

CINÉTICA DE INATIVAÇÃO TÉRMICA DA *Sacharomyces cerevisiae* COMERCIAL

SANTANA, Verônica Gutierrez¹; TORALLES, Ricardo Peraça²; LOPES, Andréa Menezes³.

¹Aluna do Curso Superior de Tecnologia em Saneamento Ambiental, IFSUL – Campus Pelotas. verogsantana@yahoo.com.br; ²Professor Dr., IFSUL – Campus Pelotas. toralles@pelotas.ifsul.edu.br; ³Doutoranda DCTA – UFPEL. andrealopes23@yahoo.com.br.

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento da microflora presente em purês, bem como de sua resistência térmica é de fundamental importância para produzir um produto microbiologicamente estável. Já foram identificados mais de 160 tipos de microrganismos em diferentes etapas do processamento de purê de pêssego, destacando-se as espécies *Bacillus badius*, *Penicillium sp.* e *Saccharomyces cerevisiae* (GARZA et al. 1994; TORALLES et al., 2011). Este último, quando não devidamente inativado durante a pasteurização, pode provocar a fermentação do purê basicamente em duas etapas-chaves: a transformação do açúcar em piruvato e a do piruvato em etanol (BELTRAN e CANOVAS, 2006; FAZIO, 2006). O objetivo desse trabalho foi estudar a cinética de inativação da *S. cerevisiae* comercial, determinando os seguintes parâmetros: constante de inativação (K), energia de Ativação (E_a) e tempo de meia-vida ($t_{1/2}$); pH ótimo em que se dá a fermentação bem como sua aplicabilidade desse estudo para uma *S. cerevisiae* extraída de pêssego da cultivar Jubileu utilizando aquela como testemunha.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foi preparado um extrato de levedura comercial a 1% m/v para um posterior tratamento térmico com temperaturas de 30°C a 80°C e tempos de 0 a 300s. Em seguida, a fermentação foi conduzida “in vitro” com adição de 4 mL de glicose a 10% m/v em tampão Mcllvaine, pH e temperatura apropriados e 4 mL de extrato de levedura nas mesmas condições durante 1 hora.

A atividade da *S. cerevisiae* foi determinada por contagem de fungos e leveduras usando BDA como meio de cultura. O efeito do pH na fermentação foi estudado através da produção de etanol e acetaldeído por cromatografia gasosa utilizando GC Varian 3300 equipado com o detector de ionização de chama (FID). As condições de operação foram: 175°C para o injetor, 200°C para o detector e 150°C para o forno. Utilizou-se nitrogênio como gás de arraste com fluxo de 30 ml/min N₂.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do pH na atividade da *S. cerevisiae* comercial

Na figura 1 tem-se o efeito do pH na fermentação alcoólica por *S. cerevisiae*. No pH 5, em meio reacional com tampão Mcllvaine e 2,22mM de glicose a 30°C, observou-se máxima produção de etanol determinado por GC. O resultado encontrado aqui confirma a hipótese levantada por Toralles et al. (2010) que, nesse pH, o piruvato está se transformando em etanol.

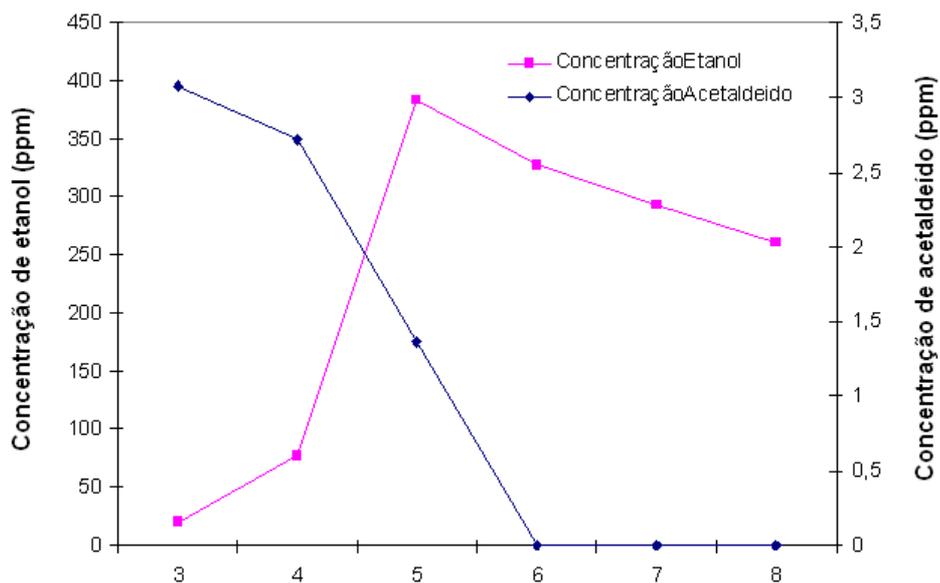


Figura 1. Efeito do pH na Atividade da *Saccharomyces cerevisiae* comercial.

Inativação térmica da *S. cerevisiae* comercial

A inativação térmica da *S. cerevisiae* comercial utilizando glicose como substrato seguiu, aparentemente, uma cinética de primeira-ordem (Figura 2) e sua contagem em log (A_t/A_0), foi tipicamente linear entre 30-80°C.

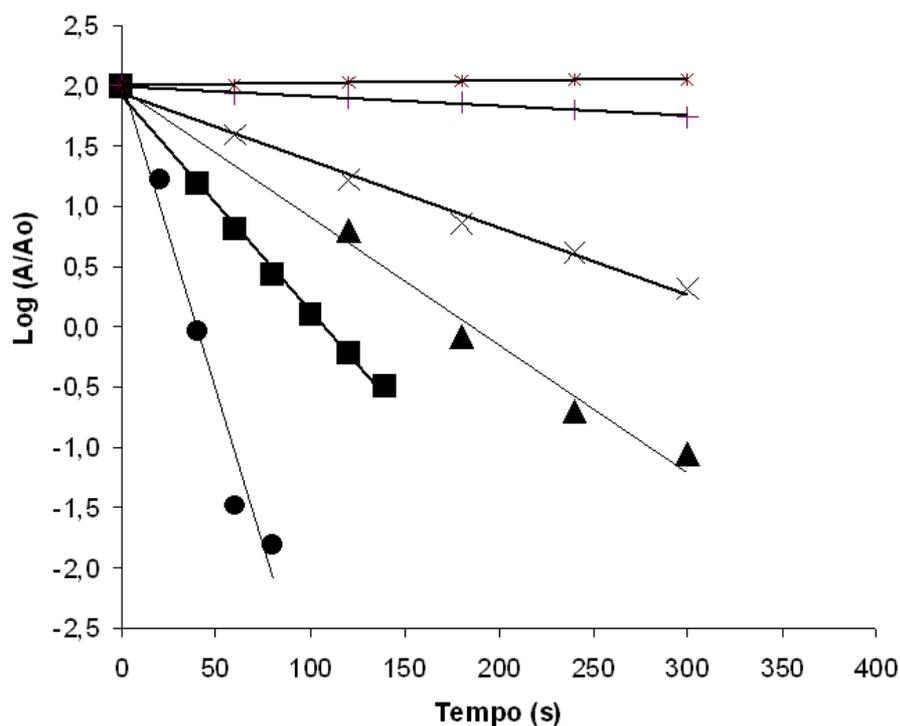


Figura 2. Terminoativação da *S. cerevisiae* comercial em glicose. Os extratos de levedura foram aquecidos nos tempos indicados para: 30(*), 40(+), 50 (x), 60 (▲), 70 (■), 80°C (●).

Na temperatura de 70°C, 95% da atividade da *S.cerevisiae* comercial foi perdida após 120 segundos. Sendo que sua contagem, em um modo geral, diminuiu rapidamente acima de 50°C.

Parâmetros de Arrhenius e tempos de meias-vidas

Com os dados de terminativação, (Figura 2), construiu-se o gráfico de Arrhenius (Figura 3). Os dados foram analisados por regressão linear com uma variação explicada em torno da média superior a 99 %. Também, o teste-F indica que o modelo de Arrhenius foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,01$) para *S.cerevisiae* comercial.

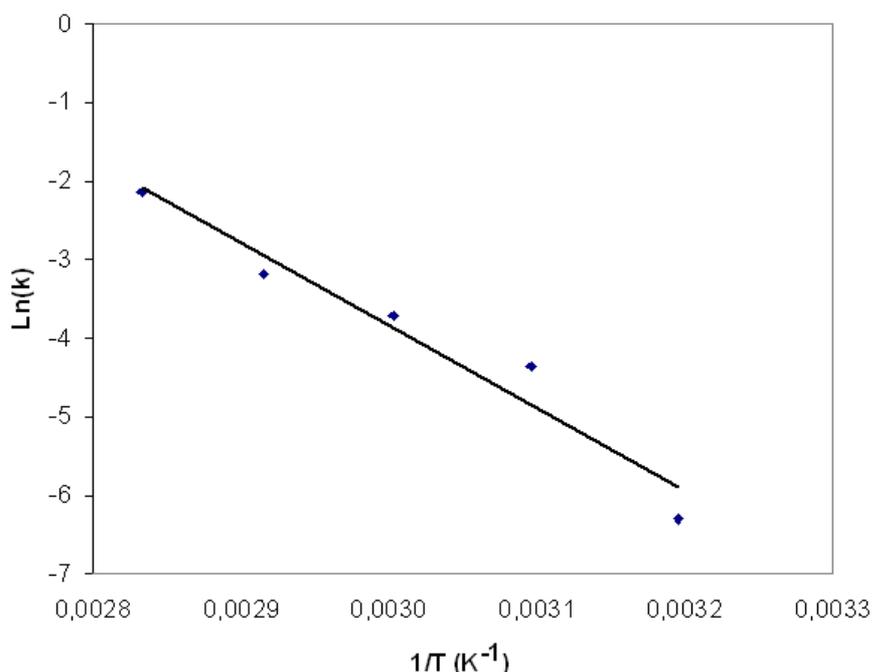


Figura 3. Gráfico de Arrhenius da constante de velocidade de terminativação da *S.cerevisiae* comercial em glicose.

Da inclinação da reta obtida (Figura 3) corresponde a $-E_a/R$, resultando em um energia de ativação de 87,7 kJ.mol⁻¹ para *S.cerevisiae* comercial (Tabela 1). Esta é a energia necessária para iniciar a inativação da levedura.

Um estudo comparativo, na temperatura de referência de 60°C, entre a levedura, a polifenoloxidase (PPO) e a peroxidase (POD) de pêssigo, revela que a levedura é menos termoresistente que as duas enzimas decorrente de uma constante cinética (K) de inativação maior e um tempo de meia vida menor.

Tabela 1. Comparação dos Parâmetros de inativação para PPO e POD (enzimas estudadas) de pêssego cv. Jubileu e *S.cerevisiae* comercial.

Enzima	Parâmetros				
	T _{ref.} (°C)	K _{ref} X 10 ³ (s ⁻¹)	t _{1/2} (s)	Ea (KJ. mol ⁻¹)	R ²
PPO*	60	2,2	312,2	111,1	0,999
POD*	60	15	47,3	98,7	0,930
<i>S.cerevisiae</i>	60	21,4	16,8	87,7	0,950

*Fonte: TORALLES et al. (2005).

4 CONCLUSÃO

A *Sacharomyces cerevisiae* desenvolveu ótima atividade em pH 5 a 30°C. Mostrou-se menos termoestável que as enzimas PPO e POD de pêssego Granada e Jubileu. A desnaturação da levedura foi efetiva acima de 50°C, sendo bem descrita por um modelo cinético de primeira ordem e a dependência da temperatura foi significativamente representada pela lei de Arrhenius. O método utilizado mostrou-se prático e preciso, sendo que ensaios preliminares mostram que pode ser estendido para o estudo cinético da *S. cerevisiae* extraída de pêssego da cultivar Jubileu.

5 REFERÊNCIAS

BELTRÁN, J. A.G.; CÁNOVAS, G. V. B. **Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and Polyphenoloxidase in Mango Nectar Treated with UV Light.** Journal of Food Protection, v. 69, n. 2, p. 362–368, 2006.

FAZIO, M. L. S. **Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em polpas congeladas de frutas.** 2006. 132f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto. 2006.

GARZA, S.; PRIO, A.; VINAS, P. I.; SANCHIS, V. Isolation and identification of spoilage organisms in commercial peach puree. **Italian Journal of Food Science**, v. 6, n. 3, p. 351-355, 1994a.

TORALLES, R. P.; VENDRUSCOLO, J. L.; TONDO-VENDRUSCOLO, C.; DEL PINO, F. B; ANTUNES, P. L. Properties of polyphenoloxidase and peroxidase from Granada clingstone peaches. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 3, p. 233-242, 2005.

TORALLES, R. P.; SANTANA, V. G. ; TORALLES, I. G. ; LOPES, A. M. . Efeito do pH e da temperatura na atividade do piruvato descarboxilase de *Saccharomyces cerevisiae*. In: VIII Semana de Química e III Mostra de Trabalhos, 2011, Pelotas. **Anais...** Química - nossa vida, nosso futuro. Pelotas: IFSUL, 2011. v. 1. p. 23-23.