

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE AQUECIMENTO (CONVENCIONAL X
MICROONDAS) NOS PARÂMETROS DE RESISTÊNCIA TÉRMICA DO
MICRORGANISMO Saccharomyces cerevisiae.**

GLAUCIANE REGINA DE SOUZA DOUTOR DA SILVA¹; MARIA ISABEL BERTO²;
MICHELE N. BERTELI³; ALFREDO A. VITALI³; ANTONIO MARSAIOLI JÚNIOR³.

Nº 11236

RESUMO

As características da própria cana-de-açúcar, aliada às condições de seu processamento, conferem uma alta concentração de carga microbiana ao caldo de fermentação utilizado na produção de bioetanol. Estudos comprovam que na maioria dos casos, a levedura industrial selecionada visando o aumento da produtividade é substituída logo no primeiro mês por leveduras e bactérias selvagens, que apresentam desempenho industrial inferior às leveduras selecionadas. A aplicação de um tratamento térmico no caldo antes da fermentação se torna uma alternativa viável para a diminuição da contaminação inicial do meio e conseqüentemente manutenção de maior concentração da levedura selecionada até o final da safra. O aquecimento por microondas é uma alternativa ao aquecimento convencional em tratamentos térmicos, capaz de reduzir o tempo de processo e ainda aumentar a qualidade do produto final. Diante disso o objetivo desse projeto foi determinar e comparar os valores dos parâmetros de resistência térmica da levedura Saccharomyces cerevisiae SA utilizando o aquecimento convencional e o aquecimento dielétrico. A destruição térmica da levedura através do aquecimento convencional foi determinada nas temperaturas de 55; 57; 57,8 e 59,1°C, através da metodologia do frasco de três bocas. Para o aquecimento por microondas foi utilizado um protótipo dimensionado para esse estudo, e os testes foram realizados nas temperaturas de 57; 58,5; 60 e 62°C. Os valores de D e Z obtidos pelo aquecimento dielétrico foram em sua totalidade inferiores aos encontrados no aquecimento convencional.

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP, glaucianedoutor@hotmail.com.

² Orientadora: Pesquisadora, GEPC/ITAL, Campinas-SP.

³ Colaborador: Pesquisador, GEPC/ITAL, Campinas-SP.

ABSTRACT

The characteristics of sugar cane, allied to the conditions of their processing, confer a high concentration of microbial load to fermentation broth used in the production of bioethanol. Studies prove that in most cases, the industrial yeast selected aimed at increasing productivity is replaced in the first month by wild yeasts and bacteria, which present lower industrial performance on selected yeasts. The application of heat treatment on juice before fermentation becomes a viable alternative to reducing the initial contamination of the environment and consequently maintaining greater concentration of yeast selected by the end of the harvest. Microwave heating is an alternative to conventional heating, heat treatments can reduce the process time and increase the quality of the final product. So the goal of this project was to determine and compare the values of the parameters of thermal resistance of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* SA using the conventional heating and dielectric heating. The thermal destruction of the yeast through conventional heating was determined at temperatures of 55; 57; 59.1° C 57.8 and, through the methodology of the flask three mouths. For microwave heating was used a prototype scale to this study, and the tests were carried out at temperatures of 57; 58.5; 60 and 62° c. The values of D and Z obtained by dielectric heating form in its entirety below those found in conventional heating.

INTRODUÇÃO

A pasteurização é um tratamento térmico empregado para a inativação enzimática, destruição de microrganismos patogênicos e deterioradores de baixa resistência ao calor, sendo utilizada quando tratamentos mais rigorosos podem influenciar negativamente as propriedades do produto (GAVA, 1984). Para o correto dimensionamento do processo se faz necessário o conhecimento dos parâmetros de resistência térmica D e Z do objeto de estudo.

O valor D é definido como o tempo necessário para a redução de 90 % da população ou concentração inicial do constituinte estudado, que no caso é a população microbiana. A determinação do valor de D em várias temperaturas possibilita a determinação da constante de resistência térmica, valor Z, que é definida como o aumento de temperatura necessário para a redução de 90% do valor de D. Esses valores são função de diversos fatores, como por exemplo, microrganismo, meio em que se encontra, ph do meio. Entre outros fatores que tem influencia sobre os valores D e Z está a metodologia empregada nessa determinação.

A metodologia do frasco de três bocas consiste em um balão com três aberturas onde é inserido um termopar, para controle de temperatura, um agitador para manutenção da homogeneidade do meio e a terceira abertura é utilizada para a inoculação da levedura e para a retirada de amostra. Uma vez que a suspensão de levedura só é introduzida no meio após este ter atingindo a temperatura de teste, o atraso térmico decorrente da troca térmica com o meio é desprezível, o que garante melhores valores de D e Z.

A utilização da energia de microondas é um método alternativo de aquecimento e se dá devido à interação do campo elétrico com o material dielétrico. A eficiência da absorção de microondas é distinta para cada material e dependente de suas características de armazenar energia eletromagnética e capacidade de transformá-la em calor (ROSINI et al., 2004; FORTUNY et al., 2008). Em geral, o uso dessa forma de energia garante menores tempos de processamento e melhores qualidades no produto final.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* SA, na forma liofilizada em quantidade suficiente a garantir concentrações iniciais na ordem de 10^8 UFM/ml.

Optou-se pela utilização de uma solução modelo de água e sacarose comercial, a 18°Brix, a fim de evitar qualquer interferência do meio nos resultados encontrados.

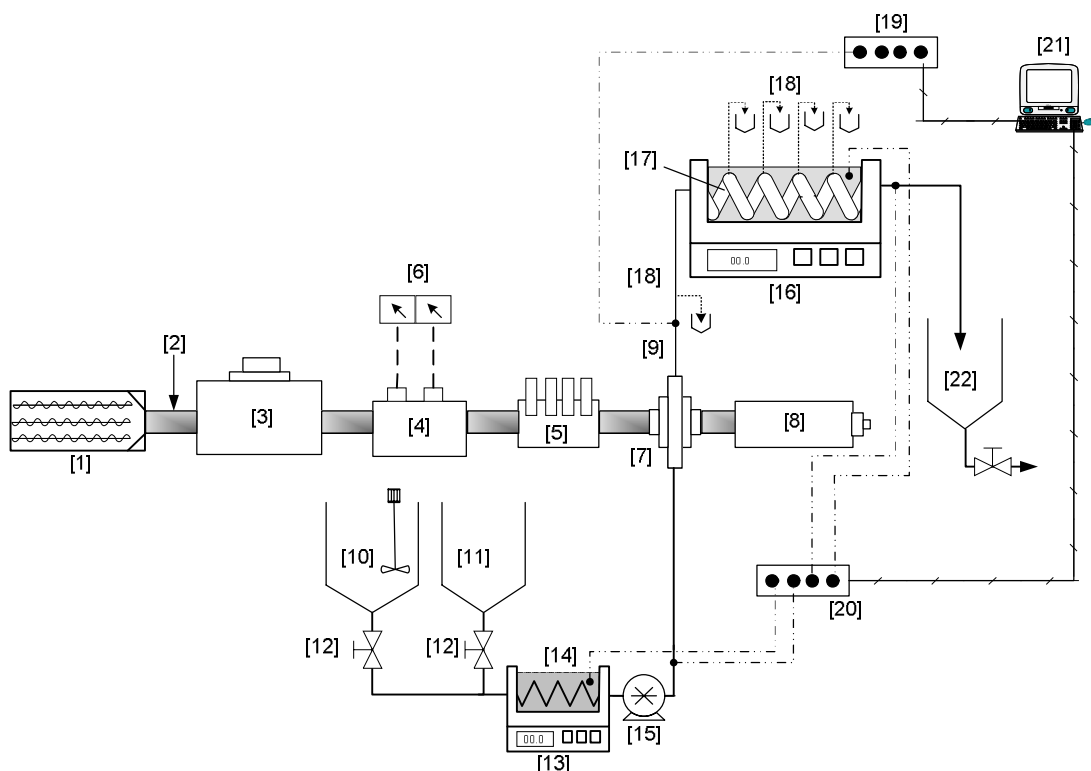
Determinação de D e Z com aquecimento convencional:

Os valores de D e Z com o aquecimento convencional foram determinados utilizando a metodologia do balão de três bocas, conforme descrito anteriormente na introdução. Os testes foram realizados nas temperaturas de 55; 57; 57,8 e 59,1 °C.

Em cada tempo pré-determinado, de acordo com a temperatura de teste, uma amostra de 3ml foi retirada e analisada microbiologicamente.

Determinação de D e Z com aquecimento dielétrico:

Os testes nessa etapa foram realizados em um protótipo dimensionado para tal finalidade e é apresentado na Figura 1.



[1] Gerador de micro-ondas

[2] Guia de onda

[3] Porta de circulação

[4] Coupler

[5] Potenciometro

[6] Medidor de potencia

[7] Aplicador de MW

[8] Sliding short circuit

[9] Teflon tube

[10] Tanque de alimentação

[11] Tanque auxiliar

[12] Valvulas de 1 via

[13] banho termostatico

[14] Tubo de vidro

[15] Bomba Peristaltica

[16] banho termostatico

[17] Tubo de cobre

[18] Retirada de amostras

[19] Sensor de fibra optica

[20] Aquisitor MyPC Lab

[21] Computer.

[22] Tanque de
estocagem

A solução com a levedura previamente inoculada foi bombeada pelo sistema e recebeu a microondas [7], após passar por um banho termostático [13], para que a temperatura inicial de entrada no sistema se mantivesse constante. A temperatura do meio após o aquecimento delétrico foi mantida constante durante o período determinado para cada ensaio através de um tubo de retenção de cobre em espiral [17] imerso em no banho termostático [16]. O tubo de retenção [17] é munido de 5 saídas igualmente espaçadas para retirada de amostra e apresenta um volume total de 106,5 ml. Os diferentes tempos de retenção foram ajustados utilizando o volume da espira e a vazão da bomba.

Esse mesmo procedimento foi realizado para as temperaturas de 57,0°C, 58,5°C, 60,0°C e 62,0°C.

Análise microbiológica :

A análise microbiológica foi realizada de acordo com o método de plaqueamento em superfície, utilizando o meio seletiva para leveduras WLN (Wallerstein Laboratory Nutrient – Oxoid) com adição de ácido nalidixico e ampicilina para inibição do crescimento de possíveis bactérias.(SILVA et al., 1997)

As placas foram encubadas invertidas por 5 dias a 33°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação de D e Z com aquecimento convencional:

A figura 2 mostra as curvas de morte térmica obtidas nas temperaturas de teste de 55; 57; 57,8 e 59,1°C.

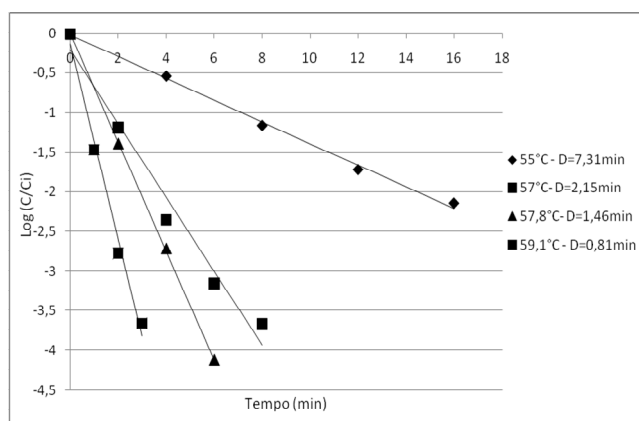


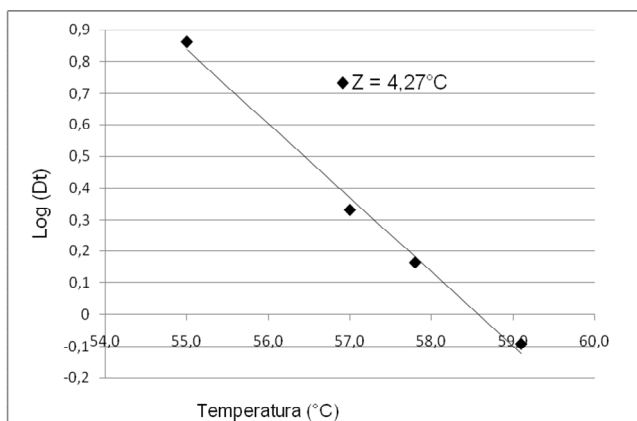
Figura 1- curva de morte térmica nas temperaturas de teste

A Tabela 3 resume os resultados de D e Z obtidos pelo método de aquecimento convencional.

Tabela 1- Valores de D e Z obtidos pelo método de aquecimento convencional.

Z = 4,27 °C	
Temperatura (°C)	D exp. (min)
55,0	7,31
57,0	2,15
57,8	1,46
59,1	0,81

Com os valores obtidos de D nas 4 temperaturas indicadas foi determinado o valor de Z através da confecção do gráfico de $\log(D_T)$ X Temperatura. A curva apresentou um R^2 de 0,993.



Determinação de D e Z com aquecimento dielétrico:

Durante os ensaios dessa etapa duas vertentes de resultados surgiram. Após uma análise dos resultados obtidos em comparação com os dados de outras pesquisas, são apresentados a seguir os valores que seguem essa mesma tendência e demonstram a coerência dos valores encontrados nesse estudo. Apesar dessa constatação novos estudos devem ser realizados a fim de que se comprovem essas afirmações.

A figura 3 mostra as curvas de morte térmica da levedura nas temperaturas de 57; 58,5; 60 $^{\circ}\text{C}$.

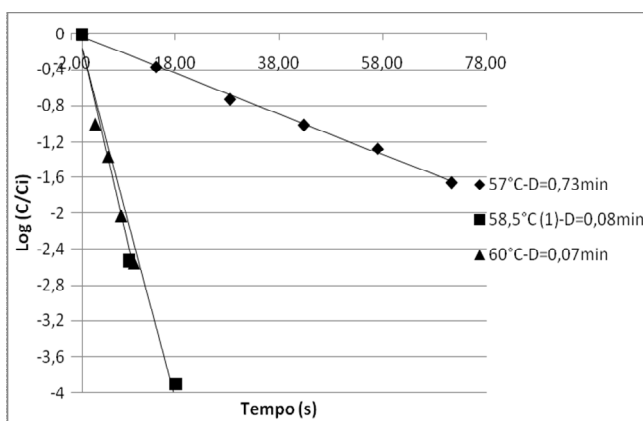


Figura 2- Grafico de morte térmica por microondas

Com os valores de D_T foi calculado o Z a partir da curva de \log de D_T pela temperatura. O gráfico é apresentado na figura 4.

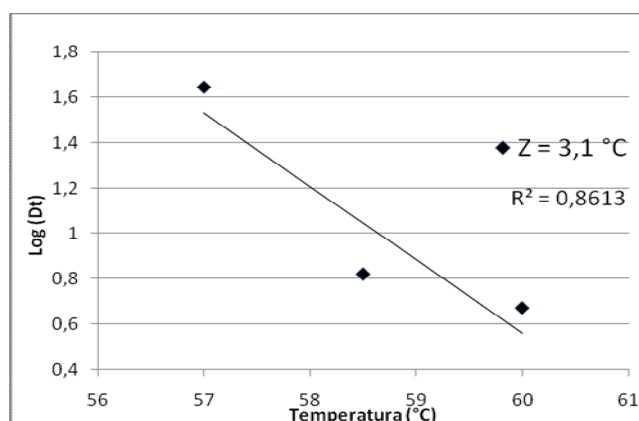


Figura 3- Grafico de Z- aquecimento microondas

O levantamento bibliográfico feito sobre estudos que utilizaram o aquecimento convencional para a inativação térmica de microrganismos classificados no mesmo grupo da *Saccharomyces cerevisiae* e de estudos que comparam a destruição térmica de microrganismos pelo método convencional e assistido por microondas mostra que os valores obtidos são coerentes. Esses dados são mostrados nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2- Dados de estudos e literatura utilizando aquecimento convencional

Fonte	Microrganismo	Valor (s) de D _{65°C}	Valor (s) de Z (°C)
Presente trabalho	<i>S. cerevisiae</i> SA	0,031	4,27
Reveron	<i>S. cerevisiae</i>	0,026	4,6
Garza	Várias cepas de <i>S. cerevisiae</i>	(temp.de 62°C) 0,026- 0,130	3,2 - 5,88
Augusto	<i>Lactobacillus Plantarum</i>	2,6	8,9
Stumbo	Bactérias não esporuladas, fungos e leveduras.	0,5 - 3,0	8 – 12

Tabela 3-Resultados encontrados em estudos comparativos entre aquecimento convencional e aquecimento dielétrico.

Referência	Objeto de estudo	Valor de D convencional (s)	Valor de Z convencional (°C)	D microondas (s)	Valor de Z microondas (°C)
Presente trabalho	<u><i>Saccharomyces cerevisiae</i></u>	(57°C)-129	4,27	(57°C)-43,8	(1)-8,72 (2)-3,10
(TAJCHAK AVIT et al., 1999)	<u><i>Saccharomyces cerevisiae</i></u> em suco maçã	(55°C)- 25,0	13,4	(55°C)- 2,1	7,0
(TAJCHAK AVIT et al., 1999)	<u><i>Lactobacillus plantarum</i></u> em suco de maçã	(60°C)- 22,0	15,9	(60°C)- 3,8	4,48
(TAJCHAK AVIT & RAMASWA MY, 1997)	Pectina metil esterase	(60°C)-154,0	17,6	(60°C)-7,33	13,4

Pode-se observar que os valores de D e Z encontrados para o aquecimento convencional são coerentes com os apresentados em estudos que utilizaram a mesma levedura em diferentes meios. Porém quando comparado com os valores para o *Lactobacillus plantarum* há uma discrepância. Esses fatos demonstram que os parâmetros de resistência térmica são função da temperatura e devem ser dimensionados para cada microrganismo alvo em seu meio específico. Outra informação que se pode obter é que a literatura contém valores que podem ser utilizados como referência, mas não descarta a necessidade dos experimentos.

Ao comparar a variação dos valores de D e Z pelos diferentes métodos de aquecimento verifica-se que os resultados obtidos neste estudo também seguem a linha de tendência de diminuição desses valores. Esse fato comprova a maior eficiência do aquecimento dielétrico em relação ao convencional.

Baseados em processos de pasteurização que objetivam uma redução de 5 ciclos logarítmicos (5D) na contagem inicial de micro-organismos, a Tabela 4 sugere alguns tratamentos térmicos que causam equivalentes reduções microbianas. Na hipótese do mosto apresentar uma contaminação inicial de 10^7 , os tratamentos sugeridos nesta tabela visam a redução de 5 ciclos, resultando em uma contaminação após pasteurização de 10^2 .

Tabela 4-Sugestões de tempos X temperatura visando redução da contaminação inicial do caldo de fermentação de 5 ciclos logarítmicos.

	Convencional $D_{65^{\circ}\text{C}}=0,031 \text{ min}$ $Z=4,27^{\circ}\text{C}$		Microondas (1) $D_{62^{\circ}\text{C}}=0,21 \text{ min}$ $Z=8,72^{\circ}\text{C}$		Microondas (2) $D_{60^{\circ}\text{C}}=0,07 \text{ min}$ $Z=3,10^{\circ}\text{C}$	
T (°C)	D (min)	5D (min)	D (min)	5D (min)	D (min)	5D (min)
57	2,317	11,584	0,786	3,932	0,650	3,249
60	0,460	2,298	0,356	1,781	0,070	0,350
62	0,156	0,781	0,210	1,050	0,016	0,079

CONCLUSÃO

Neste estudo foram encontrados os valores de D e Z para a *Saccharomyces cerevisiae* SA em uma solução modelo de água e sacarose a 18°Brix utilizando o aquecimento convencional e o aquecimento dielétrico. Para o aquecimento convencional encontrou-se valores de $D_{57^{\circ}\text{C}}$ de 2,15 minutos e Z de 4,27°C, enquanto que com o aquecimento por microondas obteve-se $D_{57^{\circ}\text{C}}$ de 0,73 minutos e Z de 3,10°C.

Conforme os dados da Tabela 4, a intensidade dos tratamentos térmicos para uma pasteurização completa do mosto corresponde ao binômio de 11,6min/57°C ou 2,3min/60°C para aquecimento convencional e ao binômio de 3,3min/57°C ou 0,35min/60°C para o aquecimento dielétrico.

Esses valores revelam claramente a maior eficiência da energia de microondas em comparação ao aquecimento convencional o que viabiliza ainda mais a inserção da etapa de pasteurização na cadeia produtiva do etanol, gerando, além do aumento de rendimento, o aumento da qualidade desse biocombustível.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

Ao GEPC – ITAL, pela oportunidade de estágio.

E a minha orientadora, Bel, por estar sempre presente e muito disposta a me auxiliar em todas as atividades.

REFERÊNCIAS

- Fortuny, M.; Ramos, A. L. D.; Dariva, C.; Egues, S. M. D. S.; Santos, A. F.; Nele, M. e Coutinho, R. C. C. Principais aplicações das microondas na produção e refino de petróleo. **Química Nova**, v.31, p.1553-1561, 2008.
- Gava, A. J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. 284p.
- Rosini, F.; Nascentes, C. C. e Nóbrega, J. A. Experimentos didáticos envolvendo radiação microondas. **Química Nova**, v.27, p.1012-1015, 2004.
- Silva, N. D.; Junqueira, V. C. A. e Sandoval, A. J. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.
- Tajchakavit, S. e Ramaswamy, H. S. Thermalvs. Microwave Inactivation Kinetics of Pectin Methylesterase in Orange Juice Under Batch Mode Heating Conditions. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.30, n.1, p.85-93, 1997.
- Tajchakavit, S.; Ramaswamy, H. S. e Fustier, P. Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. **Food Research International**, v.31, n.10, p.713-722, 1999.