido de mandioca por enzimas comerciais e as cachaças comerciais, mostrando que a aguardente de mandioca foi tão bem aceita quanto as cachaças, indicando que esta teria uma aceitação pelos consumidores ao ser comercializada.

Tabela 18. Médias dos atributos sensoriais de aceitabilidade¹ e interesse de compra² das seis amostras de aguardentes (A a F)³ avaliadas.

Amostras	Aceitabilidade - notas	Interesse de compra
A	4,18 ab	2,72 ab
B	3,72 b	2,70 ab
C	4,60 a	3,34 a
D	3,82 ab	2,78 ab
E	3,62 b	2,54 b
F	4,20 ab	2,80 ab
DMS ⁴	0,85	0,68

Letras diferentes nas colunas indicam médias significativamente diferentes pelo teste Tukey

¹ Escala hedônica de 7 pontos (7- gostei extremamente a 1- desgostei extremamente)

² Escala de interesse de compra (1- certamente não compraria a 5- certamente compraria)

³ Sendo: A- Tiquira com enzimas comerciais (33%vol); B- Tiquira com batata doce (33%vol); C- Cachaça (33%vol); D- Tiquira com enzimas comerciais (38%vol); E- Tiquira com batata doce (38%vol); F- Cachaça (38%vol).

⁴ DMS=Diferença mínima significativa ao nível de 5%.

4.4 Considerações finais

No desenvolvimento rural sustentável, pressupõe-se o uso correto e eficiente de todos os recursos disponíveis em uma propriedade rural, de forma que se possa agregar valor aos produtos de lá oriundos, gerando emprego e renda ao produtor rural. A produção de tiquira pode ser mais uma ferramenta ao produtor, nesse sentido.

Os resultados deste trabalho indicam que a produção de tiquira com enzimas da batata doce, embora não tenham contribuído para uma melhoria na qualidade sensorial da bebida, pode ser uma alternativa de fácil execução e integrada à produção de cachaça. Os equipamentos podem ser os mesmos utilizados na produção de cachaça, somente com acréscimo de um ralador para a mandioca e um

tacho aquecido. Os parâmetros de qualidade dos principais componentes também são os mesmos.

No processo de hidrólise da fécula de mandioca, o tempo de liquefação e sacarificação foi reduzido ao máximo para que se enquadrasse no tempo necessário para realização de duas bateladas dentro de um turno de trabalho de 8 horas. No entanto, não houve hidrólise total do amido em açúcares fermentescíveis, obtendo-se um rendimento máximo de cerca de 20%, em termos g de açúcar redutor/100 g de mandioca). Uma avaliação do custo/benefício em se prolongar o tempo de hidrólise para obtenção de maior rendimento deve ser realizada.

Os processos de fermentação e destilação do mosto oriundo da hidrólise da fécula da mandioca são similares ao da cana-de-açúcar, por isso pode ser executado com facilidade nas agroindústrias, utilizando os mesmos equipamentos.

Desta forma, pode se considerar a tiquira como um importante produto da mandioca, apta a ser produzida em todas as regiões onde a mandioca cumpre papel importante como fonte de emprego e renda.

5 CONCLUSÕES

- A utilização de batata doce rosada para a hidrólise da mandioca (liquefação e sacarificação) apresentou rendimentos em açúcar redutor significativamente superiores àqueles obtidos com enzimas comerciais.
- A proporção entre mandioca/batata doce/água utilizada na escala semi-industrial para a produção de tiquira, estabelecida na etapa de otimização, foi 20% de mandioca (m/v); 7,5% de batata doce para liquefação (m/v); 7,5% de batata doce para sacarificação (m/v); e 65% de água destilada (v/v).
- As tiquiras envelhecidas e produzidas a partir da hidrólise da mandioca com enzimas comerciais e com batata doce apresentaram características físico-químicas dentro das especificações brasileiras, com exceção da tiquira produzida com batata doce para o teor alcoólico, que ficou pouco abaixo do mínimo exigido.
- O perfil sensorial das tiquiras e da cachaça foi caracterizado por catorze termos descritivos para aparência, aroma, sabor e textura, e para a maior parte dos atributos não houve diferença significativa entre as amostras de tiquira produzidas com mandioca hidrolisada por enzimas comerciais e batata doce comparando-se

com a cachaça, em duas versões de teor alcoólico (33 e 38% v/v), com exceção do aroma e sabor de madeira e coloração amarelada, cujos valores foram maiores para a cachaça.

- Houve uma maior aceitação e interesse de compra pela cachaça e pela tiquira produzida com enzimas comerciais, mostrando que a substituição das enzimas comerciais pelas enzimas da batata doce não resultou em melhoria na qualidade sensorial da bebida.

6 LITERATURA CITADA

AGUSTINI, D.; ZANELA, J.; ZOREL JUNIOR, H. E.; CUNHA, M. A. A. Hidrólise enzimática natural do amido de mandioca para a produção de açúcares fermentescíveis. In: ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 16., 2008, Blumenau: **Anais...** Blumenau, 2008. Disponível em http://www.furb.br/temp_sbqsul/_app/_FILE_RESUMO_CD/328.pdf. Acesso em: 14 ago. 2010.

ANDRADE SOBRINHO, L. G. **Determinação de cobre, aldeídos, alcoóis, acetato de etila, ácidos carboxílicos e carbamato de etila em tiquira (aguardente de mandioca) produzida no Estado do Maranhão.** 1999. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 1999.

ANDRADE SOBRINHO, L. G. Teores de carbamato de etila em aguardentes de cana e mandioca. Parte II. **Química Nova**, São Paulo, v.32, n.1, p.116-119, 2009.

ANDRADE SOBRINHO, L. G.; BOSCOLO, M.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.6, p.1074-1077, 2002.

ARAÚJO FILHO, A. A. **Obtenção de álcool anidro a partir da mandioca: possibilidades no nordeste**. Fortaleza: BNB/ETENE, 1976. 86p.

BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar-cane spirit. **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.11, n.1, p.86-90, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 7, de 17 de maio de 1999. **Diário Oficial da União**. Brasília, 1999. 1p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº13 de 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2005a. 1p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária; Coordenadoria Geral de Apoio Laboratorial. **Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres**. Brasília, 2005b, 70p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anexo XI - Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para tiquira, 24 de abril de 2008. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2008, p.17.

CARDOSO, C. E. L.; SOUZA, J. da S. Importância, potencialidades e perspectivas do cultivo da mandioca na América Latina. In: FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Cultura de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v.2, 2002, p. 29-47.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. **Curso de treinamento e transferência de Tecnologia**: Processamento de tiquira. Campo Grande: Universidade Católica Dom Bosco/ Centro de Tecnologia para o Agronegócio, 2006. 21p. Apostila.

DALLAQUA, M. A. M.; CORAL, D. J. Morfo-anatomia. In: FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Cultura de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v.2, 2002, p.48-65.

FERREIRA, G. B.; MELO, V. V.; ALMEIDA, J. B. O.; EVANGELISTA, A. F.; SOUZA, R. R. Caracterização do processo de obtenção de uma aguardente de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, 5º Siplal, p. 2-7, Março 2005.

FURTADO, J. L. B.; BEZERRA, C. W. B.; MARQUES, E. P.; MARQUES, A. L. B. Cianeto em tiquiras: riscos e metodologia analítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.4, p.694-700, 2007.

GABRIEL, A. V. M. D. **Influência do tipo de fermento e do envelhecimento sobre a qualidade da cachaça artesanal orgânica**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestre em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) – Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, 2010.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Ed. Sarvier, 2006, 1232 p.

LEONEL, M.; CABELLO, C. Hidrólise enzimática do farelo de mandioca: glicose e Álcool. In: FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. (Eds.) **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, v.4, 2001, p.281-291.

LORENZI, J. O.; MONTEIRO, D. A.; MIRANDA FILHO, H. da S.; RAIJ, B. van. Raízes e tubérculos. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H; QUAGGIO, J. A., FURLANI, A. M. C. (Eds.) **Instituto Agrônomo de Campinas: Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo** (Boletim Técnico 100). Campinas: Instituto Agrônomo / Fund. IAC, 2 ed., 1997, p. 221-231.

MacFIE, H. J. H.; BRATCHELL, N.; GRENHOFF, K.; VALLIS, L. V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, New York, v.4, p.129-148. 1989.

MAIA, A. B. R. A.; CAMPELO, E. A. P. **Tecnologia da cachaça de alambique**. Belo Horizonte: SEBRAE/MG; SINDBEBIDAS, 2005, 129p.

MAIOR, M. S. **Cachaça**. 1ed. Rio de Janeiro: IAA, 1970. 480p. (Coleção Canavieira no.3)

MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods.**, Westport: Food & Nutrition, 1983. 459p.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v.153, p.375-380, 1944.

PEIXOTO, C. P. Mandioca – *Manihot esculenta* Crantz; In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (Coord.); **Ecofisiologia de Cultivos Anuais**. São Paulo: Nobel, 1999, p.109-126.

POLASTRO, L. R.; BOSO, L. M., ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; LIMA-NETO, B. S., FRANCO, D. W. Compostos nitrogenados em bebidas destiladas: cachaça e tiquira **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.1, p.78-81, 2001.

PROZYN BIOSOLUTIONS. **StarmaxGA400 e StarmaxTG120**. Manual de uso. São Paulo, 2009. 4p.

SANTOS, G. S.; MARQUES, E. P.; SILVA, H. A. S.; BEZERRA, W. B.; MARQUES, A. B. Identificação e quantificação do cristal violeta em aguardentes de mandioca (tiquira). **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.4, p.583-586, 2005.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT User's guide**, v.6, 4.ed., Cary, SA, 2003. v.2, 846p.

SILVA, J. B.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. Cultura da Batata Doce. **Sistemas de produção**, n.6, 2004. Disponível em: <www.cnph.embrapa.br/sistprod/batatadoce/index.htm>. Acesso em: 14 Ago. 2010.

SILVA, M. J. Cultura da Mandioca In: SILVA, M. J. da (Org.); **Métodos e culturas alternativas na agricultura familiar**; Campo Grande: UCDB, 2003, p. 13-54.

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. London: Academic, 1985. 311p.

SURMELY, R.; ALVAREZ, H.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. Hidrólise do Amido. In: FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v.3, 2003, p. 377-448.

TERNES, M. Fisiologia da planta. In: FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. (Eds.) **Cultura de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v.2, 2002, p.66-83.

VENTURINI FILHO, W. G.; MENDES, B. do P. Fermentação alcoólica de raízes tropicais. In: FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. (Eds.) **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo, Fundação Cargill, v.3, 2003, p.530-575.