

POLVILHO AZEDO: ASPECTOS FÍSICOS, QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS¹

ELIANA PINHEIRO DE CARVALHO², VANDERLEI PEREZ CANHOS³,
VILELA EVÓDIO RIBEIRO⁴ e HELTON PINHEIRO DE CARVALHO⁵

RESUMO - O trabalho foi conduzido no Dep. de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras, com o objetivo de estudar as condições de processamento do polvilho azedo produzido na região de Macaia, MG. Os valores de pH e acidez encontrados nas amostras retiradas do tanque de sedimentação mostraram que ali já ocorre fermentação da fécula. As contagens totais dos microrganismos aeróbios e anaeróbios não foram alteradas durante a fermentação da fécula, o que demonstra que ocorre uma mudança no tipo de microbiota, em decorrência do decréscimo do pH. Foram selecionadas 590 culturas, das quais 23 (3,9%) perderam a viabilidade de crescimento, sendo portanto identificados 567 isolados, dos quais, 18 (3,1%) eram bactérias gram-negativas; 13 (2,2%), leveduras; 46 (7,8%), bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Corynebacterium*; 14 (2,4%), *Staphylococcus* e *Micrococcus*, possivelmente como contaminantes do processo, e 476 (80,6%), como bactérias ácido-láticas, com a predominância deste último grupo. A identificação dos isolados foi feita mediante matrizes de similaridade colocadas em um programa de computação. A água utilizada no processo também foi analisada, e observou-se que o número de aeróbios mesófilos foi de $1,1 \times 10^3$ /ml; $9,5 \times 10^3$ /100 ml, de coliformes totais, e $2,5 \times 10^3$ /100 ml de coliformes fecais.

Termos para indexação: acidez, tanque de sedimentação, fermentação, fécula, microbiota, *Manihot esculenta*.

“POLVILHO AZEDO”: PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS

ABSTRACT - This work was carried out at the DCA-ESAL, in Lavras, MG, Brazil, to study the processing conditions of the “polvilho azedo” (sour cassava starch) produced in the region of Macaia, MG. The pH and acidity values found in the samples taken directly from the sedimentation vat, showed that the fermentation already occurs there. The total counts of both aerobic and anaerobic microorganisms were not altered during fermentation of the cassava starch, showing that a shift of the bacterial microflora occurs due to a decrease in pH. Five hundred and ninety cultures were selected, of which 23 (3.9%) were lost; consequently five hundred and sixty seven isolates were identified, of which 18 (3.1%) were gram-negative bacteria, 13 (2.2%) yeast; 46 (7.8%) bacteria of the genera *Bacillus* and *Corynebacterium*; 14 (2.4%) *Staphylococcus* and *Micrococcus* possible as a contaminant of the process, and 476 (80.6%) were identified as acid lactic bacteria, showing predominance of the later group. The identification of the isolates was done by the use of probability matrices, and a computer program. The water utilized in the process was also analyzed; the number of aerobic mesophylls in the water was 1.1×10^3 /ml; 9.5×10^3 /100 ml of total coliforms, and 2.5×10^3 /100 ml of fecal coliforms.

Index terms: acidity, sedimentation vat, fermentation, sour cassava starch, *Manihot esculenta*, microflora.

INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é planta originária da América do Sul; é também cultivada no sul do continente asiático e no sul do continente africano, constituindo-se em um dos mais importantes cultivos dos trópicos (Figueroa, 1991). A maior parte da produção destina-se ao consumo humano, sendo utilizada para consumo direto ou de

¹ Aceito para publicação em 13 de dezembro de 1995.

Extraído da Tese de Doutorado apresentada pelo primeiro autor na FEA/UNICAMP - Campinas - SP.

² Bióloga, Dr.^a, Prof.^a. Adjunto IV do DCA/Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG.

³ Ph.D., Prof. Titular da FEA/UNICAMP, Campinas, SP.

⁴ Eng. Agr., Dr., Prof. Titular do DCA/Universidade Federal de Lavras.

⁵ Eng. Agr., Bolsista CNPq DCA/Universidade Federal de Lavras.

mesa, ou processada na forma de farinha, polvilho, fécula, etc.

Na América Latina, a extração da fécula de mandioca é uma atividade predominantemente artesanal e às vezes caseira, variando consideravelmente quanto à tecnologia de processamento.

A maior parte da mandioca consumida na África é fermentada. Gari é um alimento granular parcialmente gelatinizado, produzido de raiz de mandioca, e consumido no Oeste da África (Okafor, 1977). Lafun, uma farinha feita de mandioca fermentada, desidratada, é consumido em regiões da Nigéria Ocidental (Ketiku et al., 1978; Ogunsua & Adedeji, 1979). Foo-foo é consumido na Nigéria Oriental, onde é também conhecido como "akpu", e no Zaire, onde é conhecido como "chikwuangue", segundo Jones (1959) citado por Okafor et al. (1984). No Brasil, onde mais de 80% da mandioca é processada como farinha, produzem-se 300.000 toneladas de fécula e 20.000 toneladas de polvilho azedo, produto similar ao "almidón agrio" colombiano.

A fécula da mandioca, denominada popularmente de "polvilho doce", é a matéria-prima da produção de polvilho azedo (Cereda & Gijaj-Levra, 1987). O polvilho é classificado pela legislação brasileira, através das normas técnicas especiais para alimentos e bebidas, em doce e azedo. Essa classificação é baseada no teor de acidez que, para o produto fermentado, deve ser, no máximo de 5 ml de NaOH/100 g (Brasil, 1978).

Nakamura & Park (1975) estudaram algumas propriedades físico-químicas da fécula fermentada. Encontraram que a fermentação, além de conferir sabor e odor característicos, causa alterações em suas propriedades físico-químicas. A fécula fermentada é mais solúvel, apresenta maior absorção de água, e a pasta formada é menos viscosa que a fécula doce.

Certas características, como sabor, textura e expansão dos produtos panificados, não são obtidas quando se usa fécula natural não fermentada (Cardenas & Buckle, 1980).

Segundo Cereda (1987), a fermentação aumenta o valor nutritivo do amido, ao aumentar a porcentagem de proteína, que é muito importante, pois a mandioca é deficiente em proteínas.

Nwankwo et al. (1989) encontraram um grande número de espécies microbianas capazes de degra-

dar a fécula contida nos tubérculos de quatro variedades de mandioca. Isolaram os microrganismos: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Lactobacillus plantarum*, *Corynebacterium manihot*, *Leuconostoc mesenteroides* e *Pseudomonas aeruginosa*, que apresentaram atividade amilolítica, bom crescimento a 42°C e em pH 5,0 e 6,0.

Cereda & Lima (1981) estabeleceram técnica de fermentação de laboratório que permitiu acompanhar o processo mediante determinações de pH, acidez titulável, açúcares, ácidos orgânicos, além de enumeração, isolamento e identificação da microflora ocorrente. É difícil explicar uma fermentação tão exuberante a partir de um meio de cultivo tão pobre. No processo de purificação da fécula, perdem-se os solúveis de constituição da raiz que contêm os compostos nitrogenados e vitaminas. O substrato fica restrito a uma suspensão de amido granular em água; entretanto, Cereda (1973) identificou uma abundante microflora no material em fermentação. Esses agentes podem ter origem na própria matéria-prima, nos tanques que não são lavados após a descarga, ou no próprio meio ambiente. Ensaio de laboratório, realizados em condições estéreis (Cereda, 1981), comprovaram que o polvilho doce seco contém microrganismos suficientes para que sejam usados como inóculo. A fécula doce comercial apresentou, em média, 23×10^3 aeróbios; $7,5 \times 10^3$ anaeróbios e $4,1 \times 10^5$ esporos de aeróbios mesófilos/100 g de matéria seca.

A fermentação natural é feita por uma flora mista, que produz um aumento na acidez titulável durante o processo. A acidez total, expressa como ácido láctico, alcança valores de 0,40 - 0,53 g/%. O ácido láctico constitui 60% da acidez total. Cardenas & Buckle (1980) encontraram 66-82% de ácido láctico do total do ácido produzido, o que confirma o papel da bactéria ácido-láctica no processo. O restante dos ácidos eram ácido acético e uma mistura de acético e butírico.

O presente trabalho teve por objetivo verificar as condições de processamento do polvilho azedo produzido na região de Macaia, MG.

MATERIAL E MÉTODOS

A extração e fermentação da fécula de mandioca foi efetuada conforme esquema apresentado na Fig. 1, em uma

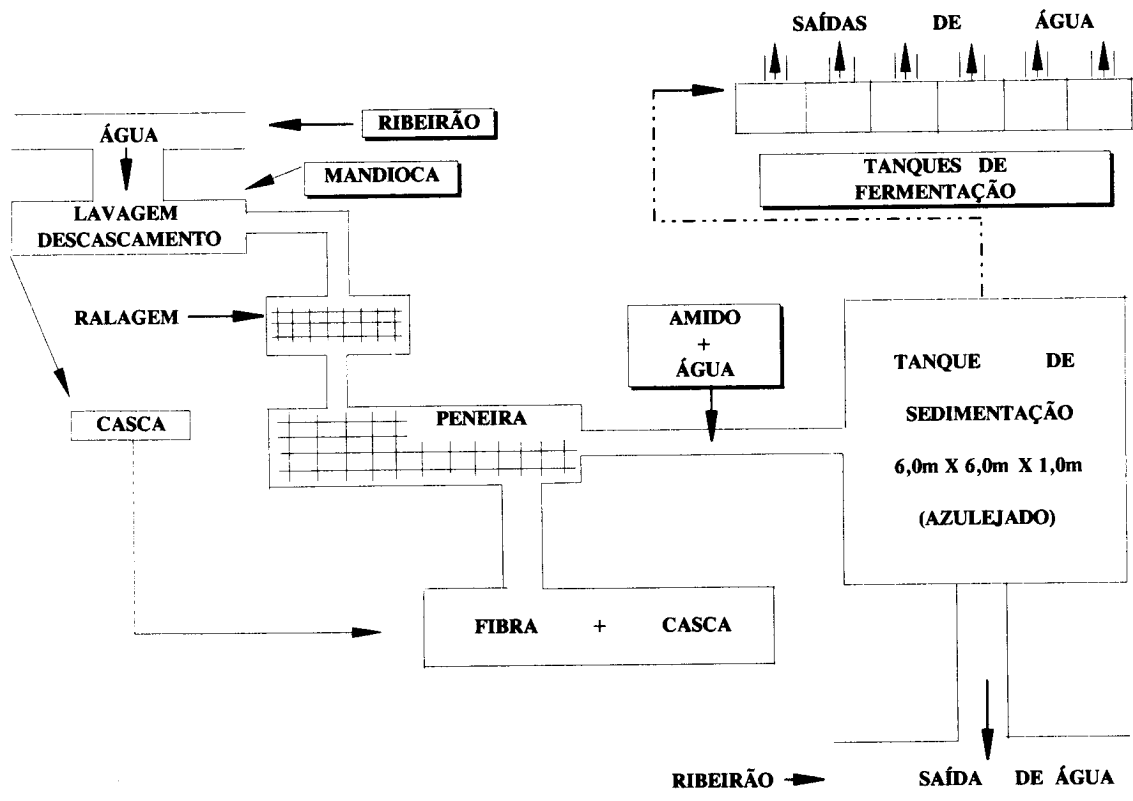


FIG. 1. Fluxograma da produção de polvilho azedo na região de Macaia, MG.

agroindústria localizada na região de Macaia, MG. O tanque de sedimentação da fécula era elevado e revestido de azulejo, enquanto que os tanques de fermentação eram elevados e revestidos de cimento.

As coletas das amostras foram feitas em intervalos de tempo não regulares, de acordo com a conveniência do processo e orientação do produtor (condições climáticas, chegada de matéria-prima, etc.), ou seja, dias em que poderiam ocorrer mudanças significativas no processo. O tempo de fermentação foi de trinta e sete dias.

Todas as amostras foram coletadas em frasco estéril e transferidas ao laboratório, acondicionadas em isopor com gelo picado. Nos tanques de sedimentação e de fermentação as amostras eram retiradas com auxílio de pás, que eram utilizadas pelo produtor na remoção da fécula, em diferentes pontos do tanque, até uma profundidade de 20 cm da superfície, sendo depois misturadas, para constituírem uma única amostra.

Em todos os dias de coleta foi medida a temperatura dos tanques de fermentação, com termômetro que era introduzido na fécula à mesma profundidade da coleta das

amostras. A temperatura ambiente foi medida pela Estação Climatológica Principal da ESAL, que se encontra próximo à região da indústria.

A amostra de água utilizada no processo, proveniente de um ribeirão, foi também coletada em condições estéreis para posterior análise.

As análises efetuadas nas amostras de fécula de mandioca estão esquematizadas na Fig. 2.

A análise de acidez e pH seguiu a técnica citada pela Association of Official Agricultural Chemists (1990). A análise microbiológica seguiu o esquema apresentado na Fig. 3, segundo Speck (1978), e o meio MRSA (Man, Rogosa & Sharpe Agar) utilizado no experimento foi o modificado por Nakamura & Crowell (1979). O plaqueamento foi feito em superfície, conforme citado por Ducrocq (1990), utilizando-se 0,1 ml das diluições sobre o ágar, e espalhando-se com alça de Drigalsk. As placas foram preparadas em duplicata. Após a inoculação, as placas foram incubadas a 30°C por 48 horas em condições de aerobiose e anaerobiose. Após este período de incubação, foram feitas as contagens para se determinar o núme-

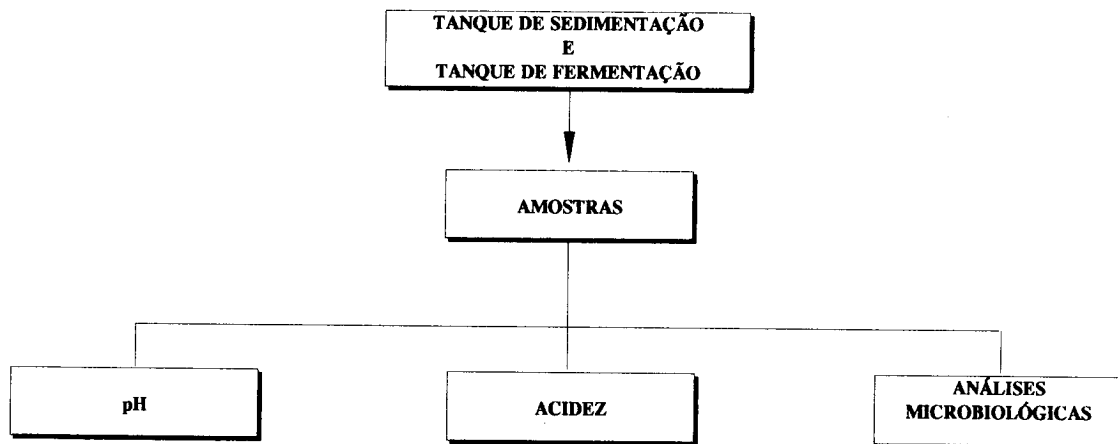


FIG. 2. Esquema das análises efetuadas nas amostras de diferentes etapas da produção de polvilho azedo.

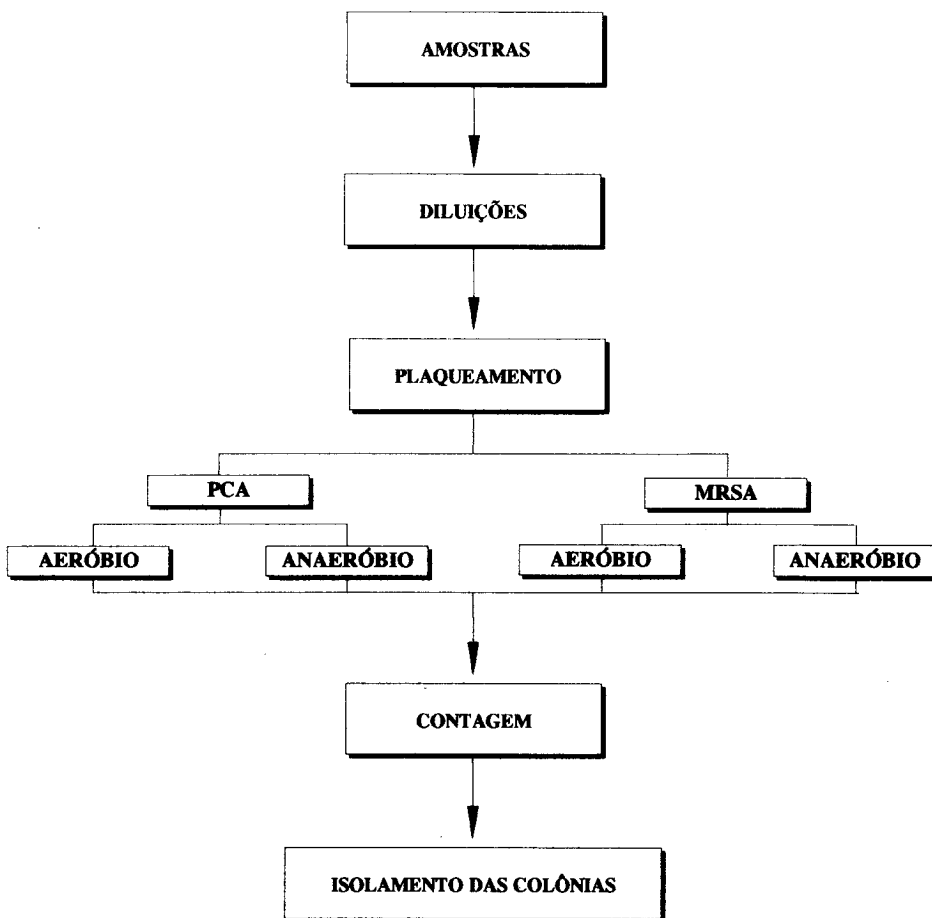


FIG. 3. Esquema da análise microbiológica de amostras de diferentes etapas da produção de polvilho azedo.

(PCA = Plate Count Agar; MRSA = Man Rogosa Shape Agar).

ro total de microrganismos nas diferentes condições de cultivo. Para incubação em anaerobiose, foi utilizada jarra de Gaspak, com envelope gerador de hidrogênio e dióxido de carbono, com paládio como catalisador (Difco..., 1984).

As colônias utilizadas para identificação foram isoladas sempre da placa de maior diluição. Eram retiradas todas as colônias existentes na placa, e, quando o número de colônias era grande, as placas eram divididas em quatro campos e tomadas todas as colônias de um mesmo campo (Gallo, 1990). As colônias eram inoculadas em caldos de composição idêntica às de origem do isolado, e a incubação também era feita nas mesmas condições utilizadas no isolamento.

A partir do cultivo dos microrganismos em caldo, foram feitas as colorações de Gram, onde se estudaram a morfologia e arranjo das células. O isolado foi primeiramente caracterizado seguindo o esquema da Fig. 4. Utilizando-se os resultados preliminares, como: Gram, Motilidade, Catalase, e presença de gás a partir de glicose, os microrganismos foram então separados em grupos, e a partir daí estabeleceram-se as provas bioquímicas que seriam utilizadas na identificação de cada isolado.

Algumas provas bioquímicas, tais como: crescimento a diferentes temperaturas, pH, concentrações de NaCl, reações em Litmus Milk, metabolismos oxidativo/fermentativo e hidrólise de esculina, foram utilizadas na diferenciação de alguns gêneros. As provas bioquímicas seguiram as técnicas descritas por Niven Junior et al. (1942), Speck (1978), Mac Faddin (1980) e Smiebert & Krieg (1981).

Nas amostras de água também foram feitas análises microbiológicas, tais como: contagem total de aeróbios

mesófilos, e número mais provável de coliformes totais e fecais (Speck, 1978).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros físico-químicos foram determinados nas treze amostras retiradas das diferentes etapas da produção de polvilho azedo; os resultados são apresentados na Tabela 1.

Temperatura

A temperatura medida a 20 cm da superfície dos tanques de fermentação variou de 18 a 24°C, e a média foi de 20,6°C. A temperatura variou pouco durante a fermentação, o que pode ter sido em função da temperatura ambiente, que no período em que foram coletadas as amostras, também não foi muito variável, como pode ser visto na Tabela 1. Por ser uma fermentação que ocorre ao ar livre sem nenhum controle, sem dúvida a temperatura ambiente influencia no processo. De acordo com Cereda et al. (1986), nas regiões frias a fermentação é lenta e predomina a flora láctica. Nas regiões quentes, a fermentação é mais rápida e predomina a flora butírica.

pH e acidez

O pH inicial da fécula de mandioca, logo após a moagem e antes de ser depositada para sedimentação, foi de 6,97, acima de valores iniciais encontrados por Cardenas & Buckle (1980), Cereda &

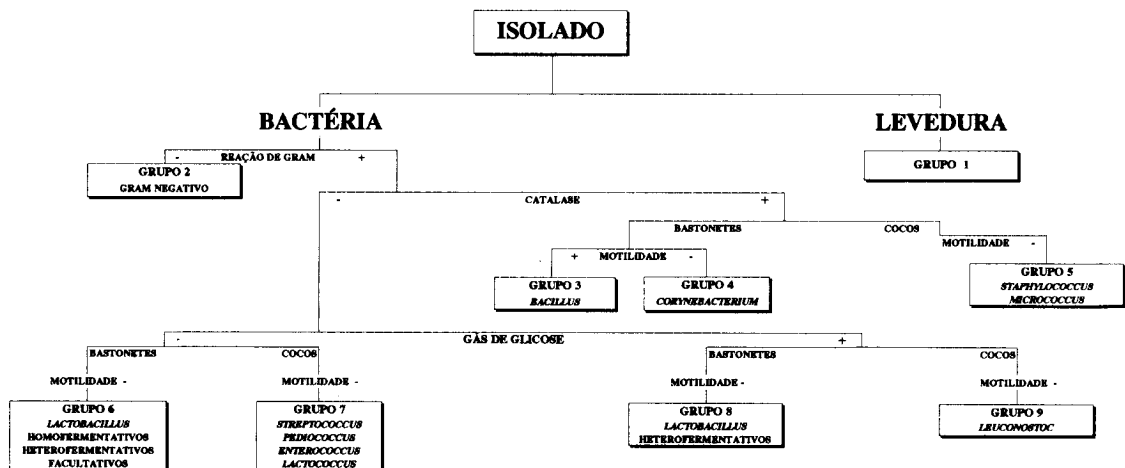


FIG. 4. Esquema para classificação dos isolados.

TABELA 1. Resultados de pH, acidez e temperatura das amostras de diferentes etapas da produção de polvilho azedo.

Amostras ¹	Data	pH	Acidez (ml de sol.N de NaOH)	Temperatura (°C)		Tempo de fermentação (dias)
				Tanque	Ambiente	
1	15-9	6,97	0,240	21	18	0
2	16-9	5,15	0,910	20	19	1
3	18-9	4,77	1,104	19	19	3
4	21-9	4,37	1,440	20	19	6
5	23-9	4,26	1,632	22	21	8
6	24-9	4,26	2,304	21	21	9
7	25-9	4,15	2,304	20	20	10
8	28-9	3,93	3,185	18	18	13
9	01-10	3,91	3,234	20	20	16
10	07-10	3,87	4,851	22	20	22
11	14-10	4,06	4,802	21	21	29
12	21-10	4,17	6,470	24	21	36
13	22-10	5,28	3,479	-	-	37

¹ Amostras de 1 a 5 : tanque de decantação; amostra 6 : 24 horas após drenagem; amostra de 7 a 12 : tanque de fermentação; amostra 13 : após secagem ao sol.

Giaj-Levra (1987), Westby & Twiddy (1992), e que provavelmente foi influenciado pelo uso da amostra do leite de fécula (fécula + água), e não de amostra em base seca. Os valores de pH decresceram até atingir 3,87 no 22º dia de fermentação, e daí verificou-se um pequeno aumento, tendo-se constatado, após secagem da fécula fermentada, um pH de 5,28.

Os valores de pH e acidez estão apresentados na Tabela 1. Após o 13º dia de fermentação, não houve variação significativa do pH, o qual permaneceu praticamente constante até o 29º dia de fermentação (Δ pH = 0,13).

O baixo valor de pH encontrado no polvilho azedo é resultado de uma atividade microbiana intensa durante o processo de fermentação pelas bactérias ácido-láticas, próprias deste tipo de fermentação.

É interessante notar que as amostras de números 1 a 5 são consideradas pelo produtor como polvilho doce. Entretanto, ocorre, durante estes cinco primeiros dias, um decréscimo acentuado no pH (de 6,97 para 4,26) e um aumento na acidez titulável (de 0,24 para 1,6 ml de sol. NaOH 1N), o que demonstra que já ocorreram alterações.

Segundo Cereda & Lima (1981), o teor de acidez titulável caracteriza a fermentação natural pela qual o polvilho azedo é fabricado. Os autores en-

contraram os valores muito variáveis, explicados não só pelo teor total de ácidos formados, mas também pela sua natureza, pois estes variam seu caráter ácido em função do tamanho da cadeia e número de carboxilas.

Cereda et al. (1981), analisando 25 amostras de polvilho azedo comercial, encontraram uma variação na composição química das amostras, principalmente relacionado à acidez titulável, que foi atribuída pelos autores ao fato de as fermentações não serem submetidas a análises de controle, e terem sido interrompidas em diferentes estágios de desenvolvimento e produção de ácidos.

Contagens

Os resultados do número de microrganismos encontrados nas amostras examinadas encontram-se na Tabela 2. As contagens microbianas totais foram efetuadas em dois diferentes meios de cultura e em duas condições de requerimento de O₂ - aeróbias e anaeróbias. Como pode ser visto, a flora microbiana total em todos os tratamentos utilizados não teve variação marcante, apresentando-se a fécula inicial com 10⁵ UFC por ml, e durante todo o período de fermentação, com 10⁸ UFC por ml, semelhante à encontrada por Cardenas & Buckle (1980). Ao fi-

TABELA 2. Logaritmo do número de microrganismos encontrados nas amostras coletadas de diferentes etapas do processamento de polvilho azedo¹.

Amostras	Aeróbios (Log-UFC/ml)		Anaeróbios (log-UFC/ml)	
	MRSA	PCA	MRSA	PCA
1	5,5	5,0	5,9	5,4
2	8,3	8,1	8,2	8,1
3	8,8	8,7	8,2	8,2
4	8,6	8,1	8,1	8,0
5	8,2	8,2	8,1	8,1
6	8,2	8,1	8,4	8,1
7	8,4	8,4	8,5	8,1
8	8,3	8,0	8,2	8,0
9	8,1	8,2	8,2	8,4
10	8,1	8,6	8,5	8,7
11	8,2	8,1	8,1	8,4
12	8,0	8,0	7,9	7,9
13	4,0	6,7	3,8	3,7

¹ MRSA = Man Rogosa e Sharpe Agar; PCA = Plate Count Agar.

nal, quando analisada a fécula fermentada após secagem, houve um decréscimo de 10^8 UFC/ml para 10^3 UFC/ml nos meios MRSA-AER (Man, Rogosa e Sharpe Agar-Aeróbio), MRSA-ANAER (MRSA Anaeróbio) e PCA-ANAER (Plate Count Agar - Anaeróbio). Quando a análise foi feita em Plate Count Agar aeróbio (PCA-AER) o número total foi de 10^6 UFC/ml.

TABELA 3. Grupos microbianos encontrados nas amostras de diferentes etapas da produção de polvilho azedo, em diferentes condições de cultivo¹.

Grupos isolados	Nº de microrganismos					
	Aeróbio		Anaeróbio		Total	%
	PCA	MRS	PCA	MRS		
<i>Lactobacillus sp.</i>	49	40	53	47	189	32,0
Cocos homofermentativos	32	50	47	34	163	27,6
<i>Leuconostoc sp.</i>	6	46	29	43	124	21,0
Bastonetes Gram+, Catalase+	11	24	5	6	46	7,8
Gram-negativo	18	-	-	-	18	3,1
Leveduras	9	4	-	-	13	2,2
<i>Staphylococcus</i>	7	-	-	-	7	1,2
<i>Micrococcus</i>	7	-	-	-	7	1,2
Perdidas	8	6	4	5	23	3,9
Total	147	170	138	135	590	100,0

¹ MRSA = Man Rogosa e Sharpe Agar; PCA = Plate Count Agar.

Caracterização da microbiota

Mesmo com o decréscimo do pH do meio de fermentação (de 6,97 para 3,87), não foi verificada alteração no número de microrganismos totais durante todo o processamento do polvilho azedo. Isto poderia ser atribuído à mudança da microbiota existente; caso contrário, a tendência teria sido o decréscimo da microbiota.

Foram isolados 590 microrganismos, dos quais 23 (3,9%) perderam a viabilidade de crescimento, ao longo do experimento. Os 567 microrganismos restantes foram examinados quanto a diferentes características e classificados ao nível de gênero.

A Tabela 3 mostra que 90,8% dos isolados do presente trabalho foram caracterizados como bactérias gram-positivas, 3,1% como bactérias gram-negativas e 2,2% como leveduras. Era de se esperar que as bactérias gram-positivas se apresentassem em maior número, pelo fato de este tipo de fermentação ser realizado por bactérias ácido-láticas, conforme informam Brabet et al. (1994).

As bactérias gram-negativas só foram isoladas de placa de PCA-AER (Tabela 3), provavelmente por ser o meio MRSA um meio mais favorável ao crescimento de bactérias gram-positivas. Silva (1987) isolou em MRSA uma microbiota predominantemente gram-positiva em que 57% era de *Lactobacillus*.

O objetivo de se separar a microbiota do polvilho azedo em grupos microbianos é mostrar a alteração na microbiota durante o período de fermentação, mesmo sem a caracterização final das espécies. A Tabela 3 mostra que além dos principais grupos citados na literatura aparecem também bactérias gram-negativas (3,1%), que no decorrer do processo desaparecem, provavelmente devido ao baixo pH e *Staphylococcus* + *Micrococcus* (2,4%), talvez como contaminante do processo. Alguns autores citam a presença de *Klebsiella sp* (Okafor et al., 1984) e *Alcaligenes sp* (Okafor, 1977) durante os primeiros estágios de fermentação, em produtos de mandioca. O grupo de cocos homofermentativos, aqui representado por *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Enterococcus*, foi caracterizado em 27,6% dos isolados.

A porcentagem de ocorrência dos diferentes gêneros e espécies de bactérias foi efetuado considerando-se as treze amostras analisadas como um todo, nas diferentes condições de cultivo.

O grupo dos bastonetes catalase-positivo (7,8%) aqui representado por *Bacillus* e *Corynebacterium*, e o grupo das leveduras (2,2%), apesar de se encontrarem em pequeno número em relação ao restante da microbiota, são considerados de vital importância neste tipo de fermentação. Collard & Levi (1959) e Collard (1963) citam que o microrganismo responsável pela quebra do amido é provavelmente o *Corynebacterium sp*.

Cardenas & Buckle (1980) também verificaram a importância das leveduras neste tipo de fermentação, atuando como microrganismos amilolíticos, fornecendo, assim, açúcares fermentáveis para atuação das outras bactérias que se encontram no processo.

O número de aeróbios mesófilos encontrados na água utilizada no processamento do polvilho azedo foi de $1,1 \times 10^3$ UFC/ml, $9,5 \times 10^3/100$ ml de coliformes totais, e $2,5 \times 10^3/100$ ml, de coliformes fecais. Os resultados da identificação dos isolados representativos destas contagens encontram-se descritos na Tabela 4. Verifica-se, pelos resultados destas análises, que a água utilizada no processo não era de boa qualidade, mas sua interferência na qualidade final do produto talvez não tenha grande influência, pois devido ao abaixamento rápido do pH os microrganismos gram-negativos desapareceram a partir da Amostra 4.

TABELA 4. Resultados da identificação dos microrganismos isolados da água utilizada para processo de polvilho azedo.

Grupos microbianos	Nº de cepas	Espécies (nº)
Aeróbios	10	<i>E. agglomerans</i> (3)
Mesófilos		<i>Kl. rhinoschlero</i> (2)
		<i>Shigella dysenteriae</i> (3)
		<i>Acinetobacter sp.</i> (2)
Coliformes fecais	8	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (4)
		<i>Escherichia coli</i> (4)

CONCLUSÕES

1. Há fermentação da fécula no tanque de sedimentação.

2. As contagens totais de microrganismos aeróbios e anaeróbios não se alteram durante a fermentação da fécula.

3. A microbiota gram-positiva é predominante no processo de fermentação, em virtude da participação da flora ácido-lática.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. 15 ed. Arlington, 1990. 2v.
- BRABET, C.; CHUZEL, G.; DUFOUR, D.; RAIMBAULT, M.; GUIRAUD, J. Sour cassava starch production improvement in Colombia. In: INTERNATIONAL MEETING ON CASSAVA FLOUR & STARCH, 1994, Cali, Colombia. *Annals...* Cali: CIAT, 1994.
- BRASIL, Leis, decretos, etc. Decreto nº12.486. 20 outubro 1978. Normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. *Diário oficial do Estado de São Paulo*, 21 de outubro de 1978.
- CARDENAS, O. S.; BUCKLE, T. S. Sour cassava starch production: a preliminary study. *Journal of Food Science*, Chicago, v.45, n.6, p.1509-1528, 1980.
- CEREDA, M. P. *Alguns aspectos sobre a fermentação de mandioca*. Botucatu: Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas, 1973. 89p. Tese de Mestrado.
- CEREDA, M. P. *Estudos físico-químicos e microbianos da esterilização e da fermentação de fécula de mandioca*. Botucatu: UNESP, 1981. 155p. Tese de Doutorado.

- CEREDA, M.P.; VALLÉS, A. F. S.; ALBEROLA, J. Tratamiento anaerobio en dos fases de suspensiones amiláceas. I Fase acidogénica. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.26, n.1, p.101-108, 1986.
- CEREDA, M. P. Tecnologia e qualidade do polvilho azedo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.13, n.145, p. 63-68, 1987.
- CEREDA, M. P.; GIAJ-LEVRA, L. A. Constatação de bactérias não-simbióticas fixadoras de nitrogênio em fermentação de fécula de mandioca. **Revista Brasileira da Mandioca**, Cruz das Almas, v.6, n.1, p.29-33, 1987.
- CEREDA, M. P.; LIMA, V. de A. Aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca. IV Aspectos gerais da fermentação. In: JORNADA CIENTÍFICA DA ASSOCIAÇÃO DOS DOCENTES DO "CAMPUS" DE BOTUCATU, UNESP, 10., Botucatu. **Anais**. [S.l.:s.n.], 1981
- CEREDA, M.P.;LIMA,V.de A.; BRASIL, M.A.M. Aspectos da fermentação da fécula de mandioca: I - Características do polvilho azedo comercial. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.56, n.4, p.219-230, 1981.
- COLLARD, P. A species of *Corynebacterium* isolated from fermenting cassava roots. **Journal of Applied Bacteriology**, Washington, v26, n.2, p.115-116, 1963.
- COLLARD, P.; LEVI, S. A two-stage fermentation of cassava. **Nature**, London, v.183, n.4661, p.620-621, 1959.
- DIFCO Manual. Dehydrated culture media and reagents for microbiology. 10. ed. Detroit: Difco Laboratories, 1984. p.476-478.
- DUCROCQ, S. **Étude de la fermentation lactique de l'amidon de manioc**. France: École Supérieure d'Ingénieurs et de Techniciens pour l'Agriculture CEEMAT, 1990. 48p. Tese de Mestrado.
- FIGUEROA, C. **Fermentación del almidón de yuca**. Cali: Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, 1991. 97p. Tese.
- GALLO, C. **Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas de fermentação alcoólica**. Campinas: UNICAMP, 1990. 388p. Tese de Doutorado.
- KETIKU, A. O.; AKINYELE; I. O.; KESHINRO, O. O.; AKINNAWO, O. O. Changes in the hydrocyanic acid concentration during traditional processing of cassava into "Gari" and "Lafun". **Food Chemistry**, v.3, n.3, p.221-228, 1978.
- MACFADDIN J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. 2. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 527p.
- NAKAMURA, I. M.; PARK, Y. K. Some physico-chemical properties of fermented cassava starch (polvilho azedo). **Die Stärke**, v.27, n.9, p.295-297, 1975.
- NAKAMURA, L. K.; CROWELL, C. D. *Lactobacillus amylovorus*, a new starch-hydrolyzing species from swine waste-corn fermentation. **Developments in Industrial Microbiology**, New York, v.20, n.50, p.531-540, 1979.
- NIVEN JUNIOR, C. F.; SMILEY, K. L.; SHERMAN, J.M. The hydrolysis of arginine by streptococci. **Journal of Bacteriology**, v.43, n.2, p.651-660, 1942.
- NWANKWO, D.; ANADU, E.; USORO R. Cassava-fermentation organisms. **Mircens Journal**, n.99, p.787-796, 1989.
- OGUNSUA, A. O.; ADEDEJI, G. T. Effect of processing on ascorbic acid in different varieties of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) **Journal of Food Technology**, v.14, n.1, p.69-74, 1979.
- OKAFOR, N. Micro-organisms associated with cassava fermentation for garri production. **Journal of Applied Bacteriology**, Washington, v.42, n.2, p.279-284, 1977.
- OKAFOR, A. O.; IJIOMA, B.; OYOLU, C. Studies on the microbiology of cassava retting for foo-foo production. **Journal of Applied Bacteriology**, Washington, v.56, n.1, p.1-13, 1984.
- SILVA, N. **Influência do resfriamento em torre sobre a microbiota do caldo de cana no processo de produção de álcool**. Campinas: UNICAMP, 1987. 118p. Tese de Mestrado.
- SMIEBERT, R. M.; KRIEG, N.R. General characterization, In: GERHARDT, P. (Ed). **Manual of methods for general bacteriology**. Washington: American Society for Microbiology, 1981. Cap. 20, p.409-449.
- SPECK. M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association, 1978. 701p.
- WESTBY, A.; TWIDDY, D. R. Characterization of gari and fu-fu preparation procedures in Nigeria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.8, n.2, p.175-182, 1992.