



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis - IMESA

Relatório final do programa de iniciação científica

Avaliação do efeito do choque térmico na extração e hidrólise do RNA de
levedura de panificação *Saccharomyces cerevisiae*

Assis
Dezembro de 2009

Scalada, Piero

Avaliação do efeito do choque térmico na extração e hidrólise do RNA de levedura de panificação *Saccharomyces cerevisiae* / Piero Fumagalli Scalada. Fundação Educacional do Município de Assis – Fema: Assis, 2009.

8p.

Orientador: Dr. Antonio Martins Oliveira
Programa de Iniciação Científica (PIC) – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis.

1- Ácido ribonucléico 2- *Saccharomyces cerevisiae*

CDD:660
Biblioteca da Fema

1. Introdução

O extrato de levedura é um aditivo protéico amplamente utilizado para o enaltecimento de sabores e complementação do valor nutricional de alimentos como sopas desidratadas, bolachas, Snacks e outros (SGARBIERI, 1999). É constituído em maior parte por proteínas, aminoácidos, fibras, lipídios, vitaminas do complexo B, ácidos ribonucléicos, nucleotídeos e nucleosídeos. É obtido industrialmente pelo processo de autólise e secagem da fração solúvel por “spray drier” utilizando-se uma cultura pura de levedura ou biomassa recuperada de processos fermentativos (CHAUD e SGARBIERI, 2006).

A levedura de panificação *Saccharomyces cerevisiae* é constituída por cerca de 45 a 60% de proteína do extrato de levedura. A autólise é um processo irreversível e ocorre pela ativação de enzimas endógenas, especialmente a glucanase, manase e quitinase que se encarregam provocar o rompimento celular e que leva, conseqüentemente, á liberação dos compostos intracelulares solúveis denominados extrato de levedura (OLIVEIRA, 2005).

No processo digestivo humano ocorre que os ácidos nucleotídeos, ao serem ingeridos, são despolimerizados por nucleases do suco pancreático e convertido a nucleosídeos. Os nucleosídeos contém dois tipos de bases nitrogenadas, as pirimidínicas (citosinas e uracilas, razoavelmente metabolizadas) e as purínicas (adenina e guanina), sendo oxidadas e desaminadas a ácido úrico, aumentando sua concentração no plasma (CLIFORD e STOY, 1976), provocando a doença denominado “gota” (TUSÉ, 1984). Desta forma o limite de consumo de RNA por humanos é cerca de 2g/dia por adulto, o que limita o consumo de levedura na ordem de 20g por dia (REED & NAGODAWIYHANA, 1991).

Por outro lado o RNA tem sido muito explorado pelas indústrias produtoras de extrato visando prover mediante sua hidrolise, altas concentrações de nucleotídeos potencializadores de sabor, o GMP (Guanosina-5- monofosfato) e IMP (Inosina- 5- monofosfato). Esses subprodutos do RNA além de promover o enaltecimento do sabor de alimentos como sopas desidratadas, bolachas e Snacks, apresenta alto potencial para prevenir

o sistema imunológico de humanos e animais, possibilitando assim a redução do uso excessivo de antibióticos principalmente em animais de corte como frangos, suínos e peixes de criadouro (RUTZ, 2006, OLIVEIRA, 2008).

2. Objetivo

Otimizar a temperatura de ativação da ribonuclease endógena de levedura de panificação *Saccharomyces cerevisiae* visando a máxima extração e hidrólise do RNA a nucleotídeos, utilizando como ferramenta estatística para a análise dos resultados a metodologia da superfície de resposta segundo BOX & BENKEN (1989).

3. Metodologia

3.1. Material e reagentes

Biomassa fresca de levedura de panificação (fleschman Royal), banho-maria (Tecnal), espectrofotômetro UV (Fento), centrífuga (Tecnal), agitar mecânico e magnético (Fisatom), balança analítica (Metler), vidrarias comuns de laboratório, cloreto de sódio (Synth), ácido clorídrico (Synth), ácido perclórico (Merck), cloreto férrico (Merck), orcinol (Sigma).

3.2. Procedimento experimental

A primeira etapa do trabalho consistiu na determinação do teor de RNA na biomassa íntegra de levedura utilizando-se ácido perclórico e hidróxido de sódio. Posteriormente fez-se a quantificação espectrofotométrica a 670nm utilizando-se como reativo orcinol, ácido clorídrico e cloreto férrico.

Na autólise, a biomassa de levedura foi submetida ao choque térmico à temperatura de 68°C por 15, 30 e 45 segundos e em seguida submetida às temperaturas de 51, 53 e 55°C por 1 hora, conforme níveis das variáveis independente mostrados na tabela 1.

Tabela 1. Níveis das variáveis independentes

Variáveis independentes	Níveis		
	(-1)	(0)	(+1)
X1: Temperatura de autólise	51	53	55
X2: Tempo de choque térmico	15	30	45

Temperatura: (°C) Tempo de choque térmico: (segundos)

Os ensaios foram realizados em três níveis equidistantes para 2 variáveis independentes (temperatura de autólise) e tempo de choque térmico, constituindo nove experimentos como mostra a tabela 2.

Tabela 2. Delineamento experimental

Experimentos	Temperatura (autólise)	Tempo choque térmico
01	53	45
02	55	30
03	51	15
04	51	30
05	55	45
06	53	15
07	55	15
08	51	45
09	53	30

4. Resultados e discussão

A tabela 3, mostra os resultados para os rendimentos de hidrólise do RNA a nucleotídeos após o choque térmico seguido da autólise. Para o cálculo do grau ou rendimento de hidrólise do RNA (R%), considerou-se a razão entre o teor de RNA solubilizado no sobrenadante (nucleotídeos) após a centrifugação e o teor de RNA total determinado na biomassa íntegra antes da autólise, conforme a expressão:

$$\text{Grau de hidrólise} = (\text{R}\%) = \frac{\text{Teor de nucleotídeos no sobrenadante}}{\text{Teor de RNA total na biomassa}} \times 100$$

Tabela 3. Rendimento de extração de RNA (R%)

Experimentos	T°C (autólise)	Tempo (choque)	R(%)
01	53	45	5,21
02	55	30	5,64
03	51	15	5,01
04	51	30	2,55
05	55	45	4,38
06	53	15	5,22
07	55	15	4,38
08	51	45	2,71
09	53	30	7,52

Observando-se os resultados da tabela 3, verifica-se que o melhor grau de hidrólise ocorreu para o experimento 9 onde as temperaturas de autólise e de choque térmico foram respectivamente de 53°C e 68°C por 30 segundos.

Embora trata-se de um dado interessante, salienta-se que este tipo de análise não tem validade estatística uma vez que não há nenhuma relação com as demais variáveis. Neste caso optou-se pela análise da superfície de resposta que relaciona a resposta do sistema com todas as variáveis.

A figura 1, ilustra a correlação entre as variáveis independentes (tempo e temperatura) e a resposta do sistema. Observa-se que a maximização da hidrólise ocorreu a uma faixa de temperatura entre 53,2 e 53,5°C para um tempo de choque térmico entre 25 a 30 segundos.

Da mesma forma a figura 2 indica os mesmos resultados, entretanto, correlaciona-se ao rendimento em relação a produção máxima de hidrolisado com as respectivas variáveis. O rendimento máximo observado em ambas as figuras situou-se na faixa de 6%. O baixo rendimento deveu-se provavelmente ao pequeno tempo de autólise de uma hora. Normalmente na indústria esse tempo varia entre 16 a 24 horas, depende da idade da levedura.

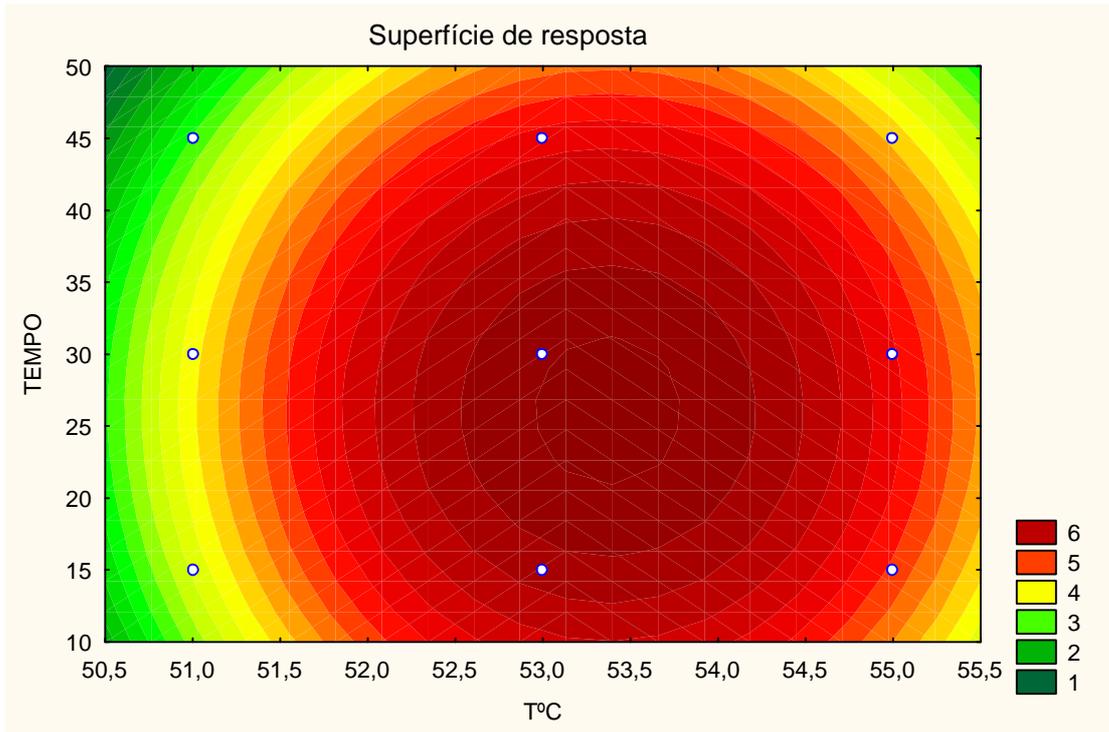


Figura 1. Correlação entre as variáveis tempo, temperatura na hidrólise do RNA

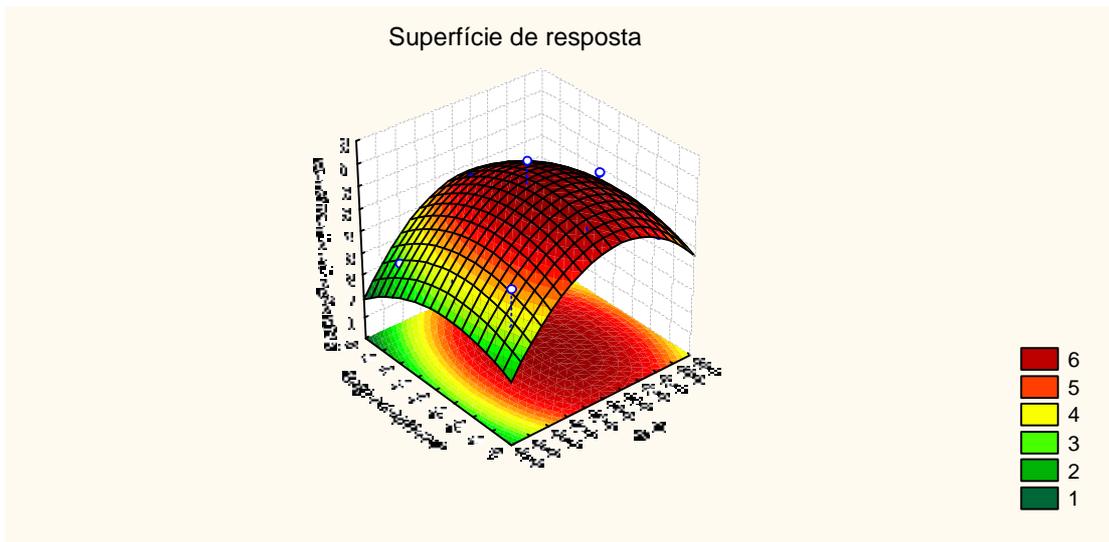


Figura 2. Correlação entre as variáveis e rendimento de hidrólise (superfície de resposta)

5. Conclusão

Os resultados indicaram uma faixa ótima de autólise entre 53,2 e 53,5°C, para uma temperatura de choque térmico de 68°C por 25 a 30 segundos. O melhor rendimento de extração de RNA para 1 hora de autólise situou-se entre 6%. Pode-se concluir de maneira genérica que a hidrólise do RNA não depende exclusivamente do choque térmico, o baixo rendimento obtido poderá estar relacionado ao baixo tempo de autólise. Uma sugestão seria avaliar este efeito.

6. Bibliografia

BOX, G. E. P.; BENKEN, D. W. Some new three level designs for the study of quantitative variables. **Technometrics: A journal of Washington**, v.2, n.4, p. 455-475, 1989.

CHAUD, S. G.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais (tecnológicas) de parede celular de leveduras da fermentação alcoólica e das frações glicana, manana e glicoproteína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, abr.-jun.2006.

CLIFFORD, A. J.; STOY, D. L. Level of purines in foods and their metabolic effects in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.106, n.3, p.435-442, 1976.

OLIVEIRA, A. M.; CASTRO GÓMEZ, R. J. **Otimização da extração de proteínas de levedura *Saccharomyces cerevisiae***. SEMINA. Universidade Estadual de Londrina. P. 521-534, 2005.

OLIVEIRA, A. M.; OLIVA-NETO. **Autolysis'optimization of brewery's yeast, aiming an extraction of ribonucleic acid and extract production**. Brazilian archives of biology and technology, Curitiba, 2008.

REED, G.; NAGODAWITHANA, T. W. **Savory Flavors**. New York: Estiekay Associates, 1995.

RUTZ, F. et al. Desempenho e características de carcaças de frangos de corte recebendo extrato de levedura na dieta. **Ciências animal Brasileira**, v.7, n.4, p.349-355, out./dez.2006.

SGARBIERI, V. C. et al. Produção piloto de Derivados de levedura (*saccharomyces* sp.) para Uso como Ingrediente na Formulação de alimentos. **Brazilian Journal Food Technology**, n.2, p.119-125, 1999.