

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA TÉRMICA DE *Byssochlamys nivea* E DE *Neosartorya fischeri* EM SUCO DE ABACAXI

ADRIANA PAULA SLONGO*
GLÁUCIA MARIA FALCÃO DE ARAGÃO**

Estudou-se a resistência térmica de ascósporos dos fungos termorresistentes *Byssochlamys nivea* e *Neosartorya fischeri*, usando suco de abacaxi (pH 3,5 e 12°Brix) como meio de aquecimento. Determinou-se a resistência térmica em Tempo de Destruição Térmica (TDT) nas temperaturas de 85, 90 e 92°C. O maior valor de 1/k encontrado foi de 45 minutos para ascósporos de *B.nivea* a 85°C. Nessas mesmas condições, o valor de 1/k para *N.fischeri* foi de 30 minutos. Os resultados indicaram maior resistência térmica de ascósporos de *B.nivea* em comparação com ascósporos de *N. fischeri* em suco de abacaxi.

PALAVRAS-CHAVE: Byssochlamys nivea; Neosartorya fischeri; ASCÓSPOROS; SUCO DE ABACAXI.

* Doutoranda em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC (e-mail: adrianaslongo@uol.com.br).

** Professora, UFSC, Florianópolis, SC (e-mail: glaucia@enq.ufsc.br).

1 INTRODUÇÃO

Há vários anos vem se observando a deterioração de produtos pasteurizados e enlatados de frutas por microrganismos resistentes ao calor. Os fungos filamentosos termorresistentes são importantes organismos deteriorantes e têm representado contínuo problema para a indústria de alimentos. Seus ascósporos e esclerócios vegetativos sobrevivem aos tratamentos térmicos normalmente aplicados em produtos de frutas e, subseqüentemente, podem se desenvolver em suas embalagens mesmo sob baixa tensão de oxigênio (KOTZEKIDOU, 1997). As alterações causadas nesses produtos são verificadas pelo desenvolvimento dos fungos na parte superior das embalagens, beneficiando-se do oxigênio residual. Ascósporos de *Neosartorya fischeri*, *Byssochlamys fulva*, *Byssochlamys nivea*, *Talaromyces flavus* e *Eupenicillium* spp são extremamente resistentes e freqüentemente encontrados em produtos de frutas contaminados, principalmente nos processados termicamente (RAJASHEKHARA, SURESH e ETHIRAJ, 1996; UGWUANYI e OBETA, 1999). Esses ascósporos podem permanecer em estado de dormência em restos de frutas apodrecidos e no solo (RAJASHEKHARA, SURESH e ETHIRAJ, 2000; TOURNAS e TRAXLER, 1994). As chances de contaminação começam desde a etapa da colheita até o processamento das frutas, quando ocorre a ativação dos ascósporos dormentes pelo tratamento térmico. Os produtos de frutas deteriorados por fungos apresentam substancial alteração devido à produção de enzimas pectinolíticas que “quebram” a estrutura dos tecidos das frutas (UGWUANYI e OBETA, 1999) Os referidos fungos também são conhecidos pela produção de várias micotoxinas durante seu desenvolvimento nos produtos de frutas, o que representa grave problema de saúde pública (KING JUNIOR e WHITEHAND, 1990; PIECKOVÁ e JESENSKÁ, 1997).

A resistência ao calor de fungos termorresistentes varia de cepa para cepa e com a natureza do meio de aquecimento (pH, °Brix, tipo de meio e outros). Assim, a comparação da resistência térmica desses fungos é de fundamental importância uma vez que pode contribuir para a variação dos parâmetros de esterilização durante a industrialização de suco de abacaxi.

Esta pesquisa teve por objetivo estudar a resistência térmica dos fungos termorresistentes *B.nivea* e *N.fischeri* em suco de abacaxi.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PREPARAÇÃO DOS ASCÓSPOROS

Obteve-se a suspensão de ascósporos após inoculação de vinte garrafas de Roux, contendo Ágar Extrato de Malte (MEA, pH 5,4), incubadas a 30°C por 30 dias. Transcorrido esse período, a superfície do meio foi “raspada” com o auxílio de pérolas de vidro e bagueta de vidro estéreis. A massa obtida foi filtrada em gaze estéril e submetida a duas centrifugações, ambas a 4000 rpm durante 30 minutos a 5°C. A suspensão final foi obtida pela ressuspensão dos ascósporos em água estéril suficiente para atingir concentração próxima de 10⁷ ascósporos/mL. A estocagem até o momento de sua utilização ocorreu sob refrigeração em frasco contendo pérolas de vidro.

2.2 RESISTÊNCIA TÉRMICA

Os ensaios de resistência térmica para os dois fungos termorresistentes foram realizados utilizando-se suco de abacaxi (pH 3,4 e 12°Brix) como meio de aquecimento nas temperaturas de 85, 90 e 92°C. Para o choque térmico, 0,2 mL da suspensão de ascósporos foram adicionados a 1,8 mL de suco de abacaxi em Tubos de Destruição Térmica (TDT) selados com maçarico (oxigênio/gás liquefeito de petróleo). Após ajuste da temperatura do banho termostático, os tubos foram submersos em água nas temperaturas do tratamento térmico. Transcorrido cada tempo de

aquecimento, mais o atraso térmico (tempo necessário para o meio de aquecimento atingir a temperatura desejada), os tubos eram removidos e resfriados imediatamente em banho de gelo. A amostra referente ao tempo zero para todas as temperaturas foi submetida apenas ao tratamento ótimo de ativação (85°C/10 minutos), previamente definido. Após resfriamento, foram realizadas as diluições decimais seriadas e a semeadura em placas estéreis descartáveis de 1,0 mL em meio MEA contendo 50 mg/L de rosa de bengala. A incubação ocorreu a 30°C e as contagens foram realizadas a partir do terceiro dia (SALOMÃO, SLONGO e ARAGÃO, 2006).

2.3 CÁLCULO DA TAXA DE MORTE TÉRMICA DOS ASCÓSPOROS

Como as curvas de sobreviventes de fungos termorresistentes normalmente não são logarítmicas, o método de linearização das curvas de sobreviventes (ALDERTON e SNELL, 1970) foi aplicado para possibilitar o cálculo dos parâmetros cinéticos equivalentes a D (1/k) e Z (Z*). Na equação proposta por esse método, $(\log N_0 - \log N)^a = kt + C$, N_0 e N representam o número inicial e final de ascósporos/mL, respectivamente. O tempo de aquecimento (minutos) em dada temperatura é representado por "t", a constante de taxa de morte (coeficiente angular da curva linearizada, expressa em minutos⁻¹) por "k" e o intercepto da curva linearizada por "C". O expoente de linearização "a" pode ser obtido pelo inverso da inclinação do gráfico: $\log(\log N_0 - \log N)$ versus $\log t$. Esse valor, calculado na menor temperatura de tratamento térmico, pode ser aplicado na linearização das curvas obtidas de tratamentos mais severos. Assim, se a taxa de morte seguir a equação linearizada e não houver erros experimentais (valor de C igual a zero), o valor de 1/k deriva da equação $1/k = t / (\log N_0 - \log N)^a$, similar à equação da curva logarítmica $D = t / (\log N_0 - \log N)$ quando "a" é igual a 1. Por analogia entre as duas últimas equações, o parâmetro "1/k" equivale a "D". O parâmetro equivalente a "Z" é Z*, que pode ser obtido pelo negativo do inverso do coeficiente angular da curva ($-\log k$) versus temperatura (°C).

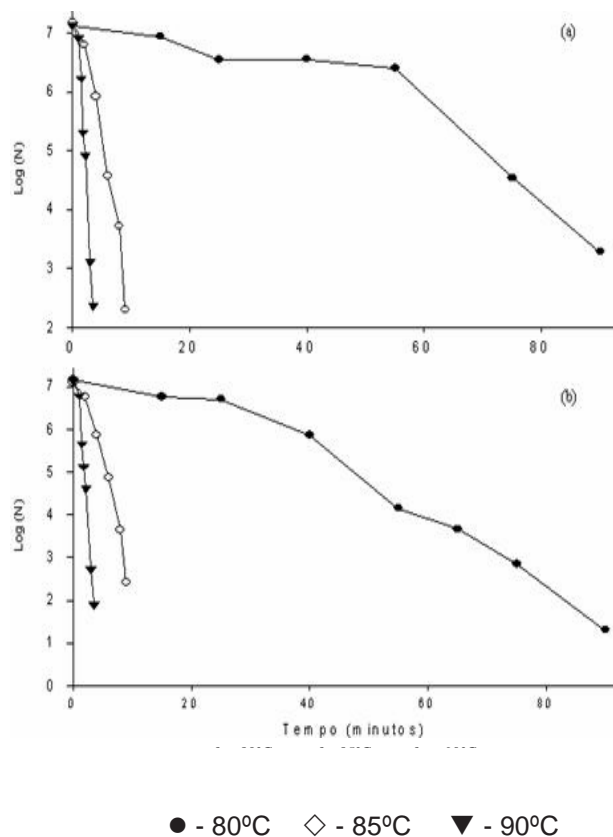
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 são apresentadas as curvas de sobreviventes dos ascósporos de *B.nivea* e de *N.fischeri*, respectivamente, construídas pelas contagens de colônias que sobreviveram aos choques térmicos. Para as curvas construídas na menor temperatura (85°C) verificou-se a presença de "ombro" no início, seguido de taxa de morte acelerada (parte logarítmica da curva). Não se tratando de curva linear seria inapropriado calcular os tradicionais valores "D" e "Z", portanto optou-se pelo método de linearização para a obtenção de parâmetros cinéticos equivalentes. Já com o aumento da temperatura (90 e 92°C), as curvas tornam-se praticamente lineares. KING JUNIOR e WHITEHAND (1990) também observaram esse fenômeno e constataram que altas temperaturas mascaram a não-linearidade das curvas, sendo necessárias temperaturas mais baixas para evidenciar o fenômeno.

A curva de sobreviventes de *B.nivea* na temperatura de 85°C (Figura 1) propicia a visualização clara do "ombro", causado pela dormência dos ascósporos. Notou-se ainda pelos resultados gráficos, a grande extensão dos tratamentos a 85°C para ascósporos de *B.nivea* em comparação com ascósporos de *N.fischeri* nas mesmas condições.

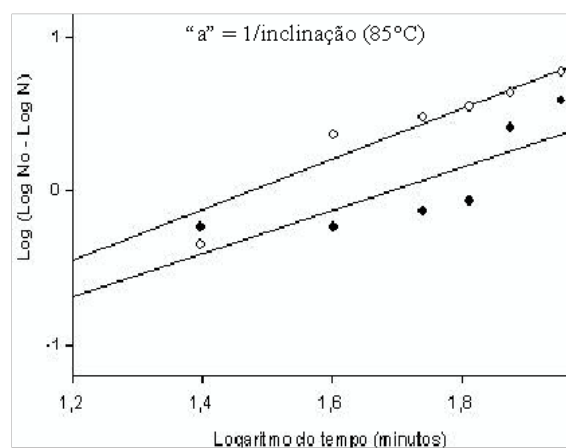
Para possibilitar o cálculo dos parâmetros cinéticos equivalentes a D e Z aplicou-se o método de linearização de curvas de sobreviventes de acordo com ALDERTON e SNELL (1970), considerado adequado para o cálculo desses parâmetros por KING JUNIOR e WHITEHAND (1990), KOTZEKIDOU (1997), BAGLIONI (1998), RAJASHEKHARA, SURESH e ETHIRAJ (1996), RAJASHEKHARA, SURESH e ETHIRAJ (2000), SALOMÃO et al. (2004), SLONGO, MIORELLI e ARAGÃO (2005) e por SALOMÃO, SLONGO e ARAGÃO (2007).

FIGURA 1 - CURVAS DE SOBREVIVENTES PARA ASCÓSPOROS DE *B.nivea* (A) E DE *N.fischeri* (B) EM SUCO DE ABACAXI (pH 3,5; 12°BRIX) NAS DIFERENTES TEMPERATURAS DE TRATAMENTO TÉRMICO



Os valores do expoente “a” (0,713 e 0,6125), calculados a 85°C para os dois fungos em suco de abacaxi, foram obtidos pelas curvas representadas na Figura 2 para *B.nivea* e *N.fischeri*.

FIGURA 2 - CURVAS PARA DETERMINAÇÃO DO PARÂMETRO “A” NA TEMPERATURA DE 85°C PARA (-●-) *B.nivea* E (-○-) *N.fischeri* EM SUCO DE ABACAXI



A Figura 3 apresenta os gráficos das curvas de sobreviventes linearizadas para os ascósporos de *B.nivea* e de *N.fischeri*, respectivamente, em suco de abacaxi.

Os parâmetros da taxa de morte térmica (k e intercepto C), seus coeficientes de correlação (r^2) e os valores de resistência térmica ($1/k$) para ascósporos de *B.nivea* e de *N. fischeri* foram calculados a partir das equações das curvas linearizadas e estão apresentados na Tabela 1.

FIGURA 3 - CURVAS DE LINEARIZAÇÃO DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DE ASCÓSPOROS DE *B.nivea* (A) E DE *N. fischeri* (B) AQUECIDOS A 85, 90 E 92°C EM SUCO DE ABACAXI (pH 3,5 E 12°BRIX)

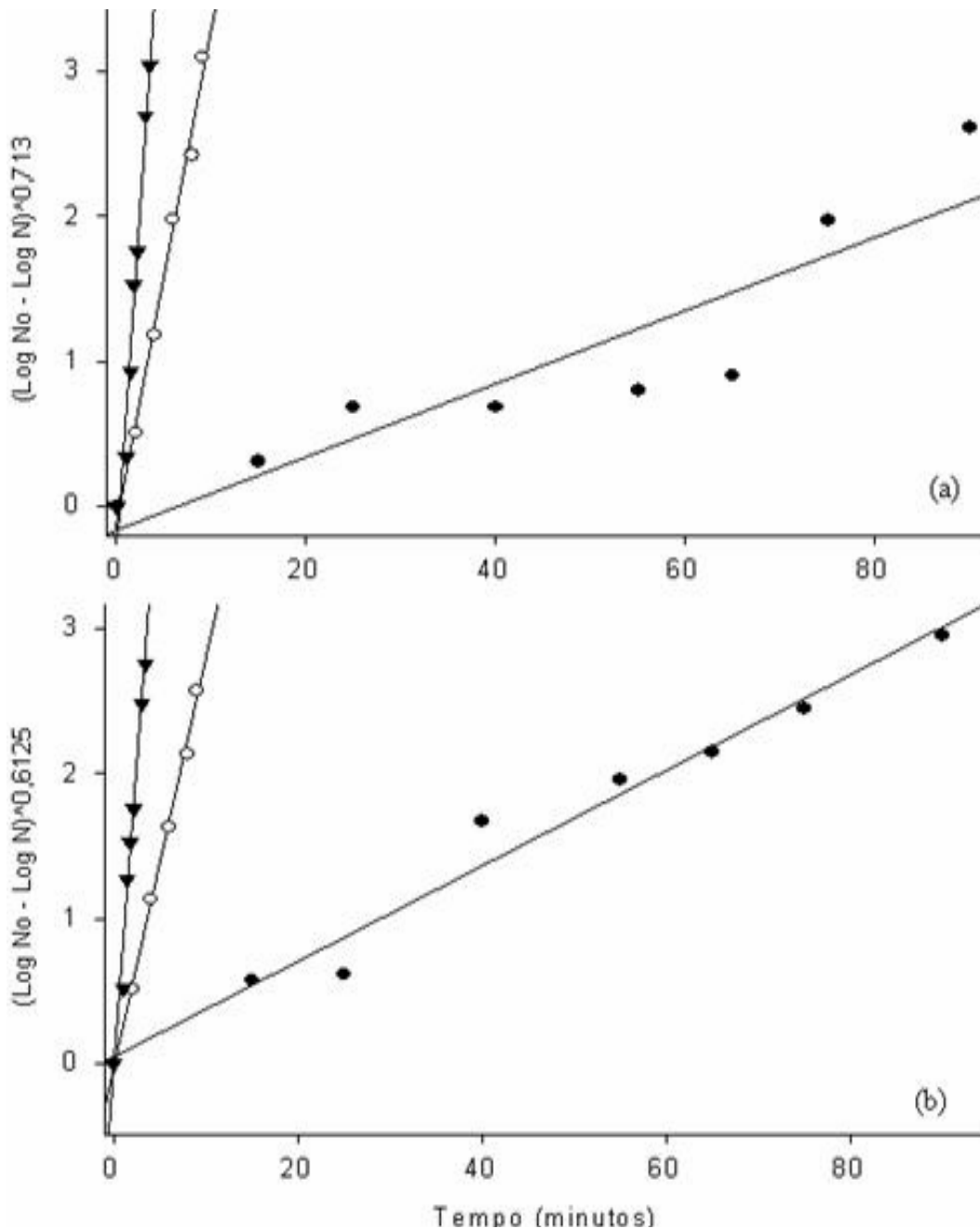


TABELA 1 - PARÂMETROS DA TAXA DE MORTE TÉRMICA (k E INTERCEPTO C) E OS VALORES DE RESISTÊNCIA TÉRMICA (1/k) PARA ASCÓSPOROS DE *B.nivea* E DE *N. fischeri* EM SUCO DE ABACAXI (pH 3,5 E 12°BRIX)

Temperatura 85°C				
Ascósporos	C	k (min ⁻¹)	r ² ₁	1/k (min)
<i>B. nivea</i>	-0,1601	0,022	0,8297	45,45
<i>N. fischeri</i>	0,0402	0,033	0,9756	30,3
Temperatura 90°C				
Ascósporos	C	k (min ⁻¹)	r ² ₁	1/k (min)
<i>B. nivea</i>	-0,0219	0,2192	0,9967	4,56
<i>N. fischeri</i>	-0,1688	0,2913	0,9862	3,43
Temperatura 92°C				
Ascósporos	C	k (min ⁻¹)	r ² ₁	1/k (min)
<i>B. nivea</i>	-0,0626	0,8262	0,9842	1,21
<i>N. fischeri</i>	-0,2817	0,9438	0,9671	1,06

r²₁= Coeficiente de correlação das curvas (log No – log N)^a versus tempo para a determinação de k e C.

O maior valor encontrado para 1/k foi de 45,45 minutos para temperatura de 85°C para ascósporos de *B.nivea*. Para ascósporos de *N.fischeri* na mesma temperatura, o valor de 1/k decresceu para 30,3 minutos, evidenciando sua menor resistência térmica em comparação com os ascósporos de *B.nivea*.

Os menores valores de 1/k foram encontrados na temperatura de 92°C. Nesse caso, independente dos ascósporos, os tempos requeridos para uma redução logarítmica (1/k) são semelhantes, indicando pouca resistência térmica sob altas temperaturas de aquecimento.

Observando as curvas de sobreviventes e os valores de 1/k pode-se verificar que é necessário maior tempo para obtenção de redução logarítmica da população de ascósporos de *B.nivea* em comparação com a dos ascósporos de *N.fischeri*.

Na Figura 4 são apresentadas as retas de (- log k) versus temperatura (°C) para os ascósporos de *B.nivea* e de *N.fischeri*. Os valores equivalentes a “Z”, chamados de Z*, são apresentados na Tabela 2.

FIGURA 4 - DETERMINAÇÃO DE Z* PARA *B.nivea* (-●-) E PARA *N.fischeri* (-○-) - (CURVA TDT/FANTASMA - EQUIVALENTE)

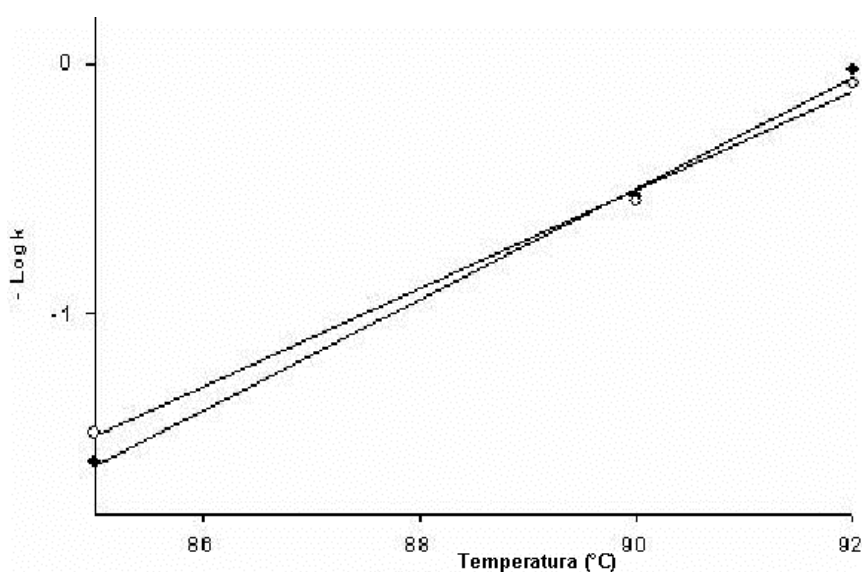


TABELA 2 - VALORES DE Z* PARA OS DIFERENTES ASCÓSPOROS E SEUS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO (R²) EM SUCO DE ABACAXI

A s c ó s p o r o s	Z * (° C)	r²₂
<i>B . n i v e a</i>	4 , 5 0	0 , 9 9 8 2
<i>N . f i s c h e r i</i>	5 , 0 8	0 , 9 8 3 5

r²₂ = coeficiente de correlação para as curvas (- log k) versus temperatura para a determinação de Z*.

Os valores de Z* obtidos para os diferentes ascósporos foram de 4,50 para *B.nivea* e de 5,08 para ascósporos de *N.fischeri*.

4 CONCLUSÃO

Foi observado que os ascósporos de *B.nivea* em comparação com ascósporos de *N.fischeri* necessitaram de maior tempo de inativação em temperaturas menores que 90°C. Pode-se concluir que devido à grande resistência térmica dos ascósporos de *N. fischeri*, a resistência térmica de *B.nivea* é superior em sucos de abacaxi.

ABSTRACT

THERMAL RESISTANCE EVALUATION OF *Byssochlamys nivea* AND *Neosartorya fischeri* IN PINEAPPLE JUICE

Thermal resistance of ascospores of the thermal resistant molds *B.nivea* and *N.fischeri* has been studied using pineapple juice (pH 3.5 and 12°Brix) as heating medium. Heat resistance was determined in Thermal Destruction Time (TDT) at temperatures of 85, 90 and 92°C. The higher 1/k value obtained was of 45 minutes for *B.nivea* ascospores at 85°C. Under the same conditions, the 1/k value for *N.fischeri* was 30 minutes. Therefore, it could be seen that *B.nivea* ascospores presented higher thermal resistance in comparison with *N.fischeri* ascospores, in pineapple juice.

KEY-WORDS: *Byssochlamys nivea*; *Neosartorya fischeri*; ASCOSPORES; PINEAPPLE JUICE.

REFERÊNCIAS

- 1 ALDERTON, G.; SNELL, N. Chemical states of bacterial spores. Heat resistance and its kinetics at intermediate water activity. **Applied Microbiology**, v.19, p. 565-572, 1970.
- 2 BAGLIONI, F. **Estudo da ocorrência de fungos filamentosos termorresistentes em polpa de tomate envasada assepticamente**. Campinas, 1998. 75 p. Dissertação (Mestrado), Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de Campinas.
- 3 KING JUNIOR, A. D.; WHITEHAND, L. C. Alterations of *Talaromyces flavus* heat resistance by growth conditions and heat medium composition. **Journal of Food Science**, v.55, n.3, p.830-836, 1990.
- 4 KOTZEKIDOU, P. Heat resistance of *Byssochlamys nivea*, *Byssochlamys fulva* and *Neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste. **Journal of Food Science**, v.62, n.2, p.410-437, 1997.
- 5 PIECKOVÁ, E.; JESENSKÁ, Z. Toxinogenicity of heat-resistant fungi detected by a bio-assay. **International Journal of Food Microbiology**, v.36, p.227-229, 1997.
- 6 RAJASHEKLARA, E.; SURESH. E.R.; ETHIRAJ, S. Influence of different heating media on thermal resistance of *Neosartorya fischeri* isolated from papaya fruit. **Journal of Applied Bacteriology**, v.81, p.337-340, 1996.
- 7 RAJASHEKHARA, E.; SURESH, E.R.; ETHIRAJ, S. Modulation of thermal resistance of ascospores of *Neosartorya fischeri* by acidulants and preservatives in mango and grape fruit. **Food Microbiology**, v.17, p.269-275, 2000.
- 8 SALOMÃO, B.C.M.; COSTA, C.A.; MASSAGUER, P.R.; ARAGÃO, G.M.F. Influência de diferentes pH do meio de

aquecimento na resistência térmica de *Neosartorya fischeri* isolado do processo produtivo de néctar de maçã. **Alimentos e Nutrição**, v.15, n.1, p.7-10, 2004.

- 9 SALOMÃO, B.C.M.; SLOGO, A.P.; ARAGÃO, G.M.F. Heat resistance of *Neosartorya fischeri* in various juices. **Journal of Food Science and Technology**, v.40, p.676-680, 2007.
- 10 SLOGO, A.P.; MIORELLI, S.; ARAGÃO, G.M.F. Influência de diferentes fatores na termorresistência de *Neosartorya fischeri* em suco de mamão. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.4, p.377-387, 2005.
- 11 TOURNAS, V.; TRAXLER, R. W. Heat resistance of a *Neosartorya fischeri* strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. **Journal of Food Protection**, v.57, n.9, p.814-816, 1994.
- 12 UGWUANYI, J. O.; OBETA, J. A. N. Pectinolytic and cellulolytic activities of heat resistant fungi and their macerating effects on mango and African mango. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p.1054-1059, 1999.