

## **AUMENTO DA RESISTÊNCIA AO CALOR EM CÉLULAS DE FERMENTOS COMERCIAIS DE PANIFICAÇÃO QUANDO PRÉ-TRATADOS COM SOLUÇÕES DE ADITIVOS.** Carina de Freitas Velloso, Cecília Lalue, Daniel Thomaz. - Bioquímica - Química - Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química - Instituto de Química - Campus de Araraquara.

Em trabalho anterior, Peres et al. (2005) verificaram que o pré-tratamento da levedura prensada com ácidos orgânicos fracos a pH 7,5, sobretudo com ácido cítrico, aumentava a atividade de fermentação da levedura prensada. Logo a seguir, Tininis (2005), mostrou que o pré-tratamento da levedura prensada, antes da sua adição a massa, com estabilizantes osmóticos, ácidos orgânicos fracos, antioxidantes, aminoácidos e outros compostos nitrogenados levavam a uma menor perda em atividade de fermentação de massas congeladas durante a estocagem das mesmas em congelador. Menores perdas em proteína total e teores de trealose foram observados em presença de citrato para a levedura prensada e estocada tanto em congelador quanto em geladeira. Um aumento (em relação à amostra lavada apenas com água) em atividade de fermentação da ordem de 50% foi obtido com uma mistura de ácido cítrico e ornitina. Como a literatura considera significativos aumentos da ordem de 20% em atividade de fermentação de massas congeladas, estratégias relativamente simples podem ser usadas para melhorar a retenção de atividade de fermentação de massas de pães.

A resistência ao calor é uma característica importante no preparo de levedura seca. No entanto, a levedura seca apresenta uma menor atividade de fermentação quando adicionada à massa de pão, que quando comparada a levedura prensada. Assim, o presente trabalho tem objetivo realizar pré-tratamentos térmicos, na presença de aditivos, que levem a uma menor perda de atividade de fermentação da massa e viabilidade celular durante choques térmico a 51°C. Tais aditivos poderiam ser usados no preparo da levedura seca comercial.

A levedura de panificação comercial de procedência da Fleischmann e Royal Ltda, e a levedura de procedência Mauri Brasil, Indústria, Comércio e Importação Ltda foram utilizadas nos ensaios do presente trabalho, tomando-se o cuidado de somente fermentos comerciais com vida de prateleira inferior a 15 dias (refrigeradores comerciais) fossem usados.

O método de estudo da resistência a choques térmicos utilizado foi o método descrito por Hotinger et al. (1987), com modificações. As células da levedura prensada comercial foram suspensas em soluções contendo diversos aditivos e suas associações (citrato trissódico, arginina, carnitina, glicerol, ácido glutâmico, lisina, ornitina, ácido ascórbico, ácido láctico e trealose). A seguir, as suspensões de células foram incubadas em banho-maria a 51°C por 10 minutos (50% da viabilidade retida em água pura) sendo o tratamento térmico interrompido por transferência rápida dos tubos para um banho de gelo. Os efeitos das condições de resfriamento da levedura também foram ensaiados, variando-se o tempo de resfriamento a temperatura ambiente. Os valores de pH foram medidos e ajustados com ácido ou base antes da incubação das células a 51°C.

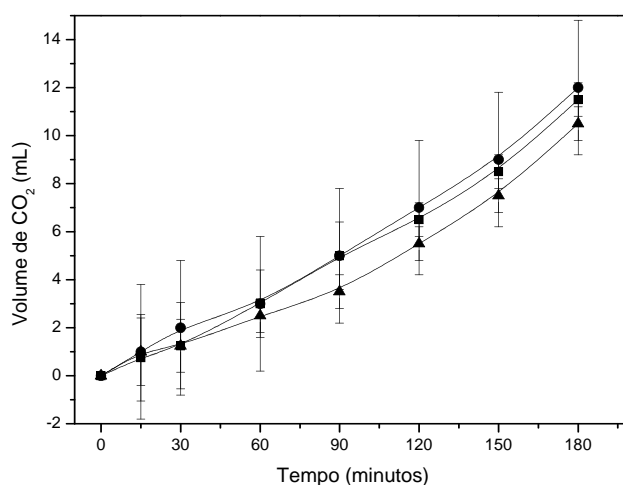
A quantidade de células presentes nas suspensões foi determinada por contagem em câmara de Neubauer e amostras contendo cerca de 100 células/mL foram plaqueadas em meio YPD, o qual foi incubado por dois dias a 30°C para a contagem das células sobreviventes.

Em alguns casos, mediu-se a atividade de fermentação das amostras de leveduras pré-tratadas. Para isto as células foram coletadas por filtração (massa de levedura com umidade de 73-75%) e adicionadas à massa de pão francês (Murakami et al., 1996) para fermentação (Burrows, s., Harrison, J. S., 1959).

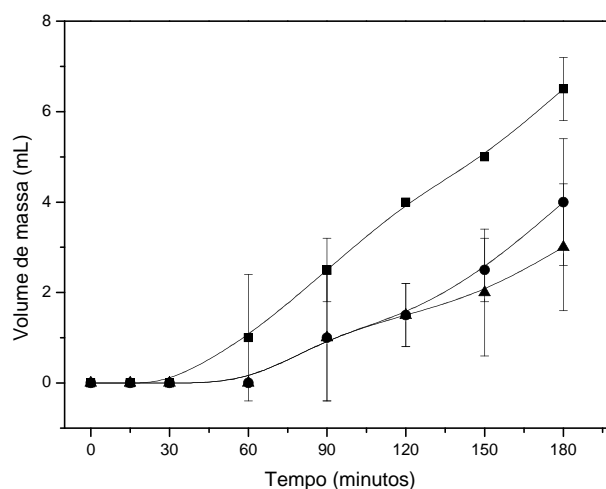
Todos os aditivos, com exceção dos ácidos ascórbico e ácido láctico, levaram a aumentos em número de viáveis durante os pré-tratamentos em relação ao controle (tratamento com água). O maior valor foi obtido quando o pré-tratamento com o glutamato foi usado associado ao citrato (número de viáveis quatro vezes maior em relação à água pura) do que quando foi usado como único aditivo (2,5 vezes maior). No entanto, as associações do citrato trissódico com os ácidos ascórbico e láctico levaram a diminuições em relação à contagem de viáveis em relação aos valores obtidos com o uso unicamente de citrato como aditivo. Quando o ácido cítrico foi associado a uma solução contendo arginina não houve aumento na contagem de viáveis. Além disto, não houve formação de colônias

“petites” durante o pré-tratamento (choque térmico) em presença de citrato e trealose. As maiores contagens de viáveis foram obtidas após pré-tratamento com citrato (pH 6,95 ao final do choque térmico) e trealose (pH final de 3,95). O citrato trissódico 0,2M associado a outros aditivos (glutâmico, carnitina) melhoraram a viabilidade da levedura por manter o pH das suspensões de células em valores ao redor da neutralidade. Tentou-se, sem sucesso, aumentar o pH das suspensões de células em presença de ascórbico até pH 8,0.

Os ensaios de fermentação da massa de pão francês mostraram que o volume da massa foi maior quando o fermento não foi resfriado após o choque (choque térmico em água), ou seja, quando foi adicionada diretamente a massa de pão para o ensaio de fermentação. As variações em volume de  $\text{CO}_2$  formado foram pequenas como mostra a Figura 1. O resfriamento por 15 minutos até temperatura de 32°C levou a uma maior evolução de  $\text{CO}_2$ . A evolução de  $\text{CO}_2$  foi menor quando a temperatura de resfriamento atingiu 25°C. A figura 2 mostra que a amostra de fermento que passou por choque térmico perdeu atividade frente ao crescimento de massa durante o resfriamento a 51°C.



**Figura 1:** Variações em volume de  $\text{CO}_2$  (mL) em função do tempo (minutos) de fermentação. As amostras de fermento passaram por choque térmico a 51°C e a seguir por resfriamento: o símbolo ● indica a amostra de fermento que passou por resfriamento de 15 minutos até que a temperatura de 32°C fosse atingida antes do ensaio de panificação; o símbolo ▲ indica uma amostra de fermento resfriada a temperatura ambiente (25°C) por 30 minutos após o choque térmico; o símbolo ■ indica uma amostra de fermento que foi diretamente adicionada a massa do pão sem passar por resfriamento.



**Figura 2:** Variações volume de massa (mL) em função do tempo (minutos) de fermentação. As amostras de fermento passaram por choque térmico a 51°C e a seguir passaram por resfriamentos: o símbolo ● indica a amostra de fermento que passou por resfriamento de 15 minutos até que a temperatura de 32°C fosse atingida antes do ensaio de panificação; o símbolo ▲ indica uma amostra de fermento resfriada a temperatura ambiente (25°C) por 30 minutos após o choque térmico; o símbolo ■ indica uma amostra de fermento que foi diretamente adicionada a massa do pão sem passar por resfriamento.

Os dados referentes a medidas de viabilidade mostram que aumentos em viabilidade celular podem ser mantidos (em relação ao controle contendo apenas água) durante o processo de resfriamento, dependendo do aditivo usado. No entanto, as amostras de fermento (controle contendo apenas água) que passaram por resfriamento após o choque térmico mostraram perdas em atividade de crescimento de massa.

### Referências Bibliográficas

- BURROWS, S.; HARRISON, J. S. Routine method for determination of activity of baker's yeast. **Journal Inst. Brewing**, v. 65, p. 39-45, 1959.
- HOTHINGER, T.; BALLER, T.; WIENKEN, A. Q. Rapid changes of heating and dissection tolerance correlated with changes of trehalose content in *Saccharomyces cerevisiae* cells subject to temperature shifts. **Febs Lett**, v. 222, p. 113-115, 1987.
- PERES, M. F. S.; TININIS, R. C. S.; SOUZA, C. S.; WALKER, G. M.; LALUCE, C. Physiological responses of compressed baker's yeast cells pre-treated with citric, malic e succinic acids. **World Journal Microbiol. Biotechnol.** v. 21, n. 4, p. 537-543, Jun. 2005.
- TININIS R.C.S. Melhoramentos obtidos para o fermento comercial prensado antes do preparo de massas congeladas para pães. 2005. 131 f. Tese (Doutorado em Química) - **Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista**, Araraquara, 2005.
- MURAKAMI, Y; YOKOIGAWA, K; KAWAI, F AND KAWAI, H (1996). Lipid composition of commercial bakers' yeasts having different freeze-tolerance in frozen dough. **Biosci. Biotech. Biochem.**: 60: 1874-1876.

**Bolsa:** CNPq/PIBIC