

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFUNGICA DA CERVEJA EM MORANGOS**  
**(*Fragaria vesca L.*)**

**Patrícia de Moura Alves<sup>1</sup>, Ana Claudia Bello Pereira<sup>2</sup>; Ana Paula Pereira de Paula<sup>3</sup>;**  
**Anailda Angélica Lana Drumond<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Discente do curso de Engenharia Agrícola UnU Santa Helena, patylaves@hotmail.com

<sup>2</sup>Discente do curso de Engenharia Agrícola UnU Santa Helena, anaclaudiabello@hotmail.com

<sup>3</sup>Docente do curso de Engenharia Agrícola da UEG-UNU Santa Helena, anapaula\_sadia@hotmail.com

<sup>4</sup>Docente do curso de Engenharia Agrícola da UEG-UNU Santa Helena, anailda14@hyahoo.com.br

## **RESUMO**

O fruto do morangueiro, o morango, possui uma vida de prateleira estimada em sete dias, sendo assim, um produto de rápida perecibilidade. A comercialização do produto e a disponibilização ao consumidor são limitadas e o uso de recursos para prolongar à vida útil de prateleira dos frutos é vasto. O processamento dos alimentos minimiza as perdas pós-colheita, contudo estudos adicionais podem identificar novos métodos de conservação do produto. As aplicações de leveduras antagonistas com potencial killer, além de não deixar resíduos químicos, podem reduzir a proliferação dos fungos que degradam o fruto e causam seu apodrecimento. Por pertencer ao Reino *Fungi*, as leveduras possuem características semelhantes aos fungos, e, podem controlar o desenvolvimento e proliferação dos fungos. Com o objetivo de investigar a eficiência de um método novo para conservar morangos por períodos de tempo maiores foram formados quatro grupos de cinco morangos cada, os quais receberam os seguintes tratamentos: 100 % água; 75 % água + 25 % de cerveja; 50% água + 50 % de cerveja e 100 % cerveja por 24 horas de imersão. Após 8 dias utilizou-se como parâmetros de análise de dados o teste de firmeza dos frutos, peso de cada fruto e tempo para deterioração final. Observou-se que os frutos que ficaram emergidos por 24 horas na solução de 100% de cerveja apresentaram, ao final, maior porcentual de firmeza e menos deterioração. Também se constatou que, ao longo do experimento, as amostras submetidas a solução somente com água, levou menor tempo para se deformar.

**Palavras-chave:** leveduras, fungos, conservação.

## **INTRODUÇÃO**

O morango é um fruto que possui muitas doenças fúngicas de ordem severa que reduzem o seu tempo de armazenamento drasticamente, em comparação com outros frutos. É sensível a fatores externos e necessita de maiores cuidados em sua pós-colheita (GOUVEA, 2007). Geralmente pode-se manter as suas características iniciais mantendo-o conservado à temperatura de 0°C com 90-95% de umidade relativa durante 3-5 dias. Seu transporte deve ser realizado de forma refrigerada, dando condições de se manter a cadeia do frio (CANTILLANO, 2005). Devido a sua fácil perecibilidade estudos sobre formas de combate aos fungos que fazem sua deterioração podem maximizar seu tempo de prateleira.

A cerveja é uma bebida carbonatada de teor alcoólico entre 3 e 8% (v/v), preparada a partir de malte de cevada, lúpulo, fermento e água de boa qualidade, permitindo-se ainda o uso de outras matérias primas como arroz, milho e trigo (ALMEIDA E SILVA, 2005). A bebida apresenta características de um extrato de cereais sujeito a um processo de fabricação conhecido. Mas, a variação de matérias-primas e de algumas etapas da sua produção leva a um produto final de características organolépticas e de composição química distinta. O

**7ª JORNADA ACADÊMICA 2013**  
**18 a 23 de Novembro**  
**Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás**  
**Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho**

mosto fermentado tem concentração em açúcares específica, característica dos vários tipos de cerveja e que define o seu extrato primitivo; o teor alcoólico das cervejas está relacionado com o tipo de mosto que vai ser fermentado, com as temperaturas escolhidas para a fermentação e com as leveduras selecionadas (QUEIRÓS, 2008). As cervejas são classificadas em alta (“ale”) e baixa (“lager”) fermentação, sendo os sabores e aromas das cervejas “lager” mais suaves e leves. As cervejas do tipo “lager”, que são elaboradas com cepas de *Saccharomyces calshbergensis* são mais populares mundialmente e as do tipo “ale”, elaboradas com cepas de *Saccharomyces cerevisiae* são muito populares na Grã Bretanha (VARNAM E SUTHERLAND, 1997). Como exemplos de cerveja tipo “lager” se pode citar a Bock, Dortmunder, Stella Artois, Munchner, Pilsener e Vienna (Marzen) e de cerveja tipo “ale” tem-se a Porter, Stout, Salsons, Alt, Light ale, Pale ale, Bitters e Barley wines (ARAÚJO, SILVA e MINIM, 2003).

As leveduras têm distribuição mundial e metabolismo diversificado e especialidade fisiológica que proporciona a utilização de uma variedade de nutrientes em distintas condições ambientais. Diversas espécies estão associadas a processos industriais e descritas como patógenos oportunistas (FERREIRA, 2007). São microrganismos de relevância por serem ótimas produtoras de biocompostos e constituírem fonte de proteínas e vitaminas (KIRSOP & KURTZMAN, 1988). As micocinas ou toxinas *killer* são proteínas ou glicoproteínas extracelulares produzidas por leveduras e letais para linhagens da mesma levedura e para outras espécies. Normalmente, as micocinas contêm um componente protéico, apresentam atividade ótima em pH ácido (entre 3-6, com o ótimo entre 4-5) e são inativas em temperaturas superiores a 35°C. Possuem atividade antifúngica e são inativas ou pouco ativas diante de bactérias e protozoários (VITAL et al., 2002). Fungos filamentosos também podem ser susceptíveis às leveduras “*killer*”, constatando-se *Saccharomyces cerevisiae* (WALKER; MCLEOD; HODGSON, 1995) e *Sporobolomyces roseus* (JANISIEWICZ; PETERSON; BORS, 1994) entre as linhagens com maior potencial antagonico. Pesquisas visando incremento na produção de fator “*killer*” aliado a caracterização molecular abrem perspectivas para o desenvolvimento deste novo elemento no controle biológico (SUZUKI; NIKKUNI, 1994; KASHIWAGI et al., 1997).

O estudo do controle de doenças de fruto pós-colheita devido a fungos deteriorantes/toxicogênicos, associado à investigação de compostos bioativos inóculos compatíveis com a aplicação prática, é abordado na realização do experimento conduzido com intuito de analisar a influência das leveduras presentes em certa marca de cerveja comercial sabendo-se que a levedura em questão é do grupo *Saccharomyces cerevisiae*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual de Goiás, UnU- Santa Helena de Goiás, no laboratório de Engenharia Agrícola, destinado a condução de experimentos. Neste, as condições ambientais não sofreram modificações, sendo a temperatura média da 24,13°C na ocasião da realização do experimento e precipitação média de 19,1mm (INMET, 2013).

Foram obtidas 20 amostras de morangos, cedidos por produtores familiares do município de Rio Verde-Goiás. As amostras foram divididas em 4 grupos de 5 unidades cada e imersas em soluções com composições diferentes de água e cerveja, a saber: 100% água, 75 % água + 25 % de cerveja, 50% água + 50 % de cerveja e 100 % cerveja (Figura 1) em uma mistura de 200ml. As leveduras tiveram contato direto com os morangos e o ambiente, após período de imersão, era favorável ao desenvolvimento de fungos no fruto. O recipiente

**7ª JORNADA ACADÊMICA 2013**  
**18 a 23 de Novembro**  
**Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás**  
**Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho**

usado como testemunha continha somente água potável, mineral, e serviu como comparativo para os demais tratamentos. Para a determinação do caráter *killer* das leveduras presentes na cerveja foi usado o aspecto sensorial, onde depois de retirada das amostras da imersão da solução, dos seus respectivos recipientes, foi feito acompanhamento diário para avaliar a proliferação de fungos. Todas as partes do processo foram registradas e utilizou-se como parâmetros de análise de dados o teste de firmeza dos frutos, peso de cada fruto e análise de proliferação de fungos.



**Figura 1-** Recipientes contendo as amostras submetidas a imersão em soluções com diferentes concentrações de água + cerveja.

A firmeza da polpa foi feita através do teste de firmeza (N) nos 5 frutos de cada tratamento com o auxílio de um penetrômetro manual (FT02), cedido pra o experimento por uma graduada em biologia, que trabalha no laboratório de produção de alimento em uma empresa da região, fazendo-se uma punção na região central do fruto.

A perda de massa (peso), obtida por meio da diferença entre as pesagens dos frutos em cada intervalo de tempo e o tempo zero, sendo o resultado expresso em gramas, foi feita através de pesagem no início do experimento, em balança digital, de origem da instituição onde o experimento foi realizado, e a cada tempo de retirada de amostras foram pesadas novamente.

O tempo final de deterioração do fruto foi estimado a partir de quando o fruto perdeu todas as suas características, a forma, o cheiro e a coloração, sendo estes parâmetros observados visualmente, com teste sensorial de toque, olfativo e visual.

A incidência de fungos foi avaliada por inspeção visual. Os morangos que apresentaram qualquer sinal de desenvolvimento de fungos na superfície foram considerados deteriorados. Os resultados foram expressos como percentagem de morangos infectados. Já na análise microbiológica, foi realizada a contagem de fungos e leveduras, seguindo a metodologia descrita na APHA (2001), apenas no último dia de armazenamento. As leveduras diferem dos fungos por apresentarem caracteristicamente sob forma são facilmente diferenciadas das bactérias em virtude das suas dimensões maiores e de suas propriedades morfológicas. A identificação de fungos foi realizada por meio da observação de características morfológicas, como cor do micélio, cor dos conídios e característica das estruturas de reprodução. Procedeu-se à contagem padrão de fungos filamentosos e leveduras por meio da técnica de espalhamento em superfície, a análise microbiológica foi realizada ao longo do período de conservação conforme delineamento experimental. Os morangos foram distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso perfazendo os seguintes arranjos experimentais:

A. Nos morangos aplicou-se fatorial 5 x 24horas (morangos imersos x tempo de conservação em imersão 1dia);

**7ª JORNADA ACADÊMICA 2013**  
**18 a 23 de Novembro**  
**Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás**  
**Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho**

B. Concentração de imersão, fatorial 4 x 5 (numero de tratamentos, concentração total de solução 200 ml x números de amostras por tratamento);

C. Período de avaliação 8 x 5 (dias avaliados 8 x números de amostras por tratamento)

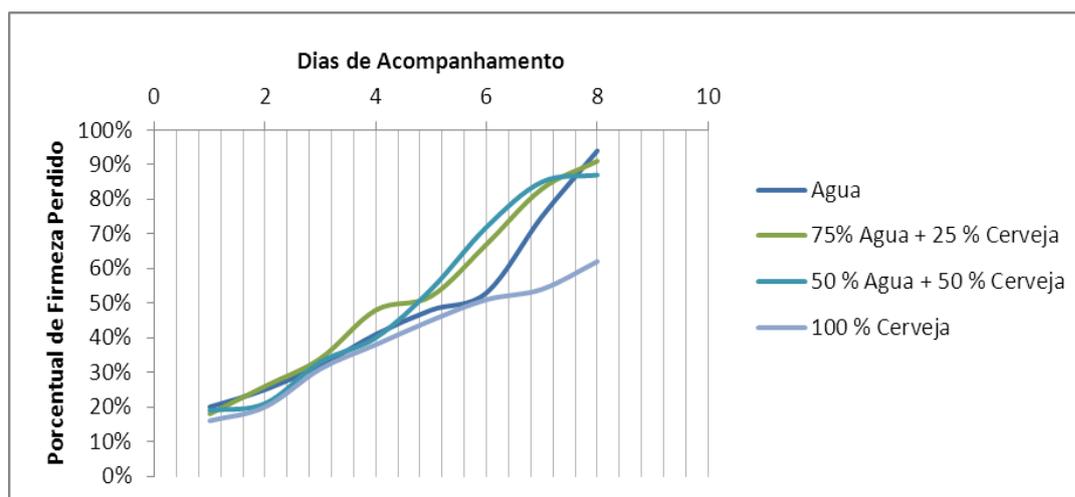
O numero de repetição destinado a cada unidade experimental foi limitado pela quantidade de matéria-prima, com um mínimo de 5 unidades/repetição.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Costa et al (2006) mostraram que morangos processados inteiros ou cortados, sanitizados em solução aquosa com cloro orgânico e conservados a 5°C, sob 90-95% UR, obtiveram vida útil de até 8 dias. Neste presente trabalho, com base nos dados coletados após 8 dias da realização do experimento, observaram-se as seguintes condições:

### Teste de firmeza dos frutos

As amostras embebidas na solução aquosa sem a presença de cerveja, e do levedo nela contido, após as 24 horas de imersão, perdeu 20 % da sua firmeza inicial, como podemos observar através do Figura 2.



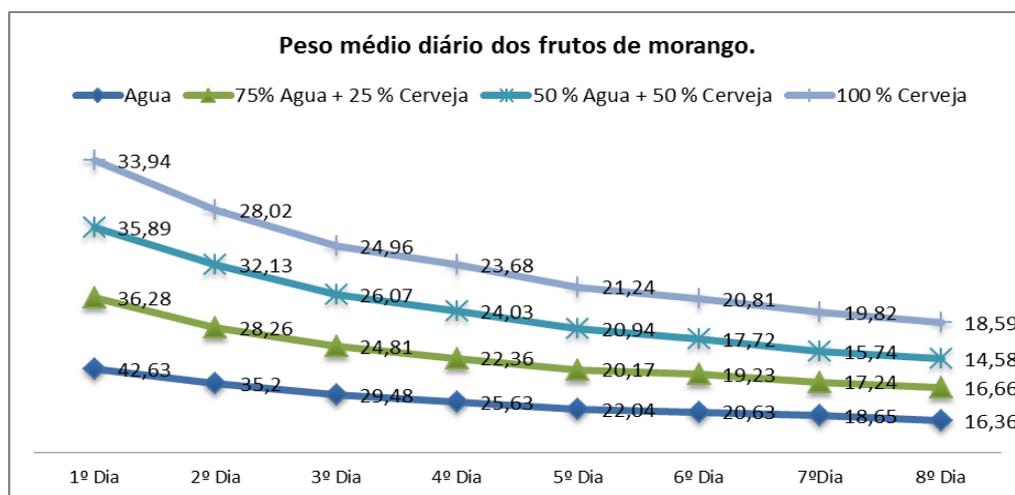
**Figura 2:** Determinação do Percentual de perda de firmeza em relação aos dias do experimento.

A perda de firmeza pelos morangos processados minimamente, observada após 7 dias de armazenamento, pode ser efeito do processamento mínimo e do processo de senescência. Segundo Watada, Abe e Yamuchi (1990) e Rolle e Chism (1987), esse tipo de processamento aumenta a perecibilidade do produto, dado o aumento da atividade metabólica e da descompartimentalização de enzimas e substratos, podendo resultar em perda de firmeza e outras alterações. Foram realizadas as leituras com um penetrômetro já descrito acima, sendo os resultados obtidos em libras (Lbf) e transformados para Newton (N), utilizando-se o fator de conversão de 4,45. Os resultados foram expressos em porcentagem, dado a comparação inicial de medição, com as seguintes, num esquema onde, o valor de firmeza inicial, corresponde a 100 % e as leituras posteriores, tendo seu cálculo feito em regra de três simples.

### Peso dos frutos

**7ª JORNADA ACADÊMICA 2013**  
**18 a 23 de Novembro**  
**Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás**  
**Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho**

Os frutos foram pesados, em grupos, de acordo com o tratamento, e ao final do experimento identificou-se a perda de massa dos mesmos, de acordo com cada tratamento (Figura 3).



**Figura 3:** Peso médio diário dos frutos de morango.

De acordo com o gráfico pode-se notar que a perda de massa do grupo que ficou imerso em cerveja foi de 45,23%, enquanto para o grupo “água” a perda de massa total dos frutos foi de 61%, demonstrando assim, que, amostras embebidas em água, perderam maior massa que amostras embebidas em cerveja.

#### Tempo final para deterioração do fruto

Após decorridos 8 dias os dados coletados sobre a deterioração foram tabulados considerando a ausência ou presença das características avaliadas. (Tabela 1)

**Tabela 1.** Referências de dados e tratamentos, onde A: indica a ausência da característica analisada, e , P: indica a presença da característica analisada ao final de 8 dias de tratamento.

CARACTERÍSTICAS	Tratamentos			
	100 % Água	75 % Água + 25% Cerveja	50 % Água + 50% Cerveja	100 % Cerveja
Forma	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.	1P, 2A, 3A, 4A e 5A.	1P, 2A, 3A, 4P e 5A.	1P, 2P, 3P, 4P e 5A.
Coloração	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.	1A, 2P, 3P, 4A e 5A.
Cheiro	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.	1A, 2A, 3A, 4A e 5A.

#### Incidência de fungos

A inspeção visual constatou que, ao final do experimento sendo que, as amostras que não foram imersas em cerveja, apresentou maior incidência de fungos, isto se dá ao fato das mesmas não terem contato com a levedura com potenciais *killer*, e, não tiveram proteção quanto a proliferação de fungos e leveduras. Observou-se também a criação de um mofo branco, que ocorreu em todas as amostras, submetidas a todos os tratamentos, mas que, quanto maior a concentração de cerveja, maior foi a resistência a perda de água, e a perda de estrutura do fruto. Observaram-se frutos, que ao final dos 8 dias de experimento, ainda possuíam sua forma original, firmeza e massa.

**7ª JORNADA ACADÊMICA 2013**  
**18 a 23 de Novembro**  
**Unidade Universitária de Santa Helena de Goiás**  
**Crescimento Regional – Inovação e tecnologia no mercado de trabalho**

Os resultados da imersão em cerveja, podem ser associados aos resultados, de morangos imersos em cálices por quantidade de dias diferenciados, proposto por Costa (2009) em seu trabalho que afirma que a imersão dos frutos em solução de cloro orgânico com 200 mg L<sup>-1</sup>, por 30 segundos, utilizada para a sanitização de morangos inteiros, proporciona um crescimento reduzido de fungos filamentosos e leveduras durante sua conservação 5±0,5 °C, além de tornar rápido o processo, sendo uma vantagem em escala industrial.

## **CONCLUSÕES**

Os frutos que ficaram imersos por 24 horas na solução de 100% de cerveja apresentaram, ao final, maior porcentual de firmeza e menor deterioração. Observou-se também que, ao longo do experimento, as amostras submetidas à solução somente com água levou menor tempo para se deformar. A perda de massa sofrida pelos frutos, durante o experimento, corresponde à perda de água pelos mesmos. O uso de cerveja contendo levedura *Saccharomyces cerevisiae* como elemento anulador de proliferação de fungos, pode ainda ser mais trabalhado, em futuros experimentos, também formas de aplicação da mesma sem afetar a qualidade do produto final.

## **REFERÊNCIAS**

- APHA - American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2001. 676 p.
- ALMEIDA E SILVA, J.B. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BPF / APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blucher, 2005. p.347-380.
- ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. **Perfil sensorial e composição físico- química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. v.23, n.2, p. 121-128, 2003.
- COSTA, F. B.. **Fisiologia e conservação de cultivares de morangos inteiros e minimamente processados**. Fisiologia e conservação de cultivares de morangos inteiros e minimamente processados. Viçosa Minas Gerais – Brasil 2009.
- COSTA F B; SIMÕES AN; MOREIRA SI; OLIVEIRA FC; TAKAYAMA AA; BARRELLA TP; PUSCHMAN R. 2006. **Tempo de drenagem em morango para processamento mínimo, em função do tempo de imersão em solução de cloro**. In: Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo De Frutos E Hortaliças, 4; Simpósio Ibero-Americano De Vegetais Frescos E Cortados, 1. Resumos. São Pedro: Usp/Esalq.
- HARDWICK, W. A. **Handbook of Brewing**. New York: Dekker, 1995, 713p.
- INMET. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/>. Acesso em: 15/10/2013
- JANISIEWICZ, W. J.; PETERSON, D. L.; BORS, R. **Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus***. Plant Disease, Saint Paul, v.78, n.5, p.466-470, 1994.
- KIRSOP, B.E.; KURTZMAN, C.P. **Yeast**. Cambridge University Press, Cambridge.233p. ,1988.
- QUEIRÓS, R. B. **Capacidade antioxidante de bebidas comerciais**. Dissertação. Mestrado em engenharia química ramo tecnologias de proteção ambiental, Setembro, 2008.
- ROLLE, R.; CHISM, G. W. **Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables**. Journal of Food Quality, Trumbull, v. 10, n. 3, p. 157-177, 1987.
- SUZUKI, C.; NUKKUNI, S. **The primary and subunit structure of a novel type killer toxin produced by a halotolerant yeast, *Pichia farinosa***. The Journal of Biological Chemistry, Bethesda, v.269, n.4, p.3041-3046, 1994.
- VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas**. Espanha: Acribia, 1997, 487p.
- VITAL, M.J.S. et al., **Mycocinogenic yeasts isolated from Amazon soils of the Maracá ecological Station**. Braz. J. Microbiol, v.33, n. 3, p. 230-235, 2002.
- WALKER, G.; MCLEOD, A.; HODGSON, V. **Interactions between killer yeast and pathogenic fungi**. FEMS Microbiology, Amsterdam, v.127, p.213-222, 1995.