

EFEITO DE ONDAS ULTRA-SÔNICAS SOBRE A POPULAÇÃO DE *Leuconostoc mesenteroides* EM CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR¹

Márcio Caliarí², Manoel Soares Soares Júnior² e Raúl Jorge Castro Gomes³

ABSTRACT

THE EFFECT OF ULTRASOUND WAVES ON THE *Leuconostoc mesenteroides* POPULATION IN SUGARCANE JUICE

In the present work, first extraction sugarcane juice was irradiated with ultrasound waves to control *Leuconostoc mesenteroides*. Surface response methodology (central composite model) was used to evaluate the treatment effects. The response variable was the death rate (DR%) of the *L. mesenteroides* population. The results showed that the highest rate of mortality, 10.55%, was obtained with a power of 50 W for 225 seconds, in sugarcane juice with 18° Brix, pH 4.5 and 45°C.

KEY WORDS: sugar industry, sugarcane, ultrasound.

RESUMO

No presente trabalho, irradiou-se caldo de cana-de-açúcar de primeira extração, com ondas ultra-sônicas, com o objetivo de controlar a bactéria *Leuconostoc mesenteroides*. Foi aplicada a metodologia de superfície de resposta (modelo central composto), para avaliar o efeito dos tratamentos. A variável resposta avaliada foi taxa de mortalidade (TM%) da população de *L. mesenteroides*. Os resultados mostraram que a maior taxa de mortalidade, 10,55%, foi obtida com a potência de 50 W, por 225 segundos, em caldo de cana com 18° Brix, pH 4,5 e 45°C.

PALAVRAS-CHAVE: indústria açucareira, cana-de-açúcar, ultra-som.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as unidades produtoras de açúcar iniciaram um esforço para minimizar as perdas e maximizar a qualidade dos produtos fabricados. Simultaneamente, as indústrias consumidoras de açúcar (produtoras de balas, bebidas, geléias e outros alimentos) começaram a se adaptar a normas que exigem determinados padrões de qualidade para todas as matérias-primas utilizadas. Diante desses fatos, os esforços da indústria e da pesquisa devem ser canalizados no sentido de mensurar, isolar, combater e caracterizar os pontos críticos que afetam a eficiência do processo e da perda de qualidade dos produtos fabricados.

Vários microrganismos causam sérios problemas no processo de fabricação de açúcar, como

na sua qualidade final. Dentre estes microrganismos, a bactéria *Leuconostoc mesenteroides* é uma das mais importantes. Esta infecta os colmos de cana de açúcar logo após a queima das folhas, na colheita, e de sua atividade metabólica origina-se um polímero chamado dextrana. Os problemas causados pela ação de *L. mesenteroides* se devem à goma de dextrana que provoca a aderência das células do microrganismo nas superfícies que entram em contato com o caldo, e conseqüente entupimento de tubulações e peneiras, além de aumentar a viscosidade do caldo e méis, reduzindo a eficiência da cristalização da sacarose e formação de cristais deformados (Yokoya 1991, Serra *et al.* 1979, Amorim & Oliveira 1982, Alterthum *et al.* 1984).

1. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor, apresentada à Universidade Estadual de Londrina e desenvolvida na Usina Cofercatu, Florestópolis-PR. Trabalho recebido em abr./2004 e aceito para publicação em nov./2004 (registro nº 488).

2. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, GO. E-mails: macaliari@ig.com.br; manael@agro.ufg.br

3. Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86051-970, Londrina-PR.

Os organismos presentes na cana vêm do solo e de plantas em decomposição. O solo contém uma ampla variedade de organismos, destacando-se o gênero *Enterobacter*, como um dos mais comuns, e o *Leuconostoc*, em menor proporção. A microflora da cana colhida é influenciada principalmente pela temperatura, umidade e tempo decorrido entre a queima e processamento (Copersucar 1986, Gallo & Canhos 1991).

Os facões utilizados para o corte da cana propagam a bactéria *L. mesenteroides*. Depois de dez minutos do corte, a bactéria pode migrar até 7,5 cm dentro do colmo, por transporte passivo através dos eixos vasculares, seguindo para o parênquima onde se multiplica (Copersucar 1986).

A microflora do caldo de cana industrial é composta principalmente por espécies dos gêneros *Leuconostoc* e *Bacillus* (cerca de 60% a 70%), 10% de gêneros diversos de bactérias, e o restante por leveduras. *Leuconostoc mesenteroides* é uma das espécies de maior importância econômica pelos efeitos que causa em todo o processo (Cruz *et al.* 1995).

A diminuição da contaminação por *L. mesenteroides* pode ser obtida conjugando-se dois procedimentos: redução do tempo entre o corte e a extração de caldo; e adição de agentes bacteriostáticos ao caldo de cana, durante a sua extração.

Alguns trabalhos de pesquisa, realizados em Cuba, relatam o uso de ondas ultra-sônicas como um método alternativo para reduzir a população microbiana no caldo de cana (Fernandez *et al.* 1982, Rodriguez *et al.* 1984).

Fernandez *et al.* (1982) estudaram os efeitos da radiação eletromagnética na faixa do ultra-som, sobre bactérias dos gêneros *Leuconostoc* e *Bacillus*, em cultivo puro em água esterilizada e em caldo de cana estéril, empregando-se equipamento o Braunsonic 1510. Os resultados obtidos foram satisfatórios, sobretudo em relação às bactérias do gênero *Leuconostoc*. Com potências compreendidas entre 0,5 e 2,0 W.cm⁻³ foram obtidos tempos de redução decimal entre um e cinco minutos (tempo necessário para eliminar ao redor de 90% da população microbiana).

A desinfecção dos caldos açucarados por cavitação pode dispensar o uso de produtos bacteriostáticos e permite resultados satisfatórios, tanto para caldos de cana como para méis diluídos. Em relação ao uso do calor, a cavitação é um método alternativo mais econômico (Cruz *et al.* 1995).

O uso de radiações ultra-sônicas no controle de microrganismos em caldo de cana tem perspectivas favoráveis em relação ao controle térmico e químico, já que esses últimos provocam alterações significativas no caldo, como inversão da sacarose, formação de ácidos e alterações pelo calor, como escurecimento por caramelização e perda de nutrientes (Lodos & Acosta 1981).

Alguns trabalhos demonstram a efetividade das radiações ultra-sônicas como método esterilizante em diluições puras em caldos açucarados. Em experiências realizadas com diluições puras em caldo de cana esterilizado, obteve-se a eliminação de 90% da população de *L. mesenteroides*, em tempos entre 25 e 210 segundos, para potências entre 100 W e 20 W, respectivamente, para volumes de amostras de 50 mL e concentrações de microrganismos de 10⁴ a 10⁶ células.mL⁻¹ (Rodriguez & Lodos 1982).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, pelo método de superfície de resposta, a influência das variáveis potência das ondas ultra-sônicas, temperatura, pH, tempo de exposição e teor de sólidos solúveis sobre a taxa de mortalidade de *L. mesenteroides*, em caldo de cana de primeira extração. Com a redução máxima desse microrganismo, imediatamente após a moagem, pretende-se diminuir a formação de dextrana e diminuir os seus prejuízos em todo o processo de fabricação de açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

O caldo de cana-de-açúcar utilizado no ensaio foi obtido junto às moendas da Usina Cofercatu, localizada em Florestópolis-PR. A variedade de cana empregada foi a RB 72-454, proveniente do Sítio Recanto Rancho Alegre, no mesmo município.

Primeiramente, foi realizada uma avaliação das propriedades físico-químicas das amostras do caldo de cana. Os valores de Brix refratométrico foram obtidos por meio de leitura direta em refratômetro digital; a determinação da percentagem em peso, de sacarose aparente (Pol%_Caldo), através de um sacarímetro digital automático; os açúcares redutores por titulometria pelo método de Eynon & Lane, que se fundamenta na redução do cobre e oxidação do açúcar (Zago *et al.* 1996). O método de determinação de dextrana no caldo de cana subdividiu-se basicamente em duas etapas: preparo das amostras (formação do complexo celite-dextrana) e determinação (formação do complexo cobre-dextrana, desenvolvimento de cor e posterior leitura

em espectrofotômetro, a 485 nm). Após a leitura, o valor final é obtido por:

$$Dextrana \text{ (ppm)} = \frac{80 \times (L_a - L_b)}{(L_p - L_b)}$$

em que: L_a é a leitura da amostra; L_p é a leitura do padrão; e L_b é a leitura do branco.

O ensaio foi conduzido conforme um delineamento experimental com cinco fatores de tratamentos: potência das ondas ultra-sônicas (W), pH, temperatura (°C), tempo de exposição às ondas ultra-sônicas (segundos) e teor de sólidos solúveis (°Brix); cada fator em cinco níveis. Os níveis dos fatores (variáveis independentes) foram codificados em -2, -1, 0, 1, 2, e estão apresentados na Tabela 1. As variáveis foram combinadas inteiramente ao acaso, de acordo com a metodologia de superfície de resposta – modelo central composto (Box & Drapper 1987). Essas combinações estão na Tabela 2.

A variável resposta obtida foi a taxa de mortalidade de *L. mesenteroides* (TM%). Para o cálculo dessa taxa determinou-se o número colônias da bactéria em caldo de cana, antes e após o tratamento com ultra-som. O número de unidade formadoras de colônias, em (UFC).mL⁻¹, foi determinado através de inoculação em placa de Petri (φ = 10 cm) com três diluições, em triplicata, usando o meio APT-Agar (seletivo para *L. mesenteroides*) e incubação à temperatura de 30°C durante 48 horas. A contagem foi feita usando-se um contador de colônias (Rodriguez *et al.* 1984). A expressão utilizada para determinar a taxa de mortalidade (TM%) é:

$$TM\% = \frac{\log_{10}(\text{Contagem Antes}) - \log_{10}(\text{Contagem Após})}{\log_{10}(\text{Contagem Antes})} \times 100$$

O inóculo foi preparado partindo-se de uma cultura pura liofilizada de *L. mesenteroides* ssp. *mesenteroides* (CCT 0605), obtida junto à Fundação Tropical de Pesquisas. Essa cultura passou pelos processos: a) reidratação – feita em 10 mL de água destilada, esterilizada, em tubo de ensaio; b) ativação –

Tabela 1. Níveis codificados e valores reais das variáveis independentes

Variáveis/Níveis	-2	-1	0	+1	+2
X ₁ . Potência (W)	50.0	150.0	250.0	350.0	450.0
X ₂ . pH	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5
X ₃ . Temperatura (°C)	25.0	30.0	35.0	40.0	45.0
X ₄ . Tempo de exposição (s)	25.0	75.0	125.0	175.0	225.0
X ₅ . °Brix	10.0	12.0	14.0	16.0	18.0

Tabela 2. Delineamento experimental utilizado, com cinco variáveis e cinco níveis de variação

Ensaio s	Variáveis ¹				
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅
01	-1	-1	-1	-1	1
02	1	-1	-1	-1	-1
03	-1	1	-1	-1	-1
04	1	1	-1	-1	1
05	-1	-1	1	-1	-1
06	1	-1	1	-1	1
07	-1	1	1	-1	1
08	1	1	1	-1	-1
09	-1	-1	-1	1	-1
10	1	-1	-1	1	1
11	-1	1	-1	1	1
12	1	1	-1	1	-1
13	-1	-1	1	1	1
14	1	-1	1	1	-1
15	-1	1	1	1	-1
16	1	1	1	1	1
17	-2	0	0	0	0
18	2	0	0	0	0
19	0	-2	0	0	0
20	0	2	0	0	0
21	0	0	-2	0	0
22	0	0	2	0	0
23	0	0	0	-2	0
24	0	0	0	2	0
25	0	0	0	0	-2
26	0	0	0	0	2
27	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0

¹- X₁: Potência (W); X₂: pH; X₃: Temperatura (C); X₄: Tempo de exposição (s); e X₅: °Brix.

após a reidratação inoculou-se as células em meio APT líquido a 30°C durante 48 horas, sem agitação (após esse período, adicionou-se 10 mL de meio líquido e incubou-se novamente durante mais 48 horas a 30°C); c) adaptação – com uma alíquota de 2 mL das células ativadas, inoculou-se 20 mL de caldo de cana esterilizado (121°C e 15 minutos); d) incubação por 48 horas a 30°C; e) purificação – com a cultura adaptada foram inoculadas três placas com meio sólido APT, que foram incubadas durante 24 horas a 30°C. Na seqüência, com o auxílio da alça de platina, uma colônia de cada placa foi inoculada em 50 mL de caldo de cana esterilizado, mantido a 30°C, ao qual foi adicionado 200 mL de caldo de cana esterilizado diariamente até se obter um volume de 1.000 mL de inóculo com 10⁸ UFC.mL⁻¹.

A variação da potência das ondas ultra-sônicas aplicadas sobre as amostras foi obtida com a variação do volume do caldo, já que o equipamento utilizado tinha potência fixa de 50 W para um volume total de 2.000 mL. A determinação dessa variação de volume foi obtida por:

$$\text{Volume irradiado} = \frac{\text{Potência a ser aplicada}}{50} \times 2000$$

A cana usada no experimento teve o tempo de aproximadamente 30 horas entre a queima e a extração. Coletou-se aproximadamente 40 litros de caldo de cana de primeira extração, que foi analisado. Em seguida, as amostras de cada tratamento foram resfriadas a 5°C, e ajustou-se o °Brix com a adição de água destilada estéril, e o pH com a adição de NaOH (0,01 N) ou HCl (0,01 N). Na seqüência, as amostras foram distribuídas em recipientes de 2,5 litros de capacidade, que retornaram para a refrigeração. Em todos os recipientes foram marcados os números das amostras e os tratamentos que sofreriam. Em seguida, iniciou-se o ajuste de temperatura da amostra em banho-maria, até o equilíbrio térmico, verificado com termômetro digital. Após essa etapa, introduziu-se o inóculo 2% (v/v) de *L. mesenteroides*. Na seqüência, tomou-se alíquotas das amostras para determinação do número de UFC.mL⁻¹ antes do tratamento com ultra-som. Durante os tratamentos com ultra-som variou-se o tempo de exposição (em segundos), controlado com cronômetro digital e a potência (W). Posteriormente aos tratamentos tomou-se novas alíquotas de caldo para análise do número de UFC.mL⁻¹.

Os resultados da variável resposta TM% foram estudados com o auxílio da metodologia de superfície de resposta, através do programa Statistica (Statistica for Windows 1995). Através de regressão linear múltipla foram determinados os coeficientes das equações representativas dos modelos matemáticos ajustados para cada resposta. Por análise de variância, associada ao teste F, verificou-se a significância das variáveis explicativas para cada um dos modelos ajustados. Foram excluídas as variáveis não significativas, resultando em modelos ajustados simplificados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise físico-química do caldo de cana, obtido de primeira extração, estão apresentados na Tabela 3. Os valores de Pol%_Caldo e AR% indicam que a cana utilizada encontrava-se em um bom estágio de maturação. O pH do caldo de 5,5 indica que a cana estava em boas condições microbiológicas, o que é confirmado pela presença de uma quantidade moderada de 5,2 UFC.mL⁻¹ de *L. mesenteroides*. O teor de dextrana estava dentro dos valores médios obtidos pela indústria para canas com tempo de queima entre 30 e 45 horas.

Os resultados da contagem de UFC.mL⁻¹ de *L. mesenteroides*, antes e depois do tratamento com

Tabela 3. Análises físico-químicas do caldo de cana de primeira extração utilizado no experimento

Propriedade	Resultado
Sólidos solúveis (°Brix)	18,2
Pol%_Caldo	14,1
pH	5,5
Açúcares redutores - AR (%)	0,5
Açúcares redutores totais - ART (%)	15,2
Dextrana (ppm)	107,5

ondas ultra-sônicas e as taxas de mortalidade (TM%) estão apresentados no Tabela 4. O modelo preditivo completo elaborado para taxa de mortalidade de *L. mesenteroides* foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,0009$), com um coeficiente de determinação (R²) de 92,46% e falta de ajuste também significativa ($p \leq 0,0377$). O coeficiente de determinação ajustado (R²_{aj}) foi 78,75% e o coeficiente de variação (CV) 14,80%. Apesar da falta de ajuste, o coeficiente de determinação ajustado é aceitável em função das medidas obtidas serem de caráter microbiológico. Pela análise de variância verificou-se que foram

Tabela 4. Unidades formadoras de colônias de *Leuconostoc mesenteroides* antes e após o tratamento com ultra-som, e taxa de mortalidade (TM%)

Número do tratamento	UFC/ mL		TM%
	antes	depois	
1	8,30 x 10 ⁹	4,43 x 10 ⁹	2,75
2	9,70 x 10 ⁹	4,75 x 10 ⁹	3,11
3	8,10 x 10 ⁹	5,02 x 10 ⁹	2,10
4	4,50 x 10 ⁹	2,50 x 10 ⁹	2,64
5	5,30 x 10 ⁹	2,92 x 10 ⁹	2,66
6	4,85 x 10 ⁹	2,20 x 10 ⁹	3,55
7	6,20 x 10 ⁹	3,33 x 10 ⁹	2,76
8	7,80 x 10 ⁹	4,34 x 10 ⁹	2,57
9	8,80 x 10 ⁹	3,36 x 10 ⁹	4,20
10	3,00 x 10 ⁹	1,05 x 10 ⁹	4,81
11	5,60 x 10 ⁹	1,94 x 10 ⁹	4,72
12	5,90 x 10 ⁹	2,09 x 10 ⁹	4,61
13	4,30 x 10 ⁹	1,26 x 10 ⁹	5,53
14	3,70 x 10 ⁹	1,15 x 10 ⁹	5,30
15	7,50 x 10 ⁹	2,92 x 10 ⁹	4,15
16	6,10 x 10 ⁹	1,82 x 10 ⁹	5,37
17	2,25 x 10 ⁹	9,00 x 10 ⁸	4,26
18	1,90 x 10 ⁹	6,50 x 10 ⁸	5,02
19	2,70 x 10 ⁹	1,25 x 10 ⁹	3,55
20	2,15 x 10 ⁹	1,40 x 10 ⁹	2,00
21	3,15 x 10 ⁹	1,40 x 10 ⁹	3,71
22	5,75 x 10 ⁹	1,65 x 10 ⁸	5,56
23	1,00 x 10 ⁹	7,00 x 10 ⁹	1,72
24	7,00 x 10 ⁹	1,19 x 10 ⁹	7,81
25	3,90 x 10 ⁹	1,95 x 10 ⁹	3,14
26	3,40 x 10 ⁹	1,15 x 10 ⁹	4,94
27	4,60 x 10 ⁹	2,00 x 10 ⁹	3,74
28	4,45 x 10 ⁹	2,25 x 10 ⁹	3,07
29	3,75 x 10 ⁹	1,70 x 10 ⁹	3,59
30	4,15 x 10 ⁹	1,78 x 10 ⁹	3,82
31	3,80 x 10 ⁹	1,87 x 10 ⁹	3,21
32	3,90 x 10 ⁹	1,74 x 10 ⁹	3,66

significativos os efeitos lineares das variáveis temperatura- X_3 ($p \leq 0,0432$), tempo de exposição- X_4 ($p \leq 0,000001$) e °Brix- X_5 ($p \leq 0,0343$) e o efeito quadrático da variável X_2 , o pH ($p \leq 0,0257$).

Com base nessas observações, realizou-se uma simplificação do modelo matemático através da eliminação das variáveis não significativas (interações e efeitos lineares e quadráticos não significativos). Assim, o modelo matemático simplificado para a taxa de mortalidade de *L. mesenteroides* ficou como:

$$Y_1 = 3,61 + 0,28 X_3 + 1,20 X_4 + 0,29 X_5 - 0,28 X_2^2$$

Para verificar o efeito das variáveis independentes sobre a taxa de mortalidade (resposta TM%) foram feitas simulações dos dados nos mapas de superfície de resposta e curvas de nível, fixando-se as variáveis X_1 (potência) e X_2 (pH) nos valores codificados iguais a zero, e plotando-se as variáveis X_4 (tempo de exposição) e X_5 (teor de sólidos solúveis). Para avaliar o efeito da temperatura (X_3) esta foi fixada nos seguintes valores: 25°C, 30°C, 35°C, 40°C e 45°C. Os gráficos gerados por essas simulações estão apresentados nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente.

Pela observação das Figuras 1 a 5 verifica-se que o aumento da temperatura pode ser associado a um aumento da taxa de mortalidade. Ambas variáveis, o tempo e o teor de sólidos, também quanto mais elevadas implicaram em maior taxa de mortalidade. Pelo modelo ajustado e dentro dos limites das variáveis, o ponto de máxima mortalidade (10,55%) ocorre com a temperatura de 45°C, tempo de 225 segundos e teor de sólidos de 18° Brix.

Dentro da faixa estudada, a potência não teve efeito significativo sobre a taxa de mortalidade da bactéria, em caldo de cana de primeira extração.

Potências semelhantes já haviam sido utilizadas no trabalho de Rodriguez *et al.* (1984), que estudaram o efeito da potência (20 W a 100 W) sobre a porcentagem de células viáveis em caldo de cana e em diluições puras inoculados com *L. mesenteroides*, em diferentes tempos de retenção (15 a 600 segundos). Esses autores verificaram que, o tempo de redução decimal (tempo necessário para reduzir 90% da população inicial do microrganismo), em diluições puras, foi de 25 segundos a 100 W, ou 210 segundos a 30 W. Para caldo de cana, o tempo de redução decimal do *L. mesenteroides* foi de 180 segundos a 100 W, ou de 1260 segundos a 20 W. Com o aumento da potência ou do tempo de retenção houve uma diminuição gradual do percentual de sobrevivência. No presente estudo o efeito do tempo foi significativo, porém, o efeito da potência não foi, pois, verificou-se que as contagens de UFC, antes e após o tratamento com ultra-som, em todo o desenho experimental, sofreram pequenas reduções na contaminação inicial de *L. mesenteroides*.

O efeito quadrático do pH foi significativo sobre a TM% de *L. mesenteroides*. Os resultados mostram ainda que a maior TM% ocorre no menor pH estudado (4,5). Oliveira *et al.* (1996) reportaram que a faixa ótima de multiplicação de *L. mesenteroides* fica entre 5,5 e 6,0. Dessa forma, o pH 4,5 foi adverso para o microrganismo estudado, auxiliando a aumentar a sua taxa de mortalidade.

As temperaturas (25°C a 45°C) tiveram efeito significativo sobre essa taxa. A maior TM% (10,55%) foi obtida a 45°C, e à medida que diminuiu a temperatura ocorreu uma redução gradativa de TM%. Esse efeito também foi verificado por Rodriguez *et al.* (1991), que observaram, no tratamento combinado de calor (40°C e 50°C) e cavitação, um efeito mais

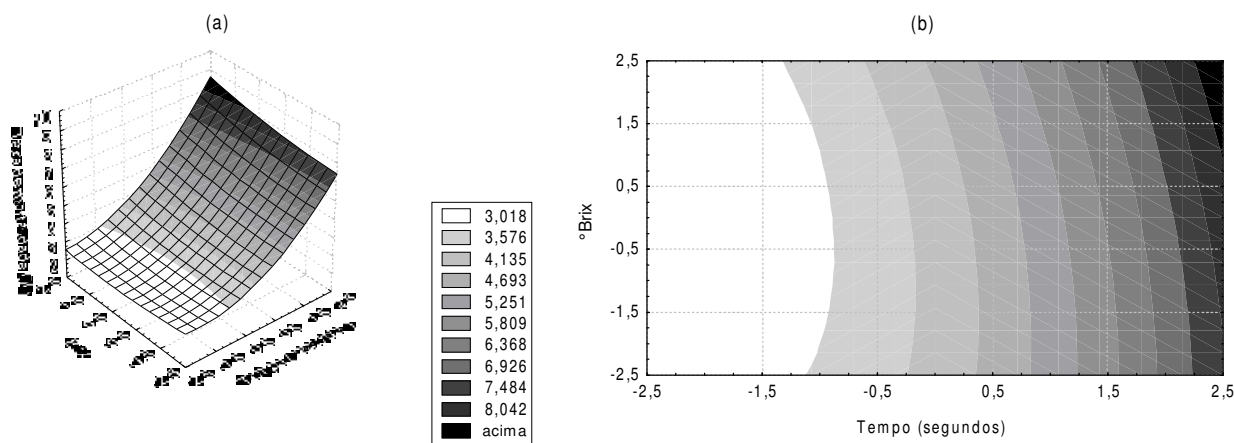


Figura 1. Superfície de resposta (a) e curvas de nível (b) da taxa de mortalidade (%) de *Leuconostoc mesenteroides* (%) em função do teor de sólidos solúveis do caldo de cana (°Brix) e do tempo de exposição às ondas ultra-sônicas (segundos). Valores codificados à temperatura constante de 25°C

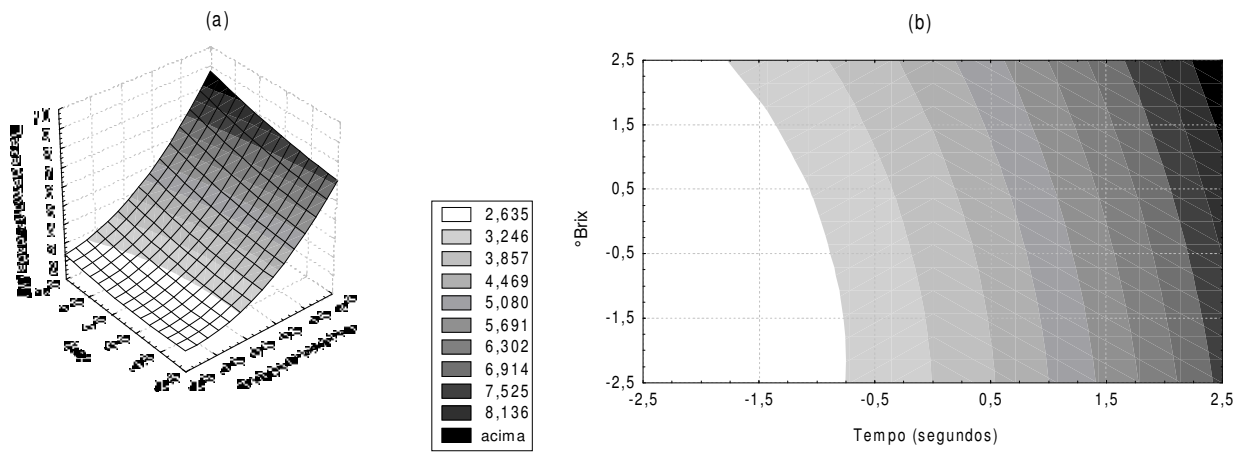


Figura 2. Superfície de resposta (a) e curvas de nível (b) da taxa de mortalidade (%) de *Leuconostoc mesenteroides* em função do teor de sólidos solúveis de caldo de cana (°Brix) e do tempo de exposição às ondas ultra-sônicas (segundos). Valores codificados à temperatura constante de 30°C

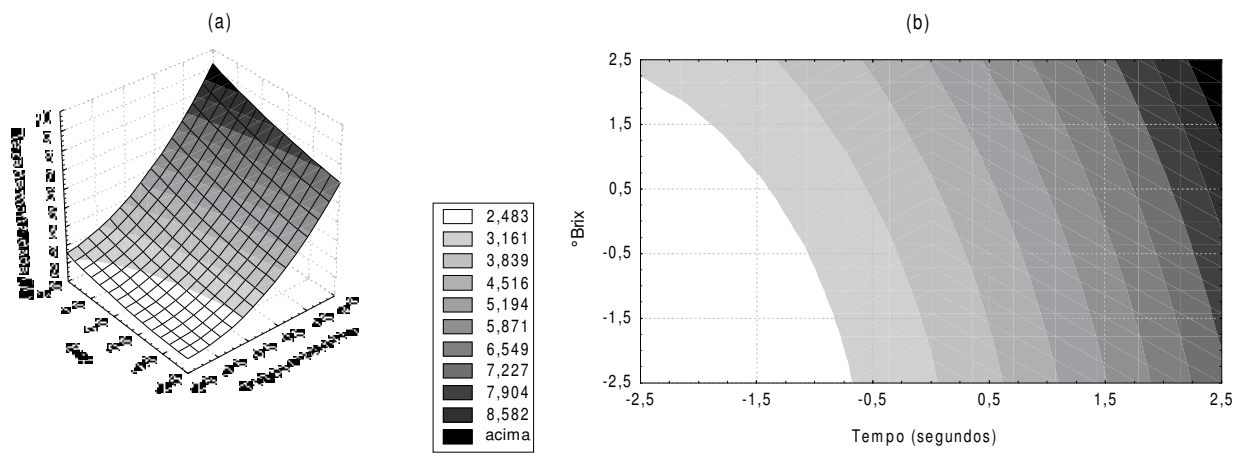


Figura 3. Superfície de resposta (a) e curvas de nível (b) da taxa de mortalidade (%) de *Leuconostoc mesenteroides* em função do teor de sólidos solúveis de caldo de cana (°Brix) e do tempo de exposição às ondas ultra-sônicas (segundos). Valores codificados à temperatura constante de 35°C

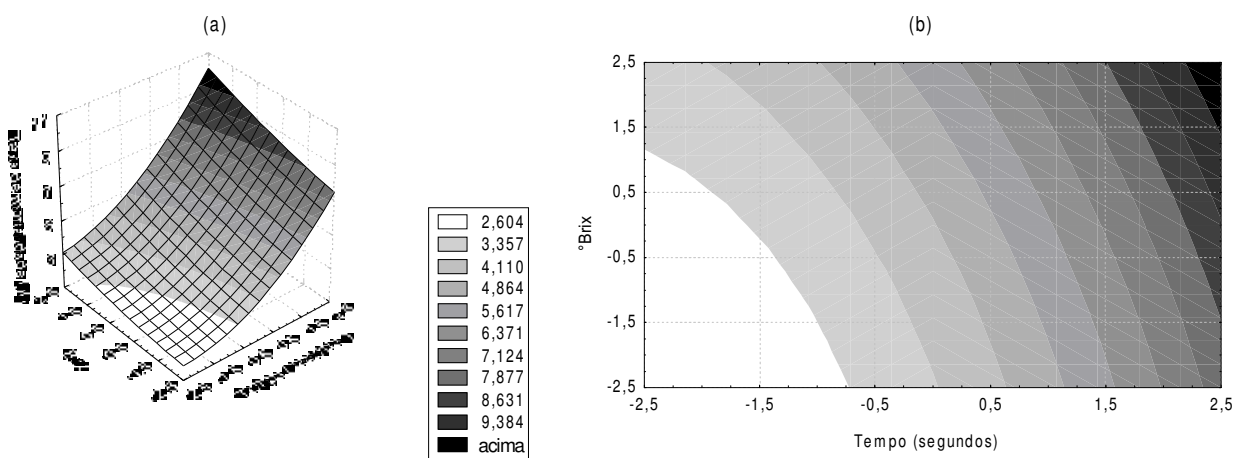


Figura 4. Superfície de resposta (a) e curvas de nível (b) da taxa de mortalidade (%) de *Leuconostoc mesenteroides* em função do teor de sólidos solúveis de caldo de cana (°Brix) e do tempo de exposição às ondas ultra-sônicas (segundos). Valores codificados à temperatura constante de 40°C

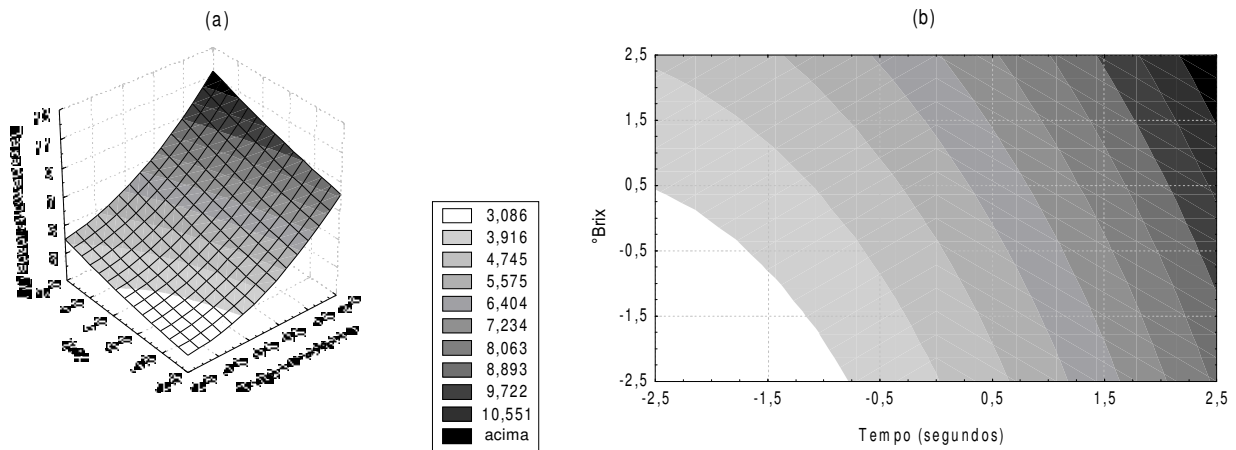


Figura 5. Superfície de resposta (a) e curvas de nível (b) da taxa de mortalidade (%) de *Leuconostoc mesenteroides* em função do teor de sólidos solúveis de caldo de cana (°Brix) e do tempo de exposição às ondas ultra-sônicas (segundos). Valores codificados à temperatura constante de 45° Taxa de mortalidade (%) °Brix Tempo (segundos)

efetivo da temperatura elevada (50°C) sobre a mortalidade do *L. mesenteroides*. Esses resultados confirmam que em maiores temperaturas (dentro dos limites estudados) ocorreu um aumento da TM%.

O tempo de exposição às ondas ultra-sônicas (25 a 225 segundos) foi significativo sobre a TM%. A maior TM% (10,55%) foi obtida com tempo de exposição de 225 segundos. Fixando-se o tempo de exposição no ponto 2,0, na Figura 5, fica bastante claro que à medida que o teor de sólidos solúveis aumenta a TM% também aumenta, passando por vários níveis até atingir a taxa máxima (tempo de exposição = 2,0; e teor de sólidos solúveis = 2,0). Esses resultados mostram a importância do tempo de exposição às ondas ultra-sônicas.

Rodriguez & Lodos (1982) trabalhando com tempos entre (25 e 210 segundos), potências entre (20 W e 100 W) e com concentrações de microrganismos de 10⁴ a 10⁶, verificaram uma redução em UFC.mL⁻¹ de até 90% (um ciclo logarítmico) na população de *L. mesenteroides*. Entretanto, deve-se salientar que esses resultados foram obtidos para diluições puras em meio artificial e não em caldo de cana, que possui uma grande quantidade de outros microrganismos.

O efeito do teor de sólidos solúveis (10 a 18°Brix) foi significativo sobre a TM% de *L. mesenteroides*. A maior TM% (10,55%) ocorreu a 18°Brix. À medida que se diminuiu o teor de sólidos solúveis ocorreu uma diminuição da TM%. Porém, pode-se dizer que seria quase impossível trabalhar em nível industrial com teores acima de 18°Brix ou abaixo de 10°Brix, na extração. Portanto, esse fator apresenta um elemento econômico que deve ser

considerado para a obtenção de resultados mais efetivos, levando-se em conta a sua interação com os demais fatores.

O teor médio de sólidos solúveis no caldo misto é de 12°Brix e o pH médio é de aproximadamente 5,5. Assim, nessas condições industriais e considerando os resultados obtidos, a maior taxa de mortalidade foi de 8,06%, tendo ocorrido à uma temperatura de 45°C, sob um tempo de exposição de 225 segundos.

CONCLUSÕES

1. A taxa de mortalidade de *Leuconostoc mesenteroides* foi afetada significativamente pelo tempo de exposição, temperatura, teor de sólidos solúveis e pH.
2. As ondas ultra-sônicas com frequência de 45 kHz podem ser utilizadas para a diminuição da população de *L. mesenteroides*.
3. Nas condições industriais, a maior taxa de mortalidade de *L. mesenteroides* (8,06%), em caldo misto (fabricação de álcool) com 12°Brix e pH natural 5,5, pode ser obtida com tempo de exposição 225 segundos, temperatura de 45°C e potência de 250 W.
4. Em caldo de primeira extração (fabricação de açúcar), com 16°Brix e pH 5,5, a maior taxa de mortalidade (9,72%) pode ser obtida nas mesmas condições de tempo, temperatura e potência citadas anteriormente (225 s, 45°C e 250 W).

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- Alterthum, F., M. R. M. Cruz, M. L. R. Vairo & D. M. Gambassi. 1984. Efeito dos microrganismos contaminantes da fermentação alcoólica nas microdestilarias. *Stab Açúcar Álcool e Subprodutos*, 3 (1): 42-49.
- Amorim, H. V. & A. J. Oliveira. 1982. Infecção na fermentação: como evitá-la. *Álcool e Açúcar*, 5 (1): 12-18.
- Box, G. E. P. & N. R. Drapper. 1987. *Empirical model building and response surface*. John Wiley and Sons, New York. 309 p.
- Copersucar. 1986. *Microbiologia do açúcar*. In Seminário Copersucar de Garantia de Qualidade, 5. Piracicaba, São Paulo. Anais.
- Cruz, R. O., P. V. P. Gonzalez & R. M. Concepción. 1995. Métodos físicos de desinfecção na indústria sucroalcooleira. *Revista Álcool e Açúcar*, 15 (80): 18-21.
- Fernández, J. L., O. R. Cruz & L. C. Gonzalez. 1982. Acción de las radiaciones ultrasónicas sobre el *Leuconostoc mesenteroides* presente en el jugo de caña. *Cuba Azúcar*, 4: 29-34.
- Gallo, C. R. & V. P. Canhos. 1991. Contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica - revisão. *Stab Açúcar Álcool e Subprodutos*, 9 (4/5): 35-40.
- Lodos, J. & S. Acosta. 1981. Sterilization of sugar products by irradiation: The effect of gamma radiation on *Leuconostoc mesenteroides*. *Zuckerindustrie* 106 (9): 816-818.
- Oliveira, A. J., C. R. Gallo, V. E. Alcarde, A. Godoy & H. V. Amorim. 1996. Métodos para controle microbiológico na produção de álcool e açúcar. *Fermentec/Fealq/Edusp*, Piracicaba. 89 p.
- Rodriguez, O. & J. Lodos. 1982. La esterelizacion del *Leuconostoc mesenteroides* en jugo de caña. *Cuba Azúcar*. Habana, 2: 50-54.
- Rodriguez, O., J. Lodos & X. Meneses. 1984. Desinfeccion de jugos azucarados con ultrasonido. *Atac*, 3: 29-34.
- Rodriguez, O., P. V. Pérez & X. Meneses. 1991. Efecto de la cavitación sobre el genero *Leuconostoc*. *Cuba Azúcar*, 3: 14-16.
- Serra, G. E., M. P. Cereda, R. J. Peres, M. T. Bertozzo & A. T. Vicente. 1979. Contaminação da fermentação alcóolica - floculação do fermento. *Brasil Açucareiro*, 93 (6): 26-31.
- Statistica for Windows (Release 5.0 A). 1995. StatSoft, Inc. Tulsa, OK, USA.
- Yokoya, F. 1991. Problemas com contaminantes na fermentação. *Stab-Açúcar, Álcool e Subprodutos*, 9 (6): 38-39.
- Zago, E.A., L. F. Silva, C. D. Bernardino & H. V. Amorim. 1996. Métodos analíticos para controle da produção de álcool e açúcar. *Edusp*, Piracicaba. 194 p.