



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
FACULDADE DE NUTRIÇÃO

MOISES FELIPE TEIXEIRA LIMA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE TUCUPIS  
COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE DE BELÉM-PA**

BELÉM

2023

MOISES FELIPE TEIXEIRA LIMA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE TUCUPIS  
COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE DE BELÉM-PA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Nutrição da Universidade Federal do Pará, como requisito obrigatório para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Johnatt Allan Rocha de Oliveira

BELÉM

2023

MOISES FELIPE TEIXEIRA LIMA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE TUCUPIS  
COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE DE BELÉM-PA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Nutrição da Universidade Federal do Pará, como requisito obrigatório para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Johnatt Allan Rocha de Oliveira

Aprovada em:

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Johnatt Allan Rocha de Oliveira  
Orientador

---

Prof. Dr. Luiza Helena da Silva Martins  
Membro da Banca

---

Prof. Dr. Débora Kono Taketa Moreira  
Membro da Banca

Destino este trabalho a Deus e a minha família.  
Gratidão a todos os que me ajudaram durante  
esta trajetória.

## **AGRADECIMENTOS**

A priori, quero agradecer a Deus pela oportunidade de estar com vida e saúde para elaborar este trabalho. Agradeço a minha mãe, o meu pai, a minha irmã e a toda a minha família pelo incentivo e apoio durante essa trajetória.

Agradeço o meu orientador pela oportunidade de trabalhar com o mesmo e compartilhar seus conhecimentos comigo. Não tenho palavras para demonstrar o sentimento de gratidão para com sua pessoa, pela sua sincera humildade e compreensão durante todo o período em que fui seu discente e estagiário. Dessa forma, senhor é e sempre será uma referência para mim. Obrigado.

Quero agradecer a equipe do laboratório, meus parceiros de pesquisa Ana Carolina, Gabriela, Lucas e Jackeline, muito obrigado pela recepção que tive quando cheguei ao laboratório, todos vocês foram importantes durante essa caminhada. Obrigado pelos conselhos e orientações, pois estes foram fundamentais para mim.

Por fim, agradeço aos componentes da minha banca, a professora e pesquisadora Luiza Helena e a professora Débora Kono, muito obrigado por aceitarem participar deste momento.

## RESUMO

**Introdução.** O tucupí é um dos principais alimentos da gastronomia paraense e sua presença está cada vez mais marcante no Brasil, o que intensifica o controle da vigilância sanitária sobre esse tipo de produto. **Objetivos.** Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização físico-Químicas e microbiológica de tucupis comercializados em supermercado na cidade de Belém-Pará. **Material e métodos.** As análises foram executadas no Laboratório de Higiene de alimentos e Bioprocessos da Universidade Federal do Pará. Foram utilizadas 7 amostras de tucupis, obtidos em grandes redes de supermercados de Belém-Pa. Para a análise físico-química foram analisados: pH, Brix, acidez total titulável, teor de cianeto livre e para as análises microbiológicas: mesófilos aeróbios, coliformes totais e termotolerantes e bolores e leveduras. **Resultados e discussão.** Os resultados variaram de 2,0 a 4,52 para o pH; de 1,0 a 8,0 para °Brix e de 6,6 a 16,0 meq NaOH.100 mL<sup>-1</sup> para Acidez total titulável. Os valores de Cianeto livre variaram de 3,89 a 4,87 entre as sete marcas. Os resultados para a análise microbiológica variaram de 1,1x10<sup>4</sup> a 5,9x10<sup>6</sup> UFC/ml para bolores e leveduras; de 1,2x10<sup>5</sup> a 1,3x10<sup>8</sup> UFC/ml para mesófilos aeróbios e foram ausentes para coliformes totais e coliformes termotolerantes em todas as amostras utilizadas. A maior contagem de bolores e leveduras foi observada para o tucupí VII e a maior contagem de mesófilos aeróbios foi observada no tucupí III. **Conclusão.** Foram verificados que, de maneira geral, os tucupis analisados se encontraram dentro dos limites de contaminação sugeridos pela legislação como bons para consumo.

**Palavras-chave:** vigilância sanitária; contaminação; tucupí.

## ABSTRACT

**Introduction.** Tucupi is one of the main foods of Pará gastronomy, and its presence is more and more marked in Brazil, intensifying the sanitary surveillance control over this type of product. **Goals.** This labor aimed to carry out the physical-chemical and microbiological characterization of tucupi sold in a supermarket in Belém-Pará. **Material and methods.** The analyzes were performed at the Laboratory of Food Hygiene and Bioprocesses at the Federal University of Pará. Seven samples of tucupi were used, obtained from supermarket chains in Belém-Pa. For the physical-chemical analysis, the following were analyzed: pH, Brix, and total titratable acidity, free cyanide content and for the microbiological analysis: aerobic mesophiles, total and thermotolerant coliforms, molds, and yeasts. **Results and discussion.** Results ranged from 2.0 to 4.52 for pH, 1.0 to 8.0 for oBrix, and 6.6 to 16.0 meq NaOH.100 mL<sup>-1</sup> for total titratable acidity. Free cyanide values ranged from 3.89 to 4.87 among the seven brands. The results for microbiological analysis ranged from 1.1x10<sup>4</sup> to 5.9x10<sup>6</sup> CFU/ml for molds and yeasts, from 1.2x10<sup>5</sup> to 1.3x10<sup>8</sup> CFU/ml for aerobic mesophiles and were absent for total coliforms and thermotolerant coliforms in all samples used. The highest count of molds and yeasts was observed for Tucupi VII, and the highest count of aerobic mesophiles was observed for Tucupi III. **Conclusion.** It was verified that, in general, the tucupi analyzed were within the contamination limits suggested by the legislation as suitable for consumption.

**Keywords:** health surveillance; contamination; Tucupi.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Raiz da mandioca e o tucupi .....	14
<b>Figura 2</b> – Análise de Mésófilos Aeróbios .....	19
<b>Figura 3</b> – Tubos de Duhan para testes de Coliformes .....	20
<b>Figura 4</b> – Placa de petri com contagem de Mesófilos Aeróbios .....	25
<b>Figura 5</b> – Placas de petri com contagem de Bolores e Leveduras .....	25

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Caracterização físico-química dos tucupis ..... 22

**Tabela 2** – Avaliação microbiológica dos tucupis ..... 23

## **SUMÁRIO**

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1</b>	<b>Tucupi .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2</b>	<b>Bolores e Leveduras .....</b>	<b>14</b>
<b>3.3</b>	<b>Bactérias Aeróbias Mesófilos .....</b>	<b>15</b>
<b>3.4</b>	<b>Coliformes Totais e Termotolerantes .....</b>	<b>15</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>27</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>28</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Tucupi é um produto ou subproduto extraído da raiz da mandioca por intermédio de um processo tecnológico adequado, devendo apresentar algumas particularidades, como uma fase sólida e outra líquida, tendo aspectos perecíveis quando o mesmo se encontra em repouso. A coloração varia entre amarelo claro e amarelo intenso quando está homogêneo e apresenta sabor moderadamente ácido e aroma característico (ADEPARÁ, 2008). Este produto é oriundo da região amazônica, com presença marcante e exótica na culinária paraense e cada vez mais ao redor do Brasil. A produção brasileira de mandioca, em 2016, foi de 23,7 milhões de toneladas de raízes, representando 16% da produção mundial, em destaque se tinha o estado do Pará, o qual correspondia uma produção de 5 milhões de toneladas, sendo o principal produtor do país (IBGE, 2016).

O tucupi é um alimento de elevada umidade, com valores de pH, em torno de 3,8 que o caracterizam como um alimento ácido, que dificulta o crescimento de bactérias patogênicas e com baixo teor de lipídeos (OLIVEIRA et al., 2020). O principal destaque desse produto é a presença de toxinas, a exemplo do ácido cianídrico (HCN), que gera a necessidade da fermentação do produto durante 24 horas e 40 minutos de cocção, para hidrólise desses compostos e sua liberação no ar, proporcionando a volatilização do cianeto em forma livre (HCN), o principal componente prejudicial a saúde na composição do tucupi (CHISTÉ et al., 2007).

De acordo com Feeley et al. (2012), este ácido desenvolve manifestações clínicas no sistema nervoso central e complicações cardiovasculares o que pode resultar em coma e morte. Além disso, a ingestão da mandioca e seus derivados podem provocar a doença do kongo, que é uma paralisia irreversível das pernas e a neuro atáxica tropical, sendo um distúrbio neurológico prevalente em pessoas idosas. O bócio e o cretinismo podem ser sobrecarregados pela ingestão do ácido cianídrico presente na mandioca (FEELEY. et al, 2012).

Levando em consideração que o tucupi é um produto artesanal que se encontra disponível nas prateleiras comerciais para consumo, destaca-se que há a necessidade de padronização higiênico-sanitária por legislações, garantindo a segurança alimentar e nutricional a respeito da inocuidade de alimentos e seus aspectos sensoriais, microbiológicos, químicos e físicos (EMBRAPA) de acordo com a Lei nº. 6.482, de 17

de setembro de 2002 com a Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará (ADEPARÁ), garantindo a completude dos alimentos de origens vegetais para consumo.

Durante as etapas de processamento da mandioca para a extração do tucupi, pode-se observar algumas condições críticas que podem influenciar na qualidade final do produto e afetar a saúde dos consumidores, como as suscetíveis condições higiênicas-sanitárias nas unidades de processamento do tucupi, a existência de resíduos de ácido cianídrico em condições impróprias para o consumo e a utilização desordenada de corantes artificiais ocasionada geralmente pelo processo artesanal, o que gera a necessidade de parâmetros que garantam os padrões de identidade e de qualidade determinado pelos órgãos reguladores a nível local e nacional (ABREU; MATTIETTO, 2014).

Práticas inapropriadas de higiene durante o processamento do tucupi podem ocasionar a contaminação do mesmo e torná-lo inseguro para o consumo. Em muitos casos, a contaminação ocorre ao longo da manipulação da matéria-prima ou quando o produto está pronto para o consumo. As principais causas de doenças de origem alimentar ocorrem pela ingestão de micro-organismos viáveis ou de toxinas que estes produzem e são capazes de desenvolver a doença (AFIFI; ABUSHELAIBI, 2012; DEVERE; PURCHASE, 2007; LUES; VAN TONDER, 2007).

De acordo com a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001), que aborda sobre os padrões microbiológicos para os alimentos, as contaminações mediadas por micro-organismos podem ocorrer em todas as etapas no qual passa a matéria-prima agrícola, desde a sua colheita, até o processamento, além do transporte, armazenamento, diversos meios (solo, água e ar) e contatos (físico, mecânico e manual) (EMBRAPA, 2016).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Realizar a caracterização físico-Químicas e microbiológica de tucupis comercializados em supermercado na cidade de Belém-Pa.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Quantificar o número de bactérias aeróbias Mesófilas;
- Realizar a contagem de Bolores e Leveduras;
- Determinar o quantitativo de Coliformes Totais e Termotolerantes;
- Analisar o potencial hidrogeniônico (pH), acidez e o teor de sólidos solúveis (°Brix).

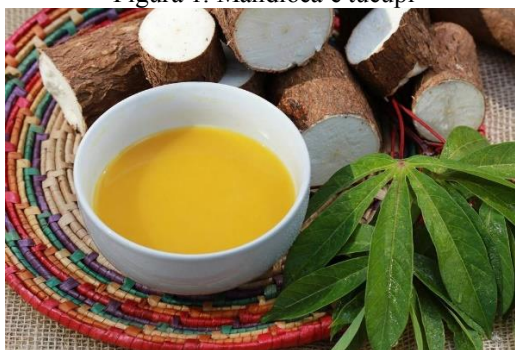
### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### Tucupi

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) se apresenta como um importante produto presente na agricultura familiar no Norte e Nordeste do país, a qual visto que muitos indivíduos de área rural sobrevivem da produção e comercialização da farinha e de outros produtos (CEREDA; VILPOUX, 2003).

A mandioca pertence ao grupo de plantas cianogênicas e os compostos linamarina e lotaustralina não possuem toxicidade, no entanto, estes liberam o ácido cianídrico (HCN), o qual é responsável pela toxidez, devido a ação de enzimas (linamarase), visto que essas enzimas estão envolvidas na liberação do ácido cianídrico ao entrarem em contato com os compostos cianogênicos, podendo ser durante o processamento ou na ingestão do alimento (ARAÚJO, 2008; CHISTÉ; COHEN, 2011). Durante a fabricação da farinha de mandioca, gera-se um líquido chamado de manipueira, a qual após os processos de fermentação e cocção, se obtém o tucupi, o que é tradicionalmente utilizado em preparações culinárias paraense, como o pato no tucupi e o tacacá. A figura 1 mostra a raiz da mandioca e o tucupi.

Figura 1. Mandioca e tucupi



Fonte: Google imagem, 2023.

#### Bolores e Leveduras

Os bolores e leveduras formam um grupo de microorganismos, visto que em sua maioria tem origem no solo e ar. Os bolores possuem grandes resistências em condições adversas, como atividade de água, pH e ácido (SILVA. Et al, 2010). O crescimento de bolores e leveduras é mais lento em comparação ao das bactérias nos alimentos de baixa

acidez e elevada atividade de água, sendo assim, os bolores e leveduras nem sempre são responsáveis pela deterioração dos alimentos com essas características citadas.

Nos alimentos com baixa atividade de água e ácidos, o desenvolvimento desses microorganismos ocorrem de maneira mais rápida, ocasionando deterioração e impactos negativos nas frutas frescas, vegetais e cereais, o que provoca prejuízos econômicos. Ademais, estes são responsáveis pela deterioração de sucos, alimentos congelados, desidratados, queijos e em conservas, como os pickles, uma vez quando são armazenadas de maneira inadequada (FRANCO; LANSGRAF, 2008).

Algumas leveduras de origem alimentar podem ocasionar reações alérgicas e certos bolores podem ter a capacidade de causar infecções em indivíduos que possuem o sistema imune fragilizado ou comprometido. Muitos bolores produzem micotoxinas, visto que são metabólitos tóxicos que se desenvolvem durante o crescimento desse microorganismo. Como exemplo de bolores toxigênicos, têm-se os dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (SILVA et al., 2010).

### **Bactérias Aeróbias Mesófilos**

É um grupo com grande variedade de microorganismos, isto é, não se dá por apenas uma espécie de bactérias específica. A temperatura ideal para o crescimento dessas bactérias varia entre 20°C e 45°C. As mesmas não restrições quanto a sua vivência nos ambientes, pois elas sobrevivem na água, no solo, no ar e até mesmo no corpo humano (SAEKI; MALSUMOTO, 2010).

A contagem desses microorganismos atua como indicador para analisar a qualidade higiênica sanitária das práticas de manipulação, matérias-primas, condições de processamento e deterioração, revelando a quantidade microbiana total. A alta carga desses microorganismos podem ocasionar mudanças indesejáveis nos alimentos, o que pode demonstrar a falta de eficiência na higienização dos produtos, proporcionando riscos de contaminação que possam provocar doenças (SILVA, et al., 2017).

### **Coliformes Totais e Termotolerantes**

Os Coliformes é um grupo de bactérias que envolve várias espécies bacterianas. Existem as bactérias coliformes totais e as termotolerantes. Os coliformes totais são compostos por enterobactérias, o qual possui a capacidade de fermentar a lactose,

originando a formação de gás, a 35,0 °C em 24-48 horas, que é o fundamento dos métodos tradicionais para a identificação de coliformes totais, visto que estes são comuns nos ambientes de manipulação de alimentos e fazem parte da microbiota do trato gastrointestinal do ser humano e de alguns animais. A sua presença não é um indicativo total de contaminação fecal, entretanto, a sua presença e sua carga indica a qualidade higiênica do produto. E por si só, esses microorganismos não são patogênicos, porém algumas de suas linhagens podem ocasionar doenças intestinais (JAWERZ, 2000; SILVA, 2001).

Os grupos de coliformes termotolerantes são bastantes conhecidos como coliformes fecais, sendo um subgrupo dos coliformes totais. Este é um grupo específico que possui a capacidade de fermentar a lactose em uma temperatura que varia entre 44,5°C e 45,5°C em 24 horas com a geração de gás. Destaca-se que esta definição envolve os membros de origem não fecal, como Cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*, por exemplo. Sendo assim, não significa que a detecção de coliformes termotolerantes nos alimentos seja uma contaminação de origem fecal, no entanto, a presença da *Escherichia coli* é um indicativo de contaminação fecal (CONTE. S, et al. 2004).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Higiene de Alimentos e Bioprocessos da Faculdade de Nutrição, na Universidade Federal do Pará no período de Dezembro de 2021 à Novembro de 2022. As amostras de tucupi foram coletadas no município de Belém-PA (Latitude: -1.45502, Longitude: -48.5024; 1° 27' 18" Sul, 48° 30' 9" Oeste) Foram selecionadas sete marcas de tucupis mais comumente encontrados em redes de supermercados da cidade de Belém e a coleta totalizou 21 amostras. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

### Caracterização Físico-Química

Foram realizadas as análises de pH, Brix e acidez total titulável de acordo com as metodologias da AOAC (1997). Para a determinação de pH, foram realizadas medições em triplicata de cada marca de tucupi com o uso de um potenciômetro de bancada calibrado (Onda Digital, Brasil). Para a determinação da acidez total titulável foi utilizado um erlenmeyer de 250 mL e com o auxílio de uma pipeta graduada de 10 mL, foram adicionadas 10 mL de amostra e 90 mL de água destilada. Já em uma bureta de 25 mL, adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio 0,1N e, posteriormente, foram inseridas três gotas do indicador fenolftaleína para a realização da titulação, até a mesma chegar a uma coloração rosada. Os resultados foram expressos em meq de NaOH. 100 mL<sup>-1</sup>. Já os sólidos solúveis foram determinados com o uso de um refratômetro digital (Kasvi, Brasil) e os resultados expressos em °Brix.

### Análise de Cianeto Livre

Foi utilizado o método espectrofotométrico descrito por Oliveira (2010) para quantificar o teor de cianeto livre nas amostras coletadas. A análise teve início com a diluição das amostras de tucupi na proporção de 1:10 (v/v) em água deionizada. Em tubo de ensaio foram adicionados 0,6mL da amostra diluída e 3,4 mL de tampão fosfato (pH 6,0). Em seguida foram adicionados a cada tubo 0,1 mL de solução de cloramina 1% (m/v) (ACS Científica, Brasil) e a reação ocorreu durante 5 minutos (1° reação), seguida por banho de gelo para bloqueio da reação. Após decorrida a 1° reação, foram adicionados 0,6 mL de reagente de cor (isonicotinato 1,3-dimetilbarbiturato) com mais 10 minutos de

reação. Ao final, as absorvâncias foram medidas a 605 nm em espectrofotômetro UV-visível (Femto, Brasil). A curva de calibração foi construída com 7 pontos, nas concentrações de 0,1, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 mL de cianeto de potássio (KCN), sendo em seguida realizada leitura em espectrofotômetro UV-visível (Femto, Brasil).

## **Análises microbiológicas**

### **Contagem de Bolores e Leveduras**

Para a realização da análise, foi utilizado o meio de cultura Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base (DRBC) (Kasvi, Brasil), além de placas de petri de 100 mm, tubos falcon com tampa para o preparo das diluições e estufa regulada a 25 e 27°C. Para a preparação do meio DRBC foi utilizada uma balança analítica (a Shimadzu AY-220, Japão) e foi pesado 2,52 g de meio, diluídos Erlenmeyer de 250 ml.

Após a separação dos materiais, eles foram autoclavados por 20 minutos a uma temperatura de 121 °C, e secos em estufa de secagem para a remoção de umidade e antes do uso foram expostos esterilização UV em fluxo laminar modelo PA 310 ECO (Pachane, Brasil) durante 15 minutos. A diluição inicial de 10-1 foi preparada pela homogeneização de 25 ml da amostra e 225 ml de água, sendo realizadas a partir desta as próximas diluições nos tubos falcon.

Após a preparação do ágar foram transferidos, em média, 20 ml do meio de cultura para cada placa de petri e, após a solidificação do meio na placa, foram depositados 100 µL de amostra diluída em cada placa e espalhados na superfície com auxílio de uma alça de drigalski. Por fim, pela técnica de plaqueamento em superfície, as placas de petri foram posicionadas em uma estufa entre 25 e 27°C e a contagem foi realizada após 5 dias, obtendo os resultados em UFC/mL ou UFC/g (SILVA. et al, 2017), seguindo a equação 1.

$$\text{NFC} = \text{MNC} \times 1/\text{DILUIÇÃO} \times 1/\text{VOLUME DA ALÍQUOTA} \text{ (Equação 1)}$$

Nota: UFC = Unidades Formadoras de Colônias

MNC = Média do Número de Colônias

### **Contagem de Mesófilos Aeróbios**

Para a execução desta análise foi utilizado o meio de cultura Plate Count Agar (PCA), três unidades de placas de petri tamanhos iguais de 100 mm e tubos falcon com tampa, além de estufa regulada à 37 °C. Para a preparação do meio PCA foi utilizado uma balança semi-analítica. Foi pesado 2,35 g de meio e misturados com 100 mL de água deionizada em um Erlenmeyer de 250 mL. Além disso, utilizou-se um tubo schott com 200 mL de água deionizada, ponteiras para as micropipetas. Após o procedimento de separação dos materiais, eles foram autoclavados por 20 minutos a 121 °C. A diluição inicial ( $10^{-1}$ ) foi realizada com a homogeneização de 25 mL da amostra e 225 mL de água, sendo realizadas a partir desta as próximas diluições nos tubos falcon. O preparo das placas seguiu a mesma metodologia relatada. A princípio, foram pipetados 1000  $\mu$ L de amostra diluída em cada placa de petri e em seguida adicionado, aproximadamente, 18 ml do meio de cultura e misturados com movimentos suaves dentro do fluxo laminar. Após a solidificação do meio, as placas foram invertidas e levadas a uma estufa na temperatura de 35°C por 48 horas. Passado o tempo fez-se a contagem, de acordo com a equação 1 e obteve-se os resultados em UFC/mL ou UFC/g (SILVA. et al, 2017). A contagem foi realiza de acordo com a equação 1. Na Figura 2 são mostradas o tipo de placas utilizadas no presente trabalho.

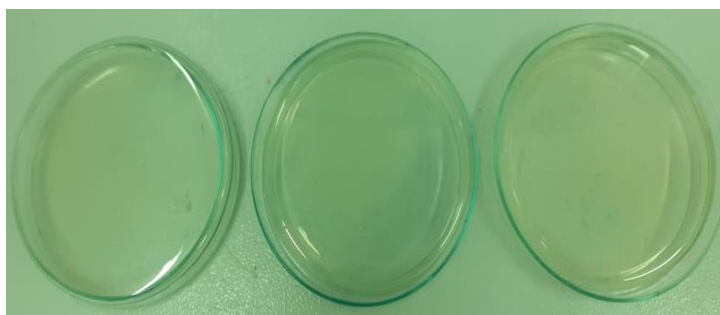


Figura 2. Placas de petri para a realização da análise de mesófilos do Tucupi V.

### **Coliformes Totais e Termotolerantes**

Para a análise do teste presuntivo, foi-se utilizado o meio de cultura Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), 11 tubos de ensaio com tampa, 9 tubos de duhan, 1 tubo schott com 243 mL de água destilada, 1 Becker de 50 ml e 1 de 100 mL. Para a preparação do meio LST foi utilizado uma balança semi-analítica e um papel filtro, sendos pesado 3,56

g de meio e misturados com 100 mL de água deionizada em um Erlenmeyer de 250 mL. Além disso, foi utilizado micropipeta de 1000  $\mu\text{L}$  e de 10.000  $\mu\text{L}$ , sendo 2 de 10.000  $\mu\text{L}$  e 5 de 1000  $\mu\text{L}$ . Em 9 tubos de ensaio foram depositados 10 ml do meio de cultura. Foram retirados 18 ml de água deionizada do tubo schott e adicionados 9 ml nos dois tudo de ensaio restantes para a realização das diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , sendo que a diluição  $10^{-1}$  foi feita no próprio tubo schott com 250 ml de água deionizada restante e 25 ml de amostra. Foi retirado 1 ml da diluição  $10^{-1}$  para a  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . Todos os 11 tubos de ensaios foram embalados e autoclavados com os tubos de duhan voltados para baixo por 20 minutos a  $121^{\circ}\text{C}$ , junto com a água destilada, com o Becker de 100 ml e as ponteiras. Após isso, eles foram levados ao fluxo laminar de radiação ultravioleta por 15 minutos, junto com as micropipetas. Sendo assim, a análise foi realizada com o método pelo número mais provável (NPM), a uma temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. Ao final, os tubos de durhan que apresentaram a formação de gás foram presuntivamente considerados positivos, já os que não apresentaram gás nas 24 horas foram considerados negativos (SILVA. et al, 2017). A figura 3 demonstra os tubos de duhan para a realização do teste presuntivo de coliformes.

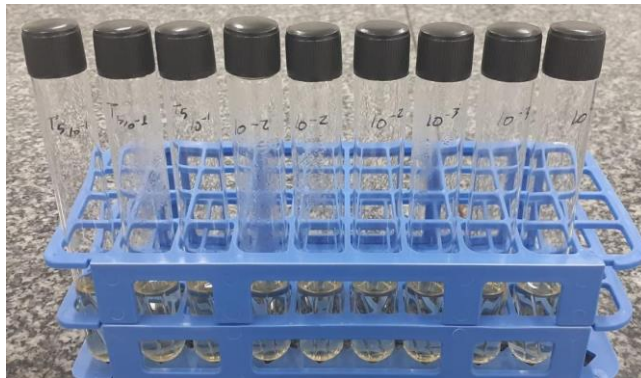


Figura 3. Tubos de durhan utilizados para verificação da formação de gás do teste presuntivo de coliformes.

Para a realização do Teste Confirmativo Coliformes Totais, as alíquotas dos tubos de Durhan considerados positivos foram inoculadas, por meio de uma alça-cromo, em Caldo Verde Brilhante Lactose Bile 2% (CVBLB) contendo 0,4 g do meio de cultura e 10 mL de água deionizada em um tubo de ensaio, a uma temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  por 48 horas e para o teste de Coliformes Termotolerantes, foi utilizado 10 mL do meio Escherichia coli Broth (Caldo EC) contendo 0,37 g do meio de cultura e 10 mL de água deionizada

em um tubo de ensaio, a uma temperatura de 44,5°C por 48 horas. Para a contagem final, deve-se utilizar a tabela de NMP e expressar em NMP/g ou NMP/mL.

### **Análise Estatística**

Antes da análise de Tukey, for feito o 1º teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os resultados físico-químicos e de avaliação microbiológica foram avaliados por meio do desvio padrão e teste de comparações múltiplas de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) realizada com o auxílio do programa estatístico Minitab11.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização Físico-Química

Na Tabela 1 é mostrada a caracterização físico-química dos tucupis selecionados.

Tabela 1. Caracterização físico-química do tucupi

Fabricantes	pH	Acidez Titulável (mmol/L)	Sólidos Solúveis (°Brix)	Cianeto livre (mg HCN / L)
Tucupi I	3,21 ± 0,01a	11,53 ± 0,04 a	3,0 ± 0,01a	4,32±0,12 <sup>a</sup>
Tucupi II	4,23 ± 0,01b	6,87 ± 0,37b	8,0 ± 0,01b	4,58±0,10b
Tucupi III	2,0 ± 0,009c	6,6 ± 0,04c	2,0 ± 0,02c	4,87±0,12c
Tucupi IV	3,22 ± 0,03a	15,23 ± 0,26d	3,0 ± 0,01a	4,44±0,17d
Tucupi V	4,52 ± 0,02d	16,0 ± 0,08e	1,0 ± 0,01d	3,89±0,13e
Tucupi VI	4,38 ± 0,02e	8,56 ± 0,09f	1,0 ± 0,02d	4,04±0,12f
Tucupi VII	3,97 ± 0,04f	10,73 ± 0,24g	3,0 ± 0,01a	4,66±0,11g

Tucupi I: V.A Produtos Artesanais; Tucupi II: Sabor Pará; Tucupi III: Bom Sabor, Tucupi IV: Tabajara, Tucupi V: Vovó da Floresta, Tucupi VI: Tucupi Especial, Tucupi VII: Pará Regional.

Para a verificação físico-química, foi usada a Instrução Normativa nº 001/2008 definida pela Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará (ADEPARÁ) e tais análises foram baseadas segundo a instrução normativa nº 60. De acordo com esta diretriz, o tucupi deve apresentar valores de pH entre 3,5 e 4,4 e a acidez total entre 0,1 g a 0,8 g de ácido láctico/100 mL. Diante dos resultados encontrado, apenas os tucupis II, VI e VII estão dentro do padrão pré-estabelecido para pH.

Na verificação de pH foi verificado um intervalo entre 2,0 e 4,52, sendo o tucupi III aquele com menor pH, caracterizando o tucupi como um alimento de baixo pH, no entanto, o tucupi III obteve menor valor em comparação boletim de pesquisa e desenvolvimento da EMBRAPA (2016), em que seu tucupi de menor pH teve um resultado de 2,8. De acordo com Campos (2018), os valores de pH do tucupi após 40 minutos de cocção variaram de 4,34 em 12 horas a 3,97 em 24 horas. Nota-se que tais valores estão comparáveis com os resultados do tucupi II, VI e VII.

Para a acidez titulável o tucupi IV obteve o maior valor, sendo que os resultados variaram entre 6,6 mmol/L e 15,23 mmol/L. De acordo com o boletim da Embrapa, quanto a acidez titulável, obteve-se valores entre 3,44 e 18,37 meq NaOH.100 mL<sup>-1</sup>, sendo que todos os sete tucupis estavam comparáveis a esta análise. Diante disto, é possível observar uma variação grande principalmente nos valores de acidez, o que caracteriza uma falta de padronização do produto durante a sua obtenção (EMBRAPA, 2016).

Já os valores de sólidos solúveis variaram entre 1,0 °Brix e 8,0 °Brix, visto que o tucupi II obteve o maior valor entre os que foram analisados. Em Campos (2018), o resultado de °Brix variaram de 6,3 a 6,9, já no boletim de pesquisa e desenvolvimento da EMBRAPA (2016) os resultados variaram entre 1,79 e 6,77, o que demonstra que entre os sete tucupis analisados os resultados estavam próximos ao do boletim da EMBRAPA.

Em Lopes, D. et al, 2019, realizou-se a observação das mudanças de pH e acidez de um tucupi após 6 dias de fervura e detectou-se que no primeiro dia de fervura o pH era de 3,7 e no terceiro dia o valor era de 3,12. A acidez teve seu menor valor no primeiro dia com 4,75 meq NaOH.100 mL<sup>-1</sup> e seu maior valor no quinto dia com 9,06 meq NaOH.100 mL<sup>-1</sup>. No entanto, nota-se que os valores apresentados semelhantes ao tucupi I e IV para pH e os tucupis II, III e VI para acidez.

Na verificação da análise de cianeto livre foi verificado um intervalo de 3,89 e 4,87, sendo o tucupi III aquele com maior valor entre os que foram analisados. Vale ressaltar que os teores de cianeto livre nas amostras de tucupi estão relacionados na obtenção do tucupi e seu processamento, como as etapas de fermentação e cocção (CAMPOS et al., 2016). Em um estudo realizado por Cardoso, et al (2022), avaliaram-se 43 amostras de tucupi comercializadas em Santarém-PA. Dentre as análises, os resultados variaram entre 3,7 e 113,8 mg kg<sup>-1</sup>, sendo que 35 apresentaram teores de cianeto maiores que o parâmetro estabelecido pela FAO (10 mg kg<sup>-1</sup>). Já em uma pesquisa realizada por Campos (2016), observou-se que, entre as onze amostras, os níveis de cianeto livre variaram 2,41 a 10,03 mg HCN / L. Em decorrência disso, ressalta-se que as sete marcas de tucupi analisadas estão de acordo com os limites estabelecidos.

### **Avaliação Microbiológica**

A tabela 2 mostra os resultados obtidos para a caracterização microbiológica tucupis selecionados.

Tabela 2. Avaliação microbiológica dos tucupis

<b>Fabricantes</b>	<b>Bolores e Leveduras (UFC/mL)</b>	<b>Bactérias aeróbias Mesófilas (UFC/mL)</b>	<b>Coliformes totais e termotolerantes (NMP/mL)</b>
Tucupi I	3,0x10 <sup>5</sup> ±1,2x10 <sup>5</sup>	1,2x10 <sup>5</sup> ±5,5x10 <sup>5</sup>	Ausente
Tucupi II	3,9x10 <sup>5</sup> ±1,0x10 <sup>5</sup>	7,6x10 <sup>6</sup> ±3,1x10 <sup>6</sup>	Ausente

Tucupi III	$1,1 \times 10^4 \pm 5,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^8 \pm 7,6 \times 10^8$	Ausente
Tucupi IV	$1,3 \times 10^6 \pm 3,8 \times 10^6$	$2,3 \times 10^5 \pm 6,5 \times 10^5$	Ausente
Tucupi V	$5,1 \times 10^5 \pm 2,1 \times 10^5$	$2,48 \times 10^7 \pm 2,9 \times 10^7$	Ausente
Tucupi VI	$1,6 \times 10^6 \pm 3,6 \times 10^6$	$3,1 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^6$	Ausente
Tucupi VII	$5,9 \times 10^6 \pm 8,6 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^6$	Ausente

Tucupi I: V.A Produtos Artesanais; Tucupi II: Sabor Pará; Tucupi III: Bom Sabor, Tucupi IV: Tabajara, Tucupi V: Vovó da Floresta, Tucupi VI: Tucupi Especial, Tucupi VII: Pará Regional.

Para a verificação dos padrões microbiológicos do tucupi, foi utilizada a instrução normativa nº 001/2008 da Adepará (Pará, 2008). Para a contagem de bolores e leveduras foi verificado o intervalo entre  $3,0 \times 10^5$  a  $5,9 \times 10^6$ , sendo o tucupi VII aquele com maior contagem. Apesar da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará (Adepará) não possuir uma legislação específica que estabeleça o limite máximo para bolores e leveduras em tucupi, é necessário que o produto atenda aos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação federal, em especial a Resolução RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que limitaria à  $10^3$  UFC/mL, caso o tucupi seja enquadrado como bebida fermentada. Dessa forma foi possível observar que todas as amostras demonstraram contagem acima dos limites. É importante ressaltar que a elevada presença de bolores e leveduras pode indicar possíveis falhas no armazenamento ou um possível processamento inadequado, com aceleração na velocidade de deterioração do produto, além do risco da presença de micotoxinas, o que ofereceria riscos à saúde do consumidor.

A contagem para bactérias aeróbias mesófilas apresentou um intervalo entre  $1,2 \times 10^5$  a  $1,3 \times 10^8$ , sendo o Tucupi III o de maior contagem com contagem semelhante, porém menor que a observada por Campos et al (2016), que verificou o valor máximo de  $2,8 \times 10^8$  UFC/mL. A legislação não define para bactérias aeróbias mesófilas, porém a presença desses microrganismos em contagem elevada pode indicar problemas no processamento, e servem como um indicativo de possível produto com qualidade insatisfatória para consumo.

Para a análise de coliformes totais e termotolerantes, todas as amostras estiveram dentro do que preconiza a instrução normativa nº 001/2008 da Adepará (Pará, 2008), com ausência em todas as amostras analisadas e dessa forma dentro do limite de NMP < 3/ mL, estabelecido pela presente legislação vigente. Isso indica que apesar de possíveis problemas de deterioração, gerados por processamento ou armazenamento inadequado,

não foi verificada contaminação fecal em todas as marcas de tucupi analisados, o que indica uma possível segurança de consumo para a presença desse grupo de microrganismos. Na figura 1 pode-se perceber as três placas de petri na qual se realizou a contagem de bolores e leveduras na diluição  $10^{-3}$ . A figura 4 revela a contagem de mesófilos aeróbios em uma placa de petri ampliada.

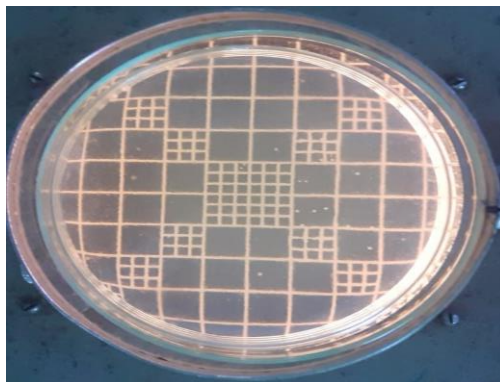


Figura 4. Placa de petri no ampliador com contagem de mesófilos aeróbios do Tucupi II

Na figura 5 observa-se as placas de petri para a contagem de bolores e leveduras.



Figura 5. Placas de petri com contagem de bolores e leveduras do Tucupi V.

Percebeu-se que as amostras de tucupis se mostraram de acordo com a legislação da ADEPARÁ (2008), sendo que esta estabelece os limites máximos para contagem microbiológica de coliformes totais ( $<3\text{NMP.ml}^{-1}$ ), a qual é estabelecido pela legislação no Padrão de Identidade e Qualidade do Tucupi. Como mencionado apesar da legislação não determinarum padrão para contagem de bolores e leveduras e bactérias mesófilas, esses números podem ser utilizados como parâmetro da qualidade higiênica do produto, além de indicar o tempo de conservação do produto (CAMPOS et al., 2016). Além disso o crescimento de fungos em produtos vegetais de caráter ácidos pode elevar o pH do

mesmo para condições favoráveis de crescimento de bactérias patogênicas (BRUNO et al., 2005).

Sendo assim, pressupõem-se que os resultados da avaliação microbiológica não são influenciados diretamente pelo tempo de cocção do tucupi, mas pelo envase do mesmo nas embalagens (EMBRAPA, 2016). Além disso, esta prática é fundamental para determinar as características higiênicos-sanitárias do tucupi e se este está sendo fornecido à população de maneira segura para o consumo.

## 6 CONCLUSÃO

Portanto, o presente artigo veio contribuir para a efetivação de trabalhos futuros sobre o tucupi, o qual se tornou bastante presente na culinária norte do país, sendo importante para a elaboração das principais comidas típicas do estado do Pará. Além disso foi possível observar grandes diferenças na comparação entre os produtos das sete diferentes marcas analisadas, o que demonstra falta de padronização na produção do tucupi. Os resultados foram comparados com a literatura e com as legislações disponíveis para a padronização físico-química e microbiológica do tucupi e notou-se que os resultados do presente estudo estavam de acordo com os critérios legais estabelecidos. Foi verificado que, de maneira geral, as sete marcas de tucupis comercializados em supermercados estavam ideais para o consumo.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L. F.; MATTIETTO, R. de A. Procedimentos de fabricação dos derivados de mandioca: recomendações para obtenção de produtos seguros e de qualidade. In: MODESTO JUNIOR, M. de S.; ALVES, R. N. B. (Ed.). Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria. Brasília, DF: Embrapa, 2016. Cap. 13, p. 223-241. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/150259/1/LV-Mandioca-cap13.pdf>
- AFIFI, H. S.; ABUSHELAIBI, A. A. Assessment of personal hygiene knowledge, and practices in Al Ain, United Arab Emirates. *Food Control*, v. 25, n. 1, p. 249-253, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.040>
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, v. 139, n. 7, p. 45-53, 10 jan. 2001. Seção 1.
- ADEPARÁ - Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará. Tucupí: Padrão de identidade e qualidade do tucupí. (GIPOV). Belém-PA, 2008.
- AOAC (2000) Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. Methods 925.10, 65.17, 974.24, 992.16.
- ARAÚJO, J. M. A. Química de alimentos: teoria e prática. In: ARAÚJO, J. M. A. (Org.). Toxicantes naturais. 4. ed. Viçosa: UFV, 2008. p. 286-301.
- BRUNO, L. M.; QUEIROZ, A. A. M.; ANDRADE, A. P. C.; VASCONCELOS, N. M.; BORGES, M. F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em fortaleza (CE). *Boletim CEPPA*, Curitiba, v. 23, n. 1, p. 75-84, jan./jun. 2005. <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v23i1.1272>
- CAMPOS, A. et al. Optimization of parameters technological to process tucupí and study of product stability. *Food Science and Technology*. Food Sci. Technol, Campinas, 39(2): 365-371, Apr.-June 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.30817>
- CAMPOS, A. Estudo do Processo de Conservação do Tucupí. Tese de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará. Pará, p 47. 2016. <https://ppgcta.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/2016/Ana%20Paula%20Campos.pdf>
- CARDOSO, I, et al. Cianeto livre em amostras de tucupí comercializadas em Santarém-PA, Brasil. Volume 7, Número 3 (jul./set. 2022) p. 1182 – 1189. DOI: 10.48017/dj.v7i3.1919
- CASTANHEIRA, A. C. G. Controle de qualidade de leite e derivados: manual básico comentado. 2ª edição. São Paulo. Cap Lab, 2012.
- CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. Produtos regionais a base de mandioca ou derivados. In: CEREDA, M. P. Tecnologia, uso e potencialidade de tuberosas amiláceas latino americanas. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. p. 683-693.
- CHISTÉ, R. et al. Quantificação de teores de compostos cianogênicos totais em produtos elaborados com raízes de mandioca. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2007.
- CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; OLIVEIRA, S. S. Estudo das propriedades físico-químicas do tucupí. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 3, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000300002>.
- COHEN, K. O.; OLIVEIRA, S. S.; CHISTÉ, R. C. Quantificação de teores de compostos cianogênicos totais em produtos elaborados com raízes de mandioca. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2007. 23 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 290).
- CONTE, D, et al. Qualidade Microbiológica de Águas Tratadas e não Tratadas na Região Nordeste do Rio Grande do Sul. v.16, nº11-12, 2004.
- CUNNIFF, P.; AOAC INTERNATIONAL. Official methods of analysis of AOAC International. 16. ed. [s.l.] Gaithersburg, 1997. v. 2.
- DEVERE, E.; PURCHASE, D. Effectiveness of domestic antibacterial products in decontaminating food contact surfaces. *Food Microbiology*, v. 24, n. 4, p. 425-430, 2007. 10.1016/j.fm.2006.07.013
- EMBRAPA - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 112 - Avaliação das Características Físico-Químicas e Microbiológicas de Tucupí Comercial. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ed. 1. 2016. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1057401/1/BOLETIMPD112Ainfo.pdf>
- FEELEY, M.; AGUDO, A.; BRONSON, R.; EDGAR, J.; GRANT, D.; HAMBRIDGE, T.; SCHLATTER, J. Cyanogenic glycosides (addendum). In: SAFETY Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Genebra: World Health Organization, 2012. p. 171- 322. (WHO Food Additives Series, 65).

- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.
- IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: janeiro 2016. Disponível em: [https://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Levantamento\\_Sistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola\\_%5Bmensal%5D/Fasciculo/2016/lspa\\_201606.pdf](https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D/Fasciculo/2016/lspa_201606.pdf)
- JAWETZ, E.; MELNICK, J.A. & ADELBERG, E.A. Microbiologia Médica. 21. Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 175p.
- Lopes, D. et al. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO TUCUPI. 59º Congresso Brasileiro de Química. João Pessoa/PB. 2019. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2019/trabalhos/3/1411-23501.html>.
- LUES, J. F. R.; VAN TONDER, I. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control*, v. 18, n. 4, p. 326-332, 2007.
- OLIVEIRA, J. A. R. DE, MATOS, Y. M. DE, LIMA, S. S. B. DE, & SILVA, A. P. R. E. (2020). Gastronomia do Pará: avaliação nutricional de ingredientes e pratos típicos com desenvolvimento de cardápio / Gastronomy of Pará: nutritional evaluation of ingredients and typical dishes with development of menu. *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 45676–45691. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-262>.
- Oliveira, L. A. de. (2010). Manual de laboratório: análises físico-químicas de frutas e mandioca. Cruz das Almas: Embrapa mandioca e fruticultura. cap. 13, p. 175- 218.
- SAEKI, E. K.; MATSUMOTO, L. S. Contagem de MAM e psicrotóxicos em amostras de leite pasteurizado e UHT. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 65, n. 377, p. 29-35, 2010
- SILVA, Luis Francisco Borges, BORTOLUCI, Fabiane e VIVAN, Ana Carolina Polano. Análise microbiológica de queijos tipo minas frescal oriundos de diferentes formas de produção. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 2, p. 329-343, 2019.
- SILVA, N. et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017.