

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

**Dinâmica da comunidade microbiana envolvida na  
fermentação espontânea da puba e caracterização do perfil  
da qualidade e identidade do produto**

Tese de Doutorado

Sílvia Malta Crispim

Belo Horizonte

2013

**Sílvia Malta Crispim**

**Dinâmica da comunidade microbiana envolvida na fermentação  
espontânea da puba e caracterização do perfil da qualidade e identidade do  
produto**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas (Microbiologia).

**Orientadora:**

Prof. Dra. Regina Maria Nardi Drummond (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG)

**Co-orientador:**

Prof. Dr. Jacques Robert Nicoli (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG)

**Colaboradores:**

Prof. Dra. Andrea Maria Amaral Nascimento (Departamento de Biologia Geral / ICB/UFMG)

Dr. Bruno dos Santos Alves Figueiredo Brasil (Departamento de Zootecnia / Veterinária/UFMG)

Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa (Departamento de Microbiologia / ICB/UFMG)

Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva (Departamento de Alimentos / UFOP)

Prof. Dra. Susana Johan (Departamento de Microbiologia / ICB/UFMG)

Belo Horizonte

Junho de 2013

*Deus nos concede a cada dia uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta.*

*Chico Xavier*

*Para meu filho, Bernardo.*

## **Agradecimentos**

A minha orientadora professora Dra. Regina Maria Nardi Drummond pela oportunidade de realizar esse trabalho e pela confiança depositada em mim.

Ao meu co-orientador, professor Dr. Jacques Robert Nicoli por ter me acolhido em seu laboratório, pela confiança, conhecimentos passados, sugestões, por ser exemplo de pesquisador e pela sempre agradável convivência.

Aos professores Dr. Carlos Augusto Rosa, Dr. Álvaro Cantini Nunes, Dra. Andrea Maria Amaral Nascimento, Dr. Marcelo Matos Santoro, Dr. Marcelo Eustáquio Silva, Dr. Marcos Xavier Silva, pela colaboração inestimável e sugestões enriquecedoras.

À professora Dra. Susana Johan pelo auxílio nos experimentos de identificação das leveduras, por todo apoio e carinho.

Ao Dr. Bruno Santos Alves Figueiredo Brasil pelo auxílio nos sequenciamentos de DNA dos cocos.

À professora Dra. Francisca Lúcia de Lima pela colaboração na obtenção das primeiras amostras.

À professora Dra. Vera Lúcia dos Santos pelo interesse e sugestões, sempre bem vindas.

A Dayane Assad e à sua família pelo auxílio na obtenção das amostras do Sergipe, por todo carinho e atenção durante a visita feita ao local das coletas.

Às estagiárias Vera Tainá Franco Vidal Mota, Priscilia Brustin, Valéria Gil e Aline Prado de Deus, por todo esforço e auxílio durante a realização dos experimentos.

À doutoranda Patrícia Costa, pelo auxílio na realização das análises filogenéticas e à MSc. Patrícia Rangel, pelas sugestões para o experimento de rep-PCR.

A todos os meus amigos do Laboratório de Ecologia e Fisiologia de Microrganismos, pela amizade, alegria e companheirismo.

Às queridas amigas Ariane, Fabiana, Glauciane, Tássia, Elisa, Quésia e Marcela pelo carinho, cumplicidade, incentivo e dedicação dentro e fora do laboratório.

À Clélia pelo apoio técnico.

Aos professores Dra. Silvia Beleza de Moura, Dr. Luis Simeão e Dra. Elisabeth Neuman, pela agradável convivência no laboratório.

Aos colegas do departamento de Microbiologia, em especial aos do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de leveduras.

A todos os professores do programa de pós-graduação em Microbiologia.

Ao meu marido, Renato, por toda ajuda e incentivo.

Ao meu pai e minha mãe, que me trouxeram “pela mão” até aqui e sempre me incentivaram em cada passo. Por serem meus exemplos de vida.

A minha família e em especial, aos meus irmãos, que sempre me auxiliaram.

À Cristiana Crispim, que tanto me ajudou para que eu pudesse me dedicar à construção desta tese.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Agradeço a Deus pelas conquistas.

## RESUMO

A puba é alimento tradicional, obtido pela fermentação espontânea de raízes de mandioca, e tem composição microbiana, caracterização higiênico-sanitária e dinâmica fermentativa pouco estudadas. Neste trabalho foram realizadas análises da composição centesimal do produto; de parâmetros higiênico-sanitários; estudo da dinâmica e identificação de bactérias aeróbicas mesófilas, bactérias lácticas e leveduras ao longo do processo fermentativo; e avaliação de algumas características bioquímicas de micro-organismos com potencial de utilização como culturas iniciadoras. As contagens mostraram que houve crescimento numérico de bactérias ao longo da fermentação e que as bactérias lácticas predominaram e mantiveram-se até o fim do processo. Foram isoladas bactérias lácticas, cocos e leveduras e no decorrer da fermentação ocorreram alterações na população microbiana. Foram identificados por distintos métodos fenotípico e genotípicos *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus* dos grupos *B. cereus* e *B. subtilis*, *Lactococcus lactis hordinae*, *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus* das espécies *L. brevis*; *L. casei*, *L. delbrueckii*, *L. gasserii*, *L. nagelii*, *L. reuteri*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* e predominantemente *L. plantarum* e *L. fermentum*. Além das leveduras *Candida intermedia*, *C. parapsilosis*, *C. pararugosa*, *C. tropicalis*; *Hanseniaspora guillermondii*, *Kodamaea ohmeri* e *Pichia kudriavzevii*. Os isolados de *L. plantarum* e *L. fermentum* exibiram variabilidade genética quando submetidos a análise por rep-PCR. Linhagens selecionadas de *L. plantarum* e *L. fermentum* mostraram atividade antagonista contra micro-organismos patogênicos reveladores e capacidade de produção de amilase, pectinase, celulase, ácido láctico e peróxido de hidrogênio. A análise de composição centesimal revelou um produto rico em carboidratos e com baixo teor de proteínas. Na análise higiênico sanitária não foram encontrados micro-organismos indicadores de patogenicidade ou deteriorantes de alimentos. Concluindo, durante seu processo de fermentação, a puba mostrou uma microbiota variável com alguns dos seus componentes apresentando potencial de uso como culturas iniciadoras.

Palavras chave: puba, bactérias do ácido láctico, leveduras, antagonismo.



## ABSTRACT

Puba is a Brazilian staple food, obtained by spontaneous submerged fermentation of cassava roots. Data concerning its microbial composition, sanitary characteristics and fermentation dynamic are scarce. This study was conducted to identify the microbial and physico-chemical composition of the product, the sanitary-hygienic parameters associated with the process, and to evaluate some biochemical characteristics of isolated microorganisms with potential use as starter cultures. There were considerable changes in the population of the organisms throughout the fermentation process. Counts showed an increase in number of bacteria and yeasts during the fermentation, and lactic acid bacteria were recovered as the dominant microbiota. The following isolated bacteria were identified as: *Bacillus thuringiensis*, *B. cereus* group, *B. subtilis* group, *Lactococcus lactis hordinae*, *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. plantarum* and *L. fermentum*. Among isolated yeasts *Candida intermedia*, *C. parapsilosis*, *C. pararugosa*, *C. tropicalis*, *Hanseniaspora guillermondi*, *Kodamaea ohmeri* and *Pichia kudriavzevii* were identified. The *L. plantarum* and *L. fermentum* strains were submitted to molecular typing by rep-PCR and exhibited genetic heterogeneity and species-specific fingerprinting patterns. These strains also showed antagonistic activity against some important foodborn pathogenic bacteria and ability to produce amylase, pectinase, cellulase, lactic acid and hydrogen peroxide. Concluding, during its fermentation process, puba showed a very dynamic and biodiverse microbiota with some components presenting a potential use as starter strains.

Keywords: Puba, lactic acid bacteria, yeasts, antagonism.

