



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA (UFBA)
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

LAISE CEDRAZ PINTO

**APROVEITAMENTO DE PRODUTOS DERIVADOS DE LEVEDURA
(*Saccharomyces* spp.) PARA O ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL
DE ALIMENTOS À BASE DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*
CRANTZ)**

**Salvador
2011**

LAISE CEDRAZ PINTO

**APROVEITAMENTO DE PRODUTOS DERIVADOS DE LEVEDURA
(*Saccharomyces* spp.) PARA O ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL
DE ALIMENTOS À BASE DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*
CRANTZ)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, sob orientação do Prof.º Drº Celso Duarte Carvalho Filho e co-orientação da Prof.^a Dr.^a Mariângela Vieira Lopes Silva.

**Salvador
2011**

Sistema de Bibliotecas - UFBA

Pinto, Laise Cedraz.

Aproveitamento de produtos derivados de levedura (*Saccharomyces spp.*) para o enriquecimento nutricional de alimentos à base de mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ) / Laise Cedraz Pinto. - 2011.
107 f.

Orientador: Prof. Dr. Celso Duarte Carvalho Filho.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Mariângela Vieira Lopes Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2011.

1. Leveduras. 2. Cerveja - Indústria - Subprodutos. 3. Mandioca - Produtos. 4. Alimentos enriquecidos. I. Carvalho Filho, Celso Duarte. II. Silva, Mariângela Vieira Lopes. III. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD - 579.562

CDU - 663.123



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA (UFBA)
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

LAISE CEDRAZ PINTO

APROVEITAMENTO DE PRODUTOS DERIVADOS DE LEVEDURA
(*Saccharomyces spp.*) PARA O ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE
ALIMENTOS À BASE DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* CRANTZ)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos,
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Celso Duarte Carvalho Filho
Universidade Federal da Bahia
Orientador

Ligia Regina Randomille de Santana
Universidade do Estado da Bahia

Marcelo Andres Umsza Guez
Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

“Na imensidão celestial as estrelas brilham, mesmo que por reflexo, orientando a luz na escuridão. Da mesma forma somos nós, de início nos orientando e espelhando o brilho das mentes iluminadas, para que com o trabalho, a busca e a evolução espiritual, possamos cultivar a própria luz.” (Eneo da Silva Júnior)

Dedico este trabalho aos meus pais, esposo, irmãos e sobrinho - pessoas intimamente ligadas a minha vida que compartilharam esse momento demonstrando amor, carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao Grupo de Pesquisa em Alimentos e Nutrição (GPAN), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB);

À Prof.^a Mariângela Lopes, exemplo de comprometimento e dedicação, por toda orientação, disponibilidade, atenção e amizade em mais uma etapa da minha vida;

Ao Prof.^o Celso Carvalho Filho por toda orientação, confiança depositada, estímulo e a sempre disponibilidade dada durante esta etapa;

À Prof.^a Lígia Regina, pela atenção, disponibilidade, amizade e valiosa colaboração nas análises sensoriais e estatísticas;

À Prof.^a Clícia Benevides, pela amizade, opiniões, criatividade e colaboração durante as etapas de trabalho;

Aos amigos: parceiro do Projeto de Pesquisa Lucas Alves, e aos colegas de laboratório Cecília Araújo e Maurício Palmeira, pela ajuda na execução das atividades práticas, presença durante a minha jornada e pela amizade iniciada neste período;

À Prof.^a Alaíse Gil Guimarães por sempre estar disposta em ajudar e pela grande participação e orientação nas análises microbiológicas;

À equipe do Laboratório de Pesquisa em Microbiologia de Alimentos, pela colaboração, inclusive a integrante Luíse e a monitora Paloma.

Aos colegas de mestrado, especialmente, Mariana, Rodrigo, Simone, Edgar, Jaqueline, Paula e Jeane, pela amizade e colaboração na realização de algumas análises.

À Prof.^a Isabel Oliveira e a Rodrigo, por terem mediado a coleta das amostras da cervejaria;

À União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME) por ter concedido a utilização de equipamento, mediado pelo Prof.^o Manoel Chagas e técnico Moacildo;

Ao Prof.^o Manoel Neto pela força e incentivo e às funcionárias Rose e Mônica por todo apoio;

Aos amigos Hyrlam e Celeste pela colaboração e troca de experiências;

À equipe do Laboratório de Química Analítica, do Instituto de Química da UFBA, especialmente Daniela, Isa e Larissa, pelas análises de minerais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento do Projeto de Pesquisa, bolsa de inovação tecnológica e pelo Auxílio dissertação concedidos;

À Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Instituição vinculada ao Projeto de Pesquisa, que possibilitou a maior parte da execução das atividades;

À minha família que me amparou em todos os momentos;

Aos amigos e familiares, e a todas as pessoas não mencionadas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho: Muito obrigada!

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	xi
Lista de tabelas.....	xiii
Lista de quadro.....	xiv
Resumo.....	xv
Abstract.....	xvii
Introdução Geral	19

CAPÍTULO 1: Aproveitamento de subprodutos da levedura como ingrediente nutritivo na dieta alimentar

Resumo	22
Abstract.....	22
1. Introdução	23
2. Processo de produção de cerveja.....	25
3. Produção de biomassa de levedura no Brasil.....	27
4. Aspectos nutricionais da levedura e derivados.....	29
4.1. Valor nutritivo da levedura como subproduto da cerveja e destilarias de álcool.....	29
5. Aplicações farmacêuticas da levedura.....	33
6. Aspectos gerais sobre o emprego da levedura e derivados como ingrediente nutritivo em alimentos.....	35
6.1. Uso da levedura na alimentação animal.....	35
6.2. Fatores limitantes e estudo de toxicidade.....	36
6.3. Processos de obtenção de derivados de levedura.....	38

6.4. Uso da levedura na dieta alimentar humana.....	40
7. A mandioca e seus derivados como alimento base para o enriquecimento nutricional.....	43
8. Conclusões.....	45
Referências.....	46

CAPÍTULO 2: Determinação do valor nutritivo de derivados de levedura de cervejaria

Resumo	54
Abstract.....	55
1. Introdução.....	56
2. Materiais e Métodos.....	57
2.1. Coleta e tratamento das amostras.....	57
2.2. Liofilização da biomassa úmida.....	58
2.3. Composição centesimal.....	59
2.4. Composição mineral.....	60
2.5. Composição vitamínica.....	61
2.6. Determinação de pH.....	61
2.7. Análise estatística.....	61
3. Resultados e discussão.....	62
4. Conclusões.....	70
Referências.....	71

CAPÍTULO 3: Aproveitamento de levedura de cervejaria para enriquecimento nutricional de alimentos derivados de mandioca

Resumo	76
Abstract.....	77
1. Introdução.....	78
2. Materiais e Métodos.....	79
2.1. Coleta e tratamento das amostras.....	79
2.2. Liofilização da biomassa úmida.....	80
2.3. Enriquecimento da farinha de mandioca e beiju.....	81
2.4. Composição centesimal.....	82
2.5. Análise microbiológica.....	83
2.6. Análise de atividade de água.....	85
2.7. Análise sensorial.....	85
2.8. Análise estatística.....	88
3. Resultados e discussão.....	89
4. Conclusões.....	99
Referências.....	100
Considerações finais.....	104
Anexo.....	105

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: Aproveitamento de subprodutos da levedura (*Saccharomyces* spp.) como ingrediente nutritivo na dieta alimentar

Figura 1: Fluxograma de produção de cerveja e obtenção da levedura secundária (adaptado de Aquarone et al, 1993)	27
Figura 2: Processo de limpeza e desamargamento de biomassa de levedura de cervejarias (retirado de Sgarbieiri et al, 1999).....	39
Figura 3: Diagrama de fases da água mostrando a sublimação do gelo (retirado de Fellows, 2006).....	40

CAPÍTULO 2: Determinação do valor nutritivo de derivados de levedura de cervejaria

Figura 1: Amostras da levedura de cervejaria em suspensão.....	57
Figura 2: Amostras da levedura de cervejaria em suspensão.....	57
Figura 3: Fluxograma de tratamento da levedura secundária para obtenção da biomassa de levedura (adaptado de Sagarbieiri et al, 1999)....	58
Figura 4: Tratamento de limpeza das amostras: processo de centrifugação, descarte do sobrenadante e obtenção da biomassa úmida.....	58
Figura 5: Biomassa de levedura após retirada do liofilizador.....	59
Figura 6: Biomassa de levedura liofilizada e homogeneizada.....	59

CAPÍTULO 3: Aproveitamento de levedura de cervejaria para enriquecimento nutricional de alimentos derivados de mandioca

Figura 1: Fluxograma do tratamento da levedura secundária para obtenção da biomassa de levedura (adaptado de Sagarbieiri et al, 1999)....	80
Figura 2: Fluxograma de preparo da farofa padrão e enriquecida.....	81

Figura 3: Fluxograma de elaboração do beiju padrão e enriquecido.....	82
Figura 4: Apresentação das amostras de farofa Padrão (FP), farofas enriquecidas FA5 e FA10, respectivamente, para avaliação sensorial.....	87
Figura 5: Apresentação das amostras de beiju Padrão (BP), beijus enriquecidos BJ5 e BJ10, respectivamente, para avaliação sensorial.....	87
Figura 6: Ficha da avaliação sensorial aplicada para o teste de aceitação e intenção de compra dos produtos farofa e beiju enriquecidos.....	88
Figura 7: Porcentual das notas de intenção de compra para FP.....	96
Figura 8: Porcentual das notas de intenção de compra para FA5.....	96
Figura 9: Porcentual de notas de intenção de compra para FA10.....	96
Figura 10: Porcentual de notas de intenção de compra para BP.....	96
Figura 11: Porcentual de notas de intenção de compra para BJ5.....	96
Figura 12: Porcentual de notas de intenção de compra para o BJ10.....	96

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2: Determinação do valor nutritivo de derivados de levedura de cervejaria

Tabela 1: Composição centesimal (g%) da biomassa úmida e liofilizada de levedura.....	62
Tabela 2: Composição centesimal (g%) dos liofilizados de levedura.....	64
Tabela 3: Composição mineral (mg%) do liofilizado 1 e 2	65
Tabela 4: Composição de vitaminas (mg%) do liofilizado 1 (antes do tratamento) e liofilizado 2 (após o tratamento).....	67
Tabela 5: Valores médios e desvio padrão ($X \pm S$) do pH da biomassa e liofilizado com e sem tratamento alcalino.....	69

CAPÍTULO 3: Aproveitamento de levedura de cervejaria para enriquecimento nutricional de alimentos derivados de mandioca

Tabela 1: Composição de ingredientes da farofa padrão e enriquecida com 5 e 10% de biomassa liofilizada.....	85
Tabela 2: Composição de ingredientes do beiju padrão e enriquecido com 5 e 10% de biomassa liofilizada.....	86
Tabela 3: Composição centesimal da biomassa liofilizada de levedura.....	89
Tabela 4: Composição centesimal (g%) do beiju padrão (BP) e dos beijus enriquecidos (BJ5 e BJ10).....	90
Tabela 5: Composição centesimal (g%) da farinha de mandioca padrão (FP) e farofas enriquecidas (FA5 e FA10).....	90
Tabela 6: Determinação de microorganismos nos ingredientes base para elaboração dos produtos enriquecidos, conforme RDC n° 12/2001 (BRASIL, 2001).....	93
Tabela 7: Média dos atributos sensoriais avaliados, segundo os tratamentos.....	94

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1: Aproveitamento de subprodutos da levedura (*Saccharomyces* spp.) como ingrediente nutritivo na dieta alimentar

Quadro 1: Teor de aminoácidos g% em leveduras secas secundárias da fermentação etanólica e de cervejarias.....	32
--	----

RESUMO

As leveduras (*Saccharomyces spp.*) são utilizadas em variados processos fermentativos. O Brasil produz atualmente uma grande quantidade de biomassa de levedura como subproduto das indústrias cervejeiras. No processo de produção da cerveja, após a maturação, estes micro-organismos são retirados do mosto de fermentação gerando excedentes de células, que são descartados no ambiente ou utilizados, principalmente, na alimentação animal. As leveduras apresentam um potencial nutritivo, especialmente no teor de proteínas, vitaminas do complexo B e minerais, que, desta forma, poderiam ser aproveitadas como ingrediente nutritivo para alimentação humana, como em alimentos regionais derivados da mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ). A farinha de mandioca e o beiju são muito consumidos pela população Nordestina, porém apresentam baixo teor protéico, sendo considerados apenas como fonte energética. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil nutricional e o potencial de utilização de derivados da levedura secundária da indústria cervejeira como ingrediente nutritivo em alimentos; elaborar farinha de mandioca e beiju adicionados de liofilizado da levedura e avaliar o enriquecimento nutricional e a aceitação sensorial destes produtos regionais. As amostras foram cedidas por uma cervejaria de Feira de Santana, BA, em dois momentos (lote 1 e 2) e submetidas a um tratamento alcalino (NaOH 0,3%), lavagens e centrifugação, com descarte do sobrenadante, para obtenção de uma biomassa limpa e desamargada (BMT). Uma parte da amostra não foi submetida a este tratamento para avaliação de possíveis perdas nutricionais. A biomassa foi liofilizada para obtenção da BMNL (antes do tratamento) e BMTL (após tratamento). A composição centesimal foi realizada, em triplicata, na biomassa úmida, nos liofilizados e nos produtos regionais padrão (sem adição do liofilizado de levedura) e enriquecidos com a BMTL nas concentrações de 5 e 10%. As determinações de minerais e vitaminas do complexo B foram realizadas em triplicata, em um lote da BMNL e BMTL. Os minerais foram determinados por espectrometria de absorção atômica e as vitaminas do complexo B por cromatografia líquida de alta eficiência. Análises microbiológicas foram realizadas na farinha e beiju padrão, no liofilizado e biomassa em atendimento à legislação vigente, para garantir a segurança dos mesmos para o consumo. O teste sensorial foi realizado por julgadores não treinados, utilizando uma escala hedônica de 1 a 9 pontos, sendo avaliados os atributos: cor, sabor, gosto amargo, textura e qualidade global dos produtos enriquecidos e padrão. A intenção de compra foi avaliada por uma escala de 1 a 5 pontos. As amostras dos alimentos foram servidas como farofa e beiju colorido e aromatizado artificialmente. Pode-se inferir que a biomassa, e principalmente, o liofilizado se caracterizam por constituir uma importante fonte de proteínas, respectivamente 11,4g% e 35,2g% com possibilidade de ser um ingrediente para agregar valor nutritivo protéico em alimentos. O tratamento alcalino não influenciou em perdas de proteínas. A BMTL apresentou excelentes teores de cálcio (699mg%), ferro (10,59mg%), selênio (0,5mg%) e zinco (9,68mg%), e composição de vitaminas B1 (0,45mg%); B2 (2,34mg%); B3 (0,70mg%); B6 (9,99mg%) e B9 (0,25mg%). De forma geral, o tratamento de limpeza e desamargar influenciou em perdas significativas de minerais e vitaminas. Os alimentos enriquecidos apresentaram aumento significativo no teor de proteínas, em comparação com os mesmos produtos padrão, e encontraram-se seguros para o teste sensorial, segundo as

análises microbiológicas. As médias do teste de aceitação foram inversamente proporcionais à adição do liofilizado de levedura. O produto enriquecido com melhor aceitação e melhor média de intenção de compra foi a farofa com 5% de liofilizado. O liofilizado de levedura pode ser considerado como um complemento nutricional com potencial para ser utilizado como forma de enriquecimento de alimentos. Técnicas para minimizar o gosto amargo neste derivado e a adição de extratos vegetais e outros saborizantes poderiam melhorar a aceitação das preparações, e viabilizar seu uso para aumentar o valor nutritivo, especialmente de proteínas, em alimentos.

Palavras chave: levedura de cervejaria, subproduto, liofilizado de levedura, farinha de mandioca enriquecida, beiju enriquecido

ABSTRACT

The yeast (*Saccharomyces* spp.) are used in various processes fermentativos. O Brazil currently produces a large amount of yeast biomass as a byproduct of the brewing industry. In the process of beer production, after maturation, these microorganisms are removed from the fermented mash of surplus generating cells, which are discarded in the environment or primarily used in animal feed. Yeasts have a nutritional potential, especially in protein, B vitamins and minerals, which thus could be utilized as a nutritional ingredient for human consumption, such as regional foods derived from cassava (*Manihot esculenta* CRANTZ). The cassava flour and tapioca are widely consumed by the population in the Northeast, but have low protein content, being considered only as an energy source. The objective of this study was to evaluate the nutritional status and potential use of derivatives of secondary yeast in the brewing industry as an ingredient in nutritious food, preparing cassava flour and tapioca added dried yeast and evaluate the nutritional enrichment and sensory acceptance of regional products. The samples were provided by a brewery in Feira de Santana, BA, at two times (batch 1 and 2) and subjected to an alkaline treatment (0.3% NaOH), centrifugation and washing with disposal of the supernatant to obtain a reduction of bitterness and clean biomass (BMT). A portion of the sample was not subjected to this treatment for nutritional assessment of potential losses. The biomass was lyophilized to obtain BMNL (before treatment) and BMTL (after treatment). The chemical composition was performed in triplicate in wet biomass in freeze-dried products and regional standard (freeze-dried without addition of yeast) and enriched by BMTL concentrations of 5 and 10%. Measurements of minerals and B vitamins were performed in triplicate, in a lot of BMNL and BMTL. The minerals were determined by atomic absorption spectrometry and the B vitamins by high performance liquid chromatography. Microbiological tests were performed in the flour and tapioca default, the freeze-dried biomass and in compliance with current legislation, to ensure their safety for consumption. The sensory test was carried out by untrained panelists using a hedonic scale from 1 to 9 points, and evaluated the attributes: color, taste, bitter taste, texture and overall quality and standard of enriched products. The purchase intention was assessed using a scale of 1 to 5 points. Samples of food were served as manioc and tapioca artificially colored and flavored. It can be inferred that biomass, and especially, the pellet is characterized by an important source of protein, respectively 11.4 and 35.2 g% g% with the possibility of an ingredient to add nutritional value of food protein. The alkaline treatment had no effect on protein losses. The BMTL showed excellent levels of calcium (699mg%), iron (10.59 mg%), selenium (0.5 mg%) and zinc (9.68 mg%), and composition of vitamins B1 (0.45 mg%), B2 (2.34 mg%), B3 (0.70 mg%), B6 (9.99 mg%) and B9 (0.25 mg%). Generally, the treatment cleaning and reduction of bitterness influenced in significant losses of minerals and vitamins. Fortified foods showed a significant increase in protein content compared to the same standard products, and found to be safe for sensory testing, according to the microbiological analysis. The average acceptance test were inversely proportional to the addition of dried yeast. The product enriched with better acceptance and better average purchase intent was the crumbs with 5% lyophilized. The dried yeast can be considered as a nutritional supplement with the potential to be used as a form of food enrichment. Techniques to minimize the bitter taste this derivative and the addition of plant extracts and other

flavorings could improve the acceptance of the preparations, and enable its use for improving the nutritional value, especially of proteins in foods.

Keywords: brewer's yeast, a byproduct, dried yeast, enriched cassava flour, cassava bread enriched

Introdução

O crescimento acelerado das populações urbanas, associado à desigualdade na distribuição de renda, levou ao aumento da pobreza no Brasil, trazendo desta forma, conseqüências sociais, ambientais e de saúde, especialmente as nutricionais, o que favoreceu a um quadro representativo de desnutrição. Dentre as populações afetadas por este quadro, encontra-se a do Nordeste do Brasil, sendo uma das principais causas a inadequação/insuficiência alimentar.

Embora, atualmente, a meta de redução do quadro de desnutrição no Brasil ter sido atingida, muitas ações, programas e políticas sociais estão sendo propostos no sentido de melhorar a qualidade nutricional e acessibilidade aos alimentos no País, e em especial na região Nordeste, visando amenizar a incidência e prevalência da desnutrição, que ainda é considerada como um importante problema de Saúde Pública.

Dentre as ações integradas, estão aquelas voltadas para o enriquecimento nutricional de alimentos com baixo teor de nutrientes, que tenham a característica de ser regional e que se encontrem disponíveis para a população, como os derivados da mandioca.

A população nordestina apresenta um consumo expressivo da mandioca, bem como de seus derivados, como farinha, goma, polvilho, tapioca, dos quais originam diversas preparações típicas. A farinha, em destaque, é tradição na mesa do brasileiro. No entanto, estes produtos se caracterizam por se constituírem principalmente de carboidratos e baixo conteúdo de proteínas, sendo representado, apenas, como uma fonte energética.

As fontes alimentares de proteína na cesta básica do brasileiro, em sua maioria, são as de maior valor aquisitivo, o que dificulta o consumo de alimentos em adequada quantidade e qualidade protéica, por populações de baixa renda. Neste contexto, surge o interesse em estudos que possam estar agregando valor nutricional aos produtos da mandioca, por meio de adição de complementos ou ingredientes nutritivos, principalmente se estes forem advindos como forma de aproveitamento de resíduos alimentares ou industriais.

As leveduras oriundas de indústrias cervejeiras é um exemplo de resíduo industrial. As leveduras são utilizadas nas indústrias de alimentos em diversas

formas e possui característica de ser nutritiva, sendo consideradas como fontes promissoras de proteínas.

As destiladoras de álcool e indústrias de cerveja contribuem de forma representativa com o mercado produtivo do País. A cada processamento da cerveja, é gerado um montante significativo de células de levedura que, apesar de serem utilizadas como ração animal, também podem gerar impactos ambientais.

Desta forma, destaca-se a iniciativa de estudos que poderiam indicar a utilização deste subproduto na alimentação humana. Dentre estes, está a adoção de técnicas de tratamento, como o fracionamento e limpeza, que viabilizem a incorporação dos derivados da levedura cervejeira em alimentos e preparações alimentares.

Considerando que estes derivados protéicos podem ter potencial para serem utilizados como complementos nutritivos de alimentos habituais, a adição dos mesmos em produtos a base de mandioca, como a farinha e goma, favorecendo a agregação de valor nutricional, especialmente, de teor protéico, pode constituir-se em um benefício na qualidade nutricional da dieta da população.

O estudo sobre o aproveitamento de subprodutos ou resíduos agroindustriais, a exemplo da levedura secundária de cervejaria, se atém, principalmente no sentido de melhorar as qualidades nutritivas de alimentos de largo consumo e deficientes de determinados nutrientes, como derivados da mandioca, o que poderá contribuir para reduzir a desnutrição da população, reduzir o impacto ambiental devido a diminuição de descarte do resíduo, agregar valor aos produtos, produzir alimentos diferenciados no mercado, gerar emprego, dentre outros.

Neste contexto, os objetivos deste estudo foram aproveitar a levedura oriunda de cervejaria, avaliar seu potencial nutritivo e agregar valor nutricional em alimentos regionais derivados da mandioca, como a farinha de mandioca e o beiju.

Aproveitamento de subprodutos da levedura (*Saccharomyces*
spp.) como ingrediente nutritivo na dieta alimentar

RESUMO

As leveduras (*Saccharomyces* spp.) são utilizadas em variados processos fermentativos como nas indústrias de panificação, de álcool e cervejarias. No processo de produção da cerveja, após a maturação, estes micro-organismos são retirados do mosto de fermentação gerando excedentes de células, como subproduto, que são descartados no ambiente, ou utilizados na alimentação animal. As leveduras apresentam um potencial nutritivo, especialmente no teor de proteínas, vitaminas do complexo B e minerais, que, desta forma, poderiam ser aproveitadas como ingrediente nutritivo para alimentação humana. Porém, este material apresenta alguns fatores limitantes inerentes à mesma, como um alto teor de ácido úrico e sabor amargo, que se torna ainda mais acentuado nas leveduras oriundas de cervejarias. Algumas técnicas de processamento podem amenizar estes fatores limitantes e potencializar o uso dos derivados da levedura em produtos alimentícios. Este capítulo objetiva uma revisão bibliográfica sobre o aproveitamento e uso dos derivados de levedura oriundos da indústria cervejeira e das destilarias de álcool como ingredientes para ração animal e dieta alimentar humana.

Palavras chave: levedura de cerveja, subproduto, enriquecimento de alimentos

ABSTRACT

Yeasts (*Saccharomyces* spp.) are used in various fermentation processes in industries such as baking, brewing and alcohol. In the process of beer production, after maturation, these micro-organisms are removed from the fermented mash of generating surplus of cells, as a byproduct, which are discarded in the environment or animal feed. Yeasts have a nutritional potential, especially in protein, B vitamins and minerals, which thus could be utilized as an ingredient for nutritious food. One has to consider some limiting factors inherent to it, as a high content of uric acid and bitter taste, which becomes even more pronounced in coming from brewers yeast. Some processing techniques can mitigate these limiting factors and increase the use of derivatives of yeast in food products. This study aims to review the literature concerning the development and use of yeast from the brewing industry and distilleries as ingredients for animal feed and human food diet

Key words: yeast brewery, a byproduct, food fortification

1. Introdução

Uma das alternativas para enriquecimento nutricional de alimentos é a adição de alguns produtos ou subprodutos industriais, visando sua utilização na dieta alimentar dos seres humanos, como os derivados de levedura oriunda de fermentação etanólica e da indústria cervejeira.

As leveduras (*Saccharomyces* spp.) presentes na nutrição humana desde a Pré-história, são chamadas de alimentos não convencionais, proteínas unicelulares, biomassa protéica ou bioproteínas (MIYADA, 1987). Além do destaque como uma excelente fonte de proteínas, estes microorganismos apresentam características não-patogênicas, podendo ser usados tanto como ração animal quanto como alimento humano (MIYADA, 1987; PARK; RAMIREZ, 1989; DZIEZAK, 1987, METRI et al, 2003).

As leveduras são fungos de forma predominantemente unicelular, que se desenvolvem na fermentação alcoólica (FRANCO; LANDGRAF, 2005) processo de produção de etanol e gás carbônico pela degradação da glicose, em condições anaeróbicas, apresentado como esquema geral a equação: $\text{Glicose} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi} \rightarrow 2 \text{ etanol} + 2\text{ATP} + 2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$, sendo ADP a adenosina difosfato, Pi fosfato inorgânico, ATP adenosina trifosfato.

A capacidade de fermentação etanólica se dá pela presença da enzima *piruvato descarboxilase* nas leveduras. O gás carbônico resultante do processo contribui para carbonatação de bebidas alcoólicas e, na panificação, contribui para o aumento do volume da massa (NELSON; COX, 2000).

As primeiras leveduras descobertas estavam associadas a processos fermentativos, no qual designou a etimologia da palavra levedura, com origem do termo em latim *levare*, com o sentido de “crescer” ou “fazer crescer” (WIKIPÉDIA, 2011a).

Devido a esta característica fermentativa, as leveduras são utilizadas na indústria de alimentos e bebidas em diversas formas, como na indústria de panificação, na fermentação alcoólica nas indústrias de cerveja, vinhos e álcool, em outros processos fermentativos como catalisador biológico (MIYADA, 1987; PEIXOTO, 1996, METRI *et al*, 2003), além de serem usadas também como fonte de nutrientes ou ingredientes nutritivos em alimentação humana e/ou animal (BUTOLO,

1996; HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991; PEIXOTO, 1996; SANTUCCI *et al*, 2003; METRI *et al*, 2003).

As leveduras utilizadas na cervejaria são do gênero *Saccharomyces*, e são selecionadas quanto as linhagens que proporcionem melhores efeitos tais como, maior tolerância ao etanol, boa velocidade de fermentação, fácil separação do mosto, boa produtividade, além da obtenção do sabor e aroma no produto, que diferem segundo a cepa utilizada. Juntamente com os demais constituintes e ingredientes da cerveja, as leveduras influenciam nas características específicas deste produto (AQUARONE *et al*, 1993).

2. Processo de produção de cerveja

A cerveja é produzida constituindo-se como o meio: a água tratada, o malte, o lúpulo, a levedura, além dos cereais como milho, arroz e trigo que também podem ser utilizados para substituir parcialmente o malte (AQUARONE *et al*, 1993).

O malte é o grão da cevada que foi submetido ao processo de germinação, tornando o amido mais solúvel ou transformando-o em maltose, pela hidrólise dos polissacarídeos da parede celular das sementes, para que possa ser fermentado pelas leveduras (NELSON; COX, 2000; AQUARONE *et al*, 1993).

O lúpulo (*Humulus lupulus L.*) é uma trepadeira que apresenta flores fêmeas com resinas amargas e óleos essenciais, os quais conferem o sabor amargo característico da bebida, além de contribuir para a formação de espuma. (AQUARONE *et al*, 1993; FERREIRA *et al*, 2005). Devido às condições climáticas do Brasil, não favoráveis à produção do lúpulo, todo o suprimento é importado dos Estados Unidos ou Europa. (AQUARONE *et al*, 1993).

Até o final do século XIX, as leveduras não tinham sido identificadas como agente de fermentação do mosto. A cerveja foi tradicionalmente obtida pela ação de leveduras e bactérias, sendo transferidas de um lote de cerveja para outro. E. C. Hansen, em 1883, na Dinamarca estabeleceu a base para a utilização de cepas de levedura selecionadas como cultura *starter* na produção de cervejas (RAINIERI, 2009).

As linhagens mais utilizadas de levedura na produção de cerveja, no Brasil, são a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Saccharomyces uvarum* (AQUARONE et al, 1993) nas quais definem dois tipos de fermentação da cerveja: a de baixa fermentação, obtida pela ação do levedo que se deposita no fundo da cuba do mosto (*S. uvarum*); e a de alta fermentação, obtida pela levedura que flutua ou emerge à superfície da cuba (*S. cerevisiae*) (SMITH,1996; BAMFORTH, 2003). Devido às diferenças fenotípicas e genômicas entre ambas cepas, estas definem também o tipo de cerveja: tipo *Ale*, na qual apresenta boa fermentação na temperatura de 20 a 25°C (*S. cerevisiae*); e tipo *Lager*, apresenta boa fermentação na temperatura de 8 a 10°C (*S. uvarum*) (WUNDERLICH; BACK,2009).

As leveduras apresentam um impacto na qualidade da cerveja, pois além de produzir etanol e dióxido de carbono, também produz outros compostos como alcoóis superiores, ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos, cetonas, compostos sulfurados nos quais desempenham papel importante no perfil sensorial da bebida (PINHO et al, 2006).

O mosto, inoculado da levedura e aromatizado com o lúpulo contém carboidratos, aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas, sais minerais como cálcio, magnésio, sódio, potássio, ferro, manganês, zinco, cobre, cloretos, sulfatos, carbonatos e fosfatos, além de vitaminas como a tiamina, piridoxina, o ácido pantotênico, que são indispensáveis ao crescimento das leveduras (HOUGH, 1990; FERREIRA, 2009). A maior parte das substâncias, presentes no mosto, difunde-se através da parede celular da levedura. Os açúcares são utilizados como substrato energético; os aminoácidos para processos de biossíntese e os sais minerais e vitaminas desempenham importantes papéis metabólicos e como co-enzimas. Algumas substâncias do lúpulo, como as resinas, as proteínas e os polifenóis, são absorvidos sobre a superfície externa da parede celular (HOUGH, 1990).

A Figura 1 apresenta, de forma resumida, o fluxograma de produção de cerveja e o momento de retirada da levedura, na qual passa a ser designada como levedura secundária de cervejaria. Este momento de retirada das células de levedura ocorre após a maturação da cerveja, etapa que engloba a saturação com gás carbônico, clarificação e o amadurecimento dos componentes do aroma e sabor, conferindo assim, a estabilidade do produto e definição de características da identidade da cerveja produzida (MAFRA et al, 2007). Após esta etapa, a cerveja é

submetida a outros processos, como a filtração e pasteurização, até se obter o produto final.

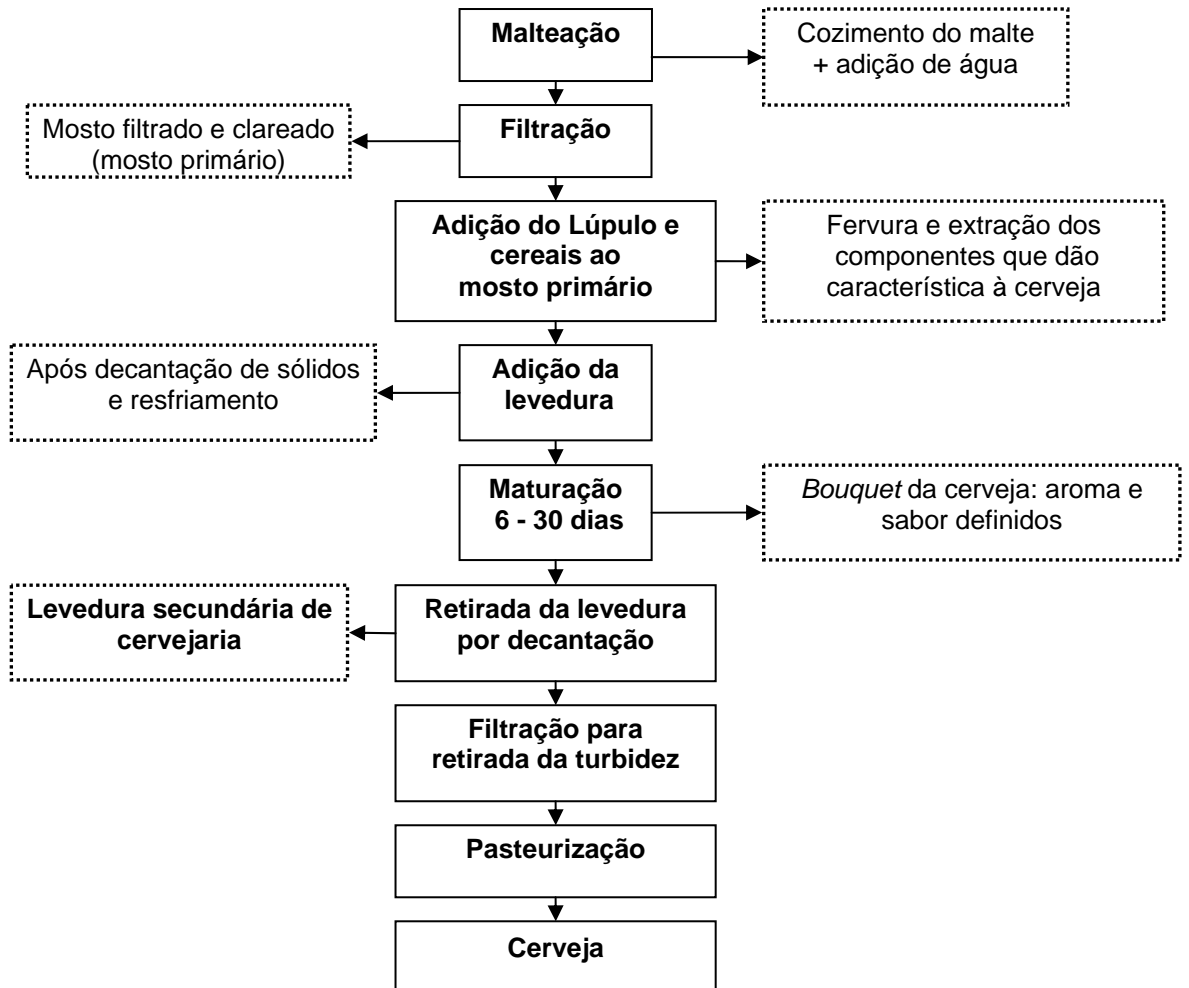


Figura 1: Fluxograma de produção de cerveja e obtenção da levedura secundária (adaptado de Aqarone et al, 1993)

3. Produção de biomassa de levedura no Brasil

A biomassa de levedura é produzida no Brasil em dois setores industriais importantes: o setor sucro-alcooleiro, o setor cervejeiro. Dados publicados, em 1996,

mostram que o excedente de levedura na produção de álcool etílico gerou 230 ton/ano de levedura seca como subproduto (FURCO, 1996).

Segundo o Sindicato Nacional de Cerveja (Sindicerv), o Brasil se tornou, em 2010, o terceiro maior mercado de cerveja do mundo, com uma produção equivalente a 12,6 bilhões de litros, ficando atrás apenas da China, com uma produção de 40 bilhões de litros, e dos Estados Unidos, com 35 bilhões de litros (BARROS, 2011), o que levou a um conseqüente aumento de levedura secundária deste processo industrial (FILLAUDEAU et al, 2006)

O crescimento de produção mundial de leveduras de cerveja corresponde a 2% ao ano, o que equivale a, aproximadamente, 80.000 tons/ano. Entretanto, este crescimento é considerado menor do que a produção de leveduras inativas secas de cana-de-açúcar, cerca de 4% ao ano, (SANTOS, 2009), na qual muitas vezes é aproveitada, após sofrer processo de sangrias (ICONTECH, 2010).

A sangria da levedura, processo que visa a secagem após lavagem ou destilação e retirada do álcool residual, é um método rentável para remoção da massa celular excessiva (ICONTECH, 2009), gerando uma biomassa úmida, conhecida como leite de levedura, na qual é utilizada principalmente como fonte protéica para ração animal (YAMADA et al, 2010) O excedente de células de levedura gerados nas destilarias de álcool, inativadas termicamente ou não, podem ser usados diretamente (células íntegras de levedura) ou ser processados para obtenção de vários derivados, como o autolisado e extratos (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991; PEIXOTO, 1996; SGARBIERI et al, 1999).

As leveduras apresentam vantagens em relação a outros microrganismos, principalmente em razão da sua capacidade de utilizar uma variedade de substratos como fontes de carbono, de sua rápida velocidade de crescimento e de uma fácil separação da biomassa (ICIDCA, 1999). Durante a fermentação, a massa de células de leveduras aumenta de três a seis vezes. Normalmente, a quantidade total de biomassa de leveduras do tipo *Lager* produzida após a fermentação da cerveja é cerca de 1.7kg/m³ a 2.3kg/m³ (HELLBORG; PISKUR, 2009). Devido a este rápido crescimento, as leveduras geram um excedente de produção nas indústrias de álcool, tornando-se um resíduo agroindustrial, no qual poderia ser usado para os mais diversos fins depois de desidratado, como exemplo, para alimentação animal e/ou em alimentos para humanos (GRANGEIRO et al, 2001, MOREIRA et al. 2002).

A biomassa de levedura de cervejaria se constitui em uma excelente fonte de nitrogênio de boa qualidade nutricional, com gosto acentuadamente amargo e é reconhecida geralmente como segura (*Generally Recognized as Safe- GRAS*) (BEKATOROU et al, 2006).

Alguns estudos apontam um potencial do uso da levedura e derivados em alimentação humana (SANTUCCI et al, 2003; METRI et al, 2003; FERREIRA et al, 2010), devido à sua riqueza em certos nutrientes tais como proteínas, vitaminas e minerais (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991; CABALLERO-CÓRDOBA; PACHECO; SGARBIERI, 1997; VILELA et al, 2000a; SGARBIERI et al, 1999; YAMADA et al, 2003, PAULA et al, 2008; FURUYA et al, 2000, SANTUCCI et al, 2003), o que poderia contribuir em agregar valor nutricional em produtos alimentícios.

4. Aspectos nutricionais da levedura e derivados

Os produtos de levedura, além de apresentar elevado teor em proteína (30 a 70g%), são ricos em vitaminas do complexo B (B1, B2, B6, ácido pantotênico, niacina, ácido fólico e biotina), em minerais (FERREIRA et al 2010; HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991), particularmente selênio, e fibra dietética, representados por carboidratos da parede celular, principalmente mananas e glicanas (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991).

Segundo Kihlberg (1972), as células de levedura seca apresentam uma composição centesimal de 7,5 a 8,5g de nitrogênio (que podem ser convertidos em proteínas em 41,5 a 47g); gorduras de 2 a 6g; umidade de 5 a 9,5 g e ácido nucléico de 6 a 12g.

4.1. Valor nutritivo da levedura como subproduto da cerveja e de destilarias de álcool

O valor nutritivo da levedura de cerveja depende de fatores como o substrato utilizado, o tratamento da massa fluida, as concentrações de sais e o meio de cultura de onde provém a levedura (BUTOLO, 1996). As células de levedura apresentam

alto teor protéico, sendo que os derivados contêm entre 70-95% de proteínas e também são ricos em minerais essenciais ao organismo animal (CABALLERO-CÓRDOBA; PACHECO; SGARBIERI, 1997).

A qualidade nutricional ou biológica de uma proteína reflete a biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, e na presença destes, em quantidades necessárias ao crescimento e à manutenção do organismo (COZZOLINO, 2007). O valor nutritivo, ou biológico, das proteínas da levedura é considerado bom, representando de 70-85% (CABALLERO-CÓRDOBA; PACHECO; SGARBIERI, 1997), ou de 80 - 85% do valor da caseína (VILELA et al, 2000a).

Segundo Sgarbieri et al (1999) e Yamada et al (2003), as células de levedura de cervejaria e de seus derivados variam na composição centesimal, aproximadamente, em proteínas de 32 - 62 g%; lipídios em 0,4 – 8,5g%; RNA em 1,8 – 9,8g% e cinzas em 4 - 12,5g%. Estes limites distantes podem ser referentes à textura e concentração variadas dos derivados, estando relacionada à técnicas de processamento.

Paula et al (2009) avaliaram a composição química da levedura seca de cana de açúcar, na qual apresentou 38,77% de proteína bruta. Os autores inferiram que o subproduto da produção de álcool pode se constituir em uma alternativa para alimentação de ruminantes, pois, destaca-se como ótima opção de fonte protéica, apresentando alto valor biológico e podendo ser utilizado em conjunto com alimentos pobres, tais como a silagem de cana, enriquecendo o teor de proteína da ração.

Yamada et al (2003) apresentam uma curva de crescimento de ratos alimentados com dieta contendo derivados da levedura como concentrado protéico, extrato seco, autolisado, levedura íntegra e caseína como padrão. A dieta com o concentrado promoveu o maior crescimento, sendo inclusive superior ao da caseína, embora sem diferença estatística. O estudo ainda concluiu que a autólise e o fracionamento permitem a obtenção de derivados de levedura de destilarias (autolisado e extrato) com valor protéico bem superior à levedura íntegra da qual se originaram.

Vilela et al (2000a) avaliaram índices bioquímicos em ratos, alimentados com: 1) dieta padrão de caseína (CAS); 2) dieta isenta de proteína, aprotéica (AP); 3) dieta contendo células íntegras de levedura (LI), 4) dieta contendo autolisado total de levedura (AT); 5) dieta contendo extrato de levedura (Ex), sendo as dietas com os derivados como única fonte de proteína. Foi demonstrado que as dietas com

proteínas de levedura produziram crescimento inferior ao da caseína. Dentre as dietas com os derivados a que produziu melhor crescimento nos animais foi a com células íntegras, seguida do extrato. Quanto às análises de retenção de nitrogênio, as dietas com CAS, LI e Ex, proporcionaram, estatisticamente, os mesmos valores, sendo superiores à do AT. A digestibilidade verdadeira da proteína foi significativamente maior e igual para a CAS e Ex. Os autores concluíram que as diferenças nos índices bioquímicos das proteínas pode ser influenciada pela composição de aminoácidos diferentes entre os derivados, e que os produtos de levedura contêm proteína de boa qualidade nutricional, podendo ser recomendados como parte da dieta humana.

O Quadro 1 apresenta dados da literatura referentes aos teores de aminoácidos nas leveduras secas de fermentação etanólica e de cervejarias. A levedura destaca-se pelo alto teor de lisina, riqueza em leucina e valina, teores adequados de triptófano e treonina (SGARBIERI et al, 1999; FURUYA et al, 2000); porém limitada quanto a aminoácidos sulfurados, metionina e a cisteína, sendo os fatores limitantes (FURUYA et al, 2000). No entanto, os estudos de Sgarbieri et al (1999) e Yamada et al (2003) não evidenciaram deficiência em aminoácidos sulfurados.

Um estudo sobre determinação nutricional dos derivados da levedura aponta que os aminoácidos essenciais da proteína não apresentam resultados com deficiência, em relação ao padrão de referência da *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO, 1985), exceto para um derivado, o autolisado total, que apresentou, com base nos aminoácidos sulfurados totais, metionina com cisteína, escore químico de 84% do padrão referenciado (VILELA et al 2000a).

A biomassa de levedura de cervejarias foi relatada com perfil aminoacídico equilibrado quanto a presença de aminoácidos essenciais, tendo como referência o padrão estabelecido pela FAO/WHO (CABALLERO-CÓRDOBA; SGARBIERI, 2000).

Roepcke (2007), também definiu as leveduras como de alto teor protéico, superior a 45g%, com teor de aminoácidos essenciais como lisina, triptofano e treonina satisfatórios e, no entanto, apresentando limitação quanto aos aminoácidos sulfurados, como a metionina e a cisteína. Desta forma, os dados encontrados na literatura sobre a composição de aminoácidos sulfurados nos derivados da levedura secundária de cervejarias e da fermentação etanólica, ainda são controversos.

Sgarbieri et al (1999), sugerem que um tratamento mais cuidadoso e adequado para obtenção dos derivados pode contribuir para que os valores dos aminoácidos sulfurados se encontrem de acordo com os parâmetros estabelecidos.

Aminoácidos	Levedura seca de cana-de-açúcar PEPPLER (1970)	Levedura seca de cana-de-açúcar PADUA (1997)	Levedura seca e tratada de cervejarias (SGARBIERI <i>et al</i> , 1999; VILELA <i>et al</i> , 2000)	Levedura seca e tratada de cervejarias (CABALLERO-CÓRDOBA; SGARBIERI, 2000)	Levedura seca de fermentação etanólica (YAMADA <i>et al</i> , 2003)	FAO/WHO (1985)**
Metionina*	ND	2,52	2,50	ND	ND	-
Triptofano*	ND	1,40	1,45	1,10	1,2	1,1
Fenilalanina*	ND	4,81	5,30	ND	ND	-
Isoleucina*	ND	5,08	5,64	5,64	4,2	2,8
Lisina*	ND	8,29	7,13	7,13	7,8	5,8
Leucina*	ND	7,83	8,84	8,84	6,0	6,6
Valina*	6,67	5,36	6,20	6,20	4,8	3,5
Treonina*	5,20	5,75	6,16	6,16	4,7	3,4
Histidina*	ND	2,47	2,06	2,06	4,2	1,9
Cistina*	1,60	0,85	0,84	ND	ND	-
Metionina* + Cisteína*	ND	ND	ND	2,84	2,4	2,5
Fenilalanina*+ Tirosina	ND	ND	ND	9,98	6,5	6,3
Alanina	ND	5,97	7,07	ND	ND	-
Arginina	ND	4,97	4,11	ND	ND	-
Tirosina	4,87	3,56	4,68	ND	ND	-
Ácido Aspártico	ND	9,18	11,98	ND	ND	-
Ácido Glutâmico	ND	10,37	13,15	ND	ND	-
Prolina	ND	3,57	4,45	ND	ND	-
Serina	ND	2,55	6,13	ND	ND	-
Glicina	ND	ND	4,93	ND	ND	-

* aminoácidos essenciais

ND- não determinado

**FAO/WHO/UNU (1985): padrão estabelecido de recomendação de aminoácidos essenciais

Quadro 1: Teor de aminoácidos g% em leveduras secas secundárias da fermentação etanólica e de cervejarias.

Chaud et al (2008) avaliaram o teor de fibras da parede celular da biomassa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), apresentando elevados teores, predominando a fibra insolúvel na fração glicana insolúvel e fibras solúveis nas frações manana e glicana + manana. Dos constituintes da parede celular, 77,8%

eram fibras, sendo 74% deste representado por fibras solúveis. As proteínas na forma de glicoproteínas estruturais foram encontradas na proporção de 18 a 20%. Em ratos alimentados com dieta contendo frações destas fibras, houve maior excreção de lipídeos e colesterol na dieta com presença de mananas. Os autores sugerem possíveis aplicações destas fibras em produtos alimentícios.

As células da biomassa de leveduras também têm sido relatadas apresentando capacidade de incorporar metais no interior, e está sendo utilizada como um veículo para introdução de sais inorgânicos do metal de interesse, solúveis em água como um componente no meio de cultivo, resultando na incorporação de uma quantidade substancial do metal absorvido (SCHMITT; SOCCOL, 2007)

Devido ao alto conteúdo nutricional, as células de levedura de cerveja podem ser utilizadas como uma fonte de nutrientes para o crescimento de microorganismos exigentes ou formação de produtos relacionados, tais como os produtos contendo cepas de probióticos. Também existem perspectivas da utilização das enzimas de levedura de cervejaria, como proteases, pectinases e metaloproteases, na produção industrial (FERREIRA et al, 2010)

5. Aplicações farmacêuticas da levedura

As leveduras secundárias de cerveja, como um subproduto, não pode ser considerada como o mesmo tipo de levedura definida como as “leveduras nutricionais”, nas quais são cultivadas de forma pura, enriquecidas com melaço de cana ou de beterraba, em condições controladas, para uso específico como suplemento nutricional, e que desta forma, não são subprodutos do processo de fabricação da bebida (BEKATOROU et al, 2006). Estas “leveduras nutricionais” são conhecidas como levedo de cerveja, comercializado com apelo, principalmente, relacionado ao conteúdo vitamínico e mineral.

O levedo de cerveja são células inteiras e secas de *Saccharomices cerevisiae* que, conforme a Portaria da ANVISA nº19/1995, deve conter, no mínimo, 40% de proteínas, e em cada grama, o equivalente de, no mínimo, 0,12mg de cloridrato de tiamina (vitamina B1), 0,04mg de riboflavina (B2) e 0,25 mg de niacina

(B3). Além desta característica nutricional, o produto deve ser inativo em poder fermentativo e apresentar a finalidade de uso como Complemento Nutricional/ Suplemento Alimentar ou Suplemento nutricional.

A legislação brasileira define um complemento nutricional como:

“...um produto elaborado com a finalidade de complementar a dieta cotidiana de uma pessoa saudável, que deseja compensar um possível déficit de nutrientes, a fim de alcançar os valores da Dose Diária Recomendada (DDR). O Complemento Nutricional não substitui o alimento, não podendo ser utilizado como dieta exclusiva.” (BRASIL, 1995)

Conforme a legislação, o levedo de cerveja deve ser definido como um complemento nutricional de proteínas e vitaminas do complexo B (B1, B2 e B3) e a sugestão de uso são de 6 a 8g diárias do pó ou o equivalente em comprimidos.

Além da forma em cápsulas, alguns tipos de levedo são comercializados na forma de flocos para uso como substituto de queijo e carne em molhos, sopas e produtos similares, especialmente na culinária vegetariana.

A recomendação do uso do levedo de cerveja é popularmente conhecida, sendo indicada para situações de carências alimentares de proteínas, vitaminas e minerais; cansaço; estados anêmicos e de convalescença; afecções da pele; queda do cabelo; unhas frágeis; transtornos intestinais; crescimento e desenvolvimento de crianças; esforços físicos e intelectuais (DIESE, 2008), estando estes apelos associados às funções dos nutrientes encontrados no produto.

Nos produtos de levedo de cerveja, comercialmente encontrados, existem relatos de reações adversas como enxaquecas em indivíduos sensíveis, desconforto intestinal, e flatulência; e reações alérgicas em indivíduos hipersensíveis incluindo prurido, urticária, exantemas locais ou gerais. Quanto a interações com alimentos e doenças, estas não são conhecidas, não existindo motivo para esperar uma interação clinicamente significativa com o produto (ENERGIA EM EQUILÍBRIO, 2011).

6. Aspectos gerais sobre o emprego da levedura e derivados como ingrediente nutritivo em alimentos

6.1. Uso da levedura na alimentação animal

Segundo Kihlberg (1972), o papel das leveduras na nutrição animal, inicialmente, era de suplemento nutricional, na proporção de 0,5-1,5%, para fornecimento de vitaminas do complexo B.

Alguns estudos avaliam a utilização da levedura de cana-de-açúcar como fonte protéica na dieta de diferentes espécies de animais como suínos, frangos de corte, novilhos, eqüinos, peixes e cães (MARTINS, 2009; BOONNOP et al 2009, PEREIRA, 2001; MOREIRA et al, 2002; CASTILHO, 2004; PEZZATO, 2006; FURTADO et al, 2010; WATANABE et al, 2010, PRADO et al, 2000). Os resultados implicam em melhoramento do teor nutricional da ração ou em *chips*, especialmente em proteínas, e redução de custos na produção da ração animal, devido substituição de alimentos base, como farelos de cereais.

Prado et al (2000) avaliaram o desempenho de novilhas alimentadas com Rações contendo farelo de algodão ou levedura como fonte protéica e concluíram que a levedura pode substituir o farelo de algodão, como fonte de proteínas, sem alterar o desempenho de novilhas em confinamento.

Boonnop et al (2009), em estudo sobre enriquecimento nutritivo da mandioca por fermentação empregando *Saccharomyces cerevisiae*, observaram um aumento significativo no teor de proteínas, no aminoácido lisina e no teor lipídico em *chips*, para ração animal, e polpa fresca de mandioca fermentada, em comparação aos mesmos produtos não fermentados. Os autores discutiram que o aumento protéico pode ser explicado pelo crescimento das células durante a fermentação, e sugerem que, dessa forma, *chips* de mandioca podem ser nutricionalmente melhorados para uso na alimentação animal com uma técnica economicamente viável.

Moreira et al (2002) avaliaram o uso de dietas para suínos adicionadas de levedura seca por *spray drier* e concluíram que os resultados obtidos sugerem que uso da levedura seca, ao nível de 21% na dieta, poderia favorecer a manutenção do desenvolvimento dos animais.

Segundo Martins (2009), existe atualmente uma valorização do uso das leveduras na alimentação animal devido a uma lei europeia na qual proíbe o uso das proteínas de origem animal na alimentação de animais ruminantes, o que possibilitou maiores estudos voltados para o uso das bioproteínas.

A comercialização da levedura seca está cada vez mais crescente por ser considerada de bom valor nutricional, além de ser uma das fontes mais seguras de proteína nas rações para animais (ICON TECH, 2009).

6.2. Fatores limitantes e estudo de toxicidade

Alguns fatores limitam o uso da levedura na alimentação humana, entre eles a presença de uma parede celular rígida, não sensível a enzimas digestivas, e pela riqueza em ácidos nucléicos (GALVEZ et al, 1990; YAMADA et al, 2003), que implica em acúmulo de ácido úrico e, conseqüentemente, formação de litíase renal e deposição de cálcio em tecidos moles (RIELLA; MARTIS, 2001). Rosales (1984) demonstra que isolados protéicos de células de levedura, tem melhor biodisponibilidade de nutrientes e menores teores de ácidos nucléicos, comparado às células íntegras. Desta forma, técnicas de processamento como fracionamento e autólise, poderão potencializar o uso da proteína da levedura em dietas para humanos.

Em contrapartida, Carver e Walker (1995) sugerem a complementação de dietas com ingredientes ricos em nucleotídeos, uma vez que estes compostos parecem estimular o sistema imunológico e a função do tecido intestinal, sendo este estímulo também relatado por Campos Neto (1987), além de melhorar metabolismo lipídico no fígado. Desta forma, os ácidos nucléicos podem tornar-se essenciais ao organismo em condições de estresse, quando a fonte endógena não é suficiente para manter o rápido crescimento de tecidos, especialmente doenças imunossupressoras e intestinais e lesões hepáticas.

Segundo o ICIDCA (1999), o alto conteúdo de proteínas e a baixa proporção de ácidos nucléicos permitem o uso dos derivados da levedura como aditivos, ou como complemento alimentar para o consumo animal e humano.

Os estudos de toxicidade subcrônica podem fornecer informações sobre efeitos tóxicos cumulativos em decorrência de possíveis lesões em órgãos, sendo os

mais susceptíveis, o fígado e os rins, a danos causados por substâncias tóxicas a partir da dieta. As lesões podem ser medidas por alterações anatômicas, histológicas e bioquímicas, como a avaliação das transaminases e dos componentes nitrogenados (LIMA et al, 1985).

Um estudo sobre valor nutricional de levedura e derivados, em ratos, identificou que dietas adicionadas com os subprodutos evidenciaram uma tendência de melhoria na evolução do crescimento dos animais, em função do aumento da concentração, particularmente do autolisado e do extrato de levedura. Além disso, o estudo também demonstrou que dietas dos ratos adicionadas de produtos de levedura, não causaram injúria hepática, segundo avaliação bioquímica da transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) no plasma sanguíneo, e não afetou função renal segundo avaliação da uréia sérica (VILELA et al, 2000b).

Caballero-Córdoba e Sgarbieri (2000), em estudo sobre avaliação nutricional e toxicológica de biomassa e concentrado protéico de levedura, utilizaram ratos alimentados com dieta contendo 15 e 30% de proteína da caseína (CAS), da biomassa da levedura (BL) tratada com NaOH para desarmargar e seca, e do concentrado protéico (CP), obtido pelo precipitado de células da biomassa. Os parâmetros bioquímicos utilizados para avaliação toxicológica foram as enzimas hepáticas transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e transaminases glutâmico-oxalacética (TGO) no sangue; e compostos nitrogenados como ureia, ácido úrico creatinina, para avaliação da toxicidade renal, no sangue e na urina coletada. Ao final das análises, compreendendo o período após 90 dias, os níveis de TGO mais altos foram encontrados em ratos alimentados com CAS, e os níveis mais baixos, em ratos alimentados com BL. Já níveis da TGP mais altos foram associados à dieta com CP e os menores também associados à dieta com BL. Os níveis de creatinina ficaram menores com a dieta CAS e maiores com CP, sendo em todas as dietas, associados a níveis acima dos limites de referência. Em relação à ureia, os níveis ficaram similares de acordo com as dietas CAS e BL. De forma geral, o ácido úrico na urina aumentou com o aumento da concentração da proteína na dieta nas fontes protéicas testadas. O uso do concentrado protéico proporcionou discreta esteatose hepática em ratos, possivelmente pelo uso do perclorato de sódio para obtenção deste derivado. Os autores concluem que a biomassa de levedura não apresentou evidência de toxicidade.

Vilela et al (2000a) observaram que valores de ácido úrico, no soro sangüíneo de ratos, alimentados com dieta com extrato seco e autolisado de levedura, não representam elevação considerável, comparado à dieta com caseína, estando dentro da faixa de valores mencionados na literatura (1,2 - 7,5 mg/dl) para ratos normais e, portanto, pode se esperar que não haja problema de toxicidade renal quanto a este indicador. O mesmo estudo demonstrou que os níveis de colesterol total e de HDL-colesterol permaneceram muito semelhantes na caseína e nas dietas contendo proteína de levedura.

Outros fatores limitantes para o uso das leveduras na alimentação humana são o odor e sabor indesejáveis da levedura seca. Além disto, a levedura residual do processo de produção de cerveja também apresenta gosto acentuadamente amargo, devido à adsorção superficial de componentes amargos, como resinas, taninos e óleos essenciais, provenientes do lúpulo usado na fabricação da cerveja (SGARBIERI et al, 1999; CREDÍDIO, 2010)

O sabor amargo da levedura residual de cervejarias é inerente ao produto. No entanto, se este for preparado adequadamente, o amargor pode ser reduzido ou eliminado no processo. Como os principais componentes amargos provêm de resinas e taninos presentes, as práticas comuns para reduzir o amargor envolvem lavagens e tratamento alcalino (SGARBIERI et al, 1999; CREDÍDIO, 2010).

6.3. Processos de obtenção de derivados de levedura

Sgarbieri et al (1999) desenvolveram uma metodologia para limpeza e desamargamento da biomassa com adição de hidróxido de sódio como agente alcalinizante (Figura 2) e seqüentes processos para obtenção de derivados da levedura, tais como: o autolisado, obtido pelo processo de autólise das células por adição de álcool etílico e cloreto de sódio, sob temperatura controlada com posterior secagem em *Spray drier*; o extrato de levedura e parede celular, obtidos pelo fracionamento do autolisado, por centrifugação, em parte solúvel e insolúvel, respectivamente. YAMADA et al, 2003 também definiram uma metodologia para obtenção do concentrado protéico, obtido pelo precipitado de células, por meio de

rompimento da parede celular, adição de trimetafosfato de sódio, seguido de centrifugação e liofilização.

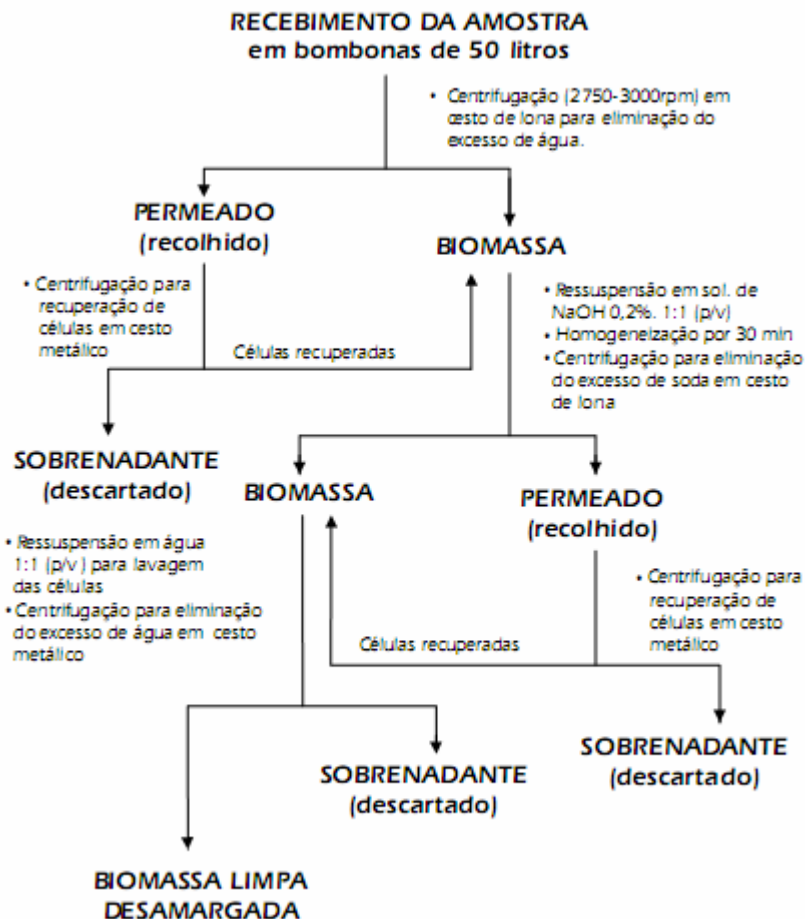


Figura 2: Processo de limpeza e desamargamento de biomassa de levedura de cervejarias (retirado de Sagarbieiri et al, 1999)

A utilização de produtos desidratados ou concentrados, para alguns tipos de alimentos, é conveniente para o consumidor ou se constitui em um ingrediente mais facilmente manuseado por processadores de alimentos. Por remover grande parte de água presente no alimento, aumenta o índice de sólidos e prolonga a vida de prateleira do produto por meio da redução da atividade água, o que inibe o crescimento microbiano e a atividade enzimática (FELLOWS, 2006).

A secagem por aplicação de calor causa perda de características sensoriais e das qualidades nutricionais do alimento. Na liofilização, processo de desidratação por sublimação, obtém-se um efeito conservante do alimento devido à redução da

atividade de água, sem o aquecimento do alimento, e como resultado, uma maior retenção do valor nutricional e da qualidade sensorial. O equipamento liofilizador remove o vapor d'água do alimento congelado, mantendo-se a câmara abaixo da pressão do vapor da superfície do gelo. Desta forma, há desidratação por meio da sublimação do gelo sólido, sem que este passe pelo processo de fusão (Figura 3) (FELLOWS, 2006).

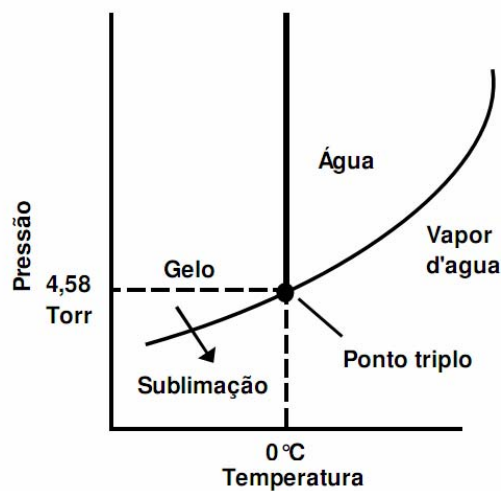


Figura 3: Diagrama de fases da água mostrando a sublimação do gelo (retirado de Fellows, 2006)

Os compostos aromáticos e voláteis não são perdidos no vapor de água pela sublimação e ficam na matriz do alimento. Ocorrem, no processo, manutenção da textura dos alimentos, mínimas alterações nas proteínas, em amido ou em outros carboidratos, moderadas alterações de vitamina tiamina e ácido ascórbico e perdas insignificantes de outras vitaminas (FELLOWS, 2006). Desta forma, a liofilização pode ser vantajosa para obtenção de um tipo de derivado da levedura, com perdas nutricionais mínimas durante o processamento.

6.4. Uso da levedura na dieta alimentar humana

Certos derivados como o autolisado e o extrato de levedura, vêm sendo utilizados de longa data na formulação de produtos para humanos, como complemento nutritivo, flavorizante e realçador de sabor, devido à riqueza em ácido

glutâmico, comumente em substituição ou em combinação com o caldo de carne (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991; PEIXOTO, 1996; SGARBIERI et al, 1999; MAHADEVAN; FARMER, 2006). Na produção de salames, o extrato de levedura é conhecido como *meat flavouring*, substituindo o extrato de carne (ZAMBONELLI et al., 2000).

Yamada et al (2010) avaliaram a utilização do extrato de levedura de destilarias de álcool em salsicha, como substituto da carne na formulação, nas proporções de 1,0, 1,5 e 2,0%. As amostras foram avaliadas por meio de teste de aceitação, utilizando também uma amostra com 3% de carne substituída por proteína texturizada de soja. Os resultados não apresentaram diferença na preferência global das amostras. No teste de intenção de compra, as amostras com menores concentrações de levedura, foram as que apresentaram maior frequência de respostas positivas, do que a com maior concentração e a formulação com proteína de soja. Os autores concluíram que o extrato de levedura pode ser utilizado como realçador de sabor, da cor vermelha e como aromatizante na salsicha.

Os derivados de levedura, bem tratados, podem se constituir em complemento nutritivo para utilização em preparações com baixo teor de nutrientes, especialmente de proteínas e vitaminas do complexo B, ou a ser utilizados como integrante da dieta de uma população, principalmente com perfil alimentar simples, com característica de baixa quantidade e qualidade nutricional protéica.

Metri et al (2003), em estudo sobre avaliação do efeito da mistura de feijão, arroz e farinha de mandioca enriquecida com bioproteína (*Saccharomyces cerevisiae*), na dieta de ratos, apresentaram a composição centesimal da farinha de mandioca comum e a enriquecida com 30% de levedura, tendo como valores, respectivamente, para proteínas, 1,36g% e 15,29g%, validando o significativo aumento protéico. Neste estudo, os ratos foram submetidos a seis dietas, variando a composição de proteínas advindas de: 1 e 2: feijão + arroz + farinha enriquecida em duas concentrações (1,50g% e 2,5g% de proteínas, respectivamente); 3 e 4: feijão + arroz + farinha comum em duas concentrações (0,15g% e 0,30g% de proteínas, respectivamente); 5: farinha enriquecida como controle (10,39g% de proteínas) e 6: dieta padrão com caseína. O resultado da curva de crescimento dos ratos, dentre as dietas experimentais, foi melhor para dieta 2, com feijão, arroz e farinha enriquecida com maior concentração de bioproteína. Os dados apontaram que a farinha de

mandioca enriquecida com a proteína, proveniente da levedura, poderia ser utilizada como complemento alimentar de animais e humanos.

Um estudo de Santucci et al (2003), demonstrou ser possível a utilização dos derivados da levedura como complemento nutritivo na produção de alimentos. Neste trabalho foi descrito a produção de macarrão enriquecido com autolisado e extrato de levedura, de destilarias de álcool, em duas concentrações (5 e 7,5%), e 7,5% adicionado de extrato de espinafre, avaliando a preferência por teste sensorial com um macarrão padrão. Os dados da composição centesimal apresentaram pequeno aumento no teor de proteínas totais e aumento de aminoácidos essenciais nos macarrões enriquecidos, em comparação ao macarrão padrão. Não houve diferença significativa, em atributos sensoriais, entre o macarrão padrão e o enriquecido com o extrato de levedura. A adição do autolisado produziu aceitação inferior aos outros dois tratamentos, especialmente para a aparência e cor. A aceitação foi melhorada quando o autolisado foi adicionado à massa verde (com extrato de espinafre). Os autores concluem que, adicionando o extrato de espinafre à massa de macarrão, foi possível aumentar as concentrações dos derivados da levedura adicionados, ainda com boa aceitação.

Alvim et al (2002) avaliaram o efeito da adição de autolisado (A) e extrato de levedura (E) de destilaria de álcool na composição de farinhas mistas extrusadas, utilizando como base a farinha de milho, que apresenta baixo teor de proteínas e a caseína como um complemento protéico. O autolisado apresentou 37,1% e o extrato 44,8% de valor protéico. Os dados da composição centesimal indicaram um aumento de 35 a 40% na proteína, pela adição à farinha de milho de 10% de A e E de levedura. Na adição conjunta com 10% de caseína, o teor de proteína aumentou cerca de 130%.

Pinto et al (2010) avaliaram a aceitação de mingau de tapioca acrescido de biomassa úmida de levedura secundária de cervejarias, após processo de tratamento alcalino e limpeza para amenizar o amargor. Foram avaliados os tratamentos com mingau de tapioca padrão e enriquecidos com a biomassa nas proporções de 20, 30 e 40% à massa da tapioca. A maior média de aceitação foi referente ao tratamento com 20% de biomassa. Os autores concluíram que a aceitação do mingau com concentrações maiores de biomassa poderia ser melhorada com a adição de saborizantes ao produto, o que contribuiria para aumentar o teor nutricional da preparação.

A proporção e o tipo de ingrediente a ser empregado juntamente com os derivados da levedura vão estar relacionados ao tipo de alimento e resultados organolépticos de cada preparação.

O uso de derivados de levedura, considerando os resultados dos estudos sobre enriquecimento nutricional por bioproteínas, poderia promover melhoramento nutricional em alimentos habitualmente consumidos e de fácil acessibilidade, como os derivados da mandioca.

7. A mandioca e seus derivados como alimento base para o enriquecimento nutricional

A mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ) é cultivada nas regiões tropicais devido à sua habilidade de crescer em variações climáticas e manejos diferentes (BOONNOP et al, 2009; AINA et al., 2007). A produção da mandioca destaca-se na geração de emprego e de renda, principalmente nas comunidades mais pobres do país (DIAS; LEONEL, 2006). As regiões Norte e Nordeste, do Brasil, são consideradas as principais produtoras e consumidoras (IBGE, 2011) sendo, grande parte da produção, essencialmente utilizada na dieta alimentar, na forma de farinha. Nestas regiões, há predominância da agroindústria de produção familiar, sendo inúmeras as casas de farinha, que são locais de fabricação artesanais cuja produção destina-se, principalmente, ao consumo doméstico. Nos estados do Centro-Oeste, do Sul e do Sudeste, a agroindústria de farinha e fécula desenvolvida forma importantes pólos de produção (VIEIRA et al., 2002).

O Brasil se destaca no cenário mundial como um dos maiores produtores de mandioca. Além de assumir papel expressivo na alimentação humana e animal e de ser cultivada em todas as regiões do País, é utilizada como matéria-prima em vários produtos industriais (DIAS; LEONEL, 2006). Em 2009, o Brasil teve um montante de produção de mandioca de 24.403.981 toneladas, sendo a Bahia o terceiro Estado com maior produção, correspondendo a 3.437.100 toneladas ou 14,8%, ficando atrás do Pará e Paraná (IBGE, 2011).

A mandioca é constituída, em média, por aproximadamente 62g% de umidade, 36g% de carboidratos, 1g% de proteínas, 0,3g% de lipídios e 0,6g% de

cinzas (NEPA, 2006). Sendo assim, é considerada apenas como fonte energética, necessitando de alimentos complementares que possam equilibrar a quantidade dos demais macro e micronutrientes, especialmente no teor de proteínas.

Dentre os alimentos de origem vegetal mais consumidos pela população Nordestina, destacam-se, além do feijão e o arroz, a farinha de mandioca, nos quais representam os principais produtos da cesta básica (ANGELIS, 1995; SGARBIERI, 1996).

A farinha de mandioca é considerada como a base alimentar da população carente, chegando a ser a principal fonte energética (CHISTÉ, 2006). Dentre os estados brasileiros, a Bahia é o maior consumidor de farinha, correspondendo mais de 24% da produção do Brasil (EMBRAPA, 2010). A composição centesimal da farinha torrada é de 8,3% de umidade, 1,0% de cinzas, 1,2% de proteína, 0,3% de lipídios, 89,2% de carboidratos e 6,55% de fibras (NEPA, 2006), se constituindo em apenas fonte energética.

Além da farinha, o processamento da mandioca também gera outros produtos, como o polvilho doce e azedo, fécula, tapioca e sagu. A goma, amido, fécula de mandioca ou polvilho doce, é um carboidrato extraído da raiz, apresentando-se como um pó branco fino (ABAM, 2011a). O polvilho doce é produzido por meio do processo de lavagem e descascamento das raízes, desintegração para liberação dos grânulos de amido, separação das fibras, purificação para a separação do amido e secagem (ARIAS, 2000).

Como a mandioca é rica em amido, este é o principal produto obtido a partir dela, pois dele obtém-se o maior número de aplicações e subprodutos industriais, como nos setores alimentícios, especialmente em panificação e massas, têxtil e indústrias de papel (ABAM, 2011a). Segundo a Associação de Produtores de Amido de Mandioca, em 2009, a produção brasileira de amido chegou a 583,85 mil toneladas ao ano.

O polvilho doce apresenta uma composição centesimal de: umidade 10,7 a 12,36%; cinzas de 0,09 a 0,21%, proteínas de 0,26 a 0,45% e carboidratos de 87,1 a 88,76% (APLEVICZ, 2006).

O beiju, consumido pelos tupis-guaranis desde o século XVI, é um alimento produzido pela coagulação do amido por aquecimento em chapa e integrante da culinária típica de diversos estados nordestinos (WIKIPÉDIA, 2011b) Como é

elaborado pelo carboidrato oriundo da raiz da mandioca, constitui-se em fonte energética, mantendo assim, o baixo teor protéico.

A farinha de mandioca e o beiju são produtos regionais, de fácil acesso de produção e financeiro pelas comunidades do Nordeste, e entretanto, são consumidos de forma expressiva. Sendo assim, são alimentos que poderiam ser utilizados como base para adição de fontes ou ingredientes alternativos para o enriquecimento de nutrientes, em especial dos derivados da levedura.

8. Conclusões

Os resultados do enriquecimento protéico por adição de leveduras, em diferentes substratos, objetivando alimentação animal e humana, são satisfatórios devido à qualidade nutricional das células íntegras e dos derivados. Os dados da literatura não apontam evidência de toxicidade e são controversos quanto ao valor biológico da proteína apenas em relação ao conteúdo de aminoácidos sulfurados.

O desenvolvimento de técnicas de tratamento e secagem das leveduras são promissoras e podem potencializar o uso das bioproteínas na alimentação humana, principalmente sendo adicionadas em produtos alimentícios habituais da dieta, como forma de aproveitamento dos excedentes de células gerados nas destilarias de álcool e indústria cervejeiras.

O uso pode ser fomentado como uma das alternativas para enriquecimento nutricional de alimentos de fácil acessibilidade, ou complemento alimentar, para uma população em que se encontra em situação de risco de desnutrição, por inadequação de consumo protéico.

Referências

ABAM, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA **O amido / fécula de mandioca**. Disponível em: < <http://www.abam.com.br/> >.

Acesso em: 4. ago. 2011 a.

ABAM, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA **Produção Brasileira de Amido de Mandioca 1990 a 2009**. Disponível em: < http://www.abam.com.br/includes/index.php?link_include=menu2/prod_bra_90_09.php&menu=2&item=2 >. Acesso em: 4. ago. 2011 b.

AINA, O. O.; DIXON, A. G. O.; AKINRINDE, E. A. Effect of soil moisture stress on growth and yield of cassava in Nigeria. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v. 10, n. 18, p. 3085-9090, 2007.

ALVIM, I. D. et al. Desenvolvimento de farinhas mistas extrusadas à base de farinha de milho, derivados de levedura e caseína. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 170-176, maio./ago. 2002.

ANGELIS, R.C. Valor nutricional das proteínas; métodos de avaliação. **Rev. Cad Nutr**, v.10, 1995, p.8-29.

APLEVICZ, K. S. **Caracterização de produtos panificados à base de féculas de mandioca nativas e modificadas**. 2006. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná. 2006.

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotecnologia**: alimentos e bebidas produzidos por fermentação. 4. re.v. 5. Edgard Blücher : São Paulo, 1993.

ARIAS, L.V.B. Fécula de mandioca e polvilho azedo para fabricação de pão de queijo. In: PIZZINATO, A; ORMESE, R.de C.S.S. **Seminário Pão de Queijo**: ingredientes, formulação e processo. Campinas: Governo do estado de São Paulo/ Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2000, p.1-14.

BAMFORTH, C. **Yest and fermentation**. Beer: Tapin to the art and science of brewing. New York: Oxford University Press, 2003, p.144-159.

BARROS, G. **Produção de cerveja cresce 18% em 2010 e eleva o Brasil a terceiro maior mercado do mundo**. Disponível em: < <http://colunistas.ig.com.br/guilhermearros/2011/01/19/producao-de-cerveja-cresce-18-em-2010-e-eleva-o-brasil-a-terceiro-maior-mercado-do-mundo/> > Acesso em: 30. mar. 2011.

BEKATOROU, A.; PSARIANOS, C.; KOUTINAS, A. Production of food Grade yeasts. **Food Tech Biotech**, v. 44, n.3, 2006, p. 407-415.

BOONNOP Krisada et al. Enriching nutritive value of cassava root by yeast fermentation. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.66, n.5, set./out. 2009, p.629-633.

BRASIL. **Portaria nº 19, de 15 de março de 1995**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de março de 1995

BUTOLO, J. E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo a outras formas de nutrientes. In: WORKSHOP PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA EM ALIMENTAÇÃO ANIMAL E HUMANA; Agosto, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL; 1996. p.70-89.

CABALLERO-CÓRDOBA, G.M., PACHECO, M.T.B., SGARBIERI, V.C. Composição química de biomassa de levedura integral (*Saccharomyces cerevisiae*) e determinação do valor nutritivo da proteína, em células íntegras ou rompidas mecanicamente, **Rev. Ciênc Tecnol Aliment**, v. 17, n.2,1997, p.102-106.

CABALLERO-CÓRDOBA, G. M; SGARBIERI, V. Nutritional and toxicological evaluation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass and a Yeast protein concentrate. **J. Sci. Food. Agric.** , v. 80, 2000, p. 341-351.

CAMPOS NETO, O. Utilização dos subprodutos da indústria sucroalcooleira na alimentação animal. In: Simpósio sobre produção animal, 4, 1987, Brasília, DF. **Anais...**, Brasília: SBZ, 1987. p.129-152

CASTILHO, W. et al. Efeito da substituição do farelo de soja pela levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) desidratada como fonte de proteína em dietas para leitões desmamados sobre peso de órgão digestivos e atividade das enzimas pancreáticas. **Arch. Latin. Produc. Anim.**, v. 12, n. 1, 2004, p. 12-20.

CARVER, J. D.; WALKER, W. A. The role of nucleotides in human nutrition. **Nutr. Biochem.** , v. 6, p. 58-72, 1995.

CHAUD, S. G.; SGARBIERI, V. C.; VICENTE, E. Influência de frações da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos em crescimento. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 21, n. 2, mar./abr., 2008, p. 137-147.

CHISTÉ, R. C. et. al. Qualidade da farinha de mandioca do grupo seca. **Ciênc. Tec. Alim.**, v. 26, n. 4, 2006, p. 861-864.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2. ed. Barueri, SP: Manole, 2007, p. 67-68.

CREDÍDIO, Edson. **Levedura de cerveja**. Disponível em: < http://www.drcredidio.com.br/elearning/detalhe_not.asp?notid=246 >. Acesso em: 10 set. 2010.

DIAS, L. T; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Rev. Ciênc. Agrotec.**, v. 30, n. 4, 2006, p. 692-700.

DIESE. Levedura de cerveja. 2008. Disponível em: < <http://www.diese.pt/suplementos/detalhe/pt/17/27> > Acesso em 12 jun. 2011.

DZIEZAK, J. D. Yeasts and yeast derivatives: applications. **Food Technol.**, v.41, 1987, p. 122- 125.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA E AGROPECUÁRIA-
Perguntas e respostas: Mandioca. 2010. Disponível em: <
[http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=
perguntas_e_respostas-mandioca.php#processamento](http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=perguntas_e_respostas-mandioca.php#processamento) > Acesso em 23. jan. 2011

ENERGIA EM EQUILÍBRIO. **Levedura de cerveja:** o que é e para que serve.
Disponível em: < <http://energiaemequilibrio.com/blog/suplemento-alimentar/levedura-de-cerveja-o-que-e-e-para-que-serve/> > Acesso em 12 jun. 2011

FAO/WHO/UNU, **Energy and protein requirements.** Joint Expert Consultation Tech Rep 724, FAO/WHO and United Nations University: Geneva, 1985.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos.** Princípios e prática. 2. ed. Artmed: Porto Alegre, RS: 2006.

FERREIRA, I.M.P.L.V.O. et al. Effects of the combination of hydrophobic polypeptides, isoalphaacids, and malto-oligosaccharides on beer foam stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, p. 4976-4981, 2005

FERREIRA, I.M.P.L.V.O Beer carbohydrates. In: V.R.Preedy (Ed.), **Beer in health and disease prevention.** New York: Elsevier, 2009, p.290-298

FERREIRA, I.M.P.L.V.O et al. Brewer's Saccharomyces yeast biomass: characteristics and potential applications **Tren. Food Sci.Tech.** v.21, p. 77-84, 2010.

FILLAUDEAU, L. et al. Water, waste water and waste management in brewing industries. **J. Clean. Produc.**, n.14, p. 463- 471, 2006

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2005.

FURCO, A.M. **Produção de biomassa de levedura em destilarias de álcool.** In: Anais do Workshop Produção de Biomassa de Levedura em Alimentação Animal e Humana; 1996. Campinas: Itai; 1996. p.52-8.

FURTADO, Carlos Eduardo et al. Uso de levedura em equinos alimentados com dietas compostas de fenos de diferentes qualidades nutricionais. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.10, p.2194-2199, 2010

FURUYA, W.M. et al. Níveis de levedura desidratada spray dried na dieta de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Ciênc. Rur.**, v.30, n.4, p.699-704, 2000.

GALVEZ, A., RAMÍREZ, M.J., GARCIA-GARIBAY, M. Chemical composition of a mixture of single cell protein obtained from *Kluyveromyces fragilis* and whey proteins. **Arch. Latin. Nutr.**, Guatemala, v.40, n.2, p.252- 262, 1990.

GRANGEIRO, M.G.A. et al. Inclusão da levedura de cana-deaçúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frango de corte. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n. 3, p. 766-773, 2001.

HALÁSZ, A., LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**. Boca Raton: CRC Press, 1991. 312p.

HELLBORG, L.; PISKUR, J. Yeast diversity in the brewing industry. In: V.R. Preedy (Ed.), **Beer in health and disease prevention**. New York: Elsevier, 2009, p.1068-1073.

HOUGH, J.S. **Biología de la Cerveza y de la Malta**. Editorial Acribia S.A.: Zaragoza (Espanha), 1990.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal, 2009**. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2009/default_pdf.shtm >. Acesso em: 4. ago. 2011.

ICIDCA. Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados da Cana-de-açúcar. **Manual dos derivados da cana-de-açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço, derivados do melaço, outros derivados, resíduos, energia**. Brasília: ABIPTI, 1999.

ICON TECH. **Sangria de levedura**. Disponível em: < <http://www.iconsa.com.br/hotsite/index.swf> >. Acesso em: 12. maio. 2010.

KIHLBERG, R. The Microbe as a Source of Food. **Ann. Revie. Microb.** v. 26, p. 427-466, out., 1972.

LIMA A. O. et al., **Métodos de Laboratório aplicados à Clínica: Técnica e Interpretações**. 6.ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1985.

MAFRA, G. B.; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: a maturação. **Rev. Analy.**, n. 27, fev/mar, 2007.

MAHADEVAN, K.; FARMER, L. Key odor impact compounds in three yeast extract pastes. **J. Agr. Food Chem.**, Washington, v. 54, n. 19, 2006, p. 7242-7250.

MARTINS, M. S. **Leveduras de cerveja e cana-de açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*), autolisada e íntegra na dieta de cães**. Dissertação (Mestrado). Jaboticabal, SP, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009

METRI, Anastácia Cavalcanti et al. Farinha de mandioca enriquecida com bioproteínas (*Saccharomyces cerevisiae*), em associação ao feijão e arroz, na dieta de ratos em crescimento. **Rev. Nutr.**, v.16, n. 1, jan/mar, 2003, p.73-81.

MIYADA, V.S. **A levedura seca na alimentação de suínos: estudos adicionais sobre o seu valor protéico e vitamínico**. 1987. (Tese de livre docência) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba 1987

MOREIRA, I. et al. Uso da levedura seca por “spray-dry” como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, 2002, p.962-969.

NEPA – NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 2. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p.

NELSON, D.L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios da bioquímica**. 3.ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

PADUA, D.M.C. Determinação da composição em aminoácidos das proteínas da levedura de álcool (*Saccharomyces cerevisiae*) seca, e da farinha de peixe como ingredientes para rações de peixe de água doce. In: ANAIS DAS ESCOLAS DE AGRONOMIA E VETERINÁRIA, Goiânia, 1997. **Anais...** Goiânia, v.27, n.2, 1997, p.85-87.

PARK, S.; RAMIREZ, W.F. Dynamics of foreign protein secretion from *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnol. Bioengine.** New York, v.33, 1989, p.272-281.

PAULA, E. F.E. et al. Composição química de silagem e levedura seca de cana-de-açúcar. In: V SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP, VI ENCONTRO DE ZOOTECNIA, Dracena, 2009. **Anais...** Dracena: UNESP, 2009.

PEIXOTO, N. Processamentos de produtos de biomassa de levedura para alimentação humana: potencial, mercado interno e externo. In: WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA: UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO HUMANA E ANIMAL, Campinas 1998. **Resumos...**, Campinas: ITAL, 1996. p.90-98.

PEPPLER, H.J. Food yeasts. In: ROSE, A.H.; HARRISON, J.S. (Eds.). *The Yeasts: Yeast technology*. London: Academic Press. v.3, 1970, p.421-462.

PEREIRA, E.S. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilho: consumo, digestibilidade, balanço, nitrogenado e parâmetros ruminais. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 20, n. 2, 2001, p. 563-572.

PEZZATO, L.E. et al. Levedura em dietas para alevinos de tilápias do Nilo. **Veter. Zootec.**, v.13, n.1, 2006, p.84-94.

PINHO, O. et al. Method optimization by solid phase microextraction in combination with gas chromatography with mass spectrometry for analysis of beer volatile fraction. **J. Chromat. A**, n.1121, 2006, p.145-153.

PINTO, L. C. et al. Teste de aceitação sensorial de mingau de tapioca acrescido de biomassa de levedura. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS (CBCTA), Salvador, 2010. **Anais...** SBCTA: Salvador, 2010.

PRADO, I. N. *et al.* Desempenho de Novilhas Alimentadas com Rações Contendo Milho ou Casca de Mandioca como Fonte Energética e Farelo de Algodão ou Levedura como Fonte Protéica. **Rev. bras. zootec.**, v. 29, n.1, 2000, p.278-287.

RAINIERI, S. The brewer's yeast genome: from its origins to our current knowledge. In: V.R.Preedy (Ed.), **Beer in health and disease prevention**. NewYork: Elsevier, 2009, p. 89-101.

RIELLA, M. C; MARTINS C. **Nutrição e o Rim**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

ROEPCKE, C.B.S. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de biomassa de levedura rica em zinco orgânico**. Dissertação Mestrado. Curitiba, PR, UFPR, 2007.

ROSALES, F.H. Yeast as protein source for human nutrition. **Rev. Acta Microbiol. Acad. Scien. Hung.**, Budapest, v.31, n.3, 1984, p.159-172.

SANTOS, G. D. Perspectivas brasileira e mundial da produção de leveduras. In: I CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2009, Campinas. **Anais...** Campinas:CBNA, 2009. p. 1-4.

SANTUCCI, M.C.C. *et al.* Enriquecimento de macarrão tipo tubo (massa curta) com derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*): impacto nutricional e sensorial. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23 n.2, 2003, p. 290-295.

SCHMITT. C. B.; SOCCOL C. R **Produção de biomassa de levedura enriquecida com zinco para alimentação animal: influência da técnica de adaptação sobre o acúmulo de zinco, o crescimento e a morfologia celular**. 2007. Disponível em: < <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/artigos-cientificos/nutricao-ruminantes/3566-Produo-biomassa-levedura-enriquecida-com-zinco-para-alimentao-animal-influncia-tnica-adaptao-sobre-acmulo-zinco-crescimento-morfologia-celular.html> > Acesso em 21 jun 2011.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Varela, 1996.

SGARBIERI, V. C. *et al.* Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Braz. J. Food Technol.**, v. 2, n.1,2, 1999, p.119-125.

SMITH, J. E. **Biotechnology**.3. ed. Cambridge University Press: Great Britain, 1996.

VIEIRA, L.M *et al.* **Fatores que afetam a competitividade das farinhas e polvilheiras na agricultura familiar catarinense**. ICEPA/ SC. 87p. set. 2002. Disponível em: <<http://www.icepa.com.br/Publicacoes/farinheira2002.pdf>>. Acesso em: 13 jun.2005.

VILELA, E. S. D.; SGARBIERI, V.C.; ALVIM, I. D. Determinação do valor protéico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (*Saccharomyces sp.*), **Rev. Nutr.**, v. 13, n. 3, set/dez., 2000, p. 185-192 a.

VILELA, E.S. D.; SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D. Valor nutritivo da biomassa de células íntegras, do autolisado e do extrato de levedura originária de cervejaria. **Rev. Nutr.**, v.13, n. 2, maio/ago., 2000, p. 127-134 b.

WATANABE, A. L. et al. Levels of yeast and its by-products on pacu juveniles feeding. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.3, 2010, p.447-453.

WUNDERLICH, S.; BACK, W. Over view of manufacturing beer: ingredients, processes, and quality criteria. In: V.R.Preedy (Ed.), **Beer in health and disease prevention**. New York: Elsevier, 2009, p. 3-16

WIKIPÉDIA. **Leveduras**. Disponível em: < <http://pt.wikipedia.org/wiki/Levedura> > Acesso em: 10. abr. 2011 a.

WIKIPÉDIA. **Tapioca**. Disponível: < <http://pt.wikipedia.org/wiki/Tapioca> >. Acesso em: 4. ago. 2011 b.

YAMADA, E. A. et al. Composição centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Rev. Nutr.**, v.16, n. 4, 2001, p. 423-432.

YAMADA, E. A. et al. Utilização de extrato de levedura (*Saccharomyces spp.*) de destilaria de álcool em salsicha. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 13, n. 3, jul./set. 2010, p. 197-204.

ZAMBONELLI, C. et al. Autolysis of yeasts and bacteria in fermented foods. **Ital. J. Food Sci.**, Perugia, v. 12, n. 1, 2000, p. 9-21.

Capítulo 2

Determinação do valor nutritivo de derivados de levedura de cervejaria

RESUMO

As leveduras são utilizadas na indústria de alimentos e bebidas em diversas formas e caracterizam-se por apresentar excelente fonte de proteínas, a qual poderia ser utilizada na alimentação humana, como biomassa protéica ou bioproteínas devido suas características não-patogênicas. O Brasil produz atualmente uma grande quantidade de biomassa de levedura, como subproduto das destilarias produtoras de etanol e das indústrias de cerveja, sendo principalmente aproveitado na alimentação animal. Este capítulo objetiva avaliar o perfil nutricional e o potencial de utilização, de derivados da levedura secundária da indústria cervejeira, como ingrediente nutritivo em alimentos. As amostras foram cedidas por uma cervejaria de Feira de Santana, BA, em dois momentos (lote 1 e 2) e submetidas a um tratamento alcalino (NaOH 0,3%), lavagens e centrifugação, com descarte do sobrenadante, para obtenção de uma biomassa limpa e desamargada. Uma amostra controle não foi submetida a este tratamento para avaliação de possíveis perdas nutricionais. A biomassa foi liofilizada para obtenção de um liofilizado 1 (antes do tratamento) e liofilizado 2 (após o tratamento). Foi determinada a composição centesimal das amostras, em triplicata. As determinações de minerais e vitaminas do complexo B foram realizadas em triplicata, em um lote dos liofilizados 1 e 2. Os minerais foram determinados por espectrometria de absorção atômica, após digestão ácida e as vitaminas do complexo B por cromatografia líquida de alta eficiência. O pH foi determinado em um lote da biomassa e liofilizado antes e após o tratamento alcalino. Os resultados médios da composição centesimal da biomassa foram: umidade $74,45 \pm 1,81$; cinzas $0,58 \pm 0,02$; lipídios $0,30 \pm 0,05$; proteínas $11,4 \pm 0,5$; carboidratos $12,3 \pm 1,5$ e fibras $0,96 \pm 0,18$; e do liofilizado foram: umidade $10,79 \pm 1,11$; cinzas $2,08 \pm 0,37$; lipídios $2,76 \pm 0,62$; proteínas $35,2 \pm 1,7$; carboidratos $45,2 \pm 0,6$; fibras $3,85 \pm 0,07$. O tratamento alcalino não influenciou em perdas de proteínas. O liofilizado 2 apresentou excelentes fontes de cálcio (699mg%), ferro (10,59mg%), selênio (0,5mg%) e zinco (9,68mg%), correspondendo, em termos percentuais, em mais de 50% das necessidades de ingestão diária para um indivíduo adulto, e composição de vitaminas B1 (0,45mg%); B2 (2,34mg%); B3 (0,70mg%); B6 (9,99mg%) e B9 (0,25mg%). O tratamento de limpeza e desamargor influenciou em perdas significativas de minerais e vitaminas, exceto para o ferro, zinco e B1. Houve perda de reagente álcali residual pela liofilização, aproximando o valor do pH da levedura original. A biomassa e principalmente o liofilizado de levedura oriunda de cervejarias se constitui em uma importante fonte de proteínas, minerais e vitaminas do complexo B. O subproduto pode ser considerado um complemento nutricional com potencial para ser utilizado como forma de enriquecimento de alimentos.

Palavras chave: levedura de cerveja, liofilizado de levedura, biomassa de levedura, enriquecimento nutricional, vitaminas, minerais

ABSTRACT

Yeasts are used in food and beverage industry in several forms and are characterized by presenting excellent source of protein, which could be used for human food, such as biomass or bio-protein protein due to its non-pathogenic characteristics. Brazil now produces a large amount of yeast biomass, as a byproduct of producing ethanol distilleries and beer industries, mostly as feed harnessed. This chapter aims to evaluate the nutritional status and potential use of secondary derivatives of the yeast in the brewing industry as an ingredient in nutritious foods. The samples were provided by a brewery in Feira de Santana, BA, at two times (batch 1 and 2) and subjected to an alkaline treatment (0.3% NaOH), centrifugation and washing with disposal of the supernatant to obtain a desamargada and clean biomass. A portion of the sample was not subjected to this treatment for nutritional assessment of potential losses. The biomass was lyophilized to obtain a lyophilized 1 (before treatment) and lyophilized 2 (after treatment). The chemical composition was performed in triplicate, according to the rules of the Adolfo Lutz Institute. Measurements of minerals and B vitamins were performed in triplicate in a batch of lyophilized 1 and 2. The minerals were determined by ICP OES after acid digestion and the B vitamins by HPLC. The pH was determined in a batch and freeze-dried biomass before and after alkali treatment. The average results of the chemical composition of biomass were: moisture 74.45 ± 1.81 , ash 0.58 ± 0.02 , 0.30 ± 0.05 lipids, proteins 11.4 ± 0.5 , 12.3 carbohydrates fibers and $1.5 \pm 0.96 \pm 0.18$, and lyophilized were: moisture 10.79 ± 1.11 , ash 2.08 ± 0.37 , 2.76 ± 0.62 lipids, proteins 35.2 ± 1.7 , carbohydrates 45.2 ± 0.6 , 3.85 ± 0.07 fibers. The alkaline treatment had no effect on protein losses. The lyophilisate showed two excellent sources of calcium (699mg%), iron (10.59 mg%), selenium (0.5 mg%) and zinc (9.68 mg%), corresponding, in percentage terms in more than 50% of needs daily intake for an adult, and composition of vitamins B1 (0.45 mg%), B2 (2.34 mg%), B3 (0.70 mg%), B6 (9.99 mg%) and B9 (0.25 mg%). The cleaning and treatment desamargor influenced in significant losses of minerals and vitamins, except for iron, zinc and B1. There was loss of residual alkali reagent by lyophilization, approaching the pH value of the original yeast. The lyophilized biomass and especially coming from brewers yeast constitutes an important source of protein, minerals and B vitamins. The by-product can be considered a nutritional supplement with the potential to be used as a form of food enrichment.

Keywords: yeast, dried yeast, yeast biomass, nutrient enrichment, vitamins, minerals

1. Introdução

As leveduras (*Saccharomyces spp.*) são utilizadas na indústria de alimentos e bebidas em diversas formas, como na indústria de panificação, na fermentação alcoólica nas indústrias de cerveja, vinhos e álcool, em outros processos fermentativos como catalisador biológico (MIYADA, 1987; PEIXOTO, 1996, METRI et al, 2003) e como fonte de nutrientes em alimentos naturais ou ingredientes nutritivos em alimentação humana e/ou animal (BUTOLO, 1996; HALÁSZ; LÁSZTITY, 1991; PEIXOTO, 1996; SANTUCCI et al, 2003; METRI et al, 2003). Este grupo de microorganismos se constitui em uma excelente fonte de proteínas, que, devido às suas características não-patogênicas, é possível de ser utilizado na alimentação animal e mesmo humana, como biomassa protéica ou bioproteínas (MIYADA, 1987; PARK; RAMIREZ, 1989; METRI et al, 2003).

O Brasil produz atualmente uma grande quantidade de biomassa de levedura, como subproduto das destilarias produtoras de etanol e das indústrias de cerveja. Devido ao rápido crescimento, as leveduras geram um excedente de produção, tornando-se um resíduo agroindustrial, no qual é aproveitado, principalmente, como ingrediente nutritivo para alimentação animal (GRANGEIRO et al, 2001, MOREIRA et al, 2002).

Segundo o Sindicato Nacional de Cerveja (Sindicerv), o Brasil se tornou, em 2010, o terceiro maior mercado de cerveja do mundo, com uma produção equivalente a 12,6 bilhões de litros, ficando atrás apenas da China e dos Estados Unidos (BARROS, 2011), o que repercute em um elevado excedente de levedura secundária deste processo industrial. Esses dados apontam o Brasil como um potente produtor de biomassa de levedura.

Muitos produtos e subprodutos industriais, atualmente disponíveis, estão sendo estudados como uma alternativa para enriquecimento nutricional de produtos alimentícios, visando sua utilização na dieta alimentar dos seres humanos. O objetivo deste capítulo foi avaliar o perfil nutricional de derivados da levedura secundária da indústria cervejeira, como ingrediente nutritivo em alimentos.

2. Materiais e métodos

2.1. Coleta e tratamento das amostras

As amostras de levedura secundária foram cedidas de uma cervejaria, localizada no município de Feira de Santana (BA), como forma de suspensão de células em refrigeração (Figuras 1 e 2). Inicialmente, foi aplicado um tratamento térmico nas amostras, para inativação de células remanescentes, ainda ativas, compreendendo 98°C/10 minutos, seguida de primeira lavagem e centrifugação (6.000rpm/5min.), para recuperação e decantação das células, em Centrífuga Fanem, modelo 204 NR. As amostras foram armazenadas a -18°C, até o tratamento de limpeza e desamargamento, que consistiu na adição de um reagente alcali e sucessivas lavagens para obtenção da biomassa limpa e desamargada, designada como biomassa tratada (BMT), descrito na Figura 3 (adaptado de Sgarbieri et al, 1999). As lavagens e o tratamento alcalino tiveram como objetivo retirar o excesso de resinas e taninos e neutralizar o sabor amargo, inerente às amostras (Figura 4). As amostras foram cedidas em dois momentos, sendo designadas como lote 1 e 2.

Uma parte de um dos lotes recebidos foi submetida apenas ao tratamento térmico e centrifugação, para obtenção da biomassa úmida sem tratamento, ou biomassa natural (BMN).



Figura 1: Amostras da levedura de cervejaria em suspensão.



Figura 2: Amostras da levedura de cervejaria em suspensão.

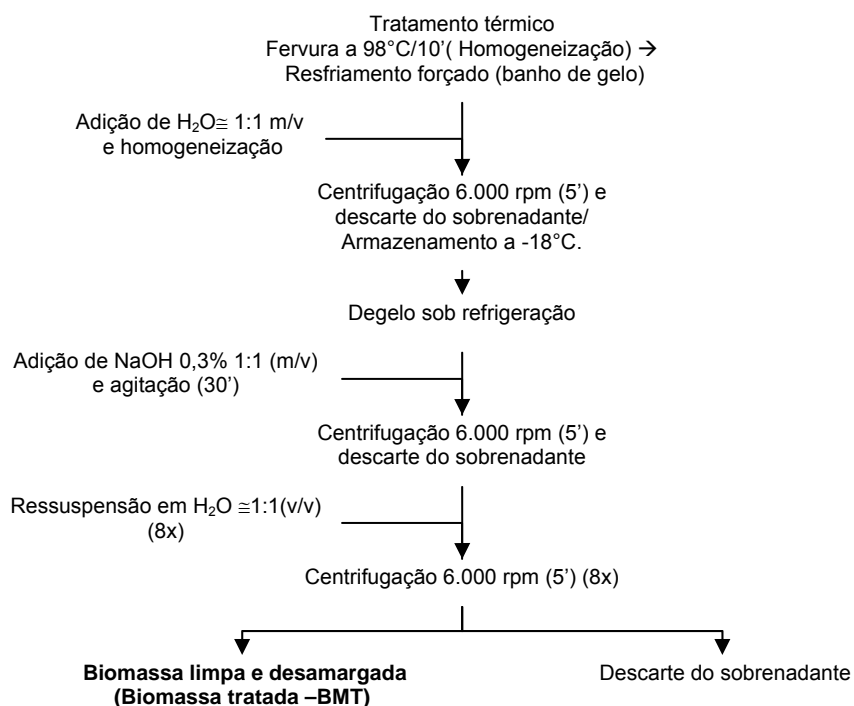


Figura 3: Fluxograma de tratamento da levedura secundária para obtenção da biomassa de levedura (adaptado de de Sgarbieiri et al, 1999).



Figura 4: Tratamento de limpeza das amostras: processo de centrifugação, descarte do sobrenadante e obtenção da biomassa úmida.

2.2. Liofilização da biomassa úmida

A biomassa tratada (BMT) foi congelada (-18°C) e submetida ao processo de liofilização por 48 horas, em Equipamento Liofilizador Liobrás, Liotop, modelo L101, no qual foi obtido a biomassa tratada e liofilizada (BMTL) (Figuras 5 e 6). A BMN foi

também liofilizada (BMNL), sendo utilizada para análises de composição centesimal, de minerais e vitaminas.

As amostras foram trituradas e homogeneizadas para realização das análises físico-químicas.



Figura 5: Biomassa de levedura após retirada do liofilizador



Figura 6: Biomassa de levedura liofilizada e homogeneizada

2.3. Composição centesimal

A composição centesimal, foi realizada em dois lotes da BMT e da BMTL , em triplicata, para determinação de lipídios, proteínas, fibras totais, umidade e cinzas, de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008). A determinação da composição centesimal também foi realizada em um lote da BMNL, em triplicata, para identificação de possíveis perdas nutricionais devido ao tratamento.

A determinação de umidade foi realizada partir da perda da massa sofrida pela amostra, sob método de aquecimento direto a 105°C em estufa, a qual se constituiu em resíduo seco, inicialmente por 3 horas e seguidos de 1 em 1 hora até peso constante.

As cinzas foram obtidas por incineração das amostras em forno Mufla a 550°C/6h, até a eliminação completa do carvão, e transformação em resíduo mineral fixo.

A determinação dos lipídios foi realizada a partir da extração da amostra com solvente orgânico em aparelho *Soxhlet* por 6 horas, com balão previamente pesado, seguida da remoção, por evaporação, do solvente empregado, calculando-se o peso adicional do balão.

As proteínas foram determinadas seguindo três etapas: digestão, que consistiu em aquecer a substância nitrogenada com ácido sulfúrico concentrado em presença de mistura catalítica, sob temperatura de 330°C; destilação, em que a amônia foi separada, por arraste a vapor, e recolhida em uma solução receptora; e titulação, onde se determinou quantitativamente a amônia contida na solução receptora, com solução padrão de ácido clorídrico 0,1N. O volume titulado do ácido foi considerado para quantificar o nitrogênio total da amostra, utilizando-se 5,5 com fator de conversão à proteínas, sugerido por Reed e Nagodawithana (1991), para proteínas de levedura.

A determinação de fibra bruta foi realizada a partir das amostras previamente desengorduradas e secas, sendo submetidas à digestão ácida, seguida de filtragem e peso do filtrado, seguida de calcinação em Mufla a 550°C/6h e quantificação de cinzas, para diferença de peso.

A quantificação dos Carboidratos foi realizada por diferença obtida pelo somatório das determinações percentuais de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e fibras.

2.4. Composição mineral

Os minerais foram determinados por espectrometria de emissão atômica por plasma de argônio indutivamente acoplado, em equipamento *Vista Pro CCD Simultaneous* ICP OES, no Laboratório de Análises Químicas, do Instituto de Química, da Universidade Federal da Bahia, após hidrólise ácida, segundo Skoog e Leary (2002)

A hidrólise ácida foi realizada em bloco digestor a 130°C/≅4h, utilizando 6,0 ml de HNO₃ concentrado e 3,0 ml H₂O₂. Foram necessárias três diluições até a quantificação final: a diluição 1, que consistiu em avolumar o conteúdo digerido na hidrólise até 10mL; a diluição 2, que consistiu em diluir um volume de 4mL retirados da diluição 1 até 10mL, para se obter uma concentração de 3mol/L, equivalente à

curva analítica utilizada para limites de quantificação de micro e macroelementos. A diluição 3 foi necessária para quantificação do cálcio, pois inicialmente apresentou concentração em ponto superior ao limite da curva, e consistiu em retirar uma alíquota de 2ml, da diluição 2, e diluir até 4 mL.

A determinação foi realizada em um lote da BMTL e BMNL, para avaliação de perdas de minerais após o tratamento de limpeza e desamargamento.

2.5. Composição vitamínica

As determinações de vitaminas do complexo B foram realizadas em um lote da BMTL e BMNL para, também, identificação de possíveis perdas vitamínicas. Estas amostras foram encaminhadas ao Laboratório Centro de Química Analítica, em Campinas, para análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), segundo a A.O.A.C. International (2006), e emissão de um laudo dos resultados.

2.6. Determinação de pH

O pH foi determinado nas amostra dos tratamentos BMN, BMT, BMNL, BMTL, em triplicata, segundo normas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Uma alíquota de 1g da amostra foi diluída em 10mL de água destilada, na qual foi submetida à leitura no pHmetro *Calibration Check Microprocessor pH*, modelo, HI221, HANNA instruments, no Laboratório de Bromatologia, UNEB.

2.7. Análise estatística

Os dados da composição centesimal e de minerais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$).

3. Resultados e discussão

Os resultados médios da composição centesimal da BMT e BMTL, estão apresentados na Tabela 1. A partir destes resultados, pode-se inferir que a biomassa, e principalmente, o liofilizado se caracterizam por constituir uma importante fonte de proteínas, respectivamente 11,4g% e 35,2g% com potencial para agregar valor nutritivo protéico em alimentos.

Tabela 1: Composição centesimal (g%) da biomassa tratada (úmida) e biomassa tratada liofilizada.

	Biomassa tratada (BMT)			Biomassa tratada liofilizada (BMTL)		
	Lote 1	Lote 2	Média total	Lote 1	Lote 2	Média total
Umidade	75,73 ±0,14 a	73,17 ±0,14 b	74,45 ±1,81	10,0 ±0,13 b	11,57 ±0,1 a	10,79 ±1,11
Cinzas	0,55 ±0,00 a	0,56 ±0,0 b	0,58 ±0,02	1,81 ±0,01 b	2,3 ±0,02 a	2,08 ±0,37
Lipídios	0,26 ±0,04 a	0,33 ±0,03 a	0,30 ±0,05	3,2 ±0,2 a	2,32 ±0,07 b	2,76 ±0,62
Proteínas	11,09 ±0,06 b	11,8 ±0,2 a	11,4 ±0,5	36,4 ±0,1 a	34,2 ±0,7 b	35,2 ±1,7
Carboidratos	11,24	13,31	12,3 ±1,5	44,8	45,6	45,2 ±0,6
Fibras	1,09 ±0,10 a	0,83 ±0,06 b	0,96 ±0,18	3,8 ±0,9 a	3,9 ±0,7 a	3,85 ±0,07

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$);

Fator de conversão de proteínas: 5,5 (para proteínas de levedura, segundo Reed e Nagodawithana, 1991)

Entre os lotes dos tratamentos BMT, não houve diferença estatística ($p < 0,05$) na composição de lipídios. Já para amostras da BMTL, apenas não houve diferença no teor de fibras. Esta variação entre os lotes pode estar relacionada à injúria celular após a retirada da levedura no mosto ou durante o transporte ou congelamento, ou pode estar relacionada a amostras de mostos de fermentação de diferentes tipos de cerveja da mesma indústria. A BMTL apresentou, aproximadamente, 64% a menos de umidade do que a BMT, o que contribui para concentrar os nutrientes em, aproximadamente, 3 vezes mais o valor da proteína e de fibras; 4 vezes o teor de carboidratos, 5 vezes o valor de cinzas, 9 vezes o teor de lipídios.

As amostras BMTL do presente estudo apresentaram composição de lipídios superior ao relatado no trabalho de Campos Neto (1987), no qual apresenta a porcentagem de extrato etéreo na levedura (ou lipídios) com a variação de 0,9 a 1,6%, compreendendo aproximadamente proporções iguais de triglicerídeos e fosfolipídeos da membrana celular. No entanto, o teor lipídico da BMTL ainda é considerado baixo.

Segundo Sgarbieri et al (1999) e Yamada et al (2003), as células de levedura e de seus derivados, como autolisado, extrato seco, parede celular e concentrado

protéico, variam na composição centesimal, aproximadamente, em proteínas 32 - 62g%; lipídios 0,4–8,5g%; cinzas 4-12,5g% e fibras 2,70- 55g%. Estes limites distantes podem estar relacionados à separação de partes celulares solúveis e insolúveis e também à métodos de processamento para obtenção de cada tipo de derivado, que incluem adição de reagentes, solventes e métodos físicos de secagem. Comparando estes valores com os resultados da BMTL do presente estudo, observou-se que os valores estão dentro da faixa citada pelos autores para proteínas, lipídios e fibras, e valores inferiores foram encontrados para cinzas totais. Este fato pode ser justificado pela adição de cloreto de sódio no tratamento de autólise descrito pelos autores, para obtenção do autolisado e concentrado protéico. Nos trabalhos citados acima, não foram apresentados dados de umidade, porém, de forma geral, derivados da levedura que apresentam menos umidade, contêm, conseqüentemente, maiores teores de nutrientes, em especial de proteínas, como o liofilizado em relação a biomassa úmida.

Paula et al (2009) avaliaram a composição química da levedura seca de cana de açúcar, na qual apresentou 38,77g% de proteína bruta, 0,31g% de extrato etéreo (ou lipídios), 0,16g% de fibra bruta. Os autores inferiram que o subproduto da produção de álcool pode se constituir em uma alternativa para alimentação de ruminantes, pois se destaca como ótima opção de fonte protéica, apresentando alto valor biológico e podendo ser utilizado em conjunto com alimentos nutricionalmente pobres em proteína na ração. Os resultados apresentados por estes autores diferem com os valores encontrados para a BMTL do presente estudo, nos quais apresentaram valores poucos inferiores para proteínas e superiores para fibras e lipídios quantificados.

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal dos tratamentos BMTL e BMNL. É possível observar que os liofilizados apresentaram diferença significativa no teor de nutrientes, exceto para o valor de proteínas. O mosto de fermentação, do qual a levedura de cervejaria é retirada, contém lúpulo e mistura de cereais, e desta forma, a biomassa sem o tratamento pode apresentar vestígios das substâncias oriundas destes ingredientes presentes no mosto, em maior quantidade do que a BMTL. Isso pode ter contribuído para a diferença da umidade, que ficou visivelmente evidenciada pela diferença de textura de ambos os liofilizados. A partir dos resultados na Tabela 2 foi possível observar que o tratamento de limpeza pode ter contribuído para as perdas de cinzas, possivelmente por elementos hidrossolúveis

que foram lixiviados pelas sucessivas lavagens. Este mesmo tratamento possibilitou aumento de lipídios e de fibras, tornando-os, possivelmente, mais disponíveis para a quantificação durante as análises.

Tabela 2: Composição centesimal (g%) da biomassa natural liofilizada e biomassa tratada liofilizada.

	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteínas	Carboidratos	Fibras
BMNL	7,05 ±0,03 b	3,7 ±0,1 a	0,96 ± 0,06 b	34,40 ±0,3 a	51,7	2,2 ±0,7 b
BMTL	11,57 ±0,1 a	2,34 ±0,02 b	2,32 ±0,07 a	34,3 ±0,7 a	45,6	3,9 ±0,7 a

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$);

Fator de conversão de proteínas: 5,5 (para proteínas de levedura, segundo Reed e Nagodawithana, 1991)

A Tabela 3 apresenta os resultados da composição de minerais do BMNL e BMTL. Pode-se inferir que a levedura residual de cervejaria, desidratada por liofilização, é uma excelente fonte de minerais, destacando-se em cálcio, ferro, selênio e zinco, correspondendo, em termos percentuais, em mais de 50% das necessidades de ingestão diária destes minerais para um indivíduo adulto (National Academy of Sciences, 2005). Houve redução no total da maioria dos minerais quantificados no tratamento BMTL em comparação com o BMNL, com diferença significativa ($p < 0,05$), exceto para o ferro, estanho, estrôncio e zinco. Esta redução pode ser atribuída ao processamento de limpeza e desamargamento da biomassa, devido a perdas dos minerais por lixiviação, decorrentes das sucessivas lavagens e descarte da água sobrenadante. A presença do sódio nas amostras da BMTL, pode estar relacionado à adição do Hidróxido de Sódio, como agente alcalinizante para neutralização do amargor. Em relação ao selênio, as triplicatas não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$). Porém, o resultado deste mineral nas amostras BMNL e BMTL, apresentou desvio padrão elevado em relação à média encontrada, e desta forma, ainda não pôde ser avaliado em relação às perdas por meio do processamento (identificado como 0% de perda). Além do mais, devem ser consideradas as propriedades intrínsecas do selênio, como volatilidade, o que pode levar a erros analíticos, contribuindo para o elevado desvio padrão. O teor obtido no liofilizado 2, reflete a levedura desidratada como importante fonte de selênio, correspondendo em mais de 900% a recomendação de ingestão diária referenciada.

Tabela 3: Composição mineral (mg%) da biomassa natural liofilizada e biomassa tratada liofilizada.

Elementos	BMNL	BMTL	%IDR (*) (BMTL)	% perdas (**)
Cálcio	862,8 ±50,1 a	699,64 ±35,26 b	58,3	18,91
Cobre	0,18 ±0,01 a	0,0 ±0,0 b	0	100
Ferro	11,77 ±0,98 a	10,59 ±0,41 a	58,8-132,4	10,02
Potássio	18,65 ±0,43 a	0,0 ±0,0 b	0	100
Magnésio	78,52 ±5,49 a	52,54 ±3,18 b	12,5-16,4	33,08
Manganês	0,63 ±0,06 a	0,11 ±0,02 b	4,8-6,1	82,53
Molibdênio	0,09 ±0,02 a	0,0 ±0,0 b	0	100
Sódio	0,0 ±0,0 a	50,59 ±6,82 b	3,4	0
Fósforo	206,32 ±8,69 a	125,32 ±7,8 b	17,9	39,25
Selênio	0,46 ±0,26 a	0,5 ±0,14 a	909,1	0
Estanho	3,48 ±0,41 a	3,05 ±0,86 a	ND	12,35
Estrôncio	1,24 ±0,07 a	1,09 ±0,07 a	ND	12,09
Zinco	10,11 ±0,98 a	9,68 ±0,62 a	88-121	4,25

Letras diferentes $p < 0,05$; Letras iguais $p > 0,05$; ND-não determinado

(*) Porcentual de Ingestão Diária Recomendada para indivíduos adultos (National Academy of Sciences, 2005), de acordo com a amostra BMTL. Limites diferentes de acordo com idade e gênero. (**) % de perdas de minerais após o tratamento.

Desconsiderando os percentuais de perda do cobre e molibdênio, já que foram encontradas pequenas quantidades destes na BMNL, os maiores percentuais de perdas após o tratamento foram para o potássio, manganês, magnésio, fósforo e cálcio.

Paula et al (2008) apresentaram resultados de aproximadamente 710mg% de fósforo e 220mg% de cálcio e Moreira et al (2002) encontraram teor de cálcio 470mg% e fósforo 420mg% em levedura de cana de açúcar seca por *Spray drier*, diferindo dos resultados encontrados no presente estudo. Esta diferença pode estar associada ao tipo de levedura oriunda de processos fermentativos distintos, a exemplo do setor sucro-alcooleiro e da indústria cervejeira. Para Campos Neto (1987) os minerais predominantes na levedura são o fósforo e o potássio, já na amostra BMTL do presente estudo, houve predominância de cálcio (699,64 mg%) e fósforo (125,32 mg%).

Sgarbieri et al (1999) encontraram teores de minerais no autolisado, extrato e parede celular de levedura de cervejaria, em mg%, entre os limites para: Sódio 605 a 1475,5; Cálcio 99 a 883,0; Magnésio 31,4 a 264,0; Fósforo 308 a 1927,0; Potássio 173 a 1877,5; Ferro 4,5 a 56,0; Manganês 3,7 a 5,6; Zinco 4 a 6,8 e Cobre 0,6 a 2,8. O mineral selênio não foi determinado. Esta variação dos resultados, de acordo com

o tipo dos derivados da levedura, reflete as perdas ou concentração dos minerais em decorrência de diferentes processos para obtenção do autolisado, extrato e parede celular. O uso de hidróxido de sódio e cloreto de sódio descrito pelos autores, durante os processos, pode ter influenciado em teores aumentados de sódio. O teor de zinco mencionado nos derivados citados foi inferior aos das amostras BMNL e BMTL. Os autores utilizaram número menor de lavagem da biomassa, o que pode ter contribuído para manter o percentual de alguns minerais, como potássio e fósforo, superior aos encontrados neste estudo. Entretanto, o método de secagem por *Spray drier*, utilizado pelos autores para obtenção destes derivados da levedura citados, poderia contribuir com perdas destes minerais por meio do vapor d'água eliminado com aplicação de calor, e assim subestimar o total destes, diferente da liofilização, que é um processo de desidratação por sublimação, e tem, como resultado, uma maior retenção do valor nutricional (FELLOWS, 2006).

Apesar de já descrito na literatura que a levedura é fonte de cromo trivalente, forma biologicamente ativa conhecida como fator de tolerância à glicose (FERREIRA et al, 2010; SCHWARZ; MERTZ, 1959), as amostras de BMNL e BMTL não apresentaram quantidade detectável deste mineral.

As indústrias de cerveja utilizam tipos de cereais variados para composição do mosto para fermentação para aquisição de aroma e sabor peculiares (AQUARONE et al, 1993). O mosto inoculado com levedura e aromatizado com o lúpulo, contém carboidratos, aminoácidos e outros compostos nitrogenados, sais minerais e vitaminas que são indispensáveis ao crescimento das leveduras. A maior parte destas substâncias difunde-se através da parede celular (HOUGH, 1990), e, desta forma, as amostras de leveduras de cervejarias, de diferentes mostos, podem apresentar teores de minerais variados, o que pode influenciar na quantificação total dos mesmos.

A National Academy of Sciences (2005) define como UL (*Upper Intake Levels*) ou nível máximo de ingestão diária de nutrientes, como um limite estabelecido de ingestão, de determinados micronutrientes, que não representa risco de efeitos adversos, tais como selênio 400 µg/dia, Cálcio 2,5g/dia; Ferro 45mg/dia e Magnésio 350mg/dia. A UL considera consumo total de alimentos, água e suplementos. Considerando a referência destes valores, apenas o teor de selênio, encontrado em 100g da amostra BMTL, equivalente a 500µg, poderia representar algum risco de efeito adverso devido ao consumo nesta quantidade. Como o produto

BMTL poderia ser utilizado como forma de fortificar ou complementar alimentos da dieta, o consumo corresponderia a um valor inferior ao centesimal, o que enquadraria o teor de selênio abaixo da *UL* estabelecida.

A Tabela 4 apresenta os resultados das análises de vitaminas do complexo B, o percentual da IDR para indivíduos adultos, para cada vitamina e o percentual de perdas após o tratamento.

Tabela 4: Composição de vitaminas (mg%) da biomassa natural liofilizada e biomassa tratada liofilizada.

Vitaminas	BMNL	BMTL	%IDR (**) (BMTL)	% de perdas (***)
Vitamina B1 (Tiamina)	0,47 ±0,02 a	0,45 ±0,02 a	37,5- 40,9	4,25
Vitamina B2 (Riboflavina)	1,38 ±0,05 b	2,34 ±0,03 a	180 - 212,7	0
Vitamina B3 (Nicotinamida)	26,54 ±0,14 a	0,79 ±0,06 b	4,9 – 5,6	97
Vitamina B6 (Piridoxina)	13,6 ±0,26 a	9,99 ±0,06 b	768,4	26,5
Vitamina B9 (Ácido Fólico)	3,74 ±0,02 a	0, 25 ±0,03 b	62,5	93,3
Vitamina B12 (Cianocobalamina)	75,8 ±2,6	ND*	0	100

Letras diferentes p<0,05; Letras iguais p>0,05 ;

ND*-não detectado;

(**) Porcentual de Ingestão Diária Recomendada para indivíduos adultos (National Academy of Sciences, 2005), de acordo com a BMTL. Limites diferentes de acordo com idade e gênero.

(***) % de perdas de minerais após o tratamento

As amostras de levedura de cervejaria liofilizadas apresentaram-se como um subproduto fonte de vitaminas do complexo B, em quantidades superiores para as vitaminas B3, B6 e B12. No entanto, após o tratamento de limpeza e para reduzir o amargor, as perdas de vitaminas foram significantes, exceto para a B1, provavelmente devido à hidrossolubilidade destes compostos. A vitamina B2 apresentou valor superior na BMTL, podendo estar presente algum interferente para a quantificação na BMNL. As vitaminas que apresentaram maiores percentuais de perdas foram a B9, ou folato, e a B12, sendo que para esta não foi detectado no liofilizado 2. A partir dos valores do IDR, na Tabela 4, pode-se considerar que, mesmo após o tratamento submetido, o liofilizado 2 é uma importante fonte de B1, B2, B6 e B9 em 100g do produto.

Segundo Campos Neto (1987) a levedura apresenta elevados teores de vitaminas do complexo B, principalmente tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3),

ácido pantotênico e inositol. São escassos os dados na literatura que quantifiquem cada vitamina do complexo B na levedura e derivados.

Um produto comercial de levedura de cerveja em flocos, para ser adicionada em preparações caseiras, apresenta composição centesimal de vitaminas de: 50 mg de vitamina B1; 5 mg de vitamina B2; 24 mg de niacina; 3,5 mg de vitamina B6; 3000 µg de vitamina B9; 0,35 µg de vitamina B12 (DIESE, 2011). Considerando estes valores, as amostras da BMTL do presente estudo, apresentaram composição vitamínica inferior, exceto para a B6, e semelhante ao valor da B9.

O levedo de cerveja é uma forma de comercialização da levedura como complemento nutritivo. Este produto são células inteiras e secas de *Saccharomyces cerevisiae* definidas como “leveduras nutricionais”, nas quais são cultivadas de forma pura, enriquecidas com melaço de cana ou de beterraba, em condições controladas, para uso específico como suplemento nutricional, e desta forma, não são subprodutos do processo de fabricação da bebida como a levedura secundária do presente estudo (BEKATOROU et al, 2006). Conforme a Portaria da ANVISA nº19/1995 (BRASIL, 1995), o levedo de cerveja deve conter, no mínimo, 40% de proteínas, e em cada grama, o equivalente de, no mínimo, 0,12mg de cloridrato de tiamina (vitamina B1), 0,04mg de riboflavina (B2) e 0,25 mg de niacina (B3). O liofilizado da levedura como subproduto, após o tratamento não apresentou valores protéicos e vitamínicos que correspondessem a este mínimo preconizado, para ser considerado um complemento nutricional equivalente às células de leveduras comercializadas, exceto para a vitamina B2.

Os valores de pH das amostras estão apresentados na Tabela 5. O tratamento alcalino conseqüentemente aumentou o valor de pH da amostra original, que inicialmente era levemente ácida passando para um pH alcalino (10,05). O liofilizado sem o tratamento manteve o valor ácido das amostras originais. O pH do liofilizado após o tratamento alcalino, foi inferior ao da biomassa tratada, possivelmente por ter ocorrido perda de água alcalina durante a desidratação por liofilização, assemelhando-se a alimentos pouco ácidos como o milho (7,3); camarão e caranguejo (7,0) e inferior a pH da clara do ovo (9,0-10,0) (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Desta forma, pode-se considerar que grande parte do hidróxido de sódio residual na biomassa foi reduzida pela liofilização.

Tabela 5: Valores médios e desvio padrão ($X \pm S$) do pH da biomassa e liofilizado antes e após o tratamento alcalino.

Derivados	Derivados sem tratamento		Derivados após o tratamento	
	BMN	BMNL	BMT	BML
$X \pm S$	6,40±0,10	6,10±0,08	10,05±0,28	7,82±0,13

Alguns estudos apontam o aproveitamento de levedura como subproduto da indústria cervejeira e das destilarias de álcool, como ingrediente adicional em produtos alimentícios, visando enriquecimento nutricional como em farinha de mandioca enriquecida (METRI et al, 2003), em macarrão (SANTUCCI et al, 2003), em farinhas mistas extrusadas, a base de milho (ALVIM et al, 2002), em mingau de tapioca (PINTO et al, 2010) e visando substituição do extrato de carne, em salsichas (YAMADA et al, 2010).

A textura resultante após a liofilização da biomassa do presente estudo, a qual se apresenta na forma de pó, facilitaria a adição deste subproduto em diferentes tipos de alimentos, e a biomassa úmida, que por apresentar-se pastosa, poderia ser utilizada em preparações com maior umidade como as pastosas ou líquidas, visando enriquecimento nutricional, especialmente de proteínas e minerais.

Por outro lado, a presença do gosto amargo, que é um fator limitante ao uso da levedura de cervejarias na alimentação humana, pode ser minimizado por meio de tratamentos, já descritos na literatura por Sgarbieri et al (1999) e Credídio et al (2010). Além deste fator, um outro seria a riqueza em ácidos nucleicos (GALVEZ et al, 1990.; YAMADA et al, 2003), que poderia contribuir em acúmulo de ácido úrico e, conseqüentemente, formação de litíase renal e deposição de cálcio em tecidos moles, além de influenciar na doença conhecida como gota (RIELLA; MARTIS, 2001).

Alguns estudos sobre avaliação toxicológica da biomassa de levedura íntegra, e em derivados da mesma como extrato seco, autolisado e concentrado protéico apresentaram dados que não comprometem o uso desses produtos de levedura, devido a não comprovação de toxicidade, exceto para o concentrado protéico no qual apresentou relação com discreta esteatose hepática. As avaliações foram realizadas por meio de índices bioquímicos de enzimas hepáticas e frações de colesterol séricos; e de compostos nitrogenados séricos e urinários, em ratos, não

apresentando valores que pudessem estar associados à prejuízos na função hepática e renal (CABALLERO-CÓRDOBA; SGARBIERI, 2000; VILELA et al, 2000a; VILELA et al, 2000b).

Rosales (1984) demonstrou que isolados protéicos de células de levedura, tem melhor biodisponibilidade de nutrientes e menores teores de ácidos nucléicos, comparado às células íntegras. Segundo o ICIDCA (1999), o alto conteúdo de proteínas e a baixa proporção de ácidos nucléicos permitem o uso dos derivados da levedura como aditivos, ou como complemento alimentar para o consumo animal e humano.

4. Conclusões

A biomassa e liofilizado de levedura oriunda de cervejarias se constituem em uma relevante fonte de proteínas que pode ser utilizada para o enriquecimento nutricional de alimentos. O liofilizado, por ser mais concentrado e, conseqüentemente, conter maior quantidade de nutrientes, apresentou-se com potencial melhor para o enriquecimento em diversas preparações.

A levedura de cervejaria apresentou elevados teores de minerais, especialmente de cálcio, ferro, selênio e zinco, e de vitaminas o complexo B especialmente B1, B2, B6 e B9. O tratamento para limpeza e desamargor não interferiu na composição protéica, no entanto contribuiu com perdas dos minerais e vitaminas de forma significativa.

O processo de desidratação por liofilização contribuiu para retirar parte do reagente álcali residual após o tratamento da biomassa.

Segundo os parâmetros da legislação, o liofilizado da biomassa de levedura não pode ser considerado com perfil nutricional equivalente ao levedo de cerveja. No entanto, a levedura originária de cervejaria, após limpeza e tratamento, apresentou-se como um complemento nutricional com potencial para ser utilizada como forma de enriquecimento de alimentos, principalmente devido ao elevado teor protéico, de minerais e de vitaminas do complexo B.

Referências

ALVIM, I. D. et al. Desenvolvimento de farinhas mistas extrusadas à base de farinha de milho, derivados de levedura e caseína. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 22, n. 2, maio./ago. 2002, p. 170-176.

A.O.A.C.-ASSOCIATION OF ANALYTICAL COMMUNITIES INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 18. ed. rev. A.O.A.C. International: Maryland/USA, 2006

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotechnologia**: alimentos e bebidas produzidos por fermentação. 4. re.v. 5. Edgard Blücher : São Paulo, 1993.

BARROS, G. **Produção de cerveja cresce 18% em 2010 e eleva o Brasil a terceiro maior mercado do mundo**. Disponível em: < <http://colunistas.ig.com.br/guilhermebarros/2011/01/19/producao-de-cerveja-cresce-18-em-2010-e-eleva-o-brasil-a-terceiro-maior-mercado-do-mundo/> > Acesso em: 30. mar. 2011

BEKATOROU, A.; PSARIANOS, C.; KOUTINAS, A. Production of food Grade yeasts. **Food Tech. Biotech.**, v. 44, n.3, 2006, p. 407-415.

BRASIL. **Portaria nº 19, de 15 de março de 1995**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de março de 1995

BUTOLO, J. E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo a outras formas de nutrientes. In: WORKSHOP PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA EM ALIMENTAÇÃO ANIMAL E HUMANA; Agosto, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL; 1996. p.70-89.

CABALLERO-CÓRDOBA, G. M. ; SGARBIERI, V. Nutritional and toxicological evaluation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass and a Yeast protein concentrate. **J Sci Food Agric** , v. 80, 2000, p. 341-351.

CAMPOS NETO, O. Utilização dos subprodutos da indústria sucroalcooleira na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL, 4, 1987, Brasília, DF. **Anais...**, Brasília: SBZ, 1987. p.129-152.

CREDÍDIO, Edson. **Levedura de cerveja**. Disponível em: < http://www.drcredidio.com.br/elearning/detalhe_not.asp?notid=246 >. Acesso em: 10 set. 2010.

DIESE. Levedura de cerveja. Disponível em: < <http://www.diese.pt/suplementos/detalhe/pt/17/27> > Acesso em 12 jun. 2011.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. Princípios e prática. 2. ed. Artmed: Porto Alegre, RS: 2006.

- FERREIRA, I.M.P.L.V.O et al. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications **Tren. Food Sci. Tech.** v.21, 2010, p. 77-84.
- FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2005.
- GALVEZ, A., RAMÍREZ, M.J., GARCIA-GARIBAY, M. Chemical composition of a mixture of single cell protein obtained from *Kluyveromyces fragilis* and whey proteins. **Arch. Latin. Nut.**, Guatemala, v.40, n.2, 1990, p.252- 262.
- GRANGEIRO, M.G.A. et al. Inclusão da levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frango de corte. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n. 3, 2001, p. 766-773.
- HALÁSZ, A., LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production.** Boca Raton: CRC Press, 1991. 312p
- HOUGH, J.S.**Biotecnologia de la Cerveza y de la Malta.** Editorial Acribia S.A.: Zaragoza (Espanha), 1990
- ICIDCA. Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados da Cana-de-açúcar. **Manual dos derivados da cana-de-açúcar:** diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço, derivados do melaço, outros derivados, resíduos, energia. Brasília: ABIPTI, 1999.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos.** 4.ed. IAL: São Paulo, 2004
- METRI, Anastácia Cavalcanti et al. Farinha de mandioca enriquecida com bioproteínas (*Saccharomyces cerevisiae*), em associação ao feijão e arroz, na dieta de ratos em crescimento. **Rev. Nutr.**, v.16, n. 1, jan/mar, 2003, p.73-81.
- MIYADA, V.S. **A levedura seca na alimentação de suínos:** estudos adicionais sobre o seu valor protéico e vitamínico. 1987. (Tese de livre docência) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba 1987
- MOREIRA, I. et al. Uso da levedura seca por “spray-dry” como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, 2002, p.962-969.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, INSTITUTE OF MEDICINE, FNB. **Dietary Reference Intakes (DRIs):** Recommended Intakes for Individuals. Washington DC: National Academy Press, 2005.
- PARK, S.; RAMIREZ, W.F. Dynamics of foreign protein secretion from *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotech. Bioeng.** New York, v.33, 1989, p.272-281.

PAULA, E. F.E. et al. Composição química de silagem e levedura seca de cana-de-açúcar. In: V SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP, VI ENCONTRO DE ZOOTECNIA, Dracena, 2009. **Anais...** Dracena: UNESP, 2009.

PEIXOTO, N. Processamentos de produtos de biomassa de levedura para alimentação humana: potencial, mercado interno e externo. In: WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA: UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO HUMANA E ANIMAL, Campinas 1998. **Resumos...**, Campinas: ITAL, 1996. p.90-98.

PINTO, L. C. et al. Teste de aceitação sensorial de mingau de tapioca acrescido de biomassa de levedura. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS (CBCTA), Salvador, 2010. **Anais...** SBCTA: Salvador, 2010 .

REED, G.; NAGODAWITHANA, T.W. **Yeast Technology**. 2. ed. Van Nostrand Reinhold: New York, 1991.

RIELLA, M. C; MARTINS, C. **Nutrição e o Rim**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

ROSALES, F.H. Yeast as protein source for human nutrition. **Rev. Acta Microbiol. Acad. Scien. Hung.**, Budapest, v.31, n.3, 1984, p.159-172.

SANTUCCI, M.C.C. et al. Enriquecimento de macarrão tipo tubo (massa curta) com derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*): impacto nutricional e sensorial. **Rev. Ciênc Tecnol Aliment**. v.23 n.2, 2003, p. 290-295.

SGARBIERI, V. C. et al. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Braz. J. Food Technol.**, v. 2, n.1,2, p.119-125, 1999

SCHWARZ, K.; MERTZ, W. Chromium (III) and the glucose tolerance factor. **Arch. Biochem. Biophys.**, n. 85, 1959, p. 292-295.

SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2002.

VILELA, E. S, D.; SGARBIERI, V.C.; ALVIM, I. D. Determinação do valor protéico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (*Saccharomyces sp.*), **Rev. Nutr.**, v. 13, n. 3, set/dez., 2000, p. 185-192 a.

VILELA, E.S. D.; SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D. Valor nutritivo da biomassa de células íntegras, do autolisado e do extrato de levedura originária de cervejaria. **Rev. Nutr.**, v.13, n. 2, maio/ago., 2000, p. 127-134 b.

YAMADA, E. A. et al. Composição centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Rev. Nutr.**, v.16, n. 4, 2003, p. 423-432.

YAMADA, E. A. et al. Utilização de extrato de levedura (*Saccharomyces spp.*) de destilaria de álcool em salsicha. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 13, n. 3, jul./set. 2010, p. 197-204.

Capítulo 3

Aproveitamento de levedura de cervejaria para enriquecimento
nutricional de alimentos derivados de mandioca

RESUMO

As leveduras são utilizadas como agente de fermentação na indústria cervejeira, sendo retiradas do mosto após a maturação da cerveja. Devido ao seu rápido crescimento, as células de levedura geram um excedente de produção, que poderia ser aproveitado como ingrediente para o enriquecimento nutricional de alimentos, especialmente os com baixo teor de nutrientes, como de proteínas. A farinha de mandioca e o beiju são alimentos regionais, derivados da mandioca, muito consumidos pela população Nordestina. No entanto, estes dois produtos apresentam baixo teor protéico, sendo considerados apenas como fonte energética. O objetivo deste estudo foi aproveitar a levedura de cervejaria e adicionar o liofilizado deste subproduto na farinha de mandioca e no beiju, avaliar o potencial como ingrediente nutritivo e a aceitação sensorial destes produtos enriquecidos. As amostras de levedura de cervejaria foram submetidas a um tratamento alcalino, para diminuir o amargor, e sucessivas lavagens e centrifugação, para obtenção de uma biomassa. Esta foi posteriormente liofilizada e adicionada na farinha de mandioca e beiju, nas concentrações de 5 e 10%. A composição centesimal foi realizada, em triplicata, nos produtos padrão e enriquecidos. As análises microbiológicas foram realizadas em atendimento à legislação vigente. O teste sensorial foi realizado por julgadores não treinados, utilizando uma escala hedônica de 1 a 9 pontos, sendo avaliados os atributos: cor, sabor, gosto amargo, textura e qualidade global dos produtos enriquecidos e padrão (sem adição do liofilizado de levedura). A intenção de compra foi avaliada por uma escala de 1 a 5 pontos. As amostras dos alimentos foram servidas como farofa e beiju colorido e aromatizado artificialmente. O liofilizado apresentou-se como uma fonte protéica (35g%) e com potencial como ingrediente nutritivo. Os produtos enriquecidos apresentaram aumento significativo no teor de proteínas, em comparação com os mesmos produtos padrão, e encontraram-se seguros para o teste sensorial, segundo análises microbiológicas. As médias do teste de aceitação foram inversamente proporcionais à adição do liofilizado de levedura. O produto enriquecido com melhor aceitação foi a farofa contendo 5% de liofilizado. Técnicas para minimizar o gosto amargo no liofilizado e a adição de extratos vegetais e outros saborizantes poderiam melhorar a aceitação das preparações, e viabilizar seu uso para aumentar valor nutritivo, especialmente de proteínas, em alimentos.

Palavras chave: levedura de cervejaria, liofilizado de levedura, farinha de mandioca enriquecida, beiju enriquecido

ABSTRACT

Yeasts are used as a leavening agent in the brewing industry, being removed from the wort after the maturation of beer. Due to its rapid growth, the yeast cells generate a surplus that could be used as an ingredient for nutritional enrichment of foods, especially those with low levels of nutrients such as proteins. The cassava flour and cassava bread are regional foods derived from cassava, widely consumed by the population Northwich. However, these two products have low protein content, being considered only as an energy source. The purpose of this chapter was to harness the yeast and add the dried by-product of the cassava flour and cassava bread, evaluate the potential as nutritious ingredients and sensory acceptance of these enriched products. The yeast samples were subjected to an alkaline treatment to reduce the bitterness, and successive washes and centrifugation to obtain a biomass. This was subsequently lyophilized and added to the cassava flour and cassava bread at concentrations of 5 and 10%. The chemical composition was performed in triplicate, according to the standards of the Institute Adolfo Lutz. Microbiological tests were performed in compliance with current legislation. The sensory test was carried out by untrained panelists using a hedonic scale from 1 to 9 points, and evaluated the attributes: color, taste, bitter taste, texture and overall quality of products enriched and standard (without the addition of dried yeast). The purchase intention was assessed by a scale of 1 to 5 points. Samples of food were served as manioc and tapioca colored and artificially flavored. The lyophilisate was presented as a source of protein (35g%) and potential as a nutritional ingredient. The enriched products showed a significant increase in protein content compared to the same standard products, and found to be safe for sensory testing, according to microbiological analysis. The average acceptance test were inversely proportional to the addition of dried yeast. The product was enriched with a better acceptance crumbs with 5% freeze-dried. Techniques to minimize the bitter taste and the addition of the freeze-dried plant extracts and other flavorings could improve the acceptance of preparations, and enable its use to increase nutritional value, especially protein, in foods.

Keywords: brewer's yeast, dried yeast, enriched cassava flour, tapioca enriched

1. Introdução

As leveduras (*Saccharomyces spp.*) são utilizadas na indústria de alimentos e bebidas em diversas formas, como na indústria de panificação, na fermentação alcoólica nas indústrias de cerveja, vinhos e álcool, em outros processos fermentativos como catalisador biológico (MIYADA, 1987; PEIXOTO, 1996, METRI et al, 2003) e como fonte de nutrientes em alimentos naturais ou ingredientes nutritivos em alimentação humana e/ou animal (BUTOLO, 1996; HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991; PEIXOTO, 1996; SANTUCCI et al, 2003; METRI et al, 2003).

As leveduras, que são designadas como bioproteínas, destacam-se por ser uma excelente fonte de proteínas de alto valor biológico, e por apresentarem características não-patogênicas, podendo ser usadas tanto como ingrediente na ração animal quanto na alimentação humana (MIYADA, 1987; PARK; RAMIREZ, 1989; METRI et al, 2003).

Certos derivados da levedura, como o autolisado e o extrato, vêm sendo utilizados na formulação de produtos para humanos, como complemento nutritivo, flavorizante e realçador de sabor, devido à riqueza em ácido glutâmico, sendo conhecidos como *meat flavouring*, comumente em substituição ou em combinação com o caldo ou extrato de carne (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991; PEIXOTO, 1996; SGARBIERI et al, 1999; MAHADEVAN; FARMER, 2006; ZAMBONELLI et al, 2000).

Na indústria cervejeira, as leveduras são utilizadas como agente fermentador, sendo retiradas do mosto após a maturação da cerveja. Devido a sua característica de rápido crescimento, as leveduras geram um excedente de produção nas indústrias de álcool e cerveja, tornando-se um resíduo agroindustrial, no qual pode ser usado para os mais diversos fins, depois de desidratado, principalmente, na alimentação animal (GRANGEIRO et al, 2001, MOREIRA et al, 2002).

Segundo o Sindicato Nacional de Cerveja (Sindicerv), o Brasil tornou-se, em 2010, o terceiro maior mercado de cerveja do mundo, com uma produção equivalente a 12,6 bilhões de litros (BARROS, 2011), o que pode ter contribuído para um conseqüente aumento do excedente de levedura secundária deste processo industrial.

Alguns estudos apontam um potencial de aproveitamento da levedura de cervejarias e derivados, como forma de utilização na alimentação humana

(SANTUCCI et al, 2003; METRI et al, 2003) devido à sua riqueza em nutrientes, como proteínas, vitaminas e minerais (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991; CABALLERO-CÓRDOBA et al, 1997; VILELA et al, 2000a; SGARBIERI et al, 1999; YAMADA et al, 2003, PAULA et al, 2008; FURUYA et al, 2000, SANTUCCI et al, 2003), o que torna este material promissor para o enriquecimento nutricional de alimentos regionais pobres em nutrientes, como os derivados de mandioca.

A mandioca é cultivada em todas as regiões do Brasil, assumindo papel expressivo na alimentação humana e animal, além de ser utilizada como matéria-prima em vários produtos industriais (DIAS; LEONEL, 2006)

A farinha constitui-se em um dos principais produtos da mandioca e seu uso é muito difundido em todo o país, fazendo parte da refeição diária de muitos brasileiros. A farinha é considerada como a base alimentar da população carente, chegando a ser a principal fonte energética (CHISTÉ, 2006). O beiju é um outro produto derivado da mandioca obtido por meio da torração do amido, fécula ou polvilho doce, extraído da raiz (APLEVICZ, 2006). A farinha e o polvilho doce, do qual se obtém o beiju, apresentam mais de 80% de carboidratos em sua composição e baixo teor protéico (NEPA, 2006) e, desta forma, são considerados apenas como fonte energética.

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi adicionar a biomassa de levedura secundária de cervejaria na farinha de mandioca e no beiju, avaliar seu potencial como ingrediente nutritivo, avaliar a segurança microbiológica e a aceitação sensorial destes produtos enriquecidos.

2. Materiais e métodos

2.1. Coleta e tratamento das amostras.

As amostras de levedura secundária foram cedidas por uma cervejaria, localizada no município de Feira de Santana (BA), em dois momentos, sendo designadas como lote 1 e 2, como forma de suspensão de células refrigeradas. Inicialmente, foi aplicado um tratamento térmico nas amostras, para inativação de células remanescentes, ainda ativas, compreendendo 98°C/10 minutos, seguida de

primeira lavagem e centrifugação, para recuperação e decantação das células, em Centrífuga Fanem, modelo 204 NR. As amostras foram armazenadas a -18°C , até o tratamento de limpeza e desamargamento, que consistiu na adição de um reagente alcali e sucessivas lavagens para obtenção da biomassa limpa e desamargada, descrito na Figura 1 (adaptado de Sgarbieri et al. 1999). As lavagens e o tratamento alcalino tiveram como objetivo retirar o excesso de resinas e taninos e neutralizar o sabor amargo, inerente às amostras.

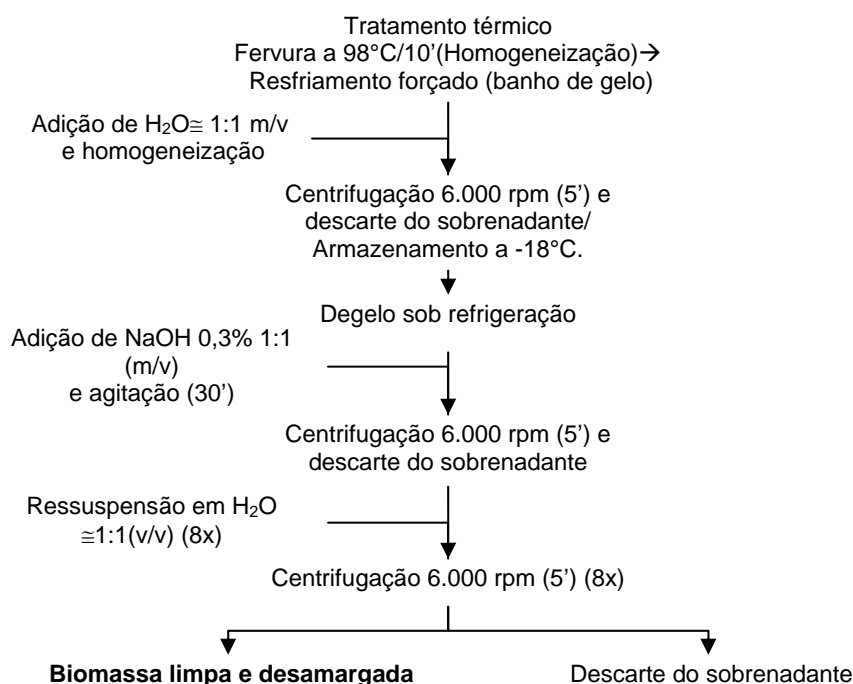


Figura 1: Fluxograma do tratamento da levedura secundária para obtenção da biomassa de levedura (adaptado de de Sgarbieri et al, 1999)

2.2. Liofilização da biomassa úmida

A biomassa limpa e desamargada foi congelada (-18°C) e submetida ao processo de liofilização por 48 horas, em Equipamento Liofilizador Liobrás, Liotop, modelo L101, no Laboratório de Bromatologia da UNEB, do qual foi obtida a biomassa liofilizada. As amostras foram trituradas e homogeneizadas para serem adicionadas aos produtos de mandioca.

2.3. Enriquecimento da farinha de mandioca e beiju.

Os produtos enriquecidos foram elaborados seguindo as Boas Práticas de Fabricação. A farinha de mandioca e beiju, ambos, foram enriquecidos por meio da adição do liofilizado da biomassa de levedura nas concentrações de 5 e 10%. As amostras de farinha e beiju, obtidas segundo os fluxogramas apresentados nas figuras 2 e 3, foram utilizadas para determinação da composição centesimal.

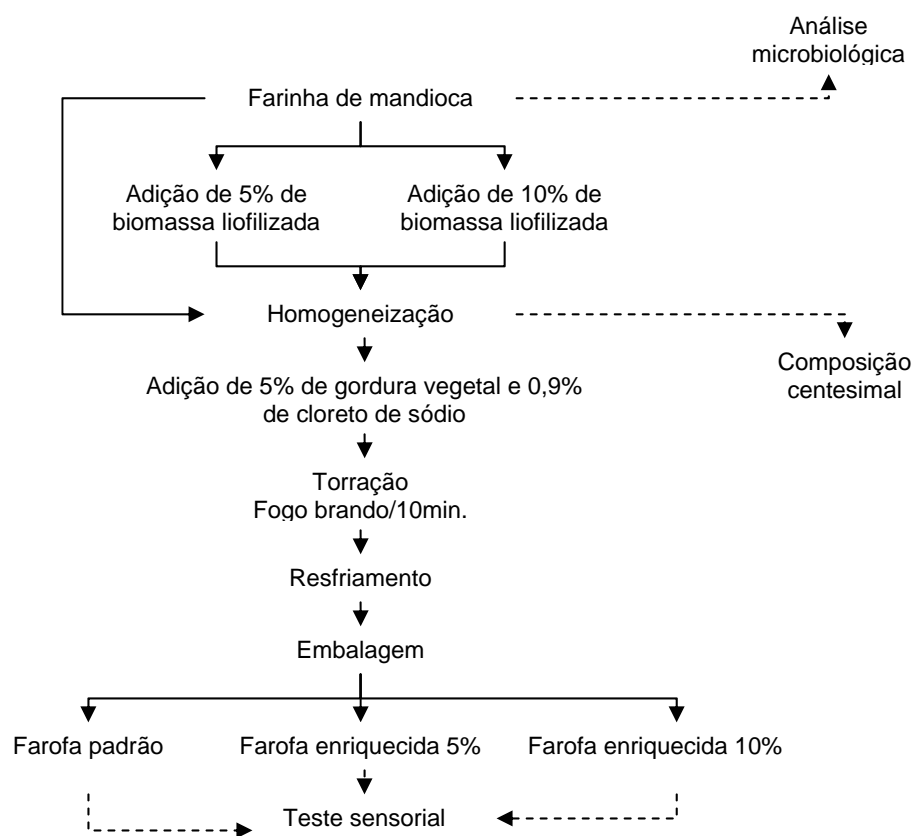


Figura 2: Fluxograma de preparo da farofa padrão e enriquecida.

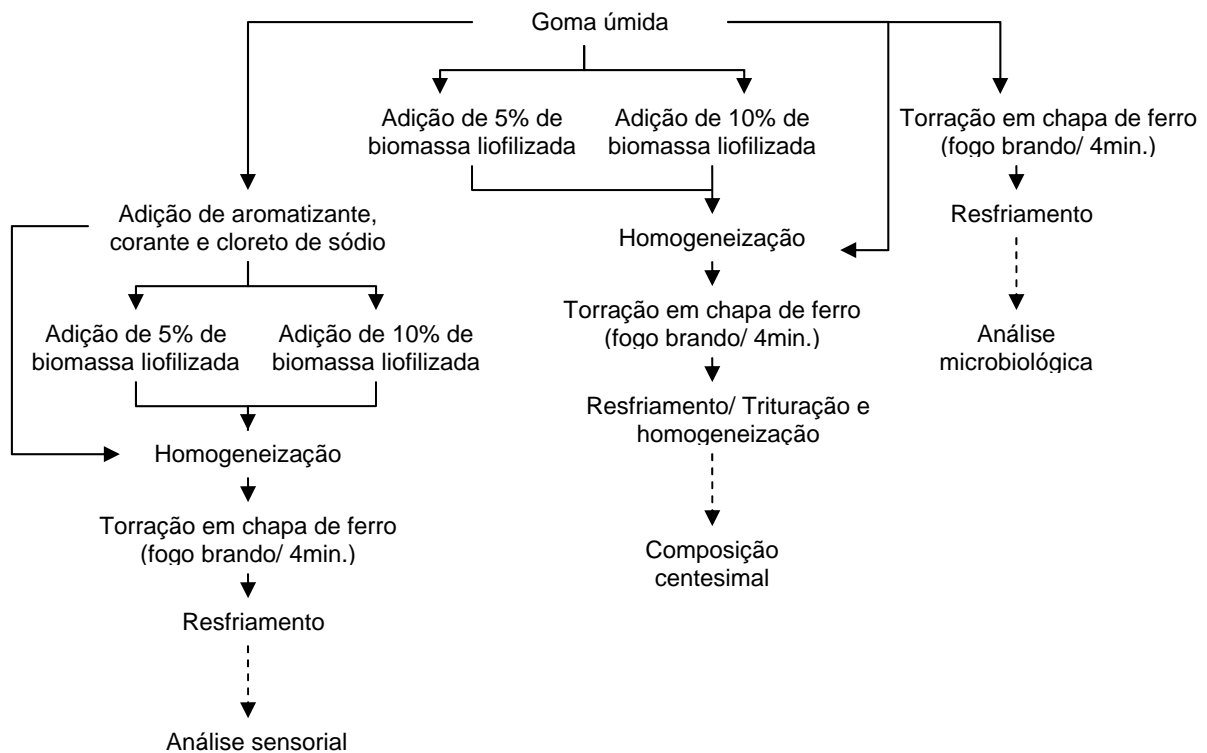


Figura 3: Fluxograma de elaboração do beiju padrão e enriquecido

2.4. Composição centesimal

A composição centesimal foi realizada nos dois lotes do liofilizado de biomassa, na farinha e beiju sem adição do liofilizado, definidos como padrão, e nos mesmos produtos enriquecidos com o liofilizado em 5 e 10%, sem a adição dos ingredientes utilizados para análise sensorial (Figuras 2 e 3). As determinações foram realizadas em triplicata, para lipídios, proteínas, fibras totais, umidade e cinzas, de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL 2008).

A determinação de umidade foi realizada por meio da perda em massa das amostra, sob método de aquecimento direto a 105°C em estufa, a qual se constituiu em resíduo seco, inicialmente por 3 horas e, seguidos de 1 em 1 hora até peso constante.

As cinzas foram obtidas por incineração das amostras em forno mufla a 550°C/6h, até a eliminação completa do carvão, e transformação em resíduo mineral fixo.

A determinação dos lipídios foi realizada a partir da extração da amostra com solventes orgânicos em aparelho *Soxhlet* por 6 horas, com balão previamente pesado, seguida da remoção, por evaporação, do solvente empregado, calculando-se o peso adicional do balão.

As proteínas foram determinadas seguindo três etapas: digestão, que consiste em aquecer a substância nitrogenada com ácido sulfúrico concentrado em presença de mistura catalítica, sob temperatura de 330°C; destilação, em que a amônia foi separada, por arraste a vapor, e recolhida em uma solução receptora; e titulação, onde se determinou quantitativamente a amônia contida na solução receptora, com solução padrão de ácido clorídrico 0,1N. O volume titulado do ácido foi considerado para quantificar o nitrogênio total da amostra, utilizando-se 6,25 como fator de conversão à proteínas dos produtos padrão (IAL, 2008); e 5,5 como fator de conversão dos produtos enriquecidos, sugerido por Reed e Nagodawithana (1991), para proteínas de levedura.

A determinação de fibra bruta foi realizada a partir das amostras previamente desengorduradas e secas, sendo submetidas à digestão ácida, seguida de filtragem e peso do filtrado, o qual foi calcinado em mufla a 550°C/6h e deduzido às cinzas, para diferença de peso.

A quantificação dos Carboidratos foi realizada por diferença obtida pelo somatório das determinações porcentuais de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e fibras.

2.5. Análise microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas na farinha e beiju padrão, e no liofilizado da biomassa, para assegurar a qualidade microbiológica destes produtos para o teste sensorial, conforme Figuras 2 e 3. Foram determinados Coliformes a 45°C ou termotolerantes; Estafilococos coagulase positiva, *Bacillus cereus* e *Salmonella* spp., em atendimento à RDC nº 12 (BRASIL, 2001). A biomassa úmida foi utilizada para análise de Coliformes a 45°C, em lugar da liofilizada. As análises

de coliformes termotolerantes e *Salmonella spp.* foram realizadas, em triplicata, no Laboratório de Pesquisa em Microbiologia de Alimentos, da Faculdade de Farmácia da UFBA (SILVA et al, 2007).

Os coliformes termotolerantes foram determinados pelo método do Número Mais Provável (NMP), utilizando a técnica dos tubos múltiplos, compreendendo duas fases: a fase do teste presuntivo e a fase do teste confirmativo. Para as diluições seriadas, foram coletados 25g das amostras e diluídas em 225 mL de água peptonada a 0,1% e homogeneizados em *Stomaker* (homogeneizador de pistão) para a primeira diluição (10^{-1}). Uma alíquota de 1mL, desta diluição, foi transferida para um tubo contendo 9mL de água peptonada a 0,1%, para obtenção da diluição 10^{-2} e, assim sucessivamente, para obtenção da diluição 10^{-3} . Para o teste presuntivo foram feitas 3 séries de 3 tubos com Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durham invertidos com inoculação de 1mL das diluições seriadas e incubados a 35°C/24-48h, sendo considerados positivos os tubos com produção de gás. Para o teste confirmativo, uma alçada de níquel cromo foi retirada dos tubos positivos e transferida para tubos contendo Caldo *E. coli.* (EC), com incubação em banho-maria, a 44,5-45°C/24h, para confirmação de coliformes termotolerantes (45°C). A Tabela de Número Mais Provável ou Tabela de Hoskins foi utilizada para determinação do NMP de coliformes termotolerantes por grama de amostra. A confirmação da presença de *Escherichia coli* foi realizada, transferindo uma alçada dos tubos positivos, em placas contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), por meio de estrias por esgotamento, sendo incubadas a 35°C/24h para isolamento de colônias típicas.

A determinação de *Salmonella spp.* foi realizada com 25g das amostras, sendo homogeneizadas em 225 mL de com Caldo Triptona de Soja (incubados a 18-24h/37°C), para o pré-enriquecimento. Após o período de incubação, alíquotas de 0,1 e 1 mL foram transferidas para tubos contendo caldo de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis R10 e Caldo Tetracionato Verde Brilhante, respectivamente, e incubados em estufa a 37°C/24h. Após incubação, uma alçada de cada caldo foi transferida para placas contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar Entérico Hektoen (HE), e incubados a 37°C/24h, para verificação de colônias típicas. Os resultados foram expressos como presença ou ausência em 25g da amostra.

As determinações de *Bacillus cereus*, na farinha, liofilizado e beiju, e de Estafilococos coagulase positiva, no liofilizado e beiju, foram realizadas no

Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Faculdade de Farmácia da UFBA, sendo emitido um laudo dos resultados conforme as amostras indicativas.

2.6. Análise de atividade de água

A determinação da atividade de água foi realizada, em triplicata, na farinha, beiju e liofilizado, utilizando o equipamento Aqualab Lite, BrasEq Decagon, no Laboratório de Pesquisa de Alimentos e Contaminantes (LAPAC), Faculdade de Farmácia da UFBA

2.7. Análise sensorial

Os ensaios sensoriais dos produtos desenvolvidos foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos, do Departamento de Ciências da Vida (UNEB), após análise microbiológica de todos os produtos avaliados, assim como, após submissão e aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética da UNEB (Anexo 1), onde está previsto a adoção do Termo de Consentimento Livre por parte dos provadores recrutados (Anexo 2).

A análise sensorial foi realizada com farinha enriquecida adicionada de cloreto de sódio e gordura vegetal, para obtenção de uma farofa, e a goma enriquecida foi adicionada de corante sintético cor salmão e flavorizante artificial de bacon para elaboração do beiju, conforme formulação descrita nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Composição de ingredientes da farofa padrão e enriquecida com 5 e 10% de biomassa liofilizada.

	Farinha de mandioca	Biomassa liofilizada	Cloreto de sódio	Gordura vegetal
Farofa padrão (FP)	100g	-	0,8g/100g de farinha	5g/100g de farinha
Farofa 5% (FA5)	95g	5g	0,8g/100g de farinha	5g/100g de farinha
Farofa 10% (FA10)	90g	10g	0,8g 100g de farinha	5g /100g de farinha

Tabela 2: Composição de ingredientes do beiju padrão e enriquecido com 5 e 10% de biomassa liofilizada.

	Goma úmida de mandioca	Biomassa liofilizada	Cloreto de sódio	Aromatizante (sabor bacon)	Corante (cor salmão)
Beiju padrão (BP)	100g	-	0,75g/100g de goma	2,3ml/100g de goma	0,15ml/100g de goma
Beiju 5% (BJ5)	95g	5g	0,75g/100g de goma	2,3ml/100g de goma	0,15ml/100g de goma
Beiju 10% (BJ10)	90g	10g	0,75g/100g de goma	2,3ml/100g de goma	0,15ml/100g de goma

Os tratamentos adotados para a farinha de mandioca enriquecida foram: **FA5** (farofa enriquecida com 5,0% de biomassa), **FA10** (farofa enriquecida com 10,0% de biomassa) e **FP** (farofa padrão elaborada com farinha tradicional). A definição das formulações utilizadas para a farinha de mandioca foi baseada em estudos de outros autores, que mencionaram a incorporação de 5,0 - 10% de derivados em produtos alimentícios para humanos (SANTUCCI et al, 2003; ALVIM et al, 2002) Além disso, a incorporação de uma concentração superior a 10% do liofilizado resultou em um produto com gosto acentuadamente amargo.

Os tratamentos adotados para o beiju enriquecido foram: **BJ5** (beiju obtido de polvilho enriquecido com 5,0% de biomassa), **BJ10** (beiju obtido de polvilho enriquecido com 10,0% de biomassa) e **BP** (beiju padrão elaborado com polvilho tradicional). A definição das formulações utilizadas para o beiju foi baseada em ensaios preliminares, que demonstraram a inviabilidade da adição de biomassa em percentuais superiores a 10%, devido ao intenso gosto amargo no produto final e textura não uniforme.

Para a avaliação sensorial dos produtos, farofa e beiju enriquecidos, em relação aos atributos cor, sabor, gosto amargo, textura e qualidade global, foi servido cerca de 15 g de cada amostra, em copos e pratos plásticos descartáveis codificados com números de três dígitos, respectivamente, de forma balanceada e casualizada, sendo que as amostras estavam na temperatura ambiente (Figuras 4 e 5).

A aceitabilidade dos produtos foi avaliada com a participação de 50 provadores não treinados, de ambos os sexos, com idade entre 20 a 60 anos, recrutados verbalmente, que analisaram as amostras em cabines individuais, utilizando uma ficha de avaliação para cada produto (farofa e beiju), composta por

uma escala hedônica de 9 pontos, com termos hedônicos correspondentes a gostei extremamente e desgostei extremamente nos extremos superior e inferior, respectivamente. Foi realizado, também, teste de intenção de compra dos produtos, através de uma escala de categorias de 5 pontos inserida na mesma ficha, com termos correspondentes a certamente compraria e certamente não compraria, respectivamente, nos extremos superior e inferior da escala (Figura 6).

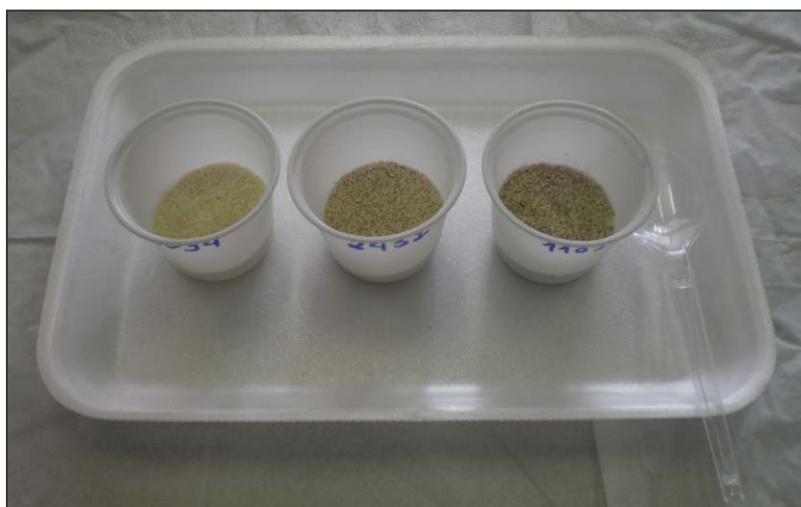


Figura 4: Apresentação das amostras de farofa Padrão (FP), farofas enriquecidas FA5 e FA10, respectivamente, para avaliação sensorial.



Figura 5: Apresentação das amostras de beiju Padrão (BP), beijus enriquecidos BJ5 e BJ10, respectivamente, para avaliação sensorial.

TESTE DE ACEITAÇÃO

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____

Por favor, prove as amostras codificadas da esquerda para a direita e utilizando a escala abaixo, descreva o quanto gostou ou desgostou de cada amostra, segundo os atributos discriminados.

(9) = gostei extremamente
 (8) = gostei muito
 (7) = gostei moderadamente
 (6) = gostei ligeiramente
 (5) = indiferente
 (4) = desgostei ligeiramente
 (3) = desgostei moderadamente
 (2) = desgostei muito
 (1) = desgostei extremamente

Amostras	Atributos				
_____	Cor _____	Sabor _____	Textura _____	Gosto amargo _____	Qualidade global _____
_____	Cor _____	Sabor _____	Textura _____	Gosto amargo _____	Qualidade global _____
_____	Cor _____	Sabor _____	Textura _____	Gosto amargo _____	Qualidade global _____

Comentários: _____

Intenção de Compra:

	Nº Amostra
(5) Certamente compraria	()
(4) Provavelmente compraria	()
(3) Talvez comprasse/Talvez não comprasse	()
(2) Provavelmente não compraria	()
(1) Certamente não compraria	()

Figura 6: Ficha da avaliação sensorial aplicada para o teste de aceitação e intenção de compra dos produtos farofa e beiju enriquecidos.

2. 8. Análise estatística

Os dados coletados na determinação da composição centesimal e na avaliação sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$), para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System , Institute Inc., North Carolina, USA, 2003).

3. Resultados e discussão

Os resultados da composição centesimal do liofilizado e dos produtos elaborados estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3: Composição centesimal da biomassa liofilizada de levedura.

	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteínas	Carboidratos	Fibras
Lote 1	10,0 ±0,1 b	1,81 ±0,01 b	3,2 ±0,2 a	36,4 ±0,1a	44,8	3,8 ±0,9 a
Lote 2	11,57±0,1a	2,34 ±0,02 a	2,32 ±0,07b	34,2 ±0,7b	45,6	3,9 ±0,7a
Média total	10,79±1,11	2,08 ±0,37	2,76 ±0,62	35,2 ±1,7	45,2 ±0,6	3,85 ±0,07

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$)

Analisando os resultados da tabela 3, pode-se inferir que o liofilizado constitui-se uma importante fonte de proteínas com possibilidade de agregar valor nutritivo protéico em alimentos. Quanto a comparação da composição dos lotes de biomassa, a única determinação que não apresentou diferença significativa foi o teor de fibras. Esta variação entre os lotes pode estar relacionada à injúria celular após a retirada da levedura no mosto ou durante o transporte e/ou congelamento, ou ainda devido ao fato de serem provenientes de amostras de mostos de fermentação de diferentes marcas de cerveja da mesma indústria.

A composição centesimal do liofilizado está de acordo com os alguns valores encontrados para diferentes derivados da levedura como autolisado, extrato seco, parede celular e concentrado protéico, segundo Sgarbieri et al (1999) e Yamada et al (2003). A composição dos derivados variaram, aproximadamente, em proteínas de 32 - 62g%; lipídios em 0,4–8,5g%; e cinzas em 4-12,5g% (nestes estudos, os valores estão mais altos devido ao uso de cloreto de sódio para obtenção do autolisado) e fibras 2,70- 55g%. Estas variações podem estar relacionados à métodos de processamento para obtenção de cada tipo de derivado, como separação de partes celulares solúveis e insolúveis e adição de diferentes reagentes. Paula et al (2008), encontraram valores diferentes aos do liofilizado para a levedura seca de cana de açúcar, na qual apresentou 38,77g% de proteína bruta, 0,31g% de extrato etéreo (ou lipídios) e apenas 0,16g% de fibra bruta.

Tabela 4: Composição centesimal (g%) do beiju padrão (BP) e dos beijos enriquecidos (BJ5 e BJ10).

	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteínas	Carboidratos	Fibras
BP	11,3 ±0,2 a	0,05 ±0,0 c	0,03 ±0,0 c	0,23 ±0,03 c	88,23 c	0,16 ±0,05b
BJ5	10,9 ±0,3 ab	0,09 ±0,02 b	0,05 ±0,04 b	2,2 ±0,7 b	86,5 b	0,26 ±0,12 b
BJ10	10,60 ±0,2b	0,20 ±0,02a	0,06 ±0,01 a	4,7 ±0,17 a	84,04 a	0,40 ±0,03 a

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$); Fator de conversão de proteína de 6,25 para o beiju padrão e de 5,5 para os beijos enriquecidos com proteína da levedura.

Tabela 5: Composição centesimal (g%) da farinha de mandioca padrão (FP) e farofas enriquecidas (FA5 e FA10)

	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteínas	Carboidratos	Fibras
FP	7,15 ±0,15 b	0,84 ±0,01 a	0,26 ±0,03 b	1,50 ±0,13 c	88,5 c	1,70 ±0,07c
FA5	7,26 ±0,06 b	0,88 ±0,08 a	0,30 ±0,03 b	2,7 ±0,2 b	86,74 b	2,12 ±0,04 b
FA10	7,55 ±0,11 a	0,92 ±0,02 a	0,40 ±0,04 a	5,40 ±0,08 a	82,89 a	2,84 ±0,04 a

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$); fator de conversão de proteína de 6,25 para a farofa padrão e de 5,5 para as farofas enriquecidas com proteína da levedura.

A composição centesimal da farinha padrão (Tabela 5) foi equivalente à composição da farinha de mandioca torrada apresentada na Tabela de Composição de Alimentos (TACO) com 8,3% de umidade; 1,0% de cinzas; 1,2% de proteína; 0,3% de lipídios; 89,2% de carboidratos, exceto para o teor de fibras na qual é apresentada como 6,55% (NEPA, 2006). O beiju padrão (Tabela 4) apresentou composição de proteína e cinzas inferiores, e umidade e carboidratos semelhantes à composição do polvilho doce, descrito na literatura, este com umidade 10,7 a 12,36%; cinzas de 0,09 a 0,21%, proteínas de 0,26 a 0,45% e carboidratos de 87,1 a 88,76% (APLEVICZ, 2006).

De acordo com os resultados da composição centesimal, foi observado que o aumento de valor nutritivo da farinha e no beiju enriquecidos foi diretamente proporcional ao teor adicionado do liofilizado de levedura, especialmente em teor de proteínas e, proporcionalmente, com redução no teor de carboidratos.

As médias das determinações de cinzas, lipídios, proteínas, e carboidratos entre os três tratamentos do produto beiju, apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Para a farinha, entre os três tratamentos, houve diferença significativa ($p < 0,05$) nas médias de proteínas, carboidratos e fibras. Comparando o teor protéico

dos produtos padrões com os enriquecidos, observa-se que houve aumento cerca de 100% em relação ao beiju, e aproximadamente 2 vezes mais em relação à farinha de mandioca, apenas com a adição do liofilizado na menor concentração. A contribuição para um aumento significativo de proteínas no beiju, maior do que da farinha, pode estar relacionado à goma utilizada, que, por ser úmida, pode ter influenciado em uma melhor homogeneização e retenção do liofilizado, além do processamento térmico, que pode ter diminuído a umidade da goma, concentrando o liofilizado adicionado, ainda mais, por grama de produto. Os resultados mostram que os derivados da mandioca podem ser nutricionalmente melhorados por adição das bioproteínas aproveitadas da indústria cervejeira.

Boonnop et al (2009), em estudo sobre enriquecimento nutritivo da mandioca por fermentação empregando *Saccharomyces cerevisiae*, também observaram um aumento significativo no teor de proteínas, além de aumento do aminoácido lisina e no teor lipídico em *chips*, para ração animal, e polpa fresca de mandioca fermentada, em comparação aos mesmos produtos não fermentados. Os autores apontam que o aumento protéico pode ser explicado pelo crescimento das células durante a fermentação, e sugerem que, dessa forma, *chips* de mandioca podem ser nutricionalmente melhorados para uso na alimentação animal, com uma técnica economicamente viável.

Metri et al (2003), em estudo sobre avaliação do efeito da mistura de feijão, arroz e farinha de mandioca enriquecida com bioproteína (*Saccharomyces cerevisiae*), na dieta de ratos, apresentaram a composição centesimal da farinha de mandioca comum e a enriquecida com 30% de levedura, tendo como valores, respectivamente, para proteínas, 1,36g% e 15,29g%, validando o significativo aumento protéico. Os ratos foram submetidos a seis dietas, variando a composição de proteínas advindas de: 1 e 2: feijão + arroz + farinha enriquecida em duas concentrações (1,50g% e 2,5g% de proteínas, respectivamente); 3 e 4: feijão + arroz + farinha comum em duas concentrações (0,15g% e 0,30g% de proteínas, respectivamente); 5: farinha enriquecida como controle (10,39g% de proteínas) e 6: dieta padrão com caseína. O resultado da curva de crescimento dos ratos, dentre as dietas experimentais, foi melhor para dieta 2, com feijão, arroz e farinha enriquecida com maior concentração de bioproteína. Os dados apontaram que a farinha de mandioca enriquecida com a proteína proveniente da levedura poderia ser utilizada como complemento alimentar de animais e humanos.

Alvim et al. (2002) avaliaram o efeito da adição de autolisado de destilaria de álcool na composição de farinhas mistas extrusadas, utilizando como base a farinha de milho. O autolisado apresentava 37,1% de proteínas. O enriquecimento da farinha de milho com 10% do autolisado, aumentou em 35% o teor de proteína da farinha mista. Comparando com os dados obtidos no presente experimento o aumento na proporção de proteínas foi mais elevada. Para a adição de 5 e 10% de liofilizado de levedura observou-se um aumento de 80 a 260% de proteínas respectivamente, na farinha fortificada. Esta elevada proporção pode estar associada a um menor teor protéico encontrado na farinha de mandioca padrão, em comparação com a farinha de milho.

Os resultados das análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 6. O beiju foi o produto que apresentou maior quantidade de Coliformes a 45°C, mesmo sendo o produto elaborado por processamento térmico e por boas práticas de manipulação. No entanto, este número encontra-se dentro da tolerância máxima disposta na legislação. O liofilizado de levedura apresentou níveis superiores à tolerância máxima aceitável para coliformes termotolerantes, conforme a RDC nº 12 (BRASIL, 2001), embora tenha apresentado ausência de colônias típicas de *E. coli*, quando uma alçada dos tubos positivos foram estriadas em Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), para confirmação. Desta forma, para garantir um número aceitável na determinação de coliformes termotolerantes, o processamento térmico foi ajustado, de 60°C/3min, incluído no tratamento inicial da biomassa, para 98°C/10min, conforme apresentado na Figura 1, e posterior análise na biomassa úmida. Os produtos apresentaram-se dentro dos níveis de tolerância máxima, segundo a legislação, para cada microorganismo e, desta forma, encontraram-se seguros para a análise sensorial.

Ferreira Neto et al (2004) avaliaram a qualidade microbiológica em farinhas de mandioca armazenadas até o período de 180 dias, apresentando resultados dentro dos padrões exigidos pela Portaria SVS nº451 (1997). Chisté et al (2006), também, encontraram valores de microrganismos dentro dos parâmetros da RDC N°12/2001, para amostras de farinha de mandioca.

Santos e Silva (2005) avaliaram a qualidade microbiológica de tapiocas (beijus) comercializados na Orla Marítima de Maceió-AL, e concluíram que, a maioria das amostras de tapiocas analisadas apresentou condições higiênico-sanitárias

satisfatórias para consumo, devido, provavelmente, ao processamento térmico submetido.

Metri et al (2003), avaliou a qualidade microbiológica da farinha de mandioca enriquecida com 30% de *Saccharomyces cerevisiae*, fornecida pela empresa Indústria Termo Técnica Prolev, localizada na cidade de Recife-PE, na qual apresentou-se dentro dos padrões estabelecidos pelos órgãos oficiais.

Tabela 6: Determinação de microorganismos nos ingredientes base para elaboração dos produtos enriquecidos, conforme RDC nº 12/2001 (BRASIL,2001)

Alimentos	Coliformes a 45°C		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Salmonella</i> <i>spp./25g</i> **	Estafilococos coagulase positiva	
	NMP/g	Tolerância*	UFC/g	Tolerância*		UFC/g	Tolerância*
Liofilizado de levedura	-	10 ²	<1,0 x10 ²	5 x 10 ²	Ausência	< 1,0 x10 ²	5 x 10 ²
Biomassa úmida de levedura	< 3	10 ²	-	-	-	-	-
Farinha de mandioca	< 3	10 ²	2 x 10 ²	3 x10 ³	Ausência	-	-
Beiju	93	10 ²	1,0 x 10 ²	5 x10 ³	Ausência	< 1,0 x 10 ²	5 x10 ³

* Tolerância para amostra indicativa (BRASIL, 2001). ** Ausência é definida como tolerância para *Salmonella* spp.
NMP/g: Número mais provável por grama da amostra; UFC/g: Unidade formadora de colônias por grama da amostra

Os resultados da atividade de água foram para: liofilizado 0,30 ±0,0 a 22,9°C±0,2; farinha 0,18±0,1 a 22,1°C±0,3 e beiju 0,43±0,0 a 24,10°C±0,05. Os produtos apresentaram atividade de água inferior ao valor correspondente à possibilidade de multiplicação de microorganismos, sendo este um mínimo de 0,6 para algumas espécies de fungos, descritos na literatura (FRANCO; LANDGRAF, 2004). Sendo assim, os produtos foram elaborados no dia anterior ao teste sensorial.

A Tabela 7 apresenta as médias relacionadas aos atributos avaliados no teste sensorial de aceitação.

Tabela 7: Média dos atributos sensoriais avaliados, segundo os tratamentos.

Tratamentos	Cor	Sabor	Gosto amargo	Textura	Qualidade global
Farofa padrão (FP)	7,68 a	7,72 a	6,10 a	7,86 a	7,64 a
Farofa 5% (FA5)	6,44 b	6,06 b	4,74 b	7,02 b	6,4 b
Farofa 10% (FA10)	5,54 c	4,86 c	3,56 c	6,74 b	5,22 c
Beiju padrão (BP)	7,12 a	5,8 a	5,04 a	6,88 a	5,88 a
Beiju 5% (BJ5)	5,78 b	4,74 b	4,02 b	5,58 b	4,7 b
Beiju 10% (BJ10)	4,48 c	3,54 c	3,16 c	4,50 c	3,5 c

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$)

A partir dos resultados do teste sensorial, observa-se que as médias do tratamento padrão, tanto para o produto farofa como para o beiju, ficaram superiores quando comparados aos demais tratamentos enriquecidos, para todos os atributos sensoriais avaliados, sendo as notas inversamente proporcionais à concentração do liofilizado adicionado. As médias dos produtos, de acordo com cada atributo, apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), exceto para os tratamentos FA5 e FA10 para a textura.

Avaliando as médias referentes aos tratamentos FA5 e FA10 observa-se que a maior média foi do atributo textura para o tratamento da FA5, sendo a menor referente ao atributo gosto amargo para a FA10. Comparando o resultado da média do atributo qualidade global, entre esses dois tratamentos, houve melhor aceitação da FA5, correspondente ao termo hedônico gostei ligeiramente. A qualidade global da FA10 foi correspondente ao ponto médio da escala hedônica, sendo definido como o termo indiferente.

Os tratamentos do produto beiju, de forma geral, apresentaram médias inferiores que o produto farofa. A menor média apresentada foi para o gosto amargo do tratamento BJ10. A maior média entre os tratamentos do beiju enriquecidos foi para o atributo cor, do BJ5. A adição do liofilizado na goma, mesmo com corante cor salmão, proporcionou uma cor mais acinzentada ao beiju. A qualidade global para BJ5 foi correspondente ao termo hedônico entre desgostei ligeiramente e indiferente, e para o BJ10, correspondente a desgostei moderadamente. A mudança da textura do beiju, com a adição dos liofilizados nas duas concentrações, foi notória, apresentando aspectos menos gelatinoso e mais quebradiço, o que pode ter

influenciado nas médias correspondentes aos termos entre indiferente e desgostei ligeiramente para este atributo.

O produto enriquecido mais aceito, quanto ao atributo sabor, foi a FA5, que também recebeu a maior nota para qualidade global. Observa-se que para os produtos padrão, onde não havia presença de gosto amargo, muitos julgadores podem ter avaliado este atributo pontuando-os, na maioria, correspondente ao termo hedônico indiferente, em lugar de identificar uma nota para o gosto segundo a preferência. Observa-se que, de forma geral, as notas de todos os atributos avaliados, especialmente o sabor e gosto amargo, influenciaram no resultado da qualidade global.

Um fator limitante para o uso das leveduras na alimentação humana é o odor e o sabor indesejáveis da levedura seca. Além disto, a levedura residual do processo de produção de cerveja, também, apresenta gosto acentuadamente amargo, devido à adsorção superficial de componentes amargos, como resinas, taninos e óleos essenciais, provenientes do lúpulo usado na fabricação da cerveja (SGARBIERI et al, 1999; CREDÍDIO, 2010). As práticas mais comuns para reduzir ou eliminar este amargor envolvem tratamento alcalino e lavagens (SGARBIERI et al, 1999; CREDÍDIO, 2010).

A biomassa úmida tratada, do presente estudo, apresentou discreto amargor, quando comparado à amostra sem tratamento. Como o processo de liofilização, retira a umidade por sublimação, preservando grande parte dos componentes da amostra e concentrando os nutrientes (FELLOWS, 2006), o amargor pode ter ficado mais acentuado no liofilizado do que na biomassa úmida. Devido ao fato do atributo gosto amargo ter apresentado menores pontuações, parece ser o que mais contribuiu para o resultado das médias baixas da qualidade global.

A liofilização da biomassa úmida foi necessária para facilitar a adição deste subproduto na farinha de mandioca e na goma úmida para elaboração do beiju, devido a textura resultante de um desidratado em pó. Desta forma, o liofilizado da levedura pode ser facilmente adicionado em variados tipos de preparações.

As figuras 7 a 12 apresentam o gráfico do porcentual de intenção de compra para cada produto, de acordo com a frequência das pontuações nas categorias da escala.

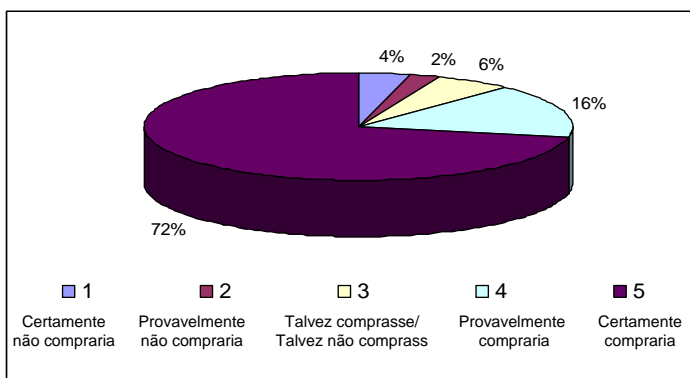


Figura 7: Porcentual das notas de intenção de compra para FP.

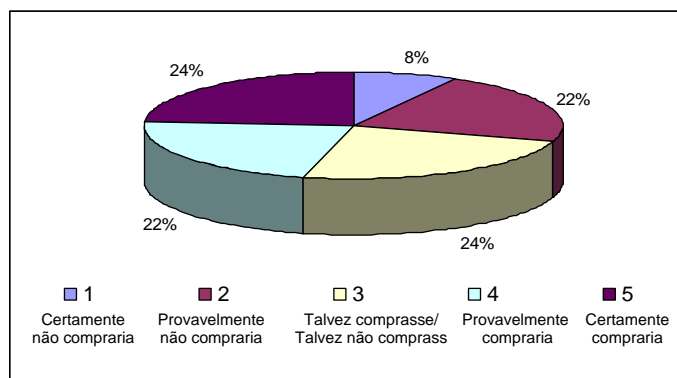


Figura 8: Porcentual das notas de intenção de compra para FA5.

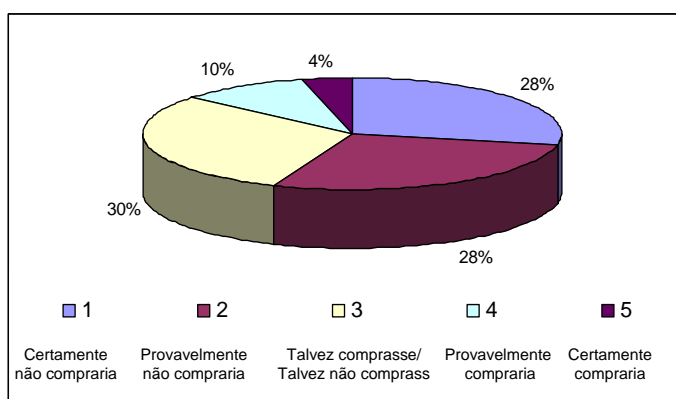


Figura 9: Porcentual de notas de intenção de compra para FA10.

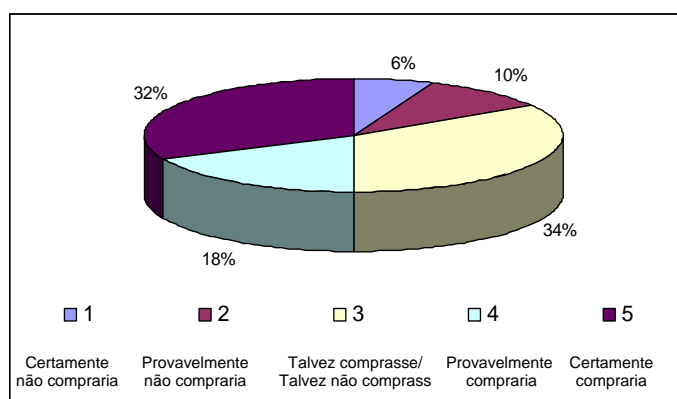


Figura 10: Porcentual de notas de intenção de compra para BP.

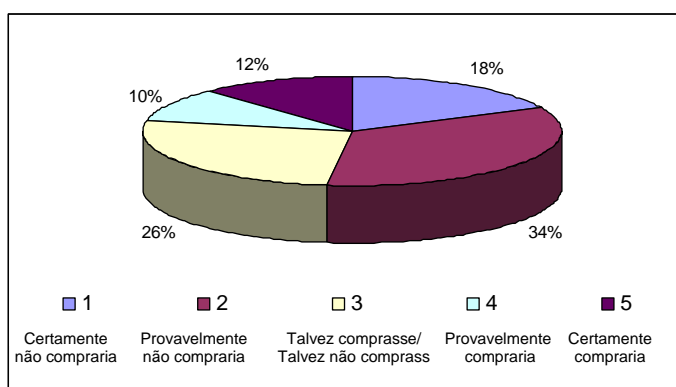


Figura 11: Porcentual de notas de intenção de compra para BJ5

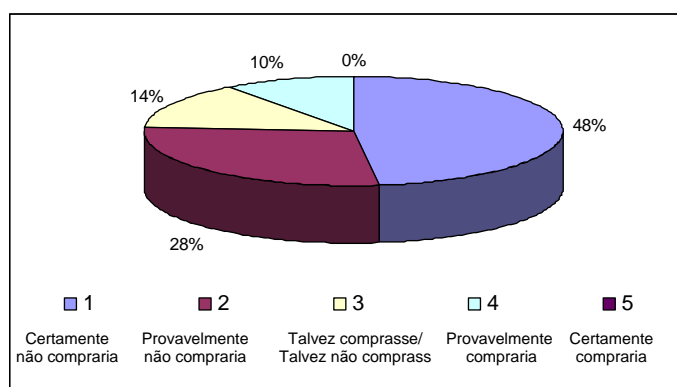


Figura 12: Porcentual de notas de intenção de compra para o BJ10

Observando os percentuais referentes ao produto farofa, dos gráficos de 1 a 3, houve 72% de indicação para o termo certamente compraria para a farofa padrão, diminuindo para 24% e 4%, respectivamente para a FA5 e FA10. Somando os percentuais das duas maiores notas, entre os termos provavelmente compraria e

certamente compraria, a FA5 apresentou 46%, contra 14% da FA10. Cerca de 28% dos julgadores indicaram que certamente não compraria a farofa com maior concentração do liofilizado. Os percentuais das notas 3 e 5; e 2 e 4 foram iguais para a FA5, e os percentuais das notas de 3 a 5 foram equivalentes para a farofa mais enriquecida. Isso demonstra as preferências individuais de cada julgador, frente à formulação das farofas.

Para os beijus enriquecidos, houve maior frequência de indicação das menores notas de intenção de compra, referentes aos termos certamente não compraria e provavelmente não compraria, do que para as farofas enriquecidas, que estão compatíveis com as notas da qualidade global inferior obtida pelos beijus.

O BJ10 apresentou a pior avaliação de intenção de compra, com 48% dos julgadores indicando a nota mínima contra 0% indicando a nota máxima. Cerca de 50% dos julgadores indicaram as duas notas maiores para o BP. Comparando este percentual com a soma das notas 4 e 5 para os beijus enriquecidos, observa-se que este valor reduz para 22% e, em seguida, para 10%, sendo inversamente proporcional à concentração do liofilizado.

O produto enriquecido com melhor nota de intenção de compra foi a farofa a 5% (termo de talvez comprasse/talvez não comprasse), no qual foi referente a melhor nota de aceitação entre os produtos com adição do liofilizado.

Alguns estudos avaliaram a utilização de derivados de levedura como ingrediente adicional na formulação de alguns alimentos. Yamada et al (2010) avaliaram a utilização do extrato de levedura de destilarias de álcool em salsicha, como substituto da carne na formulação, nas proporções de 1,0, 1,5 e 2,0%. As amostras foram avaliadas por meio de teste de aceitação, utilizando também uma amostra com 3% de carne substituída por proteína texturizada de soja. Os resultados não apresentaram diferença na preferência global das amostras. No teste de intenção de compra, as amostras com menores concentrações de levedura, foram as que também apresentaram maior frequência de respostas positivas, do que a com maior concentração e a formulação com proteína de soja. Os autores concluíram que o extrato de levedura pode ser utilizado como realçador de sabor, da cor vermelha e como aromatizante na salsicha.

Um estudo de Santucci et al (2003) descreveu a produção de macarrão enriquecido com autolisado e extrato de levedura residual de destilarias de álcool etílico, em duas concentrações (5 e 7,5%), e 7,5% adicionado de extrato de

espinafre, avaliando a preferência por teste sensorial com um macarrão padrão. Os dados da composição centesimal apresentaram pequeno aumento no teor de proteínas totais e aumento de aminoácidos essenciais nos macarrões enriquecidos, em comparação ao macarrão padrão. Não houve diferença significativa, em atributos sensoriais, entre o macarrão padrão e o enriquecido com o extrato de levedura. A adição do autolisado produziu aceitação inferior aos outros dois tratamentos, especialmente para a aparência e cor. A aceitação foi melhorada quando o autolisado foi adicionado a uma massa verde, com extrato de espinafre. Os autores concluíram que, adicionando o extrato de espinafre à massa de macarrão, foi possível aumentar as concentrações dos derivados da levedura adicionados, ainda com boa aceitação.

Considerando os resultados do teste sensorial do presente estudo, o uso do aromatizante de bacon não foi suficiente para mascarar o sabor amargo inerente ao liofilizado. A aceitação destes produtos enriquecidos poderia ser melhorada com uso ou adição de algum ingrediente que pudesse sobrepor ao gosto amargo, como extratos de vegetais e ervas, queijo ou mesmo carne seca, ou o uso em preparações adoçadas.

Além da presença do gosto amargo, um outro fator limitante ao uso da levedura na alimentação humana é devido riqueza em ácidos nucleicos (GALVEZ et al, 1990.; YAMADA et al, 2003), que poderia implicar em acúmulo de ácido úrico, e conseqüentemente, formação de litíase renal e deposição de cálcio em tecidos moles, além de influenciar na doença conhecida como gota (RIELLA; MARTIS, 2001).

Alguns estudos sobre avaliação toxicológica da biomassa de levedura íntegra, e em derivados como extrato seco, autolisado e concentrado protéico apresentaram dados que não comprometem o uso desses produtos da levedura, devido a não evidência de toxicidade, exceto para o concentrado protéico no qual apresentou relação com discreta esteatose hepática. As avaliações foram realizadas por meio de índices bioquímicos de enzimas hepáticas e frações de colesterol séricos; e de compostos nitrogenados séricos e urinários, em ratos, não apresentando valores que pudessem causar prejuízos à função hepática e renal (CABALLERO-CÓRDOBA; SGARBIERI, 2000; VILELA et al, 2000a; VILELA et al, 2000b).

Rosales (1984) demonstrou que isolados protéicos de células de levedura, tem melhor biodisponibilidade de nutrientes e menores teores de ácidos nucleicos,

comparado às células íntegras. Segundo o ICIDCA (1999), o alto conteúdo de proteínas e a baixa proporção de ácidos nucléicos permitem o uso dos derivados da levedura como aditivos, ou como complemento alimentar para o consumo animal e humano.

4. Conclusões

A levedura de cervejaria pode ser aproveitada como ingrediente adicional para agregar valor nutricional em alimentos habitualmente consumidos, especialmente quanto ao teor de proteínas em produtos derivados de mandioca.

A farinha de mandioca apresentou-se como produto promissor para ser enriquecida com aumento em mais de 80% no teor de proteínas. A farinha de mandioca enriquecida na concentração de 5% do liofilizado, apresentou boa aceitação por parte dos consumidores, sendo, especialmente, consumida na forma de farofa.

O beiju foi o produto que apresentou melhor enriquecimento, com maior aumento de porcentual protéico, porém não apresentou boa aceitação sensorial. O uso de algum ingrediente como extratos vegetais e saborizantes, concomitantemente à adição das concentrações da levedura, poderiam melhorar aceitação sensorial desses produtos enriquecidos.

Algumas técnicas de processamento poderiam ser melhoradas para diminuir o amargor no produto liofilizado, e assim, potencializar o uso deste derivado de levedura em maiores concentrações em variados alimentos na dieta para humanos, contribuindo, desta forma, para aumentar ainda mais o valor nutricional.

Referências

ALVIM, I. D. et al. Desenvolvimento de farinhas mistas extrusadas à base de farinha de milho, derivados de levedura e caseína. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 22, n. 2, maio./ago. 2002, p. 170-176.

APLEVICZ, K. S. **Caracterização de produtos panificados à base de féculas de mandioca nativas e modificadas**. 2006. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná. 2006

BARROS, G. **Produção de cerveja cresce 18% em 2010 e eleva o Brasil a terceiro maior mercado do mundo**. Disponível em: < <http://colunistas.ig.com.br/guilhermearros/2011/01/19/producao-de-cerveja-cresce-18-em-2010-e-eleva-o-brasil-a-terceiro-maior-mercado-do-mundo/> > Acesso em: 30. mar. 2011

BOONNOP Krisada et al. Enriching nutritive value of cassava root by yeast fermentation. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.66, n.5, set./out. 2009, p.629-633.

BRASIL. **Portaria SVS n. 451 de 19 de setembro de 1997**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 de setembro de 1997.

BRASIL. **Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Diário Oficial da União, 2 de janeiro de 2001.

BUTOLO, J. E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo a outras formas de nutrientes. In: WORKSHOP PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA EM ALIMENTAÇÃO ANIMAL E HUMANA; Agosto, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL; 1996. p.70-89.

CABALLERO-CÓRDOBA, G.M., PACHECO, M.T.B., SGARBIERI, V.C. Composição química de biomassa de levedura integral (*Saccharomyces cerevisiae*) e determinação do valor nutritivo da proteína, em células íntegras ou rompidas mecanicamente, **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 17, n.2, 1997, p.102-106.

CHISTÉ, R. C. et. al. Qualidade da farinha de mandioca do grupo seca. **Ciênc. Tec. Alim.**, v. 26, n. 4, 2006, p. 861-864.

CREDÍDIO, Edson. **Levedura de cerveja**. Disponível em: < http://www.drcredidio.com.br/elearning/detalhe_not.asp?notid=246 >. Acesso em: 10 set. 2010.

DIAS, L. T; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Rev. Ciênc. Agrotec.**, v. 30, n. 4, 2006, p. 692-700.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. Princípios e prática. 2. ed. Artmed: Porto Alegre, RS: 2006.

FERREIRA NETO, C.; NASCIMENTO, E. M. do; FIGUEIRÊDO, R. M. de; QUEIROZ, A. J. de M. Microbiologia de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante o armazenamento. **Cienc. Rur.**, v.34, n.2, mar./abr. 2004, p.551-555.

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FURUYA, W.M. et al. Níveis de levedura desidratada spray dried na dieta de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Ciênc. Rur.**, v.30, n.4, 2000, p.699-704.

GALVEZ, A., RAMÍREZ, M.J., GARCIA-GARIBAY, M. Chemical composition of a mixture of single cell protein obtained from *Kluyveromyces fragilis* and whey proteins. **Arch. Latin. Nutr.**, Guatemala, v.40, n.2, 1990, p.252- 262.

GRANGEIRO, M.G.A. et al. Inclusão da levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frango de corte. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n. 3, 2001, p. 766-773.

HALÁSZ, A., LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**. Boca Raton: CRC Press, 1991. 312p.

ICIDCA. Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados da Cana-de-açúcar. **Manual dos derivados da cana-de-açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço, derivados do melaço, outros derivados, resíduos, energia**. Brasília: ABIPTI, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4.ed. IAL: São Paulo, 2004.

MAHADEVAN, K.; FARMER, L. Key odor impact compounds in three yeast extract pastes. **J. Agr. Food Chem.**, Washington, v. 54, n. 19, 2006, p. 7242-7250.

METRI, Anastácia Cavalcanti et al. Farinha de mandioca enriquecida com bioproteínas (*Saccharomyces cerevisiae*), em associação ao feijão e arroz, na dieta de ratos em crescimento. **Rev. Nutr.**, v.16, n. 1, jan/mar, 2003, p.73-81.

MIYADA, V.S. **A levedura seca na alimentação de suínos: estudos adicionais sobre o seu valor protéico e vitamínico**. 1987. (Tese de livre docência) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba 1987

MOREIRA, I. et al. Uso da levedura seca por “spray-dry” como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, 2002, p.962-969.

NEPA – NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 2. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p

PARK, S.; RAMIREZ, W.F. Dynamics of foreign protein secretion from *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnol. Bioengine.** New York, v.33, 1989, p.272-281.

PAULA, E. F.E. et al. Composição química de silagem e levedura seca de cana-de-açúcar. In: V SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP, VI ENCONTRO DE ZOOTECNIA, Dracena, 2009. **Anais...** Dracena: UNESP, 2009

PEIXOTO, N. Processamentos de produtos de biomassa de levedura para alimentação humana: potencial, mercado interno e externo. In: WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA: UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO HUMANA E ANIMAL, Campinas 1998. **Resumos...**, Campinas: ITAL, 1996. p.90-98

REED, G.; NAGODAWITHANA, T.W. **Yeast Technology**. 2. ed. Van Nostrand Reinhold: New York, 1991

RIELLA, M. C; MARTINS, C. **Nutrição e o Rim**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001

ROSALES, F.H. Yeast as protein source for human nutrition. **Rev. Acta Microbiol. Acad. Scien. Hung.**, Budapest, v.31, n.3, 1984, p.159-172.

SANTOS, T.M.M.; SILVA, M.C.D. Avaliação da qualidade microbiológica de tapiocas comercializadas na orla marítima de maceió-al, como instrumento de melhoria do processo produtivo. In: 57ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, Fortaleza, 2005. **Anais...** Fortaleza, SBPC: 2005

SANTUCCI, M.C.C. et al. Enriquecimento de macarrão tipo tubo (massa curta) com derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*): impacto nutricional e sensorial. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.23 n.2, 2003, p. 290-295.

SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997

SGARBIERI, V. C. et al. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Braz. J. Food Technol.**, v. 2, n.1,2, 1999, p.119-125.

VILELA, E. S, D.; SGARBIERI, V.C.; ALVIM, I. D. Determinação do valor protéico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (*Saccharomyces sp.*), **Rev. Nutr.**, v. 13, n. 3, set/dez., 2000, p. 185-192 a.

VILELA, E.S. D.; SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D. Valor nutritivo da biomassa de células íntegras, do autolisado e do extrato de levedura originária de cervejaria. **Rev. Nutr.**, v.13, n. 2, maio/ago., 2000, p. 127-134 b.

YAMADA, E. A. et al. Composição centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Rev. Nutr.**, v.16, n. 4, 2003, p. 423-432.

YAMADA, E. A. et al. Utilização de extrato de levedura (*Saccharomyces spp.*) de destilaria de álcool em salsicha. **Braz. J. Food. Technol.**, Campinas, v. 13, n. 3, jul./set. 2010, p. 197-204.

ZAMBONELLI, C. et al. Autolysis of yeasts and bacteria in fermented foods. **Italian Journal of Food Science**, Perugia, v. 12, n. 1, 2000, p. 9-21.

Considerações finais

A levedura como subproduto do processo de produção de cerveja apresenta valor nutricional considerável para ser empregada em alimentos, visando à fortificação dos mesmos.

Para que seja possível esta utilização, faz-se necessário o tratamento deste subproduto, requerendo assim, mão-de-obra e equipamentos que possibilitem a limpeza e a redução do amargor inerente ao mesmo. Um processo industrial que se destine a otimizar este tratamento com melhor rendimento, bem como o desenvolvimento de outras técnicas suficientes para limpeza e retirada do amargor com menores perdas de minerais e vitaminas, poderia fomentar ainda mais o aproveitamento do montante gerado deste resíduo industrial.

Considerando os aspectos envolvidos no consumo da levedura de cervejaria, é relevante a realização de estudos mais aprofundados no que diz respeito à concentração de ácidos nucléicos, à quantidade residual do reagente alcalino utilizado no tratamento para diminuir o amargor, bem como relacionados à quantidade e freqüência de ingestão, para assim, viabilizar uma melhor segurança quanto ao aproveitamento deste subproduto das indústrias cervejeiras para o consumo humano.



Universidade do Estado da Bahia
Departamento de Ciências da Vida

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro, por meio deste termo, que concordei em participar do teste sensorial referente ao projeto intitulado **APROVEITAMENTO DE DERIVADOS DE LEVEDURA (*Saccharomyces spp.*) PARA O ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE ALIMENTOS À BASE DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* CRANTZ)** desenvolvido por Laise Cedraz Pinto, orientada pelo Prof. Celso Duarte Carvalho Filho e pela Profa. Mariangela Vieira Lopes Silva, a quem poderei contatar / consultar a qualquer momento que julgar necessário através do telefone nº 91810032 ou e-mail mlopes@uneb.br; lcedraz@hotmail.com

Afirmo que aceitei participar por minha própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro ou ter qualquer ônus e com a finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da pesquisa.

Fui também esclarecido(a) de que os usos das informações por mim oferecidas estão submetidos às normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde. Minha colaboração se fará de forma anônima, por meio de **consumo de farinha de mandioca e beiju enriquecidos**, a ser iniciada a partir da assinatura desta autorização. O acesso e a análise dos dados coletados se farão apenas pelos pesquisadores e seu orientadores.

Fui ainda informado(a) de que posso me retirar dessa pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo para meu acompanhamento ou sofrer quaisquer sanções ou constrangimentos.

Atesto recebimento de uma cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme recomendações da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Salvador, ____ de _____ de _____

Assinatura do(a) participante: _____

Assinatura do(a) pesquisador(a): _____