

OTIMIZAÇÃO DA SPME PARA A ANÁLISE DIRETA DE VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR LEVEDURAS

Juliano Garavaglia (PG)*, Thiago Bjerk (PG), Andressa Habekost (IC), Patricia Valente (PQ), Rosana de Cassia de Souza Schneider (PQ)

* Laboratório de Biotecnologia, Campus Bento Gonçalves, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS, Bento Gonçalves, RS, Brasil, e-mail: juliano.garavaglia@bento.ifrs.edu.br
Laboratório de Fungos de Importância Médica e Biotecnológica, Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil

Depto de Química e Física, Universidade de Santa Cruz do Sul, UNISC, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

Palavras Chave: leveduras, SPME, compostos voláteis

Introdução

Na indústria de bebidas, as leveduras possuem um papel fundamental, pois, podem produzir, etanol, alcoóis superiores e ésteres (Rojas *et al.*, 2001)¹. Segundo Fabre *et al.*² a produção de aromas por microrganismos é muito dependente de vários fatores, tais como, pH, temperatura e a natureza das fontes de carbono e nitrogênio. Além disso, a quantificação destes componentes é dificultada pela natureza volátil das mesmas. Com base nisto, buscou-se aplicar a microextração em fase sólida (SPME) para a análise qualitativa dos componentes voláteis produzidos por diferentes cepas de leveduras.

Resultados e Discussão

Para os experimentos foi utilizada a levedura *Candida* sp QU 79, isolada a partir de queijos artesanais produzidos no Rio Grande do Sul. Para o cultivo, foram comparados os meios YEPD e GYP. A análise de compostos voláteis foi otimizada com relação ao tipo de fibra de SPME, tempo de exposição e altura da fibra em relação ao meio. A levedura QU 79 foi semeada diretamente em meio sólido dentro dos frascos para extração. Alíquotas de 1,5 mL de meio foram introduzidas em frascos de SPME de cor âmbar de 4 mL, que foram fechados com septos de silicone e o meio foi esterilizado (autoclave a temperatura de 121 °C por 15 minutos). Após, a levedura foi semeada em estrias na superfície do meio inclinado e os frascos foram mantidos em 25 °C por 5 dias para crescimento. O mesmo procedimento foi realizado no mínimo em triplicata e para cada meio de cultura. As fibras testadas foram de DVB/Carboxen/PDMS (30 µm) e PDMS/DVB (65 µm). A análise foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) em um equipamento Shimadzu QP2010plus. A coluna utilizada foi a ZBwax (30m x 0,25 mm x 0,25 µm) com injetor splitless a 250°C, coluna inicialmente a 50°C, com aumento de 5 °C

min⁻¹ até 100 °C e 15 °C.min⁻¹ até 200 °C. O volume injetado foi de 1 µL com vazão da fase móvel (He) de 1 mL.min⁻¹ e o detector foi utilizado no modo *scan*. Os melhores resultados foram encontrados com a fibra DVB/Carboxen/PDMS, uma vez que os compostos produzidos pelas leveduras no meio são na maioria ésteres e álcoois. A altura da fibra em relação ao meio foi definida em 0,2 cm e o menor tempo de exposição da fibra no *vial* foi de 10 min. Nestas condições foi possível identificar a presença de 3-metil-1-butanol (GYP), 1-hexanol (YEPD), benzaldeído (YEPD), acetato de etila (GYP) e 2-metil-1-propanol (GYP), entre outros. Estes compostos identificados são considerados importantes para a complexidade aromática de bebidas, sendo tipicamente produzidos por leveduras em processo fermentativo. Conforme resultados encontrados por SPME a partir dos dois meios de cultura avaliados, o meio GYP apresentou resultados mais favoráveis, além de apresentar menor quantidade de compostos voláteis provenientes do próprio meio, interferentes para a identificação dos componentes voláteis produzidos pela levedura.

Conclusões

A técnica de SPME pode ser utilizada para a identificação dos compostos voláteis produzidos por um cultivo leveduras diretamente nos *vials* de análise, tornando mais rápido o *screening* de leveduras com potencial para produção de compostos voláteis.

Agradecimentos

PPGBCM/UFRGS e FAP-UNISC

¹ Rojas, V., Gil, V.J., Piñaga, F., Manzanares, P. . *International Journal of Food Microbiology*, **2001**, *7*, 283–289.

² Fabre, C.E; Blanc, P.J., Goma, G. Production of 2-phenylethyl alcohol by *Kluyveromyces marxianus*. *Biotechnol Prog*, **1998**, *14*, 270–264.