

# CINETICA DE INACTIVACION TERMICA EN CREMAS DE LEVADURAS INDUSTRIALES TERMOLIZADAS

MARTA LEON\*, MIGUEL A. OTERO\*, JOSEFINA RODRIGUEZ\*,  
ARTURO GONZALEZ\* y ANA L. GONZALEZ\*

\* INSTITUTO CUBANO DE INVESTIGACIONES DE LOS DERIVADOS DE LA CAÑA DE AZUCAR (ICIDCA)

## Resumen

Se estudió la cinética de inactivación térmica de levaduras y microorganismos contaminantes en cremas de levaduras industriales termolizadas. Se determinaron las constantes cinéticas del sistema (K, D, Ea, Z). Fue suficiente 70°C por un minuto para reducir a cero la viabilidad de levaduras, mientras que aún a 90 y 100°C aparece viabilidad residual de bacterias.

## Abstract

The kinetic of thermic inactivation of yeasts contaminants in thermolyzed industrial yeast biomass was studied. The kinetics constants from the system (K, D, Ea, Z) were determined. It was sufficient 70°C during 1 minute to reduce the viability of yeasts to zero, while at 90 and 100°C residual viability of bacteria is showed.

## Introducción

La tecnología de producción de levadura forrajera lleva entre sus múltiples etapas el proceso de termólisis de la crema centrifugada, que prepara el producto para las etapas siguientes de recuperación (evaporación y secado) produciendo teóricamente la muerte térmica de los microorganismos presentes.

Cuando se desvían cantidades importantes de esta crema hacia la elaboración de la miel proteica, el paso de termólisis alcanza una importancia fundamental, al eliminarse evaporación y secado y por tanto la contribución de éstas a la muerte de las levaduras y posibles contaminantes.

La termólisis se lleva a cabo en las plantas de levadura de tecnología Speichim, sometiendo la crema a un calentamiento hasta 95°C manteniéndose la temperatura por un intervalo de 6-10 minutos.

Sin embargo el análisis microbiológico de las cremas termolizadas arroja conteo de viables del orden de  $10^3$  y  $10^4$  en levaduras y hasta  $10^7$  en bacterias<sup>1</sup> lo cual es

a todas luces indeseable a los efectos de la durabilidad del producto.

El presente trabajo fue iniciado para estudiar la cinética de la muerte térmica en las levaduras y las bacterias presentes en la crema industrial del CAI *Esteban Hernández*.

Existen numerosos reportes sobre utilización de alimentos y suspensiones biológicas tanto para levaduras<sup>2-4</sup> como bacterias<sup>5-7</sup>.

Török y Reichart<sup>8</sup> han estudiado la cinética de inactivación térmica de levaduras sucrotolerantes en gran detalle en función de la actividad del agua en el medio.

En particular resulta interesante el trabajo realizado por Reichart<sup>9</sup> en este aspecto para levaduras y bacterias.

El objetivo de nuestro trabajo es definir las condiciones en las cuales se inactivan las levaduras presentes en la crema y se reduce la contaminación de bacterias viables para ser utilizados en la obtención de un diseño de termolizador más eficiente a

Los fines de la producción de miel proteica.

## Materiales y Métodos

### Microorganismos

Se empleó como muestra en todos los experimentos crema de levadura de la segunda separadora del CAI *Esteban Hernández* de la provincia de Matanzas. En las mismas fueron identificadas levaduras del género. *Candida* sp y bacterias mayoritariamente *Bacillus* sp.

### Determinación taxonómica

Las bacterias detectadas fueron identificadas taxónomicamente según *Bergey*<sup>10</sup> Las levaduras viables fueron identificadas según las técnicas taxonómicas de *Lodder*<sup>11</sup>.

### Tratamiento térmico

El calentamiento de la suspensión de células fue realizado en un termostato de inmersión vigorosamente agitado con un coil de cobre de 5 mm de diámetro interior y una longitud de 4 metros. La crema fue bombeada a través del mismo con una bomba peristáltica MHRE 200 Watson-Marlon, England, al flujo adecuado para garantizar el alcance de la temperatura deseada en pocos segundos. El tiempo de retención fue obtenido en otro termostato a la temperatura de interés excepto para 1 minuto el cual se alcanzó en el propio coil. Una vez transcurrido el tiempo de retención para cada muestra la misma se enfrió rápidamente tomándose alícuotas para el análisis de levadura y bacterias viables.

### Determinación de microorganismos viables

Se realizó siembra por dilución en placas de agar-malta a pH 4 aproximadamente, incubándose durante 24, 48 y 72 horas hasta 5 días; según *Harrigan*<sup>12</sup> y por conteo directo.

La viabilidad de las células de levadura fue determinada en todas las combinaciones experimentales. Como promedio las cremas recibidas se encontraban en el entorno de  $10^{17}$  células/ml de suspensión respondiendo a una viabilidad del 97 %.

## Resultados y Discusión

No se detectaron levaduras viables en ninguna de las muestras después de tratamiento.

Tiempos de retención tan breves como 1 min a 70°C son suficientes para la inactivación total de todas las levaduras presentes.

No se detectaron hongos en las cremas originales.

Se ploteo el logaritmo de viables contra el tiempo a diferentes temperaturas para obtener los valores de las constantes cinéticas del sistema:

Coefficiente de muerte térmica (K) Tiempo de reducción decimal (D) resistividad térmica (Z) y energía de activación aparente ( $E_a$ ) según Arrhenius.

En todos los casos se calcularon las mejores rectas por regresión lineal por mínimos cuadrados.

La muerte térmica de los microorganismos en general está definida por la expresión:

$$\frac{dN}{dt} = -KN$$

de donde  $N = N_0 e^{-Kt}$

N = Concentración de viables

t = Tiempo

K = Coeficiente de velocidad de muerte

El método se ilustra en la figura 1 para uno de los experimentos realizados en el trabajo.

A partir de los valores de k puede determinarse el tiempo de reducción decimal para cada temperatura:

$$D = \frac{2,303}{K}$$

Ambos valores se calculan a partir de la pendiente de la fase logarítmica de la curva de viables.

Los datos de los cálculos cinéticos se sumarizan en la tabla 1.

Las rectas de regresión presentan un ajuste excelente como puede observarse de los coeficientes de correlación calculados.

Los valores obtenidos para K y D no se corresponden con los aportados por *Török* y *Reichart*<sup>8</sup> y *Deindoerfer* y *Humphrey*<sup>13</sup>.

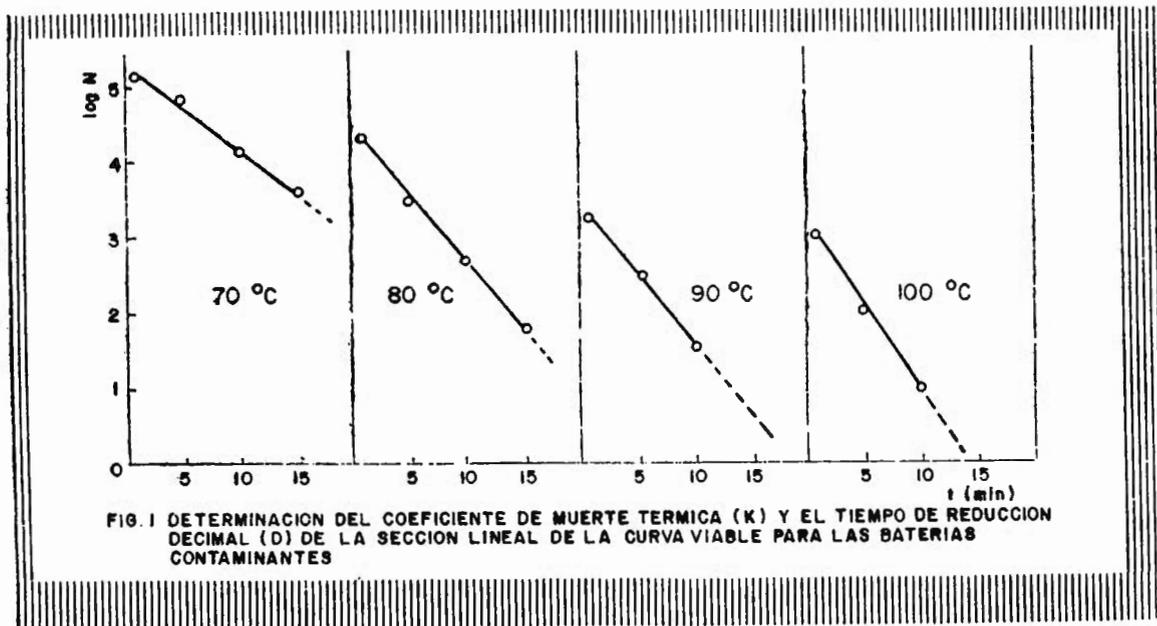


Tabla 1. Evaluación de la destrucción térmica de las bacterias contaminantes en la crema de levadura industrial

Temp. °C	Tiempo min	Bacterias viables	Ecuación de la curva de muerte térmica	r	K ( $min^{-1}$ )	D (min)
70°C	1	$1,5 \cdot 10^7$	$\text{Log } N = 5,389 - 0,161 t$	-0,995	0,07	32,90
	5	$8,1 \cdot 10^4$				
	10	$1,5 \cdot 10^1$				
	15	$5,1 \cdot 10^{-1}$				
80°C	1	$2,0 \cdot 10^4$	$\text{Log } N = 21,312 - 0,177 t$	-0,998	0,080	29,93
	5	$3,0 \cdot 10^3$				
	10	$5,0 \cdot 10^2$				
	15	$6,0 \cdot 10^1$				
96	1	$2,0 \cdot 10^3$	$\text{Log } N = 3,485 - 0,195 t$	-1,000	0,085	27,09
	5	$3,1 \cdot 10^2$				
	10	$3,5 \cdot 10^1$				
	15	0				
	1	$1,1 \cdot 10^3$	$\text{Log } N = 3,217 - 0,226 t$	-0,997	0,098	23,50
	5	$1,0 \cdot 10^2$				
	10	$1,0 \cdot 10^1$				
	15	0				

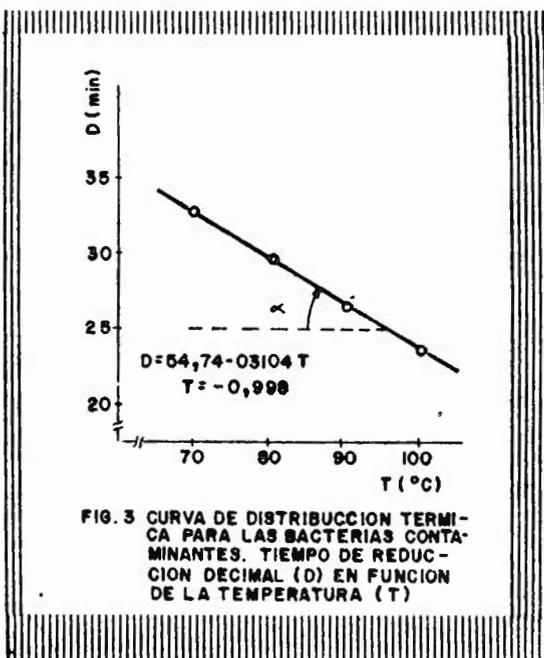
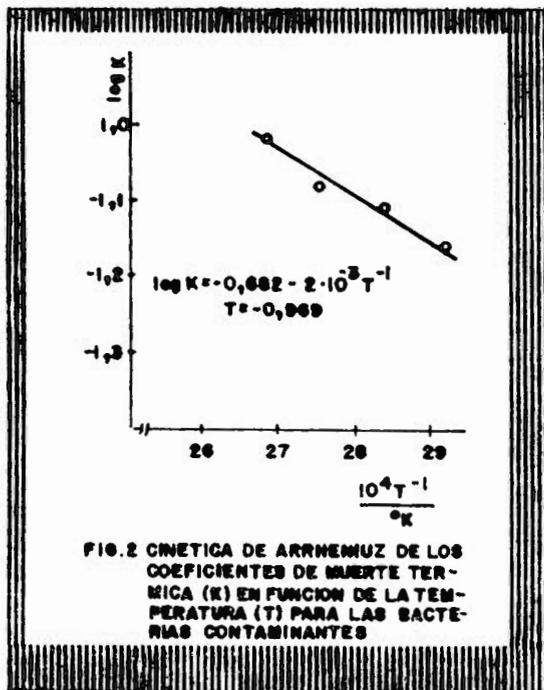
Los valores de K se encuentran por debajo, mientras que los de D están por encima en todos los casos. Sin embargo se ha reportado que la actividad del agua tiene una influencia notable en este índice, lo cual se corresponde con las características de nuestras muestras, donde existe una alta concentración celular de levadura que hace disminuir la actividad del agua a diferencia de la muestra tratada

por los autores de la bibliografía consultada.

A valores de  $a_w = 0,99$  los valores obtenidos para E. coli con 1,2 minutos; mientras que a  $a_w = 0,90$  la cifra se eleva hasta  $46,5 \text{ min}^{14}$ .

Scott ha hecho una revisión pormenorizada de estos aspectos y su influencia sobre el crecimiento microbiano<sup>15</sup>.

Con los datos de la tabla 1 se construyeron las figuras 2 y 3.



La figura 2 ofrece el ploteo de la cinética de Arrhenius para la variación del coeficiente de muerte térmica con respecto a la temperatura en grados absolutos según la expresión:

$$k = C e^{-\frac{E_a}{Rt}}$$

$E_a$  = energía de activación aparente  
 $R$  = constante universal de los gases

El valor de  $E_a$  puede ser calculado a partir de la pendiente de la recta.

Para las bacterias contaminantes se obtuvo un valor de  $E_a = 3,8 \cdot 10^4$  joule  $\text{mol}^{-1}$ , valor ligeramente inferior al reportado para *B. stearotherophilum*<sup>9</sup> que se encuentra en el orden de  $10^4$  joule  $\text{mol}^{-1}$ . La figura 3 muestra la correlación entre el tiempo de reducción decimal y la temperatura en grados Celsius.

A partir de estos datos puede calcularse la resistividad térmica de los microorganismos presentes (Z) como el recíproco negativo de la pendiente de la recta de destrucción térmica.

$$Z = -\frac{1}{\tan}$$

El valor obtenido para Z en nuestro caso fue de 3,22°C lo que representa el cambio de temperatura necesario para decuplicar la velocidad de destrucción térmica.

Este dato se encuentra en el entorno de lo reportado para otras bacterias<sup>9</sup>.

### Conclusiones

- La sensibilidad de las levaduras al tratamiento térmico es elevada aún en condiciones de alta densidad celular como las presentes.
- Es suficiente 70°C por 1 min para que el conteo de viables descienda a 0.
- Las bacterias presentan una resistividad superior apareciendo viabilidad residual aún a 90 y 100°C. Bajo nuestras condiciones experimentales fueron necesarios 15 min de calentamiento a las dos temperaturas para reducir la viabilidad a cero.
- Para estos microorganismos las constantes cinéticas calculadas se encontraban en el orden de lo esperado a excepción de D y K cuyos valores difieren de los reportados por algunos autores probablemente debido a la baja actividad del agua ( $a_w$ ) en el medio de tratamiento.
- Es imprescindible para obtener niveles de viables adecuados en las cremas destinadas a la producción de miel proteica garantizar temperaturas no menores de 90°C y tiempos de 5-10 min como míni-

mo. Bajo estas condiciones el nivel de contaminación bacteriana puede reducirse hasta el orden de  $10^2$  asegurando una viabilidad de cero o cercana para las levaduras, sólo si se alcanza una uniformidad de calentamiento en todo el volumen de crema.

- Del hecho de que las cremas industriales termolizadas hayan arrojado conteo de viables elevados como se señala al inicio de este trabajo, se sugiere ir al análisis riguroso de la eficiencia de los termolizadores que actualmente se emplean en la planta o al chequeo del cumplimiento de los parámetros tecnológicos establecidos.

### Bibliografía

1. O. M. Villa: Informe interno ICIDCA. 1985.
2. T. P. Labuza, K. A. Jones, A. L. Sinkey, et al: Effect of drying conditions cell viability and functional properties of single, cell protein. *J. Food Sci.* 37, 1972.
3. K. E. Stevenson and L. J. Richard: The thermal injury and recovery of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Food Sci.* 41, 1976.
4. T. R. Graumlich and K. E. Stevenson: Recovery of thermally insured *Saccharomyces cerevisiae*. Effect of media and storage. *J. Food Sci.* 43, 1978.
5. W. A. Moats, E. Dabbah and V. M. Edwards: Interpretation of nonlogarithmic survivor curves of heated bacteria. *J. Food Science*, 36, 1971.
6. R. A. Jakobs, L. L. Kempe and N. A. Milone: *J. Food Sci.* 38, 1973, 168.
7. J. E. Corry: The effect of Sugar and Polyols on the heat resistance of *Salmonellae*. *J. Appl. Bact.* 37, 1974.
8. T. Török and O. Reichart: Thermal inactivation kinetics of sugar-tolerant yeast. *J. Appl. Microbiol Biotechnol.* 17, 1983.
9. O. Reichart: A new experimental methods of the determination of the heat destruction parameters of microorganism. *Acta Alimentaria*, 8, 1979.
10. Bergey: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8va ed., 1974.
11. J. Lodder: The yeast, a Taxonomic Study, 8va. ed., Ed.
12. W. F. Harrigan: Métodos de Laboratorio de microbiología. Ed. Academia España 1968.
13. F. H. Deindoerfer and A. E. Humphrey: *Appl. Microbiol.* 7, 1959, 256.
14. J. M. Gopfert, T. K. Iskander and C. H. Amundson: Relation of the heat resistance of *Salmonellae* to the water activity of the environment. *Appl. Microbiol.* 19, 1970.
15. W. J. Scott: Water relations of food spoilage microorganism. *Adv. Fd. Res.* 7, 1957.